



## COLORACIÓN BK

Juego de soluciones para la coloración de micobacterias según Ziehl-Neelsen para microscopía



### USO PREVISTO

Los reactivos de coloración B.K. se utilizan para teñir frotis preparados a partir de muestras y cultivos que se sospecha que contienen micobacterias, para el diagnóstico de sospecha precoz de infección micobacteriana y la caracterización de aislados bacterianos.

### PRINCIPIO

La coloración de Ziehl-Neelsen es una técnica de coloración diferencial que se basa en que las paredes celulares de ciertos parásitos y bacterias contienen ácidos grasos (ácidos micólicos) de cadena larga (50 a 90 átomos de carbono) que les confieren la propiedad de resistir la decoloración con alcohol-ácido, después de la coloración con colorantes básicos. Las micobacterias absorben los colorantes sólo muy lentamente debido a la elevada proporción de ceras y lípidos en la pared celular. Para acelerar la absorción del colorante fucsina y así la formación del complejo micolatofucsina en la pared celular, se calienta la solución de fucsina fenicada aplicada sobre el preparado normalmente hasta formación de vapores. Una vez las micobacterias han absorbido el colorante, difícilmente lo ceden a pesar del tratamiento con solución decolorante Alcohol-Ácido. Por esto se denominan Bacilos alcohol ácido resistentes o BAAR y aparecen en el preparado microscópico teñidas de rojo, mientras que todos los microorganismos no resistentes a los ácidos se tiñen de acuerdo con la contraindicación.

### CONTENIDOS

**R 1** **FUCSINA FENICADA B.K.** - Listo para su uso  
Fucsina Básica, Fenol, Alcohol Etilíco al 96%,  
Agua Desmineralizada tipo II

**R 2** **ALCOHOL ACIDO B.K.**- Listo para su uso  
Ácido Nítrico, Alcohol Etilíco al 96%,

**R 3** **AZUL DE METILENO B.K. SEGUN LOEFFLER**  
- Listo para su uso.  
Azul de Metileno, Alcohol Etilíco al 96%, Agua desmineralizada tipo II

### PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Todos los reactivos están listos para su uso.

### ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Las soluciones deben almacenarse entre 15°C y 30°C y protegidos de la luz. Después de abierto el contenido almacenado entre 15°C y 30°C y protegidos de la luz es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- Temperaturas inferiores a 15°C puede precipitar colorantes de las soluciones colorantes.
- Los frascos deben mantenerse siempre bien cerrados.

### PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- La solución R1 FUCSINA FENICADA B.K. y la solución R3 AZUL DE METILENO B.K. SEGUN LOEFFLER son irritantes en contacto con piel, ojos y mucosas.
- La solución R2 ALCOHOL ACIDO B.K. es inflamable, por lo tanto se deben tomar los cuidados requeridos para el manejo de productos inflamables en el laboratorio.

- Observe la simbología en los rótulos de las soluciones.
- Las soluciones usadas y las caducadas deben eliminarse como desechos especiales, debiendo cumplir las regulaciones locales para el desecho de compuestos peligrosos.

### MATERIALES ADICIONALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

- Microscopio
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Cubeta de coloración
- Frasco lavador
- Agua
- Mechero
- Cronometro y/o timer

### MUESTRAS

Espustos, biopsias por aspiración con aguja fina, líquidos de lavados, pus, exudados, pus, material de cultivos líquidos y sólidos. Aplicar la muestra de análisis a un portaobjetos de vidrio limpio de manera que se produzca un frotis delgado y uniforme. Dejar que el frotis se seque al aire.

Fijar el frotis con calor pasando el portaobjetos por una pequeña llama entre 2 y 3 veces. Deje enfriar el portaobjeto a temperatura ambiente antes de realizar la coloración.

**Nota:** No sobrecaleantar el portaobjetos; el calentamiento excesivo causará una coloración atípica.



Toda muestra biológica debe ser considerada como potencialmente infecciosa.

### PROCEDIMIENTO

- Cubrir la preparación (Placa) con FUCSINA FENICADA B.K.
- Calentar por 5 minutos suavemente (no dejar hervir) hasta obtener vapores renovando el colorante a medida que se evapora.
- Lavar suavemente con agua corriente fría. Eliminar el exceso de agua.
- Decolorar con ALCOHOL ACIDO B.K. hasta que la solución de lavada salga incolora.
- Lavar suavemente con agua corriente fría. Eliminar el exceso de agua.
- Cubrir la preparación con AZUL DE METILENO B.K. SEGUN LOEFFLER por un (1) minuto.
- Eliminar el exceso y dejar secar al aire.
- Examinar al microscopio con lente de inmersión de 100X.

### NOTAS SOBRE EL EMPLEO

La técnica descrita anteriormente puede modificarse de acuerdo con las preferencias del operador para lograr mayor o menor intensidad de coloración, lo cual implica variaciones en los tiempos de coloración, decoloración y lavado.

### RESULTADOS PREVISTOS

Micobacterias alcohol-ácido resistentes	Rojas
Otros gérmenes o células y fondo	Azules

Un hallazgo positivo significa "presencia de bacilos Alcohol ácido resistentes" y un hallazgo negativo significa "ausencia de bacilos alcohol ácido resistentes". No se puede diferenciar si se trata de micobacterias de la tuberculosis o de otras micobacterias, tampoco resulta posible verificar si se trata de bacterias activas o muertas. De encontrarse micobacterias, deberían realizarse análisis ulteriores en un laboratorio especial.

### CONTROL DE CALIDAD

El control de calidad se debe llevar a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio. Los controles pueden realizarse con pueden realizarse con bacilos alcohol ácido resistentes

### LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Algunas drogas utilizadas en el tratamiento de la tuberculosis, hacen perder la ácido-resistencia de los bacilos, observándose esta característica de las cepas sensibles a la isoniazida y a la alfa etiltioisonicotinamida (ethionamida).
- La reacción de coloración de Ziehl-Neelsen se ve afectada por la alteración física de la pared celular bacteriana o protoplasto. Por consiguiente, un microorganismo físicamente alterado por exceso de calor no reacciona a la coloración de Ziehl-Neelsen de la manera prevista. Es importante controlar la fijación por el calor (dos-tres pasos de un segundo por llama suave); un exceso del mismo puede dar coloraciones erróneas.
- Agua altamente clorada puede debilitar la coloración de contraste.

### BIBLIOGRAFÍA

- Gurr, E., Synthetic dyes in Biology, Medicine and Chemistry. Academic Press, London, New York. (1971).
- Clark, George, Stains and staining (Microscopy), 4<sup>th</sup> edition, Williams & Wilkins, (1981).

Índice de Símbolos					
	Producto para diagnóstico in-vitro		Referencia o Código		Pruebas por Kit
	Para usar consulte las instrucciones		Precaución Consultar las instrucciones		Fabricante
	Número de Lote		Fecha de Caducidad		Fecha de Fabricación
	Límite de Temperatura		Riesgo Biológico		



Calle 8 No. 39 86 Cali - Colombia  
PBX: +(2) 3989788  
e-mail: [servicioalcliente@hrdiagnostica.com](mailto:servicioalcliente@hrdiagnostica.com)  
[www.hrdiagnostica.com](http://www.hrdiagnostica.com)