



NOMBRE: OLIVER FAUSTINO PAREDES
MORATAYA

ASESOR: Dr. ENRIQUE EDUARDO ARREOLA
JIMENEZ

TAREA DE PLATAFORMA 4

UNIVERSIDAD DEL SURRESTE

LICENTURA EN MEDICINA HUMANA

UDS
Mi Universidad



ESCUELA DE
MEDICINA
U D S

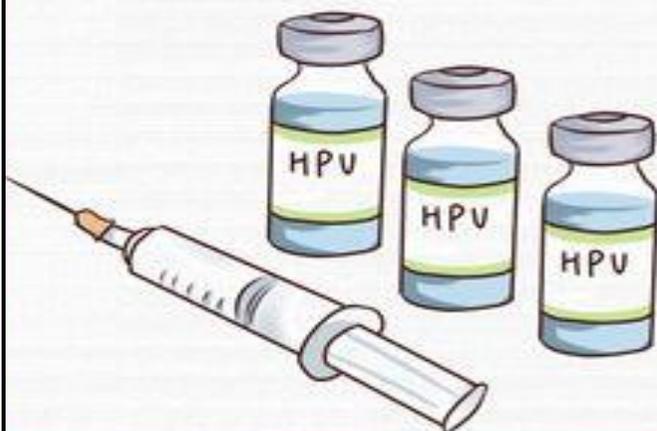


Tabla de contenido

INTRODUCCION	3
DESARROLLO	3
Tinción de Ziehl-Neelsen	3
TINCIÓN DE GIEMSA.....	5
CONCLUSION	7
Bibliografía	7

INTRODUCCION

En este trabajo vamos a ver las tinciones en microbiología son las primeras herramientas que se utilizan 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, a. 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. Las diferentes tinciones en el laboratorio microbiológico tienen una utilidad fundamental para el diagnóstico y tratamiento oportuno de múltiples patologías de etiología infecciosa.

DESARROLLO

Tinción de Ziehl-Neelsen

La tinción de Ziehl-Neelsen es la técnica comúnmente usada en el diagnóstico rutinario de tuberculosis.^{22,23} Es una técnica rápida, fácil y de bajo costo,²⁴ 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.²⁵ La sensibilidad de esta tinción para identificar bacilos ácido-alcohol resistentes es del 74% y la especificidad del 98%,²⁶ teniendo un límite de detección de 5,000-10,000 bacilos/mL de muestra.²⁷ 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.²⁶ El género *Mycobacterium* es el único miembro en la familia *Mycobacteriaceae* y está relacionado con otros géneros que contienen ácidos micólicos.

Cuadro I. Evaluación y reporte de las laminillas teñidas por Ziehl-Neelsen.	
Reporte	Número de bacilos ácido-alcohol resistentes teñidos por Ziehl-Neelsen. Objetivo de inmersión (100X)
Negativo	0
Dudoso/ repetir	1-2/300 (3 barridos) C ^a
1+	1-9/100 C ^a (1 barrido)
2+	1-9/10 C ^a
3+	1-9/C ^a
4+	> 9/C ^a
C ^a = campos del microscopio Barrido.- Se refiere las observaciones de la laminilla	

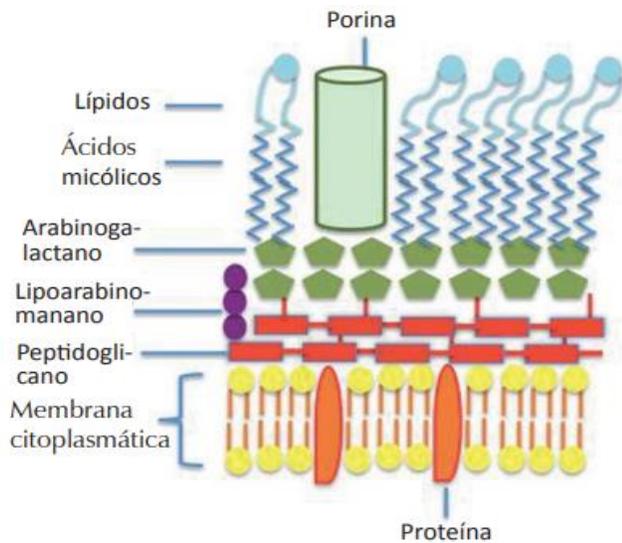


Figura 4. Representación esquemática de la composición de la pared celular de las micobacterias.

C^o = campos del microscopio
Barrido.- Se refiere las observaciones de la laminilla

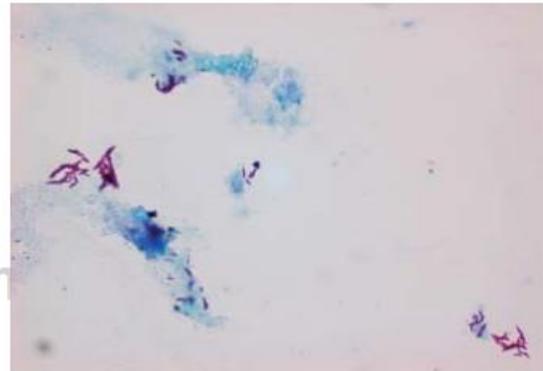


Figura 5. Fotomicrografía de una muestra de expectoración donde se observan los bacilos de color rojo fucsia (*Mycobacterium* spp)(aumento 100x).

Imagen en color en: www.medigraphic.com/rid

(*Gordonia*, *Tsukamurella* y *Rhodococcus*), los cuales también pueden ser teñidos con esta tinción.^{20,25,28} La pared celular de las micobacterias es extremadamente compleja en cuanto a su composición bioquímica; dicha característica es la que se ha aprovechado para realizar la tinción de Ziehl-Neelsen. La pared celular está compuesta por ácido mesodiaminopimélico, alanina, ácido glutámico, glucosamida, ácido murámico, arabinosa y galactosa (Figura 4). Los ácidos micólicos (70-90 número de átomos de carbono) junto con lípidos libres (ej. trealosa-6,6'-dimicolato) proveen a la célula de una barrera hidrofóbica. Otros ácidos grasos importantes son: ceras, fosfolípidos, ácidos micoséricos y phtienoico.¹⁸ 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 solidificarse, resistiendo la acción abrasiva del alcohol-ácido, y el azul de metileno se utiliza como contratinción (Figura 5).¹⁸ Las muestras clínicas útiles para su uso son múltiples, como el líquido cefalorraquídeo, líquido pleural, líquido sinovial, líquido pericárdico, biopsias para cultivo, abscesos, aspirados, crecimiento de colonias aisladas en medios de cultivo, expectoraciones, aspirados endotraqueales y lavados bronquioalveolares. Una tinción positiva es aquella en la que se observan bacilos ácido-alcohol resistentes, los cuales son de color rojo fucsia.

TINCIÓN DE GIEMSA

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.

Principio Usada en hematología, la tinción de Giemsa permite la diferenciación de las distintas células sanguíneas. La solución de Giemsa colorea y revela eritrocitos, basófilos, eosinófilos, polimorfonucleares, linfocitos, plaquetas y la cromatina de los núcleos.

Material Sangre

Procedimiento

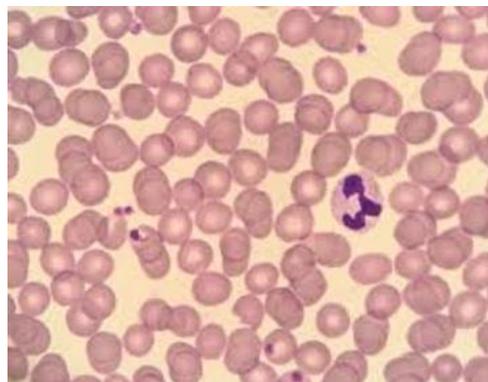
1. Preparar una extensión de sangre bien fina en un porta limpio, dejar secar (1-2 horas aproximadamente).
2. Cubrir la preparación con metanol durante 3 minutos.
3. Dejar escurrir y secar al aire.
4. En el momento de empezar la segunda fase de la tinción, tomar 0,2 ml de Azur-Eosina-Azul de Metileno solución según Giemsa (lento) y diluir en 2 ml de solución tampón pH 7,2.

Homogeneizar.

5. Cubrir la preparación con esta solución diluida durante 25 minutos.
6. Lavar durante dos minutos con solución tampón pH 7,2.
7. Dejar secar la preparación al aire, en posición vertical.
8. Observar la preparación con objetivo de inmersión.

Estas coloraciones permiten distinguir los siguientes aspectos morfológicos y estructuras celulares:

- Forma, dimensiones y contorno de las células sanguíneas.
- Núcleo celular y restos de cromatina, de color púrpura.
- Citoplasma de linfocito, en color azul.
- Citoplasma de monocitos, color grisáceo.
- Granulaciones de los polimorfos nucleares.
- Eritrocitos, de color rosa pálido
- Reticulocitos, color azulado.



Material

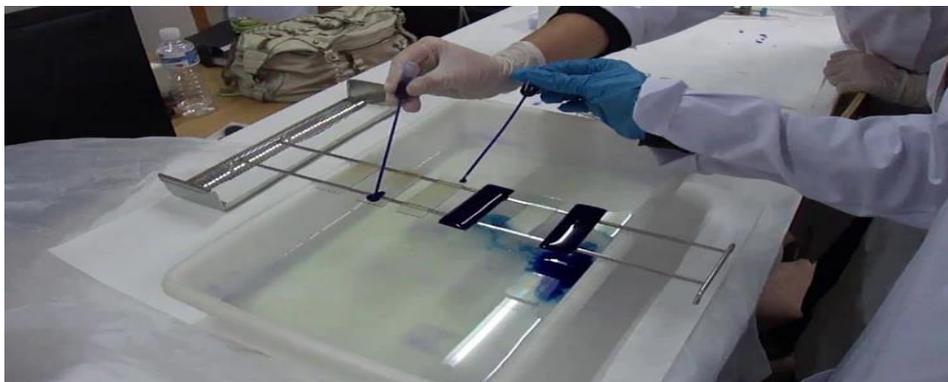
- Frotis sanguíneo seco y rotulado.
- Cubeta.
- Varillas paralelas.
- Frasco lavador con agua destilada.
- Pipetas pasteur.
- Cronómetro.

Reactivos

- Metanol como solución fijadora.
- Colorante de Giemsa.

Técnica

1. Llenar de agua la cubeta para que los colorantes no se peguen al fondo.
2. Colocar las varillas paralelas sobre los bordes de la cubeta.
3. Colocar las extensiones sanguíneas sobre las varillas paralelas.
4. Cubrir las extensiones con metanol y esperar 4-5 minutos.
5. Decantar para eliminar el metanol.
6. Cubrir las extensiones con solución extemporánea de Giemsa recién diluída a 1/10 (1 gota de Giemsa por 9 gotas de agua destilada) y dejar actuar durante 25 minutos.
7. Lavar las extensiones con agua destilada para eliminar los restos de colorante.
8. Secar las extensiones al aire, colocas en vertical.
9. Observar los frotis sanguíneos teñidos al microscopio óptico.



CONCLUSION

Las tinciones utilizadas en el laboratorio de microbiología permiten el diagnóstico oportuno y sugerente de los agentes infecciosos, por lo que juegan un papel importante en la decisión del tratamiento inicial de las enfermedades infecciosas. Se debe practicar la tinción adecuada de acuerdo con el agente infeccioso en sospecha y el tipo de muestra clínica. Las tinciones son herramientas elementales, vigentes y de uso universal que coadyuvan al diagnóstico microbiológico.

Bibliografía

1. Decré D, Barbut F, Petit JC. Role of the microbiology laboratory in the diagnosis of nosocomial diarrhea. *Pathol Biol (París)*. 2000; 48: 733-744.
2. Keller PJ. Imaging morphogenesis: technological advances and biological insights. *Science*. 2013; 340: 123-168.
3. Madison BM. Application of stains in clinical microbiology. *Biotech Histochem*. 2001; 76: 119-125.
4. Luis SBM, Altava B. Introducción a la química orgánica. Universitat Jaume;1997.
5. Fung DC, Theriot JA. Imaging techniques in microbiology. *Curr Opin Microbiol*. 1998; 1: 346-351.
6. Ronay V, Attin T. Black stain –a review. *Oral Health Prev Dent*. 2011; 9: 37-45.
7. Guarner J, Brandt ME. Histopathologic diagnosis of fungal infections in the 21st century. *Clin Microbiol Rev*. 2011; 24: 247-280.