

# Coloração de Ziehl-Neelsen

## FINALIDADE:

Sistema para coloração de bactérias álcool-ácido resistentes em esfregaços de material colhido nas diversas áreas do organismo e esfregaços de meio de cultura.

## PRINCÍPIO:

As micobactérias apresentam grande quantidade de lipídeos em suas paredes celulares. Quando tratadas pelo corante Fucsina Fenicada, coram-se de vermelho e persistem ao descoramento subsequente por uma solução de Álcool-ácido forte (diferenciador). Por esse motivo são conhecidas como Bacilos Álcool-Ácido Resistentes (BAAR). As outras bactérias, que não possuem tais paredes celulares ricas em lipídeos, têm a sua coloração pela Fucsina descorada pela solução de Álcool-ácido e coram-se em azul pela coloração de fundo do Azul de Metileno (contra-corante).

## REAGENTES E APRESENTAÇÃO:

Solução de Fucsina Fenicada a 0,5% ----- 500 mL  
Solução de Álcool-Ácido a 3 % ----- 500 mL  
Solução de Azul de Metileno a 0,3 % ----- 500 mL

## ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES:

Os corantes devem ser mantidos no frasco original, bem vedado, em temperatura ambiente e ao abrigo da luz.

## CUIDADOS E PRECAUÇÕES:

As soluções corantes são para uso diagnóstico "in vitro". Seu manuseio deve ser cuidadoso, evitando-se o contato com a pele e mucosas. Em caso de contaminação acidental lavar a área afetada em água corrente. O descarte do material utilizado deve ser feito obedecendo-se os critérios de biossegurança estabelecidos pelo laboratório. Salvo as manchas provocadas pelos corantes, o produto não oferece risco ao meio ambiente ou pessoas, dentro das normas e condições de uso. Manter afastado do fogo e calor.

## AMOSTRAS:

Esfregaços feitos a partir de colônias bacterianas. Esfregaços de secreções das mais diversas partes do organismo. Esfregaços do sedimento urinário.

**Obs:** Toda amostra biológica deve ser considerada como potencialmente infectante.

## PROCEDIMENTO TÉCNICO:

1. Fixar o esfregaço;
2. Colocar as lâminas em suporte de coloração;
3. Cobrir as lâminas com Fucsina de Ziehl;
4. Aquecer as lâminas durante 5 minutos, permitindo a saída de vapores e evitando a fervura da fucsina;
5. Após 5 minutos, escorrer e lavar as lâminas delicadamente com água;
6. Descorar as lâminas com solução de álcool-ácido até que ela fique completamente clara;
7. Lavar as lâminas com água corrente;
8. Corar com Azul de Metileno por 1 minuto;
9. Lavar em água corrente e secar.

## RESULTADOS ESPERADOS

As bactérias álcool-ácido resistentes apresentam-se de cor rosa a avermelhada. As demais bactérias (não álcool-ácido resistentes), elementos celulares e detritos, coram-se em azul pela solução de azul de metileno.

## MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS:

- Suporte para coloração;
- Lâminas.
- Bico de Bunsen

## CONTROLE DE QUALIDADE:

Antes de serem liberadas para consumo as matérias primas e os reagentes são avaliados pelo Laboratório de Controle de Qualidade da Renylab.

A limpeza e secagem adequada do material a ser utilizado são de fundamental importância para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos. Não usar detergentes à base de fosfato. A água utilizada na limpeza do material deve ser de boa qualidade. As lâminas utilizadas devem ser completamente limpas, isentas de gordura.

## CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO:

**Repetitividade:** foram realizados testes com o corante bacteriológico em 15 esfregaços de escarro de pacientes com tuberculose. Paralelamente 15 esfregaços de secreção de orofaringe foram corados com o corante. Observou-se que a repetitividade relaciona-se com o correto seguimento das instruções de uso, sendo decisiva as etapas de fixação, os tempos de coloração e a temperatura de aquecimento da fucsina.

**Reprodutividade:** durante 6 meses consecutivos foram realizados testes em esfregaços de culturas de bacilos álcool-ácido resistentes, utilizando-se o mesmo lote do produto. Durante todo o período, houve concordância das características tintoriais dos bacilos BAAR e dos bacilos não álcool-ácido resistentes.

## DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS:

Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto:  
sac@renylab.ind.br  
Telefax: (32) 3331-4489  
Nº DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO E DATA DE VALIDADE – VIDE RÓTULO

## REFERÊNCIAS:

Otto Bier: Bacteriologia e imunologia, 19 edição, 1978.  
Who: *Manual of basic techniques for a health laboratory*, 1980.  
Stanley S. Raphael: *Lynch: Técnicas de laboratório*, 1986.

## Elaborado e fabricado por:

RENYLAB QUIM. FARM. LTDA  
Rodovia BR 040 Km 697 – Caiçaras  
Barbacena – MG CEP:36205-666  
Farm. Resp.: Renê Vaz de Mello CRF – MG: 2709  
M.S: 80002670066  
Revisão: Dezembro de 2016.