



- **Materia:** METODOS, INSTRUMENTOS Y TECNICAS DE DIAGNOSTICO VETERINARIO

- **Tema:** INVESTIGACION "TINCIONES"

- **Carrera:** Medicina veterinaria y zootecnia

- **Cuatrimestre:** 3º

- **Alumno:** Edgar Uriel Encino López

En su mayor parte los microorganismos son demasiado pequeños para observarse a simple vista: protozoos, algas, hongos, bacterias y virus.

Estos microorganismos difieren en características tales como forma de nutrición, estructura, tamaño, composición entre otros aspectos; es por ello que se emplea el estudio microscópico el facilita notablemente la observación; principalmente en las bacterias se facilita al tratarlas con colorantes o tintes los cuales facilitan también la observación de ciertas estructuras celulares.

TINCIÓN.

Una tinción o coloración es una técnica auxiliar utilizada en microscopía para mejorar el contraste en la imagen vista al microscopio. Los colorantes y tinturas son sustancias que usualmente se utilizan en biología y medicina para resaltar estructuras en tejidos biológicos que van a ser observados con la ayuda de diferentes tipos de microscopios. Los diferentes colorantes pueden ser utilizados para aumentar la definición y examinar grandes cortes de tejido o poblaciones celulares.

TIPOS DE TINCIÓN PARA DIAGNOSTICO VETERINARIO

La **tinción simple** es un procedimiento de tinción rápido y sencillo en el cual se emplea un solo colorante, por eso se denomina simple. Se utiliza principalmente para determinar la morfología y la organización de las células presentes en una muestra.

Naturalmente las células no tienen color, por lo que es necesario hacerlas visibles de alguna manera cuando se observan en el microscopio

Es importante destacar que los colorantes empleados en la tinción simple deben ser básicos con carga positiva (catiónicos), para que puedan unirse espontáneamente a la pared y al citoplasma celular.

Estas estructuras celulares están cargadas negativamente. Por esto el colorante, cargado positivamente, se ve atraído por las células y se une a estas de manera espontánea. Así, se colorean rápidamente todas las células presentes en una muestra

Colorantes empleados en la tinción simple

Existen varios colorantes básicos que se pueden usar en el laboratorio de microbiología. Los más empleados son:

- Azul de metileno.
- Violeta de cristal.
- Verde malaquita.
- Fucsina básica.

Todos estos colorantes funcionan bien en las bacterias porque tienen iones de color (cromóforos) con carga positiva (catiónicos).

TINCION ACIDO RESISTENTE

La **tinción de Ziehl-Neelsen** es una técnica de coloración para identificar microorganismos alcohol-ácido resistentes (AAR). El nombre de este procedimiento de microbiología hace referencia a sus autores: el bacteriólogo Franz Ziehl y el patólogo Friedrich Neelsen

Esta técnica es un tipo de coloración diferencial, lo que implica el uso de distintos colorantes con la finalidad de crear contraste entre las estructuras que se desean observar, diferenciar y posteriormente identificar. La tinción de Ziehl-Neelsen sirve para identificar ciertos tipos de microorganismos.

Algunos de estos microorganismos son micobacterias (por ejemplo, *Mycobacterium tuberculosis*), nocardias (por ejemplo, *Nocardia* sp.) y algunos parásitos unicelulares (por ejemplo, *Cryptosporidium parvum*). Muchas de las bacterias pueden clasificarse a través de una técnica común llamada tinción de Gram.

El fundamento de esta técnica de tinción se basa en las propiedades de la pared celular de estos microorganismos. La pared está formada por un tipo de ácidos grasos llamados ácidos micólicos; estos se caracterizan por presentar cadenas muy largas. Cuando los ácidos grasos presentan estructuras muy largas, estos pueden retener los colorantes con mayor facilidad

En la tinción de Ziehl-Neelsen se utiliza el compuesto fenólico carbol fucsina, un colorante básico. Este tiene la capacidad de interactuar con los ácidos grasos de la pared celular, la cual es de textura cerosa a temperatura ambiente.

La tinción con carbol fucsina es mejorada en presencia de calor, debido a que la cera se derrite y las moléculas de colorante se mueven con mayor rapidez hacia el interior de la pared celular.

El ácido que se usa posteriormente sirve para decolorar las células que no fueron teñidas porque su pared no era lo suficientemente afín al colorante; por lo tanto, la fuerza del decolorante ácido es capaz de eliminar el colorante ácido. Las células que resisten esta decoloración se llaman ácido-resistentes.

TINCIÓN GIEMSA

La **tinción de Giemsa** es un tipo de coloración de muestras clínicas, basada en la mezcla de colorantes ácidos y básicos. Su creación estuvo inspirada por el trabajo realizado por Romanowsky, donde Gustav Giemsa, químico y bacteriólogo originario de Alemania, la perfeccionó agregando glicerol para estabilizar los compuestos.

Por ser una técnica sencilla de realizar, de gran funcionabilidad y económica es actualmente muy utilizada en el laboratorio clínico para frotis hematológicos, muestras de médula ósea y cortes de tejido

La técnica de tinción de Giemsa es muy útil para estudios citológicos, ya que permite la observación de estructuras específicas de las células. Esta técnica tiñe los citoplasmas, núcleos, nucléolos, vacuolas y gránulos de las células, pudiéndose distinguir incluso finas trazas de cromatina.

Se pueden detectar cambios significativos en el tamaño, forma o coloración del núcleo, donde es posible visualizar la pérdida de la relación núcleo – citoplasma. Permite identificar células inmaduras en médula ósea y sangre periférica, siendo importante para el diagnóstico de enfermedades graves como la leucemia. También es posible detectar hemoparásitos, bacterias extra e intracelulares, hongos, entre otros

Los colorantes tipo Romanowsky tienen como fundamento utilizar un contraste entre colorantes ácidos y básicos, para lograr teñir las estructuras básicas y ácidas respectivamente.

El colorante básico utilizado es el azul de metileno y sus derivados oxidados (Azure A y Azure B), mientras que el colorante ácido es la eosina.

Las estructuras ácidas de las células son los ácidos nucleicos, los gránulos de los segmentados basófilos, entre otras, por tanto serán teñidos con el azul de metileno.

En este mismo sentido, las estructuras básicas de las células son la hemoglobina y algunos gránulos como los contenidos en los segmentados eosinófilos, entre otras; estos serán teñidos con la eosina.

TINCION DE ESPORAS

La **tinción de esporas** es la metodología usada para colorear las estructuras de resistencia que forman algunos géneros bacterianos cuando se encuentran en condiciones desfavorables; estas estructuras corresponden a una forma de supervivencia.

Cada bacilo puede dar origen a una espora. Al momento de teñir la preparación, la espora se puede encontrar dentro del bacilo (endospora) o fuera de este (exospora). Con las técnicas de coloración convencionales para bacterias —como la tinción de Gram— las esporas quedan incoloras.

Las esporas no se tiñen con las coloraciones convencionales debido a que poseen una pared muy gruesa. La compleja composición de las esporas impide la entrada de la mayoría de los colorantes.

La espora es una estructura deshidratada que contiene un 15 % de calcio y ácido dipicolínico. Por ello, la mayoría de las técnicas de coloración de esporas se basan en la aplicación de calor para que el colorante pueda penetrar la gruesa estructura.

TINCION DE CAPSULA

La **tinción de cápsula** es una técnica de coloración diferencial que tiene la propiedad de resaltar la estructura polisacárida que rodea a ciertas bacterias y levaduras denominada cápsula. Se utiliza en los laboratorios clínicos para ayudar al diagnóstico de ciertas patologías originadas por microorganismos capsulados.

Existen varias técnicas sencillas para demostrar la presencia de la cápsula en los microorganismos que la poseen, estas son: la tinción negativa, la tinción de Anthony y una variante que combina las dos anteriores.

Esta técnica utiliza nigrosina o tinta china y se fundamenta en crear un contraste entre el fondo del preparado y la cápsula impenetrable del microorganismo. El fondo se tiñe de oscuro y la cápsula queda incolora. De esta manera se pone en evidencia esta estructura.

La cápsula es una estructura fuerte de naturaleza polisacárida. Esta protege a los microorganismos de la fagocitosis, y por tanto es una estructura difícil de penetrar.

Todas las técnicas que se utilizan para colorear la cápsula poseen el mismo fundamento a pesar de que utilizan colorantes y procedimientos diferentes.