

2.5.3: Coloración de Ziehl-Neelsen (tinción diferencial para bacterias ácido-alcohol resistentes)

Se trata de un procedimiento de tinción diferencial, conocido como método de Ziehl-Neelsen, que tiene gran relevancia por su aplicación clínica. Permite poder distinguir aquellos microorganismos cuya coloración resiste la acción de alcoholes y ácidos suaves (ácido-alcohol resistentes) de otros que no resisten la decoloración (ácido alcohol sensibles)

Procedimiento

- Sobre el preparado ya fijado se vierte la solución de fucsina de Ziehl sin diluir.
- Se calienta hasta que empiecen a desprenderse vapores blancos, haciendo pasar por debajo del portaobjetos la llama de un hisopo embebido en alcohol. Se repite tres veces el procedimiento.
- Dejar enfriar 5 min y lavar con agua.
- Decolorar con una solución de ácido clorhídrico al 3% (V/V) en etanol de 95% (mezcla alcohol-ácido), hasta la decoloración casi total del frotis.
- Lavar con agua.
- Cubrir unos minutos con solución de Azul de Metileno (según Loeffler).
- Lavar con agua, secar y observar al microscopio con el objetivo de inmersión.

Resultado

Las bacterias ácido-alcohol resistentes (bacilos de la tuberculosis, lepra y otras Micobacterias) se observan de color rojo sobre el contraste azul de otras células bacterianas o restos celulares

pertenecientes a los organismos sensibles a esta decoloración ácida (Figura 2.4).

Fundamento

Ciertos microorganismos especialmente los del género *Mycobacterium* (*M. tuberculosis*, *M. leprae*, etc.) y *Nocardia* tienen dificultades para colorearse con las tinciones simples y aún con la de Gram, por lo cual se los denomina bacilos ácido-alcohol resistentes (BAAR).

Dichos microorganismos contienen una gran cantidad de ceras asociadas a la mureína de la pared celular. Estas ceras (lípidos sólidos) contienen ácidos grasos de cadena muy larga (ácidos micólicos) que serían la causa de la resistencia a los métodos habituales de tinción. Por lo tanto, es necesario usar una alta concentración del colorante primario (fucsina de Ziehl o carbolfucsina) y aplicar calor suave sobre la preparación (el calentamiento derrite la cera y aumenta la penetración y la retención del colorante). A continuación el extendido se trata con ácido-alcohol, un decolorante que elimina el color rojo de las bacterias que no son ácido- alcohol resistentes. Los BAAR retienen el color rojo porque las ceras vuelven a solidificarse al enfriarse y por lo tanto, no actúa el decolorante. Las células que no son ácido-alcohol resistentes permanecerán incoloras hasta que se coloree el extendido con azul de metileno, que actúa como colorante de contraste. Las bacterias que no son ácido-alcohol resistentes aparecerán de color azul después de la aplicación del colorante de contraste.

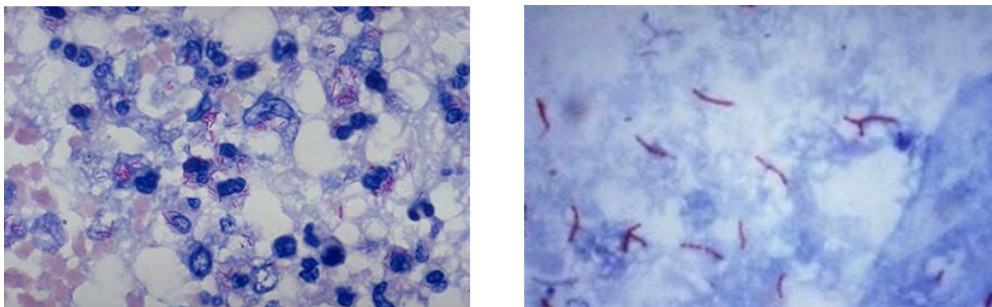


Figure 2.5.3.1: Tinción de Ziehl-Neelsen (http://es.Wikipedia.org/wiki/Tinci%C3%B3n_de_Ziehl-Neelsen).

This page titled [2.5.3: Coloración de Zielhl-Neelsen \(tinción diferencial para bacterias ácido-alcohol resistentes\)](#) is shared under a [not declared](#) license and was authored, remixed, and/or curated by [María M. Reynoso](#), [Carina E. Magnoli](#), [Germán G. Barros](#) y [Mirta S. Demo](#).