

a tinción de Ziehl Neelsen (ZN), es una técnica de coloración de microorganismos para la identificación de patógenos, como *Micobacteria tuberculosis* causante de la tuberculosis, que requiere de tres (03) soluciones: Carbol Fucsina Fenicada Azul de Metileno al 1% y Solución Decolorante, que se elaboran en la Sección de Reactivos y Colorantes del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel y se emplean en el diagnóstico de tuberculosis

La tuberculosis (TB) es una enfermedad causada por *Micobacteria tuberculosis*, una bacteria que casi siempre afecta a los pulmones. Se trata de una afección curable y que se puede prevenir. La infección se transmite de persona a persona a través del aire. Cuando un enfermo de TB pulmonar tose, estornuda o escupe, expulsa bacilos tuberculosos al aire. Basta con que una persona inhale unos pocos bacilos para quedar infectada.

La tuberculosis (TB) es una enfermedad causada por *Micobacteria tuberculosis*, una bacteria que casi siempre afecta a los pulmones. Se trata de una afección curable y que se puede prevenir. La infección se transmite de persona a persona a través del aire. Cuando un enfermo de TB pulmonar tose, estornuda o escupe, expulsa bacilos tuberculosos al aire. Basta con que una persona inhale unos pocos bacilos para quedar infectada.

La tinción ZN se fundamenta en la estructura de las paredes celulares de las micobacterias que contienen lípidos y otros ácidos grasos (ácidos micólicos) de elevado peso molecular, que les confieren la propiedad de resistir la decoloración con alcohol-ácido, después de la tinción con colorantes básicos calientes, por lo que se denominan bacterias *ácido resistentes* o *ácido-alcohol resistentes*. 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, donde el azul de metileno se utiliza como contra tinción.

Se prepararon tres (03) lotes del kit ZN, cada uno contentivo de: Carbol Fucsina Fenicada (Fucsina Básica), Solución de Azul de Metileno al 1% y Solución de Alcohol Ácido (Decolorante); con su respectiva contramuestra, envasados en frascos ámbar <sup>(5)</sup>, elaborados por el mismo operario en la misma fecha y usando los mismos equipos, siguiendo procedimientos documentados.

Para ello, se preparó una suspensión de *M. peregrinum* ATCC 700686 y *S. aureus* ATCC 29213, en agua estéril con una turbidez comparable con el Mc Farland 0,5. Posteriormente se realizó la mezcla de 50 uL de cada suspensión, se mezcló y se colocó una gota en la lámina portaobjeto, Se dejó secar y luego se realizó la coloración por la técnica de ZN. Se visualizó con el microscopio a 100X, tomando en consideración: buena coloración de los bacilos ácido resistentes, coloración de contraste adecuada, definición de la coloración roja y azul, respectivamente, así como la presencia o no de precipitados

## Tinciones Hematológicas - Giemsa:

Las tinciones hematológicas pueden definirse como el conjunto de técnicas o procedimientos necesarios para teñir los elementos celulares de la sangre, para poder ser observados e identificados bajo el microscopio. Para ello es necesario hacer uso de colorantes, los cuales interactúan con los componentes celulares de la sangre y los tiñen según su afinidad química. Existen varias técnicas de coloraciones para células sanguíneas, pero las técnicas basadas en coloraciones tipo Romanowsky son de las utilizadas con mayor frecuencia.

Los colorantes tipo Romanowsky consisten en mezcla de colorantes ácidos (eosina) y básicos (Azul de metileno, azur A, azur B y azur C) y fue utilizada por primera vez por el químico Dmitry Leonidovich Romanowsky para evidenciar el núcleo del parásito del paludismo, para ello, se basó en la idea del Teñido Neutro de Erlich, que consiste en dejar que un colorante básico reaccione con otro ácido para dar lugar a un compuesto de nuevas propiedades. De esta forma, combinada la eosina, colorante ácido, con el azul de metileno, colorante básico derivado de las tiazinas, obtuvo no sólo un aceptable visualización del parásito del paludismo, sino también una amplia gama de colores que, aplicados a las células sanguíneas, constituyen el principio básico para la observación morfológica en el microscopio.

Posteriormente, la técnica de Romanowsky fue perfeccionada por Leishman y Jenner, en Inglaterra y por May-Grünwald y Reuter, en Alemania, quienes consiguieron una mayor estabilidad de los colorantes y una mayor reproducibilidad del método de tinción aplicado a las extensiones de células sanguíneas. Siendo así, como el colorante de Romanowsky pasó a ser la base de colorantes como Wright, Giemsa o Leishman.

En el laboratorio clínico, la tinción de Giemsa es una de las más utilizadas por su facilidad metodológica y por la calidad de sus propiedades diferenciales. La tinción de Giemsa está catalogada como tinción tipo Romanowsky, el cual básicamente es una solución en metanol de un colorante ácido (eosina) y dos colorantes básicos (azur y azul de metileno). Estos colorantes teñirán las estructuras celulares dependiendo de su carácter ácido o básico.