

Pintando lo invisible: la técnica de Hans Christian Gram

POR KARINA ELIDETH PÉREZ-CRUZ Y LORENA MERCEDES LUNA-CAZÁRES

Los pigmentos que hacen visibles las bacterias
son conocidos desde mediados del siglo XIX

El microscopio óptico es una herramienta ampliamente utilizada para observar organismos diminutos que no se pueden ver a simple vista, invisibles para el ojo humano, entre ellos las bacterias. Las bacterias son organismos muy antiguos que consisten de una sola célula, no tienen núcleo celular y, bajo las lentes del microscopio, se puede observar su forma, tamaño y la manera en la que se agrupan; esto, algunas veces, sólo es posible pintándolas con técnicas químicas que les proporcionan color [1,2].

Los pigmentos para hacer visibles a las bacterias se conocen desde mediados del siglo XIX, gracias a ellos es posible conocer a las bacterias que ocasionan enfermedades infecciosas en plantas, animales y humanos [3]. Al ser la tinción o coloración una actividad antigua, se han diseñado varias formas de realizarla, algunas veces se utiliza un sólo colorante (tinción simple) y en otras, se usa una mezcla de varios en una secuencia bien definida (tinción diferencial) [4].

Quizás la técnica de coloración más conocida es la que, en 1884, desarrolló Hans Christian Gram, un bacteriólogo danés (Figura 1). Esta tinción permitió separar a las bacterias en dos grupos generales: Grampositivas (aquellas que se pintan de color azul-violeta) y Gramnegativas (las que se pintan de color rojo) [5] (Figura 2). A partir de 1889, esta técnica recibió mucha atención, pues



Figura 1. Hans Christian Gram [8].

los científicos la recomendaron como la primera prueba a la que todos los cultivos bacterianos debían someterse, y actualmente sigue siendo una de las tinciones más usadas [3].

La diferencia entre estos grupos de bacterias, que se refleja en su tinción, se debe a la composición química de las paredes celulares, formadas por un compuesto llamado peptidoglucano, que es una molécula grande formada de muchos azúcares y aminoácidos. Las paredes celulares son una cubierta bacteriana presente en la mayoría de las bacterias, y gracias al peptidoglucano que se “pinta” se pueden diferenciar, como ya dijimos, en Gramnegativas, que tienen una capa muy delgada



de peptidoglucano, y Grampositivas, con una capa más gruesa [1,3,6] (Figura 3).

Pasos y pigmentos para la tinción de Hans Christian Gram

El primer colorante que participa en esta tinción es el cristal violeta, que tiene afinidad por el peptidoglucano. Con ayuda de un segundo reactivo,

el lugol, se forma un complejo llamado cristal-violeta-yodo, que satura los espacios del compuesto de la pared y es retenido con mayor fuerza por las bacterias Grampositivas. En cambio, la adición de una mezcla de alcohol-acetona desorganiza la membrana externa de las Gramnegativas y permite que las paredes celulares se decoloren, por ello se adiciona un colorante secundario (safranina) que las tiñe de color rojo. Las Grampositivas no se decoloran justamente por la gruesa capa de peptidoglucano [1,3] (Figura 4).

Los procedimientos para teñir bacterias empleados en los laboratorios [2] ayudan a conocerlas y clasificarlas, porque, aunque las bacterias parezcan iguales, no lo son, su estructura tiene sutiles diferencias, dependiendo de la especie de que se trate. A la mayoría, lo que las distingue es su pared celular, que da forma a la célula, y la protege de la acción de sustancias tóxicas, pero también es el sitio sobre el cual actúan diversos antibióticos [4,7].

Existen ciertas bacterias, por ejemplo, las que causan la tuberculosis y la lepra, que tienen una pared celular distinta a la de las Grampositivas y las Gramnegativas, y para conocerlas se colorean en presencia de calor con otras sustancias químicas. También están las del género *Mycoplasma* que no tienen pared celular y no se colorean con la tinción de Gram [1,2].

Figura 2. Bacterias coloreadas con la tinción Gram. a) Una bacteria Gram-positiva: *Staphylococcus saprophyticus*; b) Una bacteria Gramnegativa: *Escherichia coli* [9].

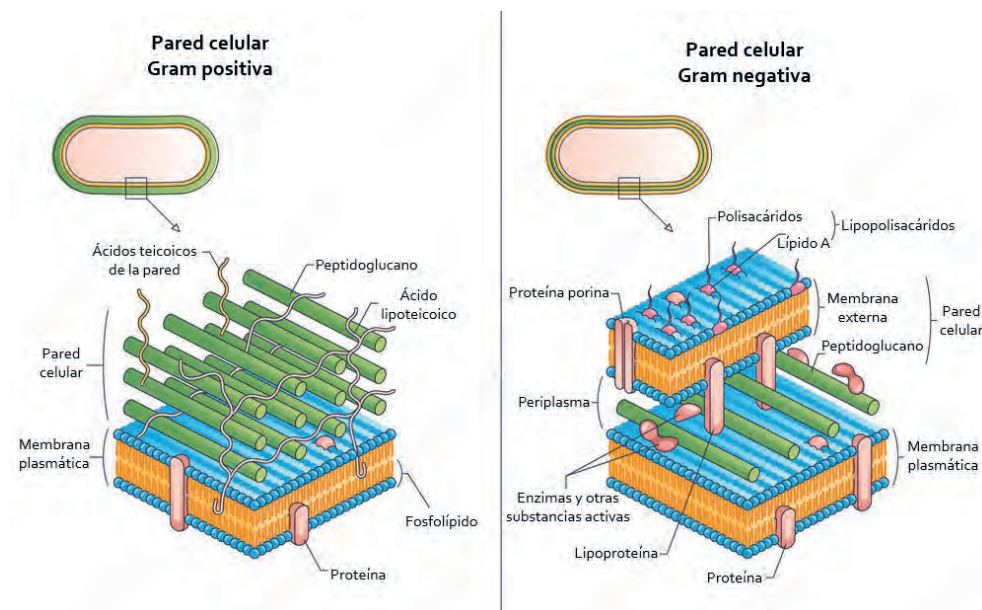
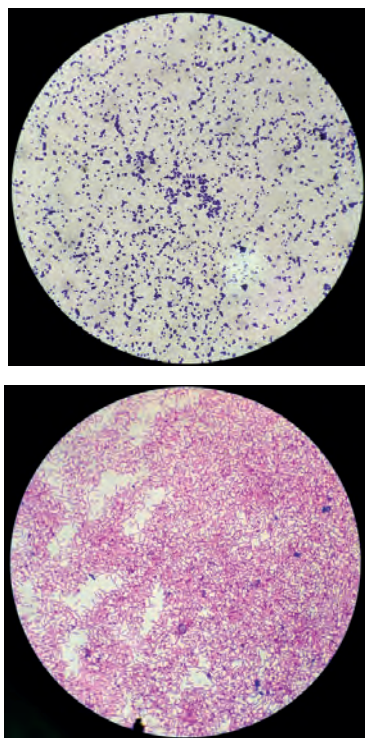


Figura 3. Composición de las paredes celulares en bacterias Grampositivas (izquierda) y Gramnegativas (derecha) [10].

Finalmente, se puede decir que el color que adquieren las bacterias después de la tinción es importante en los laboratorios de bacteriología o de microbiología, y que la tinción de Hans Christian Gram sigue siendo un método muy usado que ayuda en el diagnóstico de enfermedades, al conocer lo invisible de las bacterias.

G L O S A R I O

- **Pared celular.** Cubierta rígida que recubre la membrana citoplásmica de algunas células que las separa del exterior.
- **Tinción simple.** Se usa un solo colorante para determinar la forma y la organización de las células presentes en una muestra.
- **Tinción diferencial.** Se utiliza más de un colorante, lo que pone de manifiesto diferencias entre células bacterianas o entre partes de esta.
- ***Mycoplasma*.** Bacterias sin pared celular que se caracterizan por ser muy pequeñas y causar enfermedades en humanos, aunque se han encontrado en plantas y animales.

P A R A C O N O C E R M Á S

[¹] Corrales-Ramírez, L. C. & Caycedo-Lozano, L. (2020). Principios físico-químicos de los colorantes utilizados en microbiología. NOVA, 18(33), 73-100. <https://doi.org/10.22490/24629448.3701>.

[²] López-Jácome, L. E., Hernández-Durán, M., Colín-Castro, C. A., Ortega-Peña, S., Cerón-González, G. & Franco-Cendejas, R. (2014). Las tinciones básicas en el

laboratorio de microbiología. Investigación en Discapacidad, 3 (1), 10-18.

[³] Morales-Parra, G. I. (2013). La coloración de gram y su importancia en el diagnóstico microbiológico. Revista Electrónica de Portales Médicos. <https://www.revista-portalesmedicos.com/revista-medica/coloracion-gram-diagnostico-microbiologico/>

[⁴] Nau-Cornelissen, C. & Metzgar-Hobbs, M. (2020). Microbiología. (4th ed.). WoltersKluwer.

[⁵] Madigan, M. T., Martinka, J. M. & Parker, J. (2009). Brock, Biología de los microorganismos. (12th ed.). Pearson Prentice Hall.

[⁶] Forbes, B., Sahm, D. & Weissfeld, A. (2009). Diagnóstico microbiológico. (12th ed.). Médica Panamericana.

[⁷] Vargas-Flores, T. & Kuno-Vargas, A. (2014). Morfología bacteriana. Revista de Actualización Clínica, 49 (2), 2594-2598.

[⁸] Fernández, T. & Tamaro, E. (2004). Biografía de Hans Christian Joachim Gram. <https://www.biografiasyvidas.com/biografia/g/gram.htm>

[⁹] iStock by Getty Images. (2021). <https://www.istockphoto.com/es>

[¹⁰] Adobe. (2022). <https://stock.adobe.com/mx/>

[¹¹] Labster Theory. (2021). <https://theory.labster.com/steps-gramstain/>

D E L O S A U T O R E S

Karina Elideth Pérez-Cruz. al064117049@unicach.mx
Dra. Lorena Mercedes Luna-Cazárez. lorena.luna@unicach.mx

Laboratorio de Fisiología y Química Vegetal, Instituto de Ciencias Biológicas, Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas.

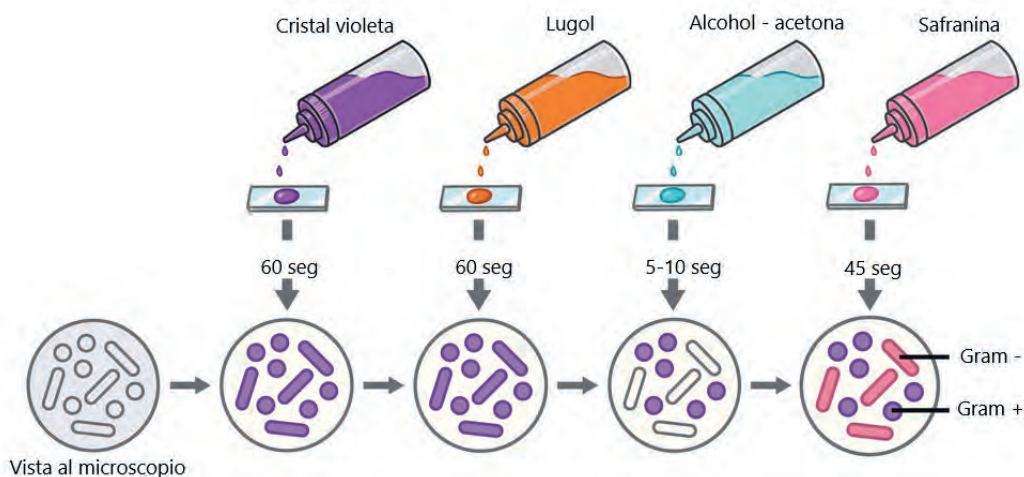


Figura 4. Pasos de la tinción de Gram [¹¹].