

OTRO MÉTODO  
DE COLORACIÓN DEL BACILO DE KOCH  
(FUCHINA-ALCOHOL  
CLORHÍDRICO-FORMOL)

por  
A. GALLEGO

En la investigación microscópica del bacilo de Koch hemos de tener en cuenta, más que su forma, en extremo variable, su comportamiento frente a los ácidos, a los álcalis, al alcohol y a las materias colorantes. El detalle forma, ha dicho Nicolle, debe ceder el paso al detalle coloración.

El bacilo de Koch pertenece, como es sabido, al grupo, ya demasiado numeroso, de los microbios ácido-resistentes. Esto es, tarda en colorarse, pero, una vez que ha fijado la materia tintórea, resiste a la decoloración por los ácidos y aun por el alcohol (1). No vaya a creerse, sin embargo, que la ácido-resistencia de tales microbios no reconozca límites. Todas las bacterias ácido-resistentes, incluso el bacilo de Koch, llegan a decolorarse completamente, una vez teñidas, por la acción prolongada de los ácidos fuertes.

---

(1) La álcali-resistencia, fundamento del método de Gasis, no nos interesa por el momento.

Pero parece demostrado que el bacilo tuberculígeno goza de una mayor ácido-resistencia que los demás del grupo.

Los métodos de tinción del bacilo de Koch, más corrientemente usados, se fundan precisamente en la mencionada cualidad, en la ácido-resistencia. Tales son los métodos de Ziehl-Neelsen, de Gabbet, de Frankel, de Spengler, de Biot, etc.). Todos ellos dan excelentes resultados en manos de los verdaderos especialistas. Sin embargo, el de Biot merece nuestra preferencia por su sencillez, rapidez y seguridad.

Así y todo, nos ha parecido que el método de Biot era susceptible de modificaciones tan importantes como prácticas, y en tal sentido hemos realizado una serie de ensayos cuyos resultados vamos a exponer.

En el método de Biot, la decoloración del bacilo de Koch mediante el ácido nítrico al  $\frac{1}{4}$ , se sigue de la acción del alcohol absoluto y la recoloración con el formol oficial (solución acuosa al 40 por 100). Pues bien, hemos logrado la decoloración utilizando el alcohol clorhídrico (alcohol de 95°, 70 c. c.; agua destilada, 30 c. c. ácido clorhídrico, 1 c. c.), con lo que se consigue, primero, una decoloración menos brutal, más paulatina y más electiva, y segundo, realizar en un solo tiempo lo que Biot logra en dos etapas, esto es, medir la ácido y alcohol-resistencia del bacilo. Asimismo, después de numerosas pruebas, nos hemos convencido de la inutilidad del empleo del formol puro para decolorar el bacilo de Koch, porque igual efecto se consigue con una solución de formol al 5 por 100 y aun al 1 por 100.

Con tales modificaciones el método de Biot no sólo resulta perfectamente utilizable en la investigación del bacilo de Koch en los *frottis*, sino, y esto es de gran importancia, también en los cortes.

He aquí cómo debe procederse:

### TINCIÓN DEL BACILO DE KOCH EN LOS «FROTTIS»

1.º Coloración con la fuchina de Ziehl (1) en caliente (hasta la emisión de vapores, pero no hasta la ebullición), dejándola enfriar y volviendo a calentar por tres veces, sin que por un momento llegue a secarse el colorante sobre la preparación. Dejad enfriar por última vez unos minutos.

2.º Lavar en agua corriente.

3.º Decoloración con alcohol clorhídrico, durante 5-10 minutos.

4.º Lavar en agua.

5.º Recoloración en formol al 5 por 100 (formol oficial, 5 c. c.; agua ordinaria o destilada, 95 c. c.), por 3-5 minutos.

6.º Lavar en agua (2).

7.º Secar en la llama y examinar con inmersión, ya directamente o previo montaje en bálsamo del Canadá.

El bacilo de Koch resalta admirablemente en color violeta obscuro casi negro. Algunos bacilos tuberculígenos presentan dos clases de granulaciones teñidas con desigual intensidad. El protoplasma bacilar aparece en ciertos casos como condensado en la periferia, con el aspecto de una vaina llena de granulaciones. Otros bacilos, también tuberculígenos, no muestran, al parecer, protoplasma granular y figuran cadenas de granos separados por espacios claros, imagen que recuerda la de los estreptococos. En fin, en ocasiones se denuncian granulaciones protoplasmá-

---

(1) Emplear la fuchina de Ziehl de Grübler (Carbolfuchsin), pues las soluciones preparadas en los distintos laboratorios no poseen igual poder colorante. Véase nuestro trabajo en *Revista Veterinaria de España*. Vol. VIII, n.º 13.

(2) La coloración de fondo con alcohol picricado, que en otra ocasión habíamos propuesto, no la conceptuamos absolutamente indispensable.

ticas polares más intensamente teñidas. Los demás microbios, que pueden acompañar al bacilo de Koch, quedan teñidos en rojo muy pálido o en violeta sumamente tenue. La confusión con el bacilo de Koch es absolutamente imposible. Ni aun el más torpe principiante podrá equivocarse.

Quizá a los aficionados a las dobles coloraciones no les satisfaga la coloración simple que acabamos de describir. Pero si tal es su manía, les proponemos ensayar una coloración de fondo y de contraste utilizando la safranina (safranina, 1 gramo; formol, 1 c. c.; agua destilada, 100 c. c.). La safranina teñirá de rojo el fondo y los microbios no ácido-resistentes. El aspecto de la preparación será el de un Gram y el bacilo de Koch parecerá grampositivo.

#### TINCIÓN DEL BACILO DE KOCH EN LOS CORTES

1.º Fijación por cualquiera de estos procedimientos:

a) Formol al 10 por 100, 6-8 horas; estufa a 40-45º.

b) Alcohol de 80º, dos horas; formol al 10 por 100, 1 hora; estufa a 40-45º.

c) Formol al 10 por 100, 1 a 2 minutos. Sumérjase el frasco que contiene el formol y los fragmentos de tejidos que se han de fijar, en un recipiente que contenga agua fría o templada; caliéntese ésta hasta la ebullición; espérese 1-2 minutos y retírese el frasco con los productos ya fijados.

2.º Lavado en agua ordinaria; unos minutos.

3.º Cortes por congelación (1).

4.º Coloración con la fuchina de Ziehl (carbolfuchsin) en caliente, durante 15 a 30 minutos. Los cortes microtómicos obtenidos por congelación, que se han dejado

---

(1) Si se prefiere, hágase la inclusión en parafina.

en agua, se trasladan con la aguja a un pocillo de porcelana que contenga de 5 a 10 c. c. de *carbolfuchsin* (1). Se coloca este pocillo sobre la platina de Malassez o sobre una lámina metálica, y se calienta el colorante hasta la emisión de vapores, dejándole después enfriar lentamente.

5.º Lavado en agua abundante.

6.º Decoloración en alcohol clorhídrico, 5-10 minutos, esto es, hasta que los cortes queden con un color violeta pálido. Casi siempre hay que renovar el alcohol clorhídrico porque se enturbia.

7.º Lavar en agua.

8.º Recoloración del bacilo de Koch en formol al 5 por 100 (formol, V gotas; agua destilada, 5 c. c.) durante 5 minutos.

9.º Lavado en agua (2).

10. Alcoholes; xilol fenicado o esencias de clavo, bergamota, orégano, etc.

11. Montaje en bálsamo del Canadá.

Los núcleos de las células se tiñen en violeta pálido; los protoplasmas quedan incoloros; las granulaciones de las células cebadas, en violeta intenso; el bacilo de Koch en violeta obscuro, violeta negro.

*Laboratorio de Histología y Anatomía patológica de la Escuela de Veterinaria. Santiago.*

---

(1) Es preferible utilizar una fuchina de Ziehl que no contenga más de  $2\frac{1}{4}$  por 100 de ácido fénico para que los cortes no se contraigan demasiado.

(2) Puede hacerse una coloración de fondo con la picro-fuchina de van Giesson, con el picro-indigo-carmín de Cajal, con la mezcla a partes iguales de ambos colorantes o con solución acuosa formolada de safranina. Pero esta doble coloración no es absolutamente indispensable.