

| 1. GUÍA DE PRÁCTICA DE LABORATORIO | | | |
|--|--|---|--------------------------------|
| PERÍODO ACADÉMICO | PERÍODO ACADÉMICO 2025-1S | | |
| ASIGNATURA | ANÁLISIS CLÍNICO I | SEMESTRE: QUINTO | PARALELO: “A” |
| NOMBRE DEL DOCENTE | Mgs. Carlos Iván Peñafiel Méndez | | |
| FECHA | 16-06-2025 | | |
| NÚMERO DE PRÁCTICA | 10 | HORA: Grupo 1: 17:00 – 18:30 Grupo 2: 18:30– 20:00 | DURACIÓN: 3 HORAS |
| NOMBRE DE LOS ESTUDIANTES. | NÓMINA | | |
| | Grupo 1 | | Grupo 2 |
| | 1. ALBAN JAYA KATERIN | | 1. CHORO MEDINA ANGELICA |
| | 2. COLCHA CHULLI LESLY | | 2. FUENTES COLOMA GLORIA |
| | 3. HUARACA GUASHPA KAREN | | 3. INCA BUÑAY MISHHELL |
| | 4. LEON QUIZHPE LIZA | | 4. MORALES COPO BRISA |
| | 5. PUENTE PANCHO ROGER | | 5. VILLA LEMA KATY |
| | 6. VILLAMIZAR VARELA WENDY | | |
| | | | |
| | | | |
| LUGAR DE LA PRÁCTICA | LABORATORIO E-303 | | |
| TÍTULO DE LA UNIDAD | TINCIONES APLICADAS EN EL LABORATORIO CLÍNICO Y ANATOMÍA PATOLÓGICA | | |
| TEMA DE LA PRÁCTICA | Tinción de Ziehl-Neelsen | | |
| RESULTADO DE APRENDIZAJE. | | | |
| <ul style="list-style-type: none"> Analiza las tinciones adecuadas para la preparación de muestras tanto en hematología, citología e histopatología, considerando las características morfológicas y bioquímicas de los componentes celulares y tisulares, con el fin de obtener un diagnóstico preciso y contribuir a la toma de decisiones clínicas. | | | |
| OBJETIVO GENERAL | Analizar los métodos y técnicas para la realización de la Tinción de Ziehl-Neelsen | | |
| OBJETIVOS ESPECÍFICOS: | | | |
| <ul style="list-style-type: none"> Aplicar correctamente la técnica de Tinción de Ziehl-Neelsen Observar y analizar las características morfológicas de las estructuras coloreadas mediante microscopía óptica Interpretar los resultados y la técnica de reporte de la Tinción de Ziehl-Neelsen | | | |
| MARCO TEÓRICO | | | |
| <p>La tinción ácido-resistente (también conocida como tinción de Ziehl-Neelsen o Kinyoun) es una técnica utilizada para identificar microorganismos con características particulares en su pared celular, que les permite resistir la decoloración por ácidos durante el proceso de tinción. Este método es especialmente útil para detectar bacterias del género Mycobacterium, como Mycobacterium tuberculosis.</p> <p align="center">Principio</p> <p>La tinción de Ziehl-Neelsen es una coloración diferencial útil para detectar bacterias ácido-alcohol resistentes entre ellas, la identificación de micobacterias, aunque no permite la diferenciación de distintas especies. La característica de ácido-resistencia de estos microorganismos hace de esta coloración un método rápido en el diagnóstico, presuntivo, de infección micobacteriana. Las micobacterias son coloreadas de rojo por la Fucsina y retienen el color a pesar de la acción del ácido y del alcohol.</p> <p align="center">Microorganismos ácido-resistentes:</p> <p>Tienen paredes celulares ricas en ácidos micólicos, lípidos de cadena larga que les confieren resistencia a la decoloración por alcohol ácido.</p> <p>Ejemplos: Mycobacterium tuberculosis (causante de la tuberculosis). Mycobacterium leprae (causante de la lepra). Algunos Nocardia y ciertos protozoos como Cryptosporidium.</p> <p align="center">Métodos principales:</p> | | | |



Ziehl-Neelsen: Requiere calentamiento para permitir que el colorante primario penetre la pared celular.

Kinyoun: Variante sin calentamiento, pero con concentraciones mayores de colorante.

Contratinción: Se usa azul de metileno o verde malaquita para teñir las células no ácido-resistentes.

Aplicaciones:

Diagnóstico de enfermedades infecciosas como tuberculosis y lepra.

Identificación de microorganismos en muestras clínicas (esputo, heces, tejido).

Ventajas y limitaciones:

Ventajas: Permite identificar microorganismos difíciles de detectar por otras técnicas debido a sus características estructurales.

Limitaciones: No es específica para un género o especie en particular; requiere confirmación mediante otras pruebas (como cultivo o PCR).

MATERIALES Y MÉTODOS

| Equipos | Materiales | Reactivos |
|--------------------|-------------------------------|--|
| Microscopio óptico | placas porta objetos, mechero | fucsina fenicada, alcohol ácido, azul de metileno, aceite de inmersión |

PROCEDIMIENTO / TÉCNICA:

Pasos de la tinción:

Hay dos variantes de esta técnica, la llamada "en caliente" y "en frío" o de Kinyoun y se siguen los siguientes pasos

Variante clásica o "en caliente"

- Hacer un frotis de la muestra de esputo.
- La fijación al calor asegurará de que el frotis quede adherido al portaobjetos. Un frotis muy delgado puede darle resultados falsamente negativos y un frotis muy grueso puede desprenderse del portaobjetos durante la tinción.
- Utilizando pinzas, coloque los portaobjetos en una gradilla de tinción con los extendidos hacia arriba. Coloque todos los portaobjetos orientados uniformemente, con el frotis hacia arriba. Nunca tiña más de 12 portaobjetos a la vez.
- Dejar el frotis sobre el puente de tinción.
- Aplicar fucsina-fenicada.
- Deje que el colorante permanezca sobre los portaobjetos durante 5 minutos. Mantenga el calor durante este período.
- Calentar con un mechero hasta la emisión de vapores (3-5 minutos).
- Se requiere el tiempo adecuado para que la fucsina fenicada penetre y tiña la pared celular de la bacteria. No deje que hierva o se seque el colorante.
- Lave suavemente el colorante de cada portaobjetos con agua corriente fría hasta que toda la tinción libre quede lavada. Lave suavemente de manera que el extendido no se barra del portaobjetos. Retire el exceso de agua.
- Decolorar con alcohol-ácido.
- Cubra cada portaobjetos con la solución decolorante, tal como alcohol ácido y manténgalo sobre el portaobjetos durante 3 minutos. Si no se decolora suficientemente, el contenido del esputo que no son bacilos TBC puede permanecer teñido. Enjuague con agua una vez más los portaobjetos y quite el exceso de agua. Si los portaobjetos aún están rosa, aplique una cantidad adicional de la solución decolorante de 1 a 3 minutos.
- Aplicar azul de metileno (1 minuto).
- Aplique la solución de contraste, azul de metileno, durante 1 minuto.
- Enjuagar con agua
- Vuelva a enjuagar con un leve chorro de agua e incline cada portaobjetos hasta drenar el exceso de agua. Finalmente, coloque cada portaobjetos en una gradilla a que sequen al aire.
- Ahora colóquele una pequeña gota de aceite de inmersión y haga la observación al microscopio con 10 x 100

Variante de Kinyoun o en "frío"

- Hacer un frotis.
- Dejarlo en el puente de tinción.
- Aplicar fucsina-fenicada (solución con fenol y mayor concentración de fucsina).
- Dejar en vasos coplin durante 20 minutos.
- Decolorar con alcohol ácido.
- Lavar con agua del grifo.
- Contrastar con azul de metileno

Procedimiento para muestras de tejidos

1. Desparafinar e hidratar hasta llegar al agua destilada.
2. Colorear con Fucsina Básica Fenicada solución según Ziehl durante 30 minutos a temperatura ambiente.
3. Lavar bien con agua corriente.
4. Decolorar con Alcohol-Clorhídrico 8:2, hasta que las secciones aparezcan de color rosado pálido.
5. Lavar bien con agua corriente, durante 8 minutos.
6. Contrastar, sumergiendo la lámina en la Solución de Azul de Metileno diluida durante 30 segundos. Las secciones deben ser de color azul pálido. El exceso de contraste puede enmascarar los bacilos.
7. Lavar con agua y luego con agua destilada.
8. Deshidratar rápidamente con Etanol al 96% y Etanol absoluto 2 cambios de cada uno, aclarar con 2 cambios de xileno, 2 minutos cada uno.
9. Montar con medio de montaje.
10. Observar al microscopio.

Control:

Bacilos ácido-alcohol resistentes: Rojo
Eritrocitos: Amarillo anaranjado
Otros elementos tisulares: Azul

Resultados:

Células no ácido-resistentes: Se tiñen con la contratinción y aparecen azules o verdes, dependiendo del reactivo usado

RESULTADO (Gráficos, cálculos, etc.)

Los que se generen en la práctica

OBSERVACIONES

Las que se generen en el transcurso de la práctica formativa

CONCLUSIONES

Al finalizar la práctica formativa el estudiante escribirá sus conclusiones de esta, en referencias a los resultados microscópicos obtenidos

RECOMENDACIONES

- Recordatorio: Aplicar y respetar las medidas de bioseguridad dentro del laboratorio: mascarillas N-95, gafas protectoras, uso de mandil, guates, cobertor de cabello y uso de alcohol en spray.
- Recordatorio: norma de bioseguridad, tratar todas las muestras biológicas como potencialmente infecciosas.

WEBGRAFÍA

https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-04772016000100003#:~:text=La%20tinci%C3%B3n%20de%20Ziehl%20Neelsen,y%20Soluci%C3%B3n%20Decolorante%2C%20que%20se
https://www.itwreagents.com/download_file/ce_ivd_instructions/CEIVD16/es/CEIVD16_es.pdf
https://www.quimica.es/enciclopedia/Tinci%C3%B3n_de_Ziehl_Neelsen.html
https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_6492ebfb660e8.pdf
 Fuentes de investigación: Scopus, Elsevier, Scielo, Pubmed, Academia-edu, Google Académico, Biology Browser

Mgs. Verónica Paulina Cáceres Manzano
DIRECTORA DE CARRERA

Mgs. Carlos Iván Peñafiel Méndez
DOCENTE