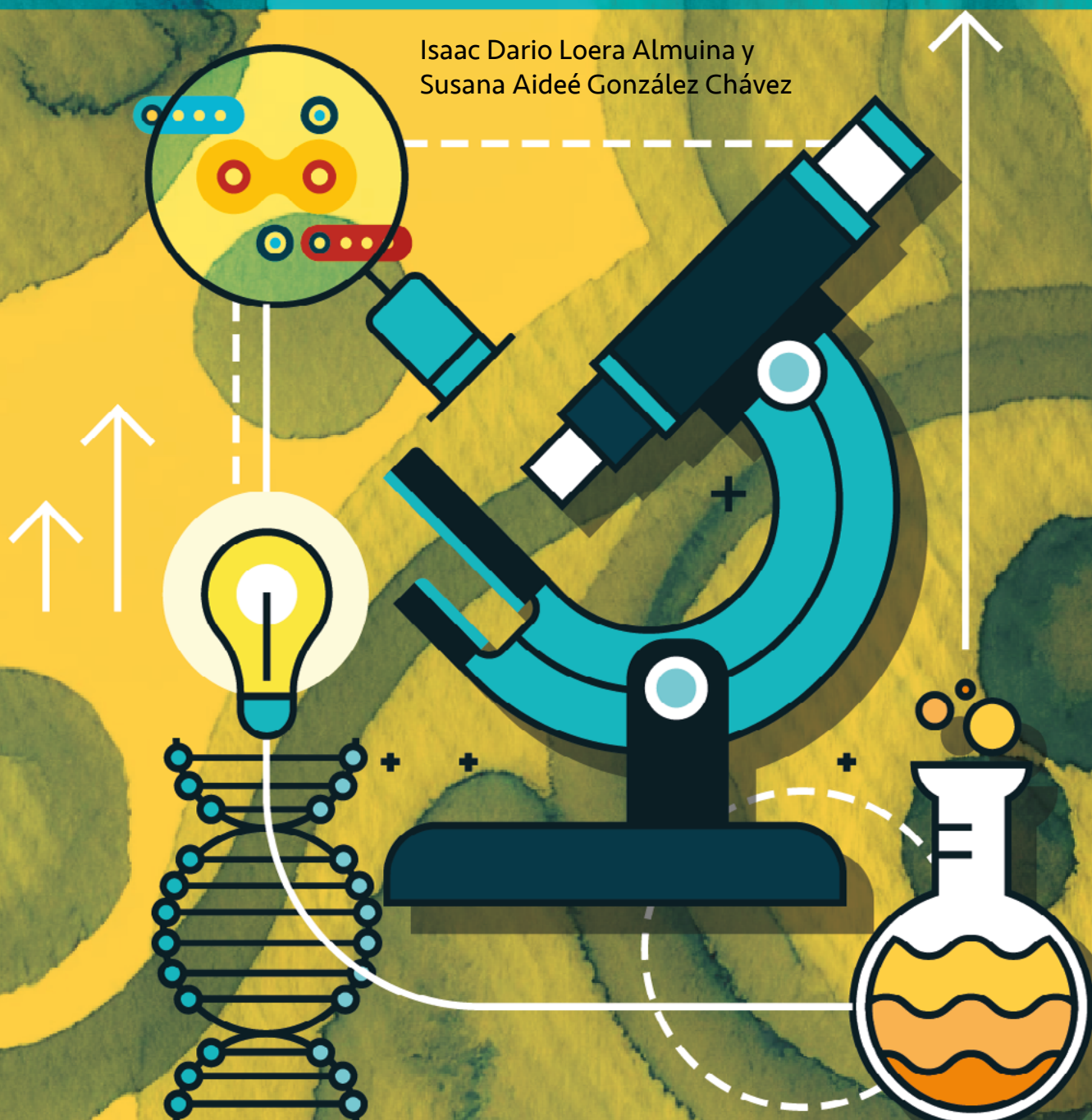


# ¿Qué nos revela la tinción de Gram?

Explora el microcosmos bacteriano

Isaac Dario Loera Almuina y  
Susana Aideé González Chávez



## INTRODUCCIÓN

Las bacterias son pequeños organismos formados por una sola célula (unicelulares) clasificadas como procariotas ya que no tienen núcleo y su material genético está libre por su citoplasma. Las bacterias se reproducen dividiéndose a sí mismas, proceso conocido como fisión binaria. Se cree que las bacterias fueron las primeras formas de vida en la tierra (Oiseth *et al.*, 2023); sin embargo, no fue hasta el siglo XVI con la invención del microscopio óptico y la confirmación de la teoría celular que el hombre pudo ver por primera vez a estos pequeños organismos en muestras de pacientes enfermos (Ledermann, 2012).

Desde entonces la necesidad de ver y clasificar las diferentes células han llevado a los científicos a buscar técnicas para poder colorear las bacterias y así poder verlas y describirlas. Después de explorar una gran variedad de técnicas que no fueron tan efectivas, en 1847 Hans Christian Gram fue el responsable de diseñar la técnica de tinción que hoy conocemos como “Tinción de Gram” la cual colorea a las bacterias con un color azul/morado y de rosado/rojo según sus características estructurales, dando origen a una de las clasificaciones más conocidas para identificar bacterias: Gram positivas para las color azul-morado y Gram negativas para las color rojo-rosado (Rodríguez & Arenas, 2018).

## ¿CÓMO SE HACE Y CÓMO FUNCIONA?

La tinción de Gram se basa en el uso de 4 compuestos: Cristal Violeta, Yodo-Lugol, Alcohol-acetona y Safranina para teñir a las bac-

terias en una serie de pasos que se describen a continuación, pero se representa gráficamente en la *Figura 1* y con la ayuda de un microscopio óptico podremos observar posteriormente.

Para realizarla necesitamos un portaobjetos que es una lámina de vidrio en donde se coloca y se fija la muestra que se teñirá. El primer paso es cubrir completamente con el cristal violeta, un colorante morado que entra a todas las bacterias presentes sin importar si son Gram positivas (+) o Gram negativas (-), luego se lava la laminilla con agua cuidando que esta no caiga directamente en la muestra para eliminar el exceso de colorante morado. Posteriormente, cubrimos la muestra con el yodo-lugol el cual es un compuesto de Yodo ( $I_2$ ) con Yoduro de Potasio (KI) que se une al cristal violeta tomando una coloración negruzca/marrón para volverlo insoluble en agua, y que de esta manera al entrar a las bacterias Gram positivas estas no se decoloran en el siguiente paso, que es un lavado con una solución de alcohol-acetona la cual vuelve soluble el compuesto yodo-cristal violeta en las bacterias Gram negativas, que son incapaces de retener el color, dejándolas incoloras después del lavado con agua. Después, es necesario poner un contraste sobre aquellas bacterias que no se colorearon con el cristal violeta (Gram negativas) para poder verlas al microscopio, para lo cual se usa el colorante safranina, que da la coloración rojiza a las bacterias que no fueron coloreadas por el cristal violeta (Smith & Hussey, 2005). Finalmente se deja secar y se coloca la laminilla en el microscopio óptico con el aumento de 100X para poder observar las bacterias adecuadamente tal como se ve en la *Figura 2*.

## PROTOCOLO DE TINCIÓN DE GRAM

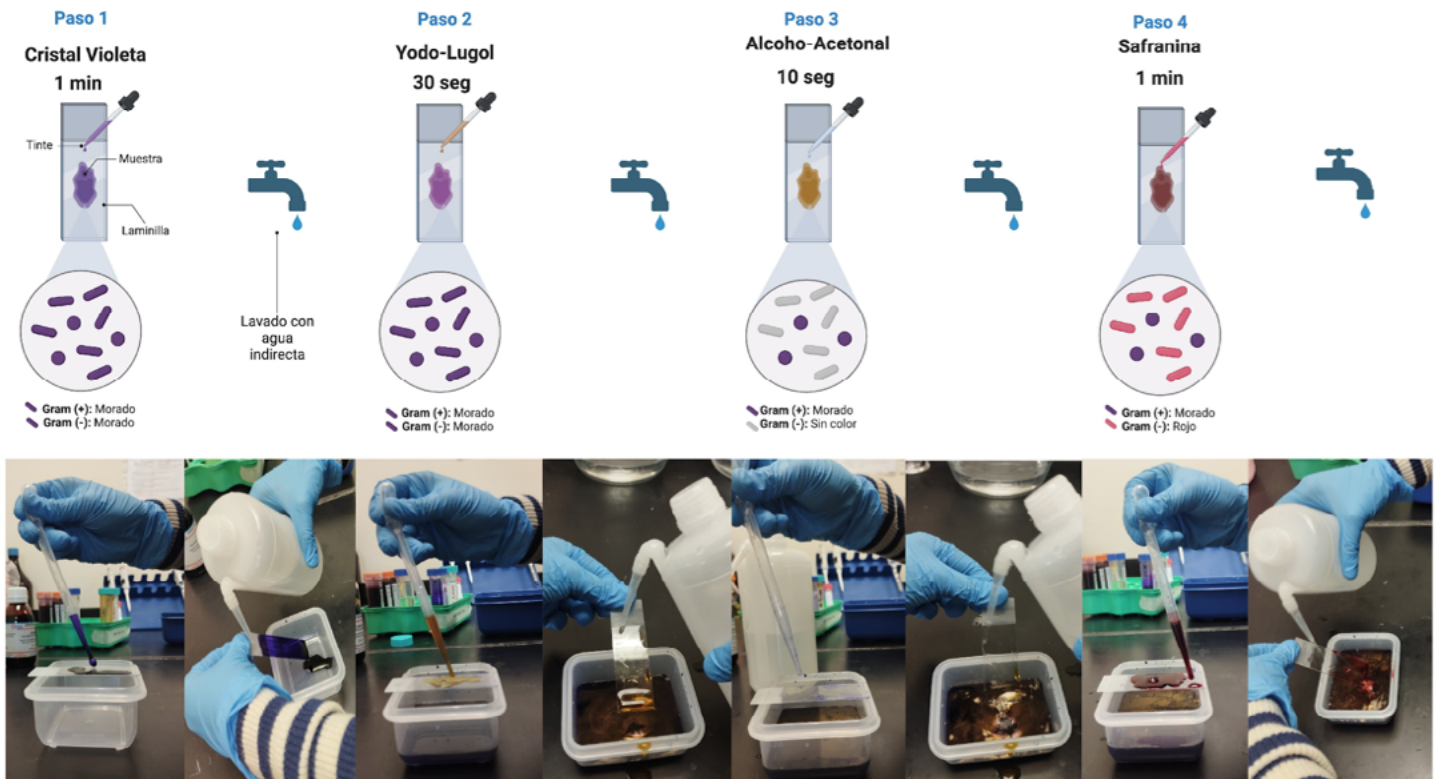


Figura 1. Protocolo de la tinción de Gram.

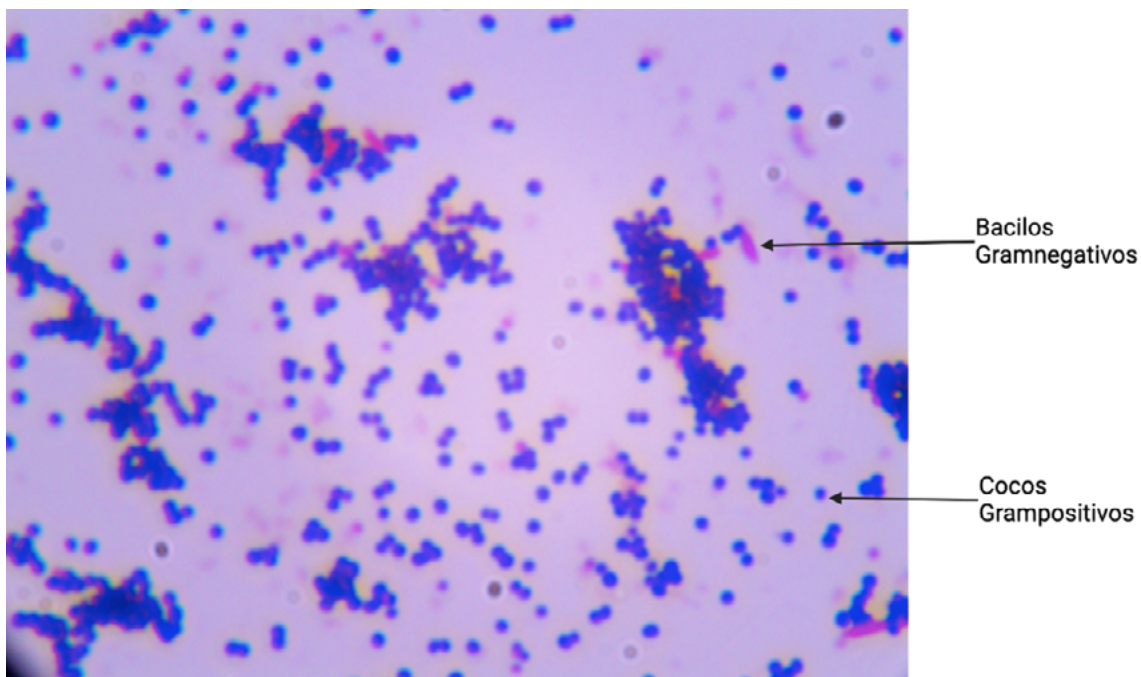


Figura 2. Frotis de cultivo de *Escherichia Coli* (Gram Negativo) y *Staphylococcus aureus* (Gram Positivo) teñido con tinción de Gram. Vista por microscopio óptico con aumento 100X.

## LAS BACTERIAS GRAM POSITIVAS Y GRAM NEGATIVAS

Las bacterias, al igual que nuestras células humanas, tienen una membrana formada por moléculas de fosfolípidos acomodados en dos capas que separa el citoplasma del ambiente exterior. Sin embargo, las bacterias tienen una característica especial que las hace diferentes de nuestras células y es que cuentan con una pared celular externa que ayuda a protegerlas del medio ambiente (temperatura, agentes químicos, antibióticos, etc.) y dependiendo del grosor de esta pared celular es que podemos diferenciar a las bacterias Gram positivas de las Gram negativas. Como se ve en la *figura 3*, las bacterias Gram positivas cuentan con una pared celular compuesta de peptidoglucanos que es muy gruesa y que impide la entrada o salida de ciertas moléculas, incluyendo al cristal violeta durante la tinción de Gram, dejándolo atrapado y explicando el color morado que las caracteriza. Por otro lado, las bacterias Gram negativas tienen una pared de peptidoglucanos muy delgada ubicada en un espacio llamado espacio periplásmico entre la membrana citoplasmática y una segunda membrana de fosfolípidos externa que es muy similar a la membrana citoplasmática; estas capas no son capaces de retener el cristal violeta por lo que al lavarlas con el alcohol-acetona pierden el color morado y es necesario colorearlas nuevamente con la safranina de color rojo/rosado para poderlas observar al microscopio. (Green, 2002).

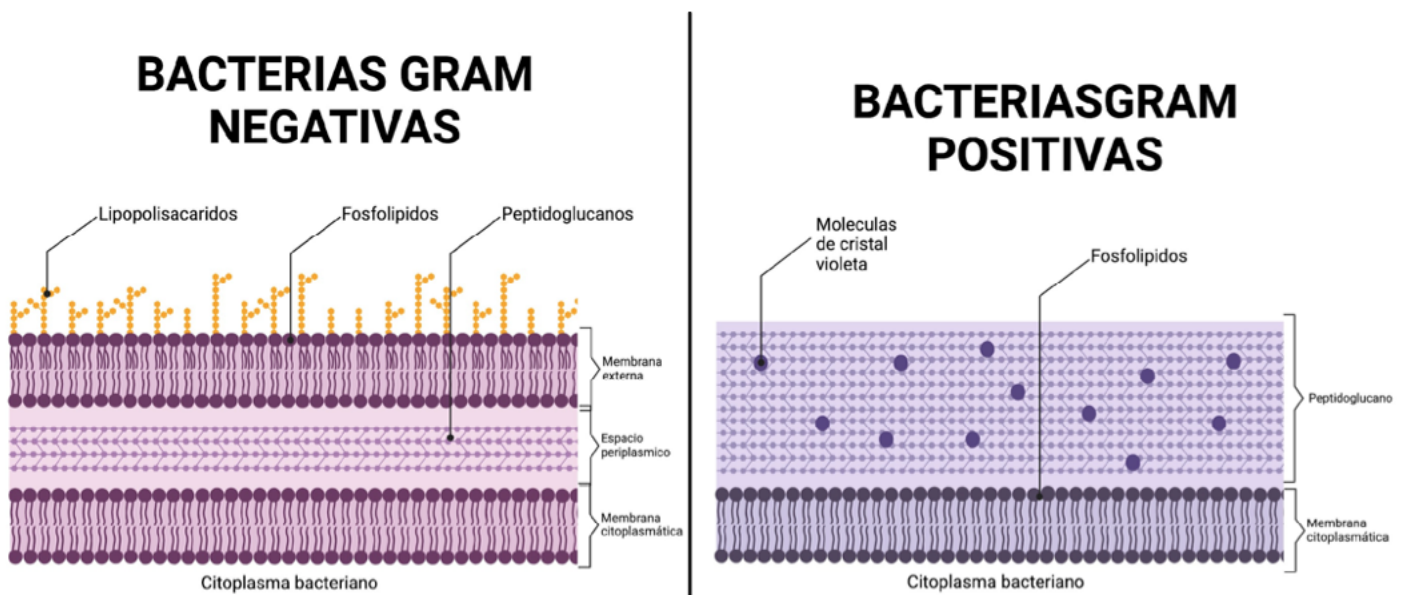


Figura 3. Estructura de la membrana y pared celular de las bacterias Gram positivas y Gram Negativas

## LA UTILIDAD DE LA TINCIÓN DE GRAM EN LA MEDICINA

Gracias a la tinción de Gram es que se han mejorado ampliamente las investigaciones en el ámbito de la microbiología y la medicina ya que con esta se han podido identificar mucho más fácilmente las diferentes bacterias existentes en el ambiente y en aquellas enfermedades humanas

causadas por bacterias y es que en la medicina es necesario poder identificar aquellas bacterias que afectan al ser humano para poder dar un tratamiento adecuado, específico para aquel microorganismo que esté causando la enfermedad presente.

## Referencias

- Green, D. W. (2002). The bacterial cell wall as a source of antibacterial targets. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 6(1), 1–20. <https://doi.org/10.1517/14728222.6.1.1>
- Ledermann, W. (2012). ¿Quién las vio primero? *Revista Chilena de Infectología*, 29(3), 348–352. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182012000300017>
- Oiseth, S., Jones, L., & Maza, E. (2023). Bacteriología. *Lecturalia*. <https://www.lecturio.com/es/concepts/bacteriologia-descripcion-general/#:~:text=La disciplina de la bacteriología, que invadían las células huésped.>
- Rodríguez, P., & Arenas, R. (2018). Hans Christian Gram y su tinción. *Dermatología Cosmética, Médica y Quirúrgica*, 16(2), 166–167.
- Smith, A. C., & Hussey, M. (2005). *Gram Stain Protocols*. American Society for Microbiology, 1(1), 1–9.

-----  
**MPSS Isaac Dario Loera Almuina**, Médico pasante del servicio social, adjunto al Laboratorio de Patogenia y Biomedicina Molecular PABIOM de la Facultad de Medicina y Ciencias Biomédicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua. Email: a318998@uach.mx

**Dra. Susana Aideé González Chávez** es Química Bacterióloga Parasitóloga, Maestra en Ciencias en Biotecnología y Doctora en Ciencias de la Cultura Física. Profesora e investigadora del Laboratorio PABIOM de la Facultad de Medicina y Ciencias Biomédicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua. Pertenece al Sistema Nacional de Investigadores en el Nivel 2. Desarrolla investigación en patogenia, diagnóstico y tratamiento de enfermedades inflamatorias e infecciosas. Tiene amplio conocimiento en el manejo de modelos murinos de inflamación y en el análisis molecular de los procesos inflamatorios.. Email: sagonzalez@uach.mx

