

2.5.2: Coloración de Gram (tinción diferencial)

La tinción de Gram fue desarrollada por el bacteriólogo danés Hans Christian Gram en 1884 y es la tinción diferencial más utilizada de forma rutinaria y prácticamente la primera prueba a la que se someten las muestras de cualquier origen antes de su estudio. Proporciona una información esencial, sobre la forma, tamaño y agrupación celular. La tinción de Gram divide a las bacterias con pared del Dominio Bacteria en dos grandes grupos según el tipo y composición de la pared que presentan: bacterias con pared de tipo Gram positiva y bacterias con pared de tipo Gram negativa.

Procedimiento

- a) Preparar el frotis en la forma ya indicada.
- b) Cubrir el frotis ya fijado con cristal violeta y dejar actuar durante 1 min.
- c) Lavar con agua corriente, cuidando que no se arrastre la preparación.
- b) Cubrir con solución de Lugol (I3K), dejar actuar durante 1 min y lavar con agua.
- c) Cubrir con alcohol-acetona, durante 10 s y lavar con agua (3 veces).
- d) Cubrir con solución de fucsina básica o safranina (si se usa la fucsina fenicada se diluye 1/10), dejar actuar 30 s y lavar con agua. Secar y observar al microscopio con el objetivo de inmersión (100x).

Resultados

Con esta coloración las bacterias se presentan de dos colores distintos, las llamadas GRAM POSITIVAS, de color azul a violeta, y las llamadas GRAM NEGATIVAS, de color rosado a rojo (Figura 2.3).

Fundamento

Las bacterias reaccionan de modo distinto frente a la tinción de Gram porque las diferencias estructurales en sus paredes determinan la retención o el escape del complejo cristal violeta/yodo (lugol). Entre otras diferencias las bacterias Gram positivas tienen un peptidoglucano en su pared celular más grueso que las bacterias Gram negativas. Por otro lado, las bacterias Gram positivas presentan un polímero con un gran número de uniones cruzadas dando como resultando un plano de malla pequeña, mientras que, las bacterias Gram negativas presentan un polímero con pocos entrecruzamientos que determina una malla planal de “criba” o tamiz grande. Por lo tanto, al agregar el yodo se forma un complejo cristal violeta/mordiente con un tamaño molecular mayor al del tamiz del peptidoglucano de las bacterias Gram positivas y menor al tamiz de las Gram negativas. En consecuencia, cuando se decolora el preparado con alcohol o alcohol-acetona, las células Gram positivas retienen el complejo colorante-mordiente y permanecen de color violeta. En cambio, en las células Gram negativas el alcohol altera la capa externa de lipopolisacárido y el complejo colorante/mordiente se elimina de la capa delgada de peptidoglucano. Como consecuencia, las células Gram negativas son incoloras hasta que se agrega el colorante de contraste rojo (fucsina o safranina), después de lo cual aparecen de color rosado.

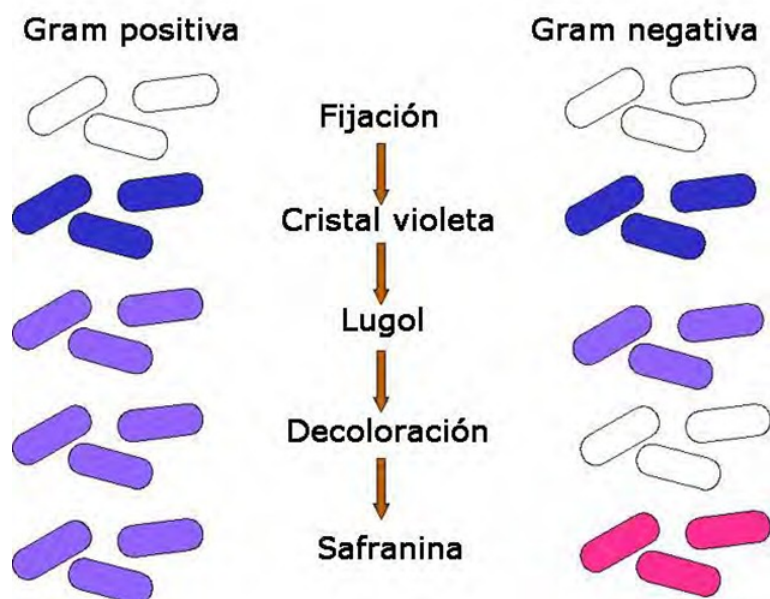


Figure 2.5.2.1: Tinción de Gram (<http://www.mysvarela.nom.es/microbiologia/bacterias3.htm>)

This page titled 2.5.2: Coloración de Gram (tinción diferencial) is shared under a not declared license and was authored, remixed, and/or curated by María M. Reynoso, Carina E. Magnoli, Germán G. Barros y Mirta S. Demo.