

## ZIEHL NEELSEN EQUIPO

REF B1446182

IVD

### → USO

Equipos para coloración de bacilos ácido-alcohol resistentes en muestras clínicas y/o a partir de cultivos microbianos.

### FUNDAMENTO

La propiedad que presentan algunas bacterias de resistir la decoloración con ácidos fuertes, después de ser coloreadas con solución de fucsina caliente, permite reunir las bajo la denominación general de bacterias "ácido-resistentes" o "ácido-alcohol resistentes".

La ácido-alcohol resistencia es la capacidad de incorporar ciertos colorantes y retenerlos después de someterlos a la acción de ácidos y alcohol, y está determinada por la presencia en la pared celular de los ácidos micólicos, que son ácidos grasos de cadenas ramificadas de alto peso molecular (60 a 70 átomos de carbono). Las micobacterias son bacilos ácido-alcohol resistentes, cortos y ligeramente curvos.

El género *Mycobacterium*, incluido en esta clasificación, comprende especies patógenas para el hombre y los animales y especies saprófitas.

El grado de "ácido-alcohol resistencia" es variable entre las especies de este género y está relacionado muchas veces con las condiciones culturales, no pudiendo utilizarse esta diferencia para distinguirlas entre sí.

Los bacilos "ácido-alcohol resistentes" (BAAR) se observan de color rojo al ser coloreados con los colorantes para Ziehl Neelsen, mientras que otros gérmenes y células toman distintos tonos de azul debido al azul de metileno que se utiliza como colorante de contraste.

La coloración de Ziehl Neelsen constituye una técnica sencilla, rápida y económica, de baja sensibilidad, pero una valiosa herramienta para detectar los casos de tuberculosis pulmonar.

### CONTENIDO Y COMPOSICIÓN

#### Ziehl Neelsen Equipo

Código B1446182

- Fucsina para Ziehl Neelsen: Carbolfucsina, envase x 100 ml.
- Decolorante para Ziehl Neelsen: solución de alcohol ácido, envase x 100 ml.
- Azul de Metileno para Ziehl Neelsen, envase por 100 ml.

 FUCSINA PARA ZIEHL NEELSEN:  
 CARBOLFUCSINA: SOLUCIÓN DE FUCSINA FENICADA

FUCSINA BÁSICA	0,3 G
ALCOHOL ETÍLICO 95%	10 ML
SOLUCIÓN ACUOSA DE FENOL AL 5%	90 ML

 DECOLORANTE PARA ZIEHL NEELSEN:  
 SOLUCIÓN DE ALCOHOL ÁCIDO

ALCOHOL ETÍLICO 95%	97 ML
ÁCIDO CLORHÍDRICO	3 ML

AZUL DE METILENO PARA ZIEHL NEELSEN:

AZUL DE METILENO	0,3 G
AGUA PURIFICADA	100 ML

### INSTRUCCIONES

Producto listo para usar.

### CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO

- Fucsina para Ziehl Neelsen: Carbolfucsina, solución rojiza.
- Decolorante para Ziehl Neelsen: solución de alcohol ácido, solución incolora.
- Azul de Metileno para Ziehl Neelsen, solución azulada.

### ALMACENAMIENTO

A 10-35 °C, protegido de la luz

### PROCEDIMIENTO

Para obtener una excelente coloración de Ziehl Neelsen no basta el equipo para Ziehl Neelsen Britania. Es menester, como en toda otra determinación de laboratorio, seguir estrictamente las indicaciones para lograr el máximo rendimiento del producto.

El material a estudiar debe extenderse y diseminarse, utilizando ansa, sobre la superficie de portaobjetos delgados y nuevos, previamente desengrasados. La existencia de cualquier anfractuosidad o rayadura en el vidrio podrá ser causa de confusión en la observación.

Los pasos son los siguientes:

#### Preparación del extendido:

Es conveniente efectuar un examen directo y del homogeneizado. Para la homogenización se añade un volumen equivalente de NaOH 4% al material en estudio. Se coloca en la estufa a 37 °C durante 15 a 30 minutos y se centrifuga a 3000 r.p.m. durante 20 minutos. Se vuelca el sobrenadante y se realiza el extendido del centrifugado con ansa.

#### Secado del extendido:

Colocar el portaobjetos en posición horizontal dentro de la estufa de cultivos o sobre la corriente de aire caliente de un mechero.

**Fijado del extendido:**

Mediante calentamiento suave, flameándolo sobre la llama. Esto se efectúa pasando 3 veces el lado del portaobjeto que no tiene la preparación sobre la llama del mechero para que la misma adquiera una temperatura de aproximadamente 80 °C.

**Coloración**

- Colocar un pequeño trozo de papel de filtro un poco más largo que el tamaño del preparado sobre el portaobjeto. **Importante:** el papel de filtro tiene que estar por encima del extendido.
- Cubrir el extendido con Fucsina para Ziehl Neelsen (carbolfucsina). Flamear por debajo del portaobjeto hasta el desprendimiento de vapores blancos (evitar que se produzca la ebullición por exceso de calor). Dejar enfriar 5 minutos y repetir el flameado hasta nuevo desprendimiento de vapores blancos. Dejar enfriar 5 minutos. Cuando esté frío, mediante el uso de pinzas, quitar y descartar el papel de filtro.
- Lavar con agua corriente.
- Cubrir con decolorante para Ziehl Neelsen. Dejar 2 minutos. Realizar sucesivos lavados hasta que no se desprenda más colorante (aproximadamente 2 minutos; en el caso de preparados más gruesos, puede requerirse mayor tiempo).
- Lavar con agua corriente
- Cubrir con Azul de Metileno para Ziehl Neelsen. Dejar 30 segundos.
- Lavar con agua corriente durante 30 segundos.
- Secar el extendido.

**INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS**

Cubrir el extendido con una gota de aceite de inmersión y observar al microscopio óptico, con aumento 1000X. Observar al microscopio no menos de 100 campos. Los "bacilos ácido-alcohol resistentes" (BAAR) aparecen de color rojo sobre un fondo azul claro, mientras que otros gérmenes o células toman distintas tonalidades de azul.

**CONTROL DE CALIDAD**

MICROORGANISMOS COLOR	
MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS H37Ra ATCC 25177	ROJO
STAPHYLOCOCCUS AUREUS ATCC 25923	AZUL
ESCHERICHIA COLI ATCC 25922	AZUL

**LIMITACIONES**

- La coloración de Ziehl Neelsen no reemplaza el cultivo de micobacterias.
- Algunos microorganismos además de las micobacterias pueden presentar distintos grados de ácido resistencia. Tal es el caso de Rhodococcus spp., Nocardia spp.
- Las micobacterias de rápido crecimiento pueden diferir en su capacidad de retener los colorantes.
- La decoloración de los extendidos tiene que ser apropiada. Los microorganismos que son realmente ácido alcohol resistentes, retienen la carbolfucsina.
- No preparar extendidos demasiado gruesos ya que puede afectar

la decoloración. También el contracolorante puede dificultar la visualización de los BAAR.

- Algunos fármacos utilizados 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).

**MATERIALES NECESARIOS NO PROVISTOS**

Equipo y material de laboratorio, microorganismos para control de calidad, reactivos y medios de cultivo adicionales según requerimiento.

**PRECAUCIONES**

- Solamente para uso diagnóstico in vitro. Uso profesional exclusivo.
- No utilizar el producto si al recibirlo su envase está abierto o dañado.
- No utilizar el producto si existen signos de contaminación o deterioro, así como tampoco si ha expirado su fecha de vencimiento.
- Utilizar guantes y ropa protectora cuando se manipula el producto.
- Considerar las muestras como potencialmente infecciosas y manipularlas apropiadamente siguiendo las normas de bioseguridad establecidas por el laboratorio. Evitar la formación de aerosoles y trabajar con recipientes cerrados.
- Las características del producto pueden alterarse si no se conserva apropiadamente.
- Descartar el producto que no ha sido utilizado y los desechos del mismo según reglamentaciones vigentes.

**REFERENCIAS**

- 1957. Manual of Microbiological Methods, Society of American Bacteriologists.
- 1985. Manual of clinical Microbiology., 4 Ed, American Society for Microbiology, Washington, D. C.
- Isenbert (ed.). 1992. Clinical microbiology procedures handbook, vol. 1. American Society for Microbiology, Washington, D. C.

**INDICACIONES AL CONSUMIDOR**

Utilizar el producto hasta su fecha de vencimiento. Conservar el producto según las indicaciones del rótulo.

**AUTORIZACIÓN ANMAT**

PM-1292-43  
Dir. Técnico: Bioq. Alejandro Rossi

**SÍMBOLOS UTILIZADOS**

 IVD DIAGNÓSTICO IN VITRO	 REF CÓDIGO N°	 LOT LOTE N°	 STERILE ESTÉRIL
 ELABORADOR	 N° DE DETERMINACIONES	 INSTRUCCIONES DE USO	 FECHA DE VENCIMIENTO
			 LIMITE DE TEMPERATURA