


REF 2000940003

IVD Reactivo de Diagnóstico para Uso *in Vitro*

 30 determinaciones

Uso previsto:

Histokit® HONGOS - GROCOTT se emplea como herramienta para diagnóstico en exámenes histológicos y citológicos en medicina humana, veterinaria e investigación.

Este método de tinción es uno de los mejores para visualizar al microscopio óptico una variedad de organismos fúngicos que incluyen: Pneumocystis, Aspergillus, Blastomyces, Candida e Histoplasma.

Su uso está indicado en cortes de tejidos fijados, embebidos en parafina y en extendidos citológicos.

Principio:

El método de Histokit® Hongos - Grocott consta de 4 etapas:

1. Oxidación, con Acido Crómico, de los polisacáridos presentes en la pared celular, permitiendo el posterior ingreso de Nitrato de Plata.
2. Impregnación con Solución de Metenamina-Plata.
3. Reducción de las sales de Plata al entrar en contacto con los grupos aldehídos presentes en la capsula de los microorganismos a identificar.
4. Tinción de contraste

Reactivos y presentación:

Kit para la realización de 30 determinaciones (de acuerdo al Procedimiento de uso, en base al volumen de 6 cubetas Coplin con capacidad para 5 portaobjetos por procedimiento realizado). Éste valor podría variar dependiendo de la modalidad de trabajo aplicada y las variaciones de volumen o gotas utilizados en cada paso, capacidad de las cubetas coplin o recipientes utilizados, etc.

Contiene:

Solución A: Acido Crómico (1 frasco gotero x 40 mL)

Solución B: Sodio Metabisulfito (1 frasco gotero x 40 mL)

Solución C: Plata Nitrato (1 frasco x 10 mL)

Solución D: Metenamina (3 frascos x 47,5 mL)

Solución E: Sodio Borato (1 frasco x 20 mL)

Solución F: Verde Luz (1 frasco gotero x 40 mL)

Pipeta de transferencia Pasteur graduada de 3,0 mL (3 unidades)

Nota: el tamaño de los frascos provistos en el kit puede no ser representativo del volumen de su contenido, pero facilitara la manipulación por parte del operador.

Materiales requeridos no suministrados:

- Papel de filtro.
- Etanol 96° (cat. 2000937500) o Deshidratante 90° (cat. 2000938300)
- Etanol absoluto 100° (cat. 2000165400) o Deshidratante 100° (cat. 2000948300)
- Xileno (cat. 2000166200) o sustituto Bioclear® (cat. 2000942700)
- Bálsamo de Canadá sintético (cat. 2000130300)
- Histokit® Oro - Virofijación (cat. 2000932803). Ver "Procedimiento de Uso-Consideraciones previas a la realización del procedimiento" en punto 9.

Preparación de los reactivos:

Todas las soluciones del presentes kit se encuentran en concentraciones listas para usar. No es necesaria la dilución, ni la adición de componentes para su aplicación. Cualquier agregado a su composición original puede alterar su función y/o estabilidad.

Para realizar las determinaciones, se debe preparar previamente:

1- Preparación SOLUCIÓN STOCK de Metenamina Plata:

Tomar un frasco de Solución D de Metenamina (47,5 mL) y agregarle 2,5 mL de Nitrato de Plata (Solución C) utilizando la pipeta Pasteur graduada.

Solución C (Plata Nitrato).....2,5 mL

Solución D (Metenamina).....47,5 mL

Identificar y etiquetar la Solución Stock de Metenamina Plata con la etiqueta provista en el kit, registrando fecha de preparación y vencimiento correspondiente.

Esta Solución Stock debe almacenarse en refrigerador (entre 2°C a 8°C) y ausencia de luz. Usar dentro de los 3 meses de preparada.

2- Preparación SOLUCIÓN de TRABAJO de Metenamina Plata:

Preparar la siguiente mezcla en una cubeta de tinción tipo Coplin de vidrio para procedimiento tradicional o en un Coplin de polipropileno en caso de realizar el procedimiento rápido.

Solución Stock Metenamina Plata (Frascos C + D).....25 mL

Agua purificada25 mL

Solución E (Sodio Borato).....2,5 mL

Preparar al momento del uso. Una vez usada, descartar.

Procedimiento de uso:

Consideraciones previas a la realización del procedimiento:

1. Realice el procedimiento de tinción a muestras recientemente cortadas y montadas sobre portaobjetos limpios y secos.
2. Los cortes / secciones histológicas deben tener un espesor de 4 micrones.
3. Evitar la contaminación de los cortes / secciones. No dejar las preparaciones expuestas al aire.

4. Siempre manipule las muestras / secciones con guantes.
5. Adherir y desparafinar los cortes histológicos en estufa durante 24 horas a 60°C.
6. Use siempre agua purificada o destilada de excelente calidad.
7. Use materiales de vidrio y herramientas de trabajo bien limpios.
8. No toque nunca las soluciones de Histokit® Hongos - Grocott con objetos metálicos (pinzas, etc.)
9. Para una óptima diferenciación y contraste de tinción se recomienda previo a la contratinción realizar virado con Cloruro de Oro y remover el excedente de metales débilmente unidos al tejido con Tiosulfato de Sodio, aplicando Histokit® Oro-Virofijación (cat. 2000932803, reactivo no provisto). Ver Nota (2*)
10. Incorpore un caso "control positivo" para una correcta validación del procedimiento.

Procedimiento tradicional:

- Previamente desparafinar los preparados / secciones con Xileno o Bioclear® e hidratar con alcoholes o deshidratantes descendentes en graduación hasta el agua purificada.
- En el caso de extendidos citológicos, previo iniciar el procedimiento, fijar las muestras con Alcohol durante 15 minutos.
- Precalentar la SOLUCIÓN de TRABAJO de Metenamina Plata entre 45°C y 60°C y un frasco adicional con Agua purificada (para control de tinción) en un baño de agua térmico o en estufa aproximadamente de 20 a 30 minutos antes de su uso.

Paso	Reactivo / Aplicación	Temperatura	Tiempo	Observaciones
1	Agua purificada / Lavado	Ambiente	-	-
2	Solución A (Acido Crómico) / Cubrir la muestra (1 mL)	Ambiente	60 minutos	-
3	Agua corriente / Lavado	Ambiente	2 minutos	-
4	Agua purificada / Cubrir la muestra (1 mL)	Ambiente	-	-
5	Solución B (Sodio Metabisulfito) / Cubrir la muestra (1 mL)	Ambiente	1 minuto	-
6	Agua purificada / Lavado - varios cambios	Ambiente	-	-
7	Colocar muestras en Solución de Trabajo Metenamina-Plata "precalentada" en Coplin de Vidrio o Plástico	58 / 60°C	15 minutos	-
8	Controlar al microscopio (1*)	58 / 60°C	-	-
9	Agua purificada / Lavado	Ambiente	-	-
10	HistoKit Oro Virofijación- Solución A / Cubrir la muestra (2*)	Ambiente	1 minuto	Opcional
11	Agua purificada / Lavado (2*)	Ambiente	-	Opcional
12	HistoKit Oro Virofijación- Solución B / Cubrir la muestra (2*)	Ambiente	2 minutos	Opcional
13	Agua purificada / Lavado (2*)	Ambiente	-	Opcional
14	Solución F (Verde Luz) / Cubrir la muestra (1 mL)	Ambiente	2 minutos	-
15	Deshidratar, aclarar y montar con Bálsamo	Ambiente	-	-

Nota: 1 mL = 20 gotas

Notas técnicas:

(1*) Controlar al microscopio: extraer el preparado "control positivo" de la Solución de Trabajo Metenamina-Plata y sumergir en el frasco con agua purificada a igual temperatura de incubación. Las muestras presentaran una tonalidad marrón claro o "marrón tabaco". De ser insuficiente la impregnación regresar las muestras y continuar incubando con Solución de Trabajo Metenamina-Plata a temperatura durante 5 a 10 minutos más y volver a controlar. Luego continuar con el Paso 9. A partir de los 35 minutos la solución puede comenzar a precipitar, virando a color negro.

(2*) Pasos 10 a 13: Procedimiento de Virofijación con Oro opcional (ver Punto 9. en "Procedimiento"). Reactivo no provisto.

Procedimiento rápido:

- Previamente desparafinar los preparados / secciones con Xileno / Bioclear® e hidratar con alcoholes o deshidratantes descendentes en graduación hasta el agua purificada.
- En el caso de extendidos citológicos, previo iniciar el procedimiento, fijar las muestras con Alcohol durante 15 minutos.

Paso	Reactivo / Aplicación	Temperatura	Tiempo	Observaciones
1	Agua purificada / Lavado	Ambiente	-	-
2	Precalear una alícuota de 1 mL de Solución A (Ácido Crómico) en microondas o estufa (3*)	Aprox. 60°C	Necesario	-
3	Solución A "precalearada" (Ácido Crómico) / Cubrir la muestra (1 mL)	Aprox. 60°C	5 minutos	-
4	Agua corriente / Lavado	Ambiente	2 minutos	-
5	Agua purificada / Cubrir la muestra (1 mL)	Ambiente	-	-
6	Solución B (Sodio Metabisulfito) / Cubrir la muestra (1 mL)	Ambiente	1 minuto	-
7	Agua purificada / Lavado- varios cambios	Ambiente	-	-
8	Colocar muestras en Solución de Trabajo Metenamina-Plata en Coplin de Plástico. Incubar en microondas (3*)	Aprox. 60°C	Aprox. 1 minuto (potencia alta)	-
9	Controlar al microscopio (1*)	Aprox. 60°C	-	-
10	Agua purificada / Lavado	Ambiente	-	-
11	HistoKit Oro Virofijación- Solución A / Cubrir la muestra (2*)	Ambiente	1 minuto	Opcional
12	Agua purificada / Lavado (2*)	Ambiente	-	Opcional
13	HistoKit Oro Virofijación- Solución B / Cubrir la muestra (2*)	Ambiente	2 minutos	Opcional
14	Agua purificada / Lavado (2*)	Ambiente	-	Opcional
15	Solución F (Verde Luz) / Cubrir la muestra (1 mL)	Ambiente	2 minutos	-
16	Deshidratar, aclarar y montar con Bálsamo	Ambiente	-	-

Nota: 1 mL = 20 gotas

Notas técnicas:

La tinción a temperaturas altas significa un desarrollo más rápido de la impregnación, pero puede hacer que se forme un precipitado en la Solución de Trabajo de Metenamina-Plata y se deposite en los portaobjetos. Mantener la solución de plata entre 45°C y 60°C minimizará la precipitación.

(1*) Controlar al microscopio: extraer el preparado "control positivo" de la Solución de Trabajo Metenamina-Plata y sumergir en el frasco con agua purificada a igual temperatura de incubación. Las muestras presentaran una tonalidad marrón claro o "marrón tabaco". De ser insuficiente la impregnación regresar las muestras y continuar incubando con Solución de Trabajo Metenamina-Plata a temperatura durante 5 a 10 minutos más y volver a controlar. Luego continuar con el Paso 9. A partir de los 35 minutos la solución puede comenzar a precipitar, virando a color negro.

(2*) Pasos 11 a 14: Procedimiento de Virofijación con Oro opcional (ver Punto 9. en "Procedimiento"). Reactivo no provisto.

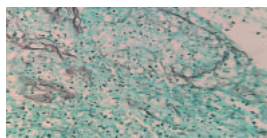
(3*) El procedimiento de microondas sugerido debe tomarse como una guía, y debe ser adecuado según tipo, potencia y nivel de equipamiento en cada laboratorio.

Resultados previstos:

Hongos: Paredes celulares negras nítidas con estructuras internas visibles.

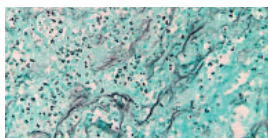
Mucinas: Gris pardo a gris oscuro

Resto de estructuras: Verde pálido



Estructuras micóticas en material mucoido 4x.

Tinción con HistoKit® Hongos seguido de HistoKit® Oro-Virofijación



Estructuras micóticas en material mucoido 10x.

Tinción con HistoKit® Hongos seguido de HistoKit® Oro-Virofijación

Procedencia de muestras:

Se recomienda que la recolección de muestras se realice de acuerdo con las guías y estándares locales de procedimientos de laboratorios.

Todos los derivados sanguíneos o de muestras de tejidos deben considerarse potencialmente infecciosos.

Los manuales de procedimientos histológicos y citológicos estándar proporcionan todos los detalles necesarios para la recolección, manipulación y

almacenaje de las mismas.

Diagnóstico:

El microscopio usado debería corresponder a los requisitos de un laboratorio de diagnóstico médico.

Los diagnósticos y evaluaciones las deben realizar solo personas autorizadas y calificadas. Siempre es recomendable el uso de controles de tinción apropiados para descartar resultados erróneos.

Estabilidad y Almacenamiento:

Almacenar las soluciones pertenecientes a HistoKit® Hongos Grocott a temperatura ambiente entre 15°C y 30°C, protegido de la luz, en sus envases y caja originales. Una vez abierto, puede conservarse en heladera entre 2°C y 8°C.

Verifique la fecha de vencimiento antes de usar. Las soluciones son estables hasta la fecha de vencimiento referida en el envase.

Una vez abierto el envase, manténgalo bien cerrado.

Precauciones:

Se deben seguir las precauciones habituales ejercidas en el manejo de reactivos de laboratorio.

Solamente para uso profesional. El uso y aplicación de este tipo de reactivos debe ser realizado por personal especializado.

El usuario deberá cumplir las directivas locales sobre seguridad en el trabajo y aseguramiento de la calidad.

Protección contra infecciones:

El profesional a cargo del uso o aplicación deberá contar con equipamiento de protección eficaz contra infecciones de acuerdo con las directivas de trabajo establecidas en laboratorios asistenciales o de investigación.

Este producto debe ser utilizado exclusivamente por personal técnico especializado.

Indicaciones para la eliminación de residuos:

Las soluciones usadas y las soluciones caducas deben eliminarse como desecho peligroso, cumpliendo con las regulaciones locales, estatales, provinciales o nacionales acerca del manejo de este tipo de residuos.

El envase del producto debe ser eliminado de acuerdo con las directivas vigentes de eliminación de residuos.

Clasificación de sustancias peligrosas:

Tener en cuenta la clasificación de sustancias peligrosas en la etiqueta y las indicaciones en la ficha de datos de seguridad.

Ficha de seguridad del producto:

Referirse a la Hoja de Seguridad del producto para obtener información sobre riesgo, peligro o medidas de seguridad.

Todos nuestros productos cuentan con su correspondiente ficha técnica y de seguridad, disponibles en forma on line: <https://www.biopack.com.ar>

Información para el consumidor:

El producto está garantizado por el fabricante hasta su fecha de vencimiento si se lo transporta y almacena en las condiciones prescriptas. Ante cualquier consulta, el fabricante puede ser contactado personalmente, por email o por teléfono o ingresando en www.biopack.com.ar solapa de contacto.

Referencias Bibliográficas:

- Grocott, R G, "A Stain for Fungi in Tissue Sections and Smears using Gomori Methenamine Silver Nitrate Technic". American Journal of Clinical Pathology 25 (1955): 975-979.
- Koski, John. "Silver Methenamine Borate (SMB): Cost Reduction with Technical Improvement in Silver Nitrate-Gold Chloride Impregnations." The Journal of Histotechnology 4.3 (1981): 115- 119.
- Carson, Freida L., and Christa Hladik. Histotechnology: A SelfInstructional Text. 3rd ed. Chicago, Ill.: American Society of Clinical Pathologists, 2009. 239-243.
- Sheehan, Deana C., and Barbara B. Hrapchak. Theory and Practice of Histotechnology. 2nd ed. St. Louis: Mosby, 1980. 245- 246.
- Laboratorio de anatomía patológica, Raimundo García del Moral, 1er edición, Mc Graw-Hill-Interamericana.
- Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition.
- Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology, 3rd ed., LG Luna, Editor, McGraw Hill, New York, 1968.



Elaborador



Consultar instrucciones de uso



Reactivo de uso in vitro



Número de Catálogo



Contiene suficientes para <n> pruebas



Elaborado por:
SISTEMAS ANALITICOS S.A.

Ruta Nacional 9 km 105,5.
(2800) Zarate, pcia. Buenos Aires
Republica Argentina.



www.biopack.com.ar

Director técnico: Marcelo L. Palacios, Farmacéutico M.N. 12407.

Reactivo de Diagnostico de Uso in Vitro

Producto autorizado por ANMAT, Certificado PM-1132-16.

Uso profesional exclusivo

**Sistemas
Analíticos**