



Kit de tinción Auramina O F.A.S.T.[™]

Manual de instrucciones

Form 430 Rev. D
Revisado el 12.12.2018

Kit de tinción Auramina O F.A.S.T.™

Uso previsto

Tinción para frotis a partir de muestras de pacientes o de cultivos para la detección o caracterización de bacilos ácido-alcohol resistentes como *Mycobacterium tuberculosis*.

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 tuberculosis es esencial tanto para un control efectivo como para el tratamiento de la enfermedad. El método más habitual para la detección de la bacteria *Mycobacterium tuberculosis* es el uso de la microscopía de frotis del esputo,¹ que ofrece tanto un diagnóstico presuntivo inicial como un recuento de la carga micobacteriana.

Los bacilos ácido-alcohol resistentes como, por ejemplo, *Mycobacterium tuberculosis*, pueden teñirse con tintes de anilina y son resistentes a la decoloración por la acción del ácido o del alcohol. Si a continuación se realiza una tinción de contraste, este tratamiento permite que los bacilos ácido-alcohol resistentes mantengan el tinte, mientras que el resto de organismos y de residuos retendrán la tinción de contraste. Sin embargo, los métodos de tinción que se suelen utilizar para la microscopía ácido-alcohol producen un frotis que puede ser difícil de analizar y puede requerir mucho tiempo. Los tintes Auramina O y auraminarodamina se han utilizado con éxito en la microscopía basada en fluorescencia de micobacterias. Los informes sobre los mecanismos de la tinción son contradictorios. Estos incluyen la unión de la Auramina O a la pared celular de las micobacterias,² así como la unión de "prácticamente todo" el tinte a los ácidos nucleicos de las micobacterias.³ Sin embargo, se ha demostrado que los métodos de tinción basados en Auramina O son más sensibles que los de microscopía ligera para la detección de bacterias ácido-alcohol resistentes. Este incremento en la sensibilidad se debe en gran parte al considerable contraste que los tintes fluorescentes confieren a los bacilos ácido-alcohol resistentes, que muestran un color verde sobre un fondo oscuro. Este incremento en la distinción permite el uso de objetivos con mayor campo visual, lo que permite reducir el tiempo de examen total.

Aunque los métodos de tinción con auramina estándar suponen una mejora significativa sobre los métodos clásicos, el método de tinción aún requiere mucho tiempo. El kit de tinción Auramina O F.A.S.T. de QBC simplifica el proceso aún más al utilizar una combinación exclusiva de agente de apagamiento y de apagamiento, lo que permite llevar a cabo un proceso de cuatro pasos que solo requiere dos minutos.

Contenidos

Este kit incluye lo siguiente:

- Tinción Auramina O F.A.S.T. de QBC (120 ml, 250 ml o 3,8 l)
- Decolorante/agente de apagamiento F.A.S.T. de QBC (120 ml, 250 ml o 3,8 l)
- Prospecto

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 *Mycobacterium tuberculosis* deben llevarse a cabo siguiendo los procedimientos y prácticas de bioseguridad de nivel 3.

Las sustancias químicas incluidas en este kit son peligrosas y pueden causar lesiones o incluso la

muerte. Utilícelas en una zona con la ventilación adecuada y utilizando el equipo de protección personal correspondiente. Mantenga los productos alejados de llamas expuestas. Consulte la hoja de datos sobre seguridad de materiales del kit para disponer de información adicional sobre seguridad y sobre cómo desechar estas sustancias adecuadamente.

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 procesamiento para la detección BAAR solo deben llevarse a cabo por personal con formación en las técnicas utilizadas, así como en las prácticas y procedimientos de laboratorio generales.

Instrucciones de almacenamiento

Almacenar a una temperatura de entre 2 y 25 °C. Mantenga la muestra protegida de la luz. No utilice el producto después de la fecha de caducidad.

Procedimiento de tinción

El kit de tinción Auramina O *F.A.S.T.* puede utilizarse con muestras de cultivos y esputos directos y concentrados.

1. Fije por calor el portaobjetos con el frotis con la muestra.
2. Cubra el frotis con el tinte Auramina O *F.A.S.T.* y deje reposar durante 1 minuto.
3. Aclare el frotis cuidadosamente con agua desionizada o con agua del grifo y escurra.
4. Cubra el frotis con el decolorante/agente de apagamiento *F.A.S.T.* y deje reposar durante 1 minuto.
5. Aclare el frotis cuidadosamente con agua desionizada o con agua del grifo y escurra el portaobjetos hasta que se seque.
6. Examine el portaobjetos utilizando el ParaLens de QBC o un aparato de microscopía de fluorescencia equivalente.

Control de calidad

Los portaobjetos de control de calidad de QBC Diagnostics (número de catálogo 427402) deben utilizarse de forma rutinaria para valorar los reactivos y los procedimientos de tinción. El control de calidad debe llevarse a cabo siguiendo la normativa gubernamental aplicable.

Si el control de calidad falla, no informe al paciente sobre los resultados hasta que se haya corregido la causa del fallo. Un fallo de un control positivo puede indicar una degradación del reactivo de tinción. Si la tinción se ha utilizado en controles positivos con poca o ninguna fluorescencia, no la utilice para las muestras de paciente.

Resultados esperados

Las micobacterias y otros bacilos ácido-alcohol resistentes brillan con un color verde fluorescente sobre un fondo oscuro cuando se examinan con un microscopio de fluorescencia con un filtro de excitación azul y un filtro de emisión verde (filtro de excitación: entre 435 y 480 nm; filtro de emisión: entre 510 y 600 nm). El resto de organismos no serán visibles. Un bacilo fluorescente sirve como presunta identificación de una especie *Mycobacterium*.

Limitaciones

Existen algunos tipos de micobacterias de rápido crecimiento que podrían no mostrar fluorescencia con esta tinción. En este tipo de muestras, deben utilizarse otros métodos como el Ziehl-Neelsen o el Kinyoun. La fluorescencia de los frotis puede desvanecerse a lo largo del tiempo, por lo que las muestras teñidas deben examinarse lo más pronto posible. Aunque un resultado positivo indica la presencia de micobacterias, un resultado negativo no descarta la infección. Para obtener una identificación positiva, deben utilizarse otros métodos de diagnóstico, como un cultivo o una PCR.

Los reactivos de tinción *F.A.S.T.* pueden degradarse cuando se exponen a una cantidad de calor excesiva. Lleve a cabo siempre un control de calidad para comprobar la integridad de la tinción antes de informar a los pacientes de los resultados. No utilice la tinción si el control de calidad falla.

Equipo necesario no suministrado

El kit de tinción Auramina O F.A.S.T. de QBC está diseñado para trabajar con un sistema de microscopía de fluorescencia capaz de excitar las muestras entre 425 y 480 nm y de transmitir una fluorescencia de entre 510 y 600 nm. El equipo adicional incluye portaobjetos y un calentador de objetos o un mechero Bunsen.

Referencias

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. Baron, E.J. y S.M. Finegold. (1990) Baily & Scott's Diagnostic Microbiology, 8ª edición. The CV Mosby Company, Baltimore, Maryland.
3. Steingart K. R., et al. (2007) Fluorescence versus conventional for sputum smear microscopy for tuberculosis: a systematic review. *Lancet Infectious Disease* 6:570-81.
4. Hanscheid, T. (2008) The future looks bright: low-cost fluorescencnt microscopes for detection of *Mycobacterium tuberculosis* and *Coccidia*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. Elsevier Ltd., 520-521.

Información para pedidos

Kits de tinción Auramina O F.A.S.T. de QBC:

Tamaño	Número de catálogo
Prueba	427422
120 ml	427404
250 ml	427424
3,9 l	427425



Drucker Diagnostics
200 Shady Lane, Suite 170, Philipsburg PA, 16866
+1-814-692-7661, www.druckerdiagnostics.com



Emergo Europe
Prinsessegracht 20, 2514 AP The Hague, Países Bajos
Tél. : +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



Cáustico



Inflamable