

- 
- **Materia: Métodos, instrumentos y técnicas de diagnóstico veterinario.**
 - **Tema: Tipos de tinciones y su uso en el diagnóstico veterinario**
 - **Carrera: Lic. Medicina Veterinaria Y Zootecnia**
 - **Cuatrimestre: 3º**
 - **Alumno: Orinaldo Fabian San Martin San Martin**

Las tinciones son las primeras herramientas que se utiliza en el laboratorio para el diagnóstico de las enfermedades infecciosas. Desde hace más de un siglo han ayudado a resolver problemas de etiología microbiana. Hay una gran variedad de tinciones, que se han ido desarrollando para la detección de los diferentes agentes infecciosos –en los que se incluyen bacterias, parásitos y hongos–. La tinción de Gram se considera básica en la valoración inicial de muestras para análisis bacteriológico, mientras que la tinción de Wright se ocupa para el diagnóstico de enfermedades muy particulares en el rubro de la parasitología. Hay técnicas tintoriales específicas de gran utilidad, como la tinción de Ziehl-Neelsen, que se utiliza para el diagnóstico de enfermedades crónicas como la tuberculosis o la actinomicosis, o la tinción de azul de lactofenol, que preserva e identifica a los componentes estructurales de los hongos.

Un colorante se define como una sustancia capaz de dar color a células, tejidos, fibras, etcétera. De acuerdo con su origen, se pueden dividir en: colorantes naturales, los cuales son extraídos de plantas o animales, y colorantes artificiales, que son aquellos de minerales procesados y manipulados en el laboratorio. Químicamente, el colorante está constituido de un componente cromóforo y un auxócromo. El cromóforo es todo grupo aislado, covalente e insaturado, que tiene una absorción característica en la región ultravioleta o visible; dicho de otra forma, es la capacidad que tiene la molécula para que sus electrones absorban energía o luz visible, se exciten y emitan diversos colores de acuerdo con la longitud de emitida como resultado del cambio en el nivel energético. Las tinciones se pueden clasificar como simples cuando toda la muestra se tiñe del mismo color y se utiliza un sólo colorante (azul de lactofenol o tinta china); tinción diferencial, cuando se visualiza más de un color porque se utiliza más de un colorante (Gram o Ziehl-Neelsen); tinción específica, cuando se utilizan anticuerpos marcados con una molécula fluorescente para identificar

una estructura celular en particular (inmunocitoquímico). Algunas técnicas tintoriales como Gram o Ziehl-Neelsen requieren antes de su proceso la fijación de las muestras, con la finalidad de preservar la arquitectura estructural y química de las células. Quizá el método físico con mayor utilización en microbiología es el calor seco, que consiste en exponer directamente la laminilla a la flama del mechero, con esto se logra detener los procesos vitales de las células y los microorganismos. Sin embargo, la sobreexposición, o la exposición en una zona incorrecta de la flama (zona fría, zona caliente y zona de fusión) repercutirán en el efecto deseado; es muy común provocar alteraciones morfológicas y destrucción celular. Este método preserva el extendido por poco tiempo, por lo que se recomienda utilizar un método químico, que precipite proteínas, antes de teñir. Los métodos químicos ofrecen mejores resultados para la fijación, ya que son líquidos con potencial alto de difusión intracelular y detienen procesos enzimáticos que provocan autólisis. Los reactivos poseen la capacidad de interactuar con biomoléculas como proteínas, glicoproteínas, peptidoglicanos, lípidos, glicolípidos, lipoproteínas, pigmentos, ácidos pépticos y nucleicos. El metanol es el reactivo que se encuentra al alcance de todos los laboratorios; es un reactivo reductor, deshidratador, y es clasificado como fijador coagulante, de tal manera, coagula proteínas y las hace insolubles, pero sin desnaturalizarlas. La concentración ideal es 99%. El metanol preserva la integridad de los ácidos nucleicos, por lo que también es ideal para inmunohistoquímica e hibridación.

Tinción de Gram: Esta tinción es un procedimiento de gran utilidad empleado en los laboratorios donde se manejan pruebas microbiológicas. Es definida como una tinción diferencial, ya que utiliza dos colorantes y clasifica a las bacterias en dos grandes grupos: bacterias Gram negativas y bacterias Gram positivas. Fue desarrollada por el científico danés Hans Christian Gram en 1884; hoy en día, sigue siendo una de las tinciones más utilizadas universalmente debido a lo económico, sencillas y eficaz que resulta. Los principios de la tinción de Gram están basados en las características de la pared celular de las bacterias, la cual

le confiere propiedades determinantes a cada microorganismo. La pared celular de las bacterias Gram negativas está constituida por una capa fina de peptidoglicano y una membrana celular externa, mientras que las bacterias Gram positivas poseen una pared celular gruesa constituida por peptidoglicano, pero no cuentan con membrana celular externa; así pues, la composición química y el contenido de peptidoglicano en la pared celular de las bacterias Gram negativas y Gram positivas explica y determina las características tintoriales

Tinción de Wright: La tinción de Wright es una técnica que se emplea generalmente para la diferenciación de elementos celulares de la sangre y es clasificada como una tinción poli cromática, dado que puede teñir compuestos ácidos o básicos presentes en una célula. Fue desarrollada por el patólogo James Homer Wright en 1902 a partir de la modificación de la ya existente tinción de Romanowsky, utilizada para diferenciar elementos formes de la sangre. El reactivo de Wright está compuesto por eosina y azul de metileno, cuando éste se oxida se conoce como azur B a una concentración de 0.8 g/L empleando como solvente alcohol metílico. La eosina es un colorante ácido que tiene afinidad por componentes alcalinos. Existen dos compuestos conocidos como eosina y que están intrínsecamente relacionados: eosina Y, conocida también como tetrabromofluoresceína –o, comúnmente, eosina amarilla–, y la eosina B, conocida como dibromodinitrofluoresceína o eritrosina B azulada. Ambos compuestos son intercambiables, sin que sean notables las diferencias entre ellos en el resultado de la tinción, por lo que la preferencia de una sobre otra no sigue un criterio objetivo. A pesar de ello, la eosina Y es la más utilizada en procedimientos rutinarios. Es un compuesto ácido cuya propiedad está basada en su polaridad negativa, lo que le permite enlazarse con constituyentes celulares de carga positiva; por esta razón, colorea componentes citoplasmáticos y se les conoce como acidófilos. La tonalidad resultante de la tinción con eosina es rosada-anaranjada para citoplasmas, y rojo intenso en el caso de los eritrocitos.

Tinción de Ziehl-Neelsen: La tinción de Ziehl-Neelsen es la técnica comúnmente usada en el diagnóstico rutinario de tuberculosis. Es una técnica rápida, fácil y de bajo costo, lo que permite que se pueda realizar en casi cualquier laboratorio clínico. Esta tinción permite diferenciar a las bacterias en dos grupos: aquellos que son capaces de resistir la decoloración con alcohol-ácido y aquellos que no lo son y la especificidad del 98%, teniendo un límite de detección de 5,000-10,000 bacilos/ml de muestra. El agente etiológico de la tuberculosis fue descrito por Heinrich Hermann Robert Koch, quien, basándose en las características de las micobacterias, desarrolló una de las primeras tinciones utilizando azul de metileno seguido de la tinción de Bismarck. Sin embargo, fueron los trabajos de Paul Ehrlich los que definieron la resistencia a la decoloración por alcohol-ácido, y las últimas modificaciones a la tinción fueron realizadas por los científicos alemanes Franz Ziehl y Karl Adolf Neelsen. La tinción se basa en colocar carbol-fucsina y calentar la preparación ligeramente para solubilizar las ceras, lípidos y otros ácidos grasos de la pared celular para que permita el paso libre del colorante, el cual tiene una enorme afinidad por los ácidos micólicos presentes en la pared. Al enfriar con agua, los componentes de la pared vuelven a solidificar, resistiendo la acción abrasiva del alcohol-ácido, y el azul de metileno se utiliza como contratinción.