

## APLICACIÓN

Se utiliza para la tinción de frotis preparados a partir de muestras clínicas sospechosas de contener micobacterias.

## RESUMEN Y EXPLICACIÓN

La técnica de tinción con carbol fucsina de Kinyoun es una variación del método acidorresistente desarrollado por Robert Koch en 1882. Las micobacterias poseen características acidorresistentes únicas que hacen que las técnicas de tinción acidorresistentes sean indispensables para detectar especies de micobacterias.

## PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El contenido lipídico de la pared celular de los bacilos acidorresistentes dificulta la tinción de los organismos. Si un organismo se denomina «acidorresistente» este debe resistir la decoloración por ácido alcohol. A continuación, se utiliza un colorante de contraste para resaltar el organismo tintado. La alta concentración de fenol en el carbol fucsina de Kinyoun facilita la penetración de la tinción y permite la retención en la pared celular incluso después de la exposición a los decolorantes.

## MATERIALES SUMINISTRADOS

### Colorantes y diferenciadores listos para usar:

-	PL.7021/25	Carbol fucsina de Kinyoun	250 ml
-	PL.7021	Carbol fucsina de Kinyoun	500 ml
-	PL.7022	Carbol fucsina de Kinyoun	1000 ml
-	PL.7024/100	Diferenciador para CF de ZN & Kinyoun	100 ml
-	PL.7024/25	Diferenciador para CF de ZN & Kinyoun	250 ml
-	PL.7024	Diferenciador para CF de ZN & Kinyoun	500 ml
-	PL.7025	Diferenciador para CF de ZN & Kinyoun	1000 ml
-	PL.7026	Diferenciador para CF de ZN & Kinyoun	2000 ml
-	PL.7027/100	Azul de metileno	100ml
-	PL.7027/25	Azul de metileno	250ml
-	PL.7027	Azul de metileno	500ml
-	PL.7028	Azul de metileno	1000ml
-	PL.7029	Azul de metileno	2000ml
-	PL.7030/100	Verde de malaquita	100ml
-	PL.7030/25	Verde de malaquita	250ml
-	PL.7030	Verde de malaquita	500ml
-	PL.7031	Verde de malaquita	1000ml
-	PL.7032	Verde de malaquita	2000ml

Por 100 ml de solución:

- El carbol fucsina de Kinyoun contiene 2,95 g de fucsina en polvo.
- El diferenciador para CF de ZN y Kinyoun contiene 3 ml de ácido clorhídrico.
- El azul de metileno listo para usar contiene 0,4 g de azul de metileno en polvo.
- El verde de malaquita listo para usar contiene 0,4 g de verde de malaquita en polvo.

### Colorantes concentrados (diluir 1 parte en 10 con agua desionizada o de ósmosis inversa antes de usar):

-	PL.8006	Azul de metileno	100ml
-	PL.8006/4,0	Azul de metileno	400ml
-	PL.8006/5,0	Azul de metileno	500ml
-	PL.8007	Verde de malaquita	100ml
-	PL.8007/4,0	Verde de malaquita	400ml
-	PL.8007/5,0	Verde de malaquita	500ml

Por 100 ml de solución:

- El azul de metileno concentrado contiene 4 g de azul de metileno en polvo.
- El verde de malaquita concentrado contiene 4 g de verde de malaquita en polvo.

## MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

- Portaobjetos de vidrio
- Asas de inoculación
- Microscopio
- Aceite de inmersión PL.396
- Pro-Slide™, control de tinción de acidorresistentes PL.4960

## ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO

Los colorantes y los diferenciadores deben almacenarse a una temperatura de entre 15 y 25 °C en sus envases originales. El producto almacenado en estas condiciones será estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del producto.

## PRECAUCIONES

- Solo para uso en diagnóstico *in vitro*.
- Solo para uso profesional.
- Lea las instrucciones detenidamente.
- No utilizar el producto transcurridas las fechas de caducidad indicadas.
- La contaminación microbiana podría reducir la precisión de la tinción.
- Deben tomarse precauciones de seguridad a la hora de manipular, procesar y desechar todas las muestras clínicas.
- Las muestras deben procesarse en las condiciones correctas de nivel de contención.
- Recicle todos los materiales de conformidad con la normativa local de residuos.
- Cualquier incidente grave que se presente en relación con el producto se debe notificar al fabricante y a la autoridad competente del Estado miembro en el que se haya producido el suceso.

## PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

1. Prepare un frotis en un portaobjetos de vidrio limpio y déjelo secar al aire.
2. Fije con calor y deje enfriar.
3. Eche carbol fucsina de Kinyoun en el portaobjetos y déjelo reposar durante 10 minutos.
4. Aclare con agua.
5. Inunde el portaobjetos con diferenciador para carbol fucsina de ZN y Kinyoun durante 10 minutos, cambiando de diferenciador a los 5 minutos.
6. Aclare con agua.
7. Eche colorante de contraste en el portaobjetos (azul de metileno o verde de malaquita) y déjelo reposar durante 1 minuto.
8. Aclare con agua abundante; seque suavemente con un paño o con calor suave.
9. Examine con el microscopio.

## PROCEDIMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD

El control de calidad interno de los colorantes y diferenciadores debe llevarse a cabo ocasionalmente con material de referencia conocido.

Control de calidad recomendado:

Control positivo: *Mycobacterium scrofulaceum* NCTC® 10803/ATCC® 19981\*

Control negativo: *Escherichia coli* NCTC® 12241/ATCC® 25922\* (PLD02)

Pro-Slide™, control de tinción de acidorresistentes PL.4960

## INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Los bacilos acidorresistentes se tiñen de un color rosa-rojo. Los otros organismos se tiñen de azul o verde en función del colorante de contraste utilizado.

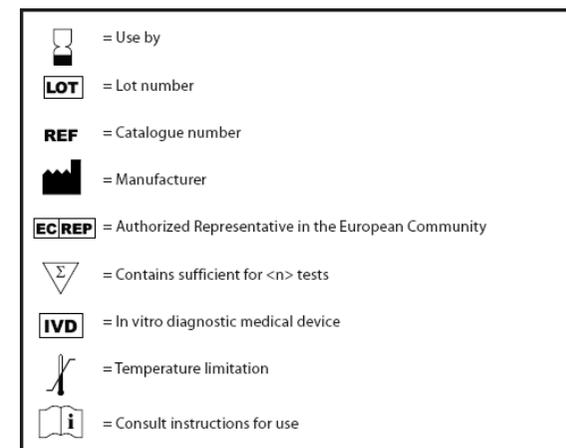
## LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Solo el personal cualificado debe interpretar los portaobjetos teñidos.

- Interprete los portaobjetos preparados lo antes posible después de la tinción. No hacerlo podría afectar a los resultados.
- Pueden observarse resultados de tinción falsos debido a que la técnica tiñe restos celulares.
- Las reacciones de tinción positivas solo aportan pruebas estimadas de la presencia de micobacterias en la muestra. Los resultados negativos de la tinción no indican necesariamente que la muestra será negativa en el cultivo. También deben emplearse métodos de cultivo para la identificación positiva de micobacterias.
- Los organismos distintos de las especies de *Mycobacteria* pueden mostrar varios grados de resistencia a las acidorresistentes, por ejemplo, *Rhodococcus spp.*, *Cryptosporidium spp.* e *Isopora spp.*

## REFERENCIAS

- Cruickshank, R., Duguid, J. P., Marmion, B. P. and Swain, R.H.A. The Practice of Medical Microbiology. 12th Edition. V2
- Kinyoun, J.J. 1915. A note on Uhlenhuth's method for sputum examination for tubercle bacilli. *American Journal of Clinical Pathology*, 46:472-4.
- Lennette. 1974. Manual of Clinical Microbiology. *American Society for Microbiology*, Washington, D.C.
- Neelson, F. 1883. Ein Casuistischer Beitrag zur Lehre von der Tuberkulose. *Centralbl. Med. Wiss.* 21:497-501.
- Public Health England. May 2019. UK Standards for Microbiology Investigations: Staining Procedures. *Bacteriology – Test Procedures*. TP 39, Issue no.3.
- Ziehl, F. 1882. Zur Färbung des Tuberkelbacillus. *Dtsch. Med. Wochenschr.* 8:451.



\*NCTC® y NCPF® son marcas registradas de Public Health England. Las cepas ATCC® se mencionan solo como referencia. ATCC® es una marca registrada de la American Type Culture Collection.

## IDENTIFICACIÓN DE PELIGROS

Consulte el documento completo de las indicaciones de peligro y precaución en las fichas técnicas de seguridad.

 <p>PELIGRO</p>	PL.7021/25 PL.7021 PL.7022	H226, H302, H312, H314, H332, H341, H373, H410  P321, P210, P260, P273, P280, P303+P361+P353, P305+P351+P338, P310, P370+P378, P391, P403+P235
	PL.8007 PL.8007/4.0 PL.8007/5.0	H226, H302, H318, H332, H361, H411  P210, P273, P280, P305+P351+P338, P310, P370+P378, P391, P403+P235
 <p>PELIGRO</p>	PL.7027/100 PL.7027/25 PL.7027 PL.7028 PL.7029	H302, H332, H370  P260, P264, P270, P308+P311, P501, P321
 <p>ADVERTENCIA</p>	PL.7030/100 PL.7030/25 PL.7030 PL.7031 PL.7032	H226, H319, H412  P210, P273, P337+P313, P370+P378, P403+P235, P501
 <p>PELIGRO</p>	PL.8006 PL.8006/4.0 PL.8006/5.0	H301, H311, H331, H332, H370, H226  P210, P260, P301+P310, P321, P370+P378, P403+P233
	PL.7024/100 PL.7024/25 PL.7024 PL.7025 PL.7026	H225, H302, H311, H331, H371  P321, P210, P260, P264, P370+P378, P403+P233