



ESCUELA DE
MEDICINA
U D S



NOMBRE: OLIVER FAUSTINO PAREDES MORATAYA

ASESOR: Dr. ENRIQUE EDUARDO ARREOLA JIMENEZ

MATERIA: MICROBIOLOGIA Y PARASITOLOGIA

ACTIVIDAD NUMERO CUARTA DE PLATAFORMA

LICENCIATURA EN MEDICINA HUMANA

UNIVERSIDAD DEL SURESTE

FECHA DE ENTREGA: 27/02/2022

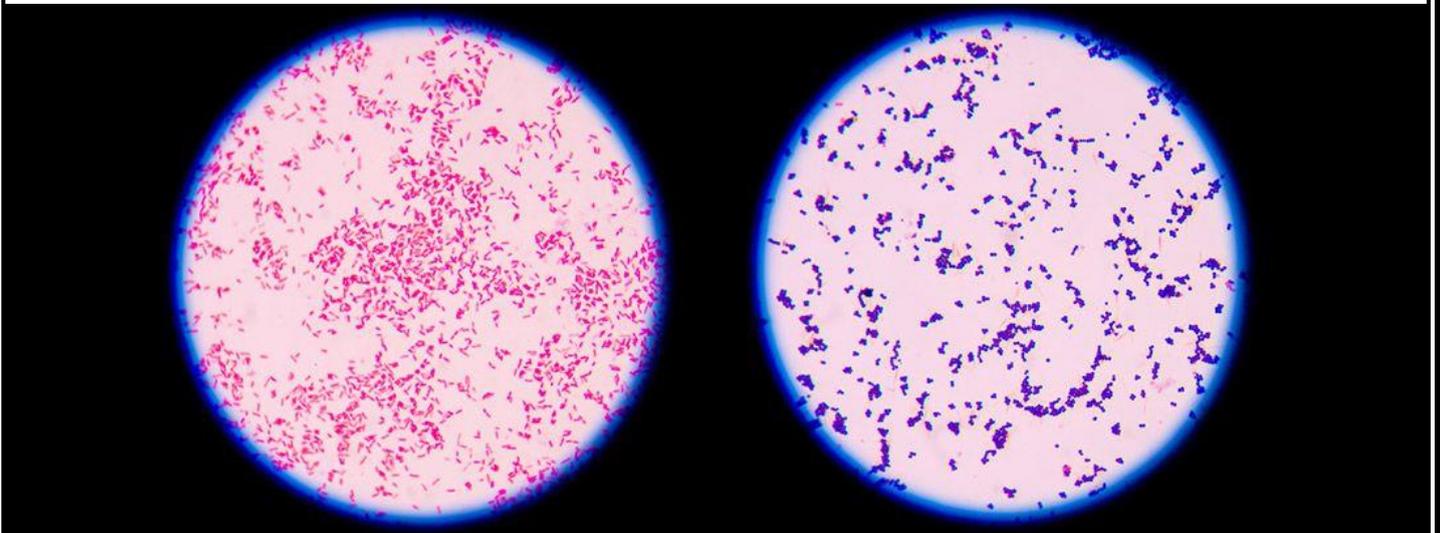
TAPACHULA, CHIAPAS, MEXICO

INDICE

INTRODUCCION	3
TINCION DE GRAM.....	4
DESCRIPCIÓN DE LA TINCIÓN DE GRAM (FUNDAMENTO):.....	4
El mecanismo de la tinción Gram es la reseñado en el siguiente esquema:	5
MATERIALES Y PROCEDIMIENTO DE LA TÉCNICA	6
Procedimiento.....	6
2. Tinción de Gram (Figura 4)	6
Ejemplos de bacterias grampositivas	7
Ejemplos de bacterias gramnegativas.....	8
CONCLUSION	9
Referencias.....	9

INTRODUCCION

Los microorganismos desempeñan un papel fundamental en el planeta, por tal razón los seres humanos han desarrollado técnicas para su clasificación e identificación. Una de las técnicas que se emplea universalmente para distinguir a las bacterias en dos grandes grupos es la Tinción de Gram, La tinción de Gram es un tipo de tinción diferencial empleado en microbiología para la visualización de bacterias. Esta técnica fue desarrollada por el bacteriólogo Danés Christian Gram, en 1884; se utiliza para poder referirse a la morfología celular bacteriana, considerándose Bacteria Gram positiva a las bacterias que se visualizan de color violeta y Bacteria Gram negativa a las que se visualizan de color rosa o rojo.



TINCIÓN DE GRAM

La tinción de Gram está definida como una tinción diferencial, ya que utiliza dos colorantes y clasifica a las bacterias en dos grandes grupos: bacterias Gram negativas y bacterias Gram positivas. Dicha tinción debe su nombre a que fue desarrollada por el científico danés Hans Christian Gram en 1884.

Los principios de la tinción de Gram están basados en las características de la pared celular de las bacterias, la cual le otorga propiedades determinantes a cada microorganismo. El material de la pared celular bacteriana que confiere rigidez es el peptidoglicano. La pared de la célula gram-negativa contiene únicamente una capa delgada de peptidoglicano lo que representa un 10-20% de la composición total de la pared celular, dicha pared está rodeada por una membrana exterior compuesta de fosfolípidos, lipopolisacáridos, y lipoproteínas. La pared de la célula gram-positiva, por otro lado, es gruesa y consiste en varias capas interconectadas de peptidoglicano (80-90%) así como algo de ácido teicoico. (Figura 1). Así pues, la composición química y el contenido de peptidoglicano en la pared celular de las bacterias Gram negativas y Gram positivas explica y determina las características tintoriales.

Otras diferencias significativas entre ambos grupos de bacterias son que mientras que las bacterias gramnegativas son constantes en su reacción, los microorganismos Gram positivos pueden presentar respuestas variables en ciertas condiciones (son Gram lábiles). Por ejemplo, los cultivos viejos de algunas bacterias Gram positivas pierden la propiedad de retener el cristal violeta, y en consecuencia, se tiñen por la safranina apareciendo como Gram negativas. Análogo efecto se produce en ocasiones por cambio en el medio del organismo, o por ligeras modificaciones en la ejecución de la técnica. Por este motivo, es preciso atenerse, en la práctica, al procedimiento establecido.

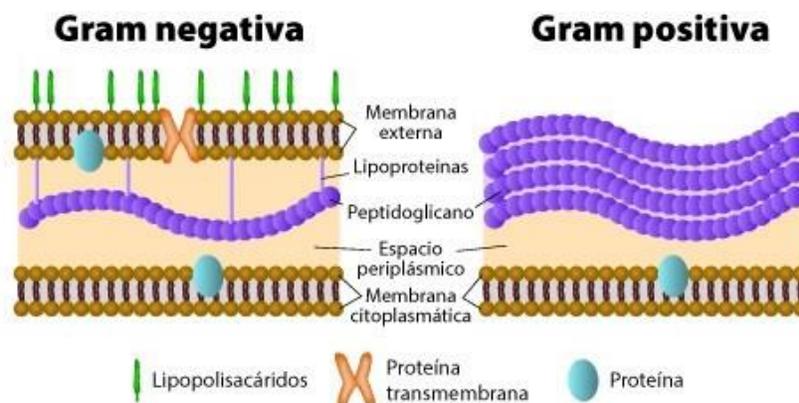


Figura 1. Pared Celular de las bacterias Gram negativas y Gram positivas
DESCRIPCIÓN DE LA TINCIÓN DE GRAM (FUNDAMENTO):

El mecanismo de la tinción Gram es la reseñado en el siguiente esquema:

Reactivos	Reacción y coloración de las bacterias			
	GRAM +		GRAM -	
	Descripción	Color de las células	Descripción	Color de las células
1) Cristal violeta	Las células fijadas se tiñen con la solución de cristal violeta.		Las células fijadas se tiñen con la solución de cristal violeta.	
2) Lugol solución iodada	Se forma el complejo CV-I.		Se forma el complejo CV-I.	
3) Alcohol	Se deshidratan las paredes celulares. Se contraen los poros. Disminuye la permeabilidad. El complejo CV-I no sale de las células que continúan teñidas de color violeta.		Eliminación por extracción de grasas de las paredes celulares. Aumenta la porosidad. El complejo CV-I se separa de la célula.	
4) Safranina	Células no decoloradas; quedan teñidas de color violeta.		Células decoloradas; se tiñen de color rosado/rojo	

Después de la coloración de contraste las células gramnegativas son rojas, mientras que las transpositivas permanecen azules (Figura 3).

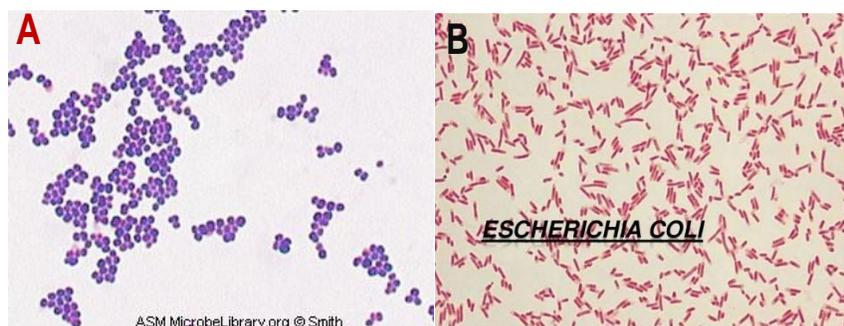


Figura 2. Controles Positivo/Negativo. A. Staphylococcus spp. (cocos gram positivos) y B. Escherichia coli. (Bacilo Gram negativos).

MATERIALES Y PROCEDIMIENTO DE LA TÉCNICA

Materiales

- ☐ Portaobjetos
- ☐ Asas bacteriológicas
- ☐ Mechero
- ☐ placas de un cultivo de 24h de edad de microorganismos Gram+ y Gram-
- ☐ Puente de tinción
- ☐ Microscopio

Reactivos

- ☐ Colorante Cristal Violeta
- ☐ Solución alcohol-acetona
- ☐ Lugol
- ☐ Safranina
- ☐ Agua estéril
- ☐ Aceite de inmersión

Procedimiento

1. Preparación del frotis (Figura 3)

- ☐ En el portaobjetos limpio y sin grasa, colocar una gota de agua destilada estéril.
- ☐ Esterilizar el asa y tomar una muy pequeña cantidad del cultivo.
- ☐ Colocar la muestra en la gota de agua y se extiende en un espacio de un cm² hasta la sequedad total.
- ☐ Tomar la laminilla y fijar el material biológico pasándolo tres veces por la flama.

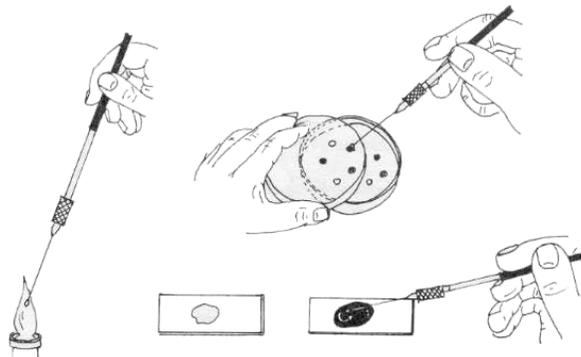


Figura 3 Preparación de Frotis

2. Tinción de Gram (Figura 4)

- ☐ Cubrir la laminilla con cristal violeta por un minuto.
- ☐ Lavar con agua de la llave. No secar.
- ☐ Agregar lugol por un minuto
- ☐ Pasado el tiempo, lavar con agua de la llave. No secar.
- ☐ Inclinar la laminilla y agregarle la solución alcohol-acetona, para lavar los colorantes y el lugol.

- ❑ Lavar con agua de la llave. No secar.
- ❑ Cubrir la laminilla un minuto con safranina.
- ❑ Después de este tiempo, lavar la laminilla con agua de la llave hasta retirar el exceso de safranina.
- ❑ Enjuagar el portaobjetos con agua destilada estéril.
- ❑ Secar la laminilla al aire libre.
- ❑ Ya seca se le agrega una gota de aceite de inmersión y se observa en el microscopio utilizando el objetivo 100x.

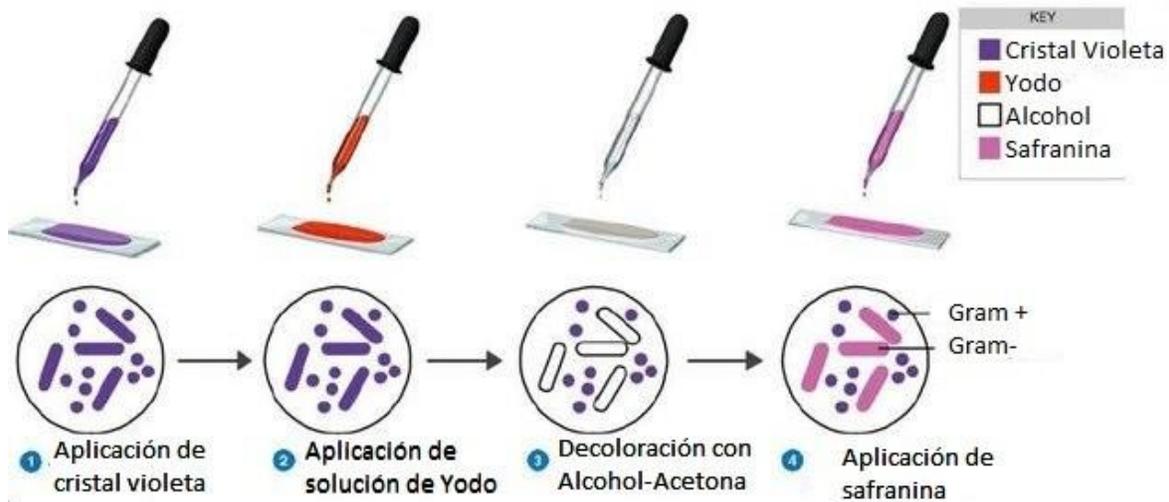


Figura 4 Pasos para la tinción de Gram

Ejemplos de bacterias grampositivas

Staphylococcus aureus. Responsable de abscesos, dermatitis, infecciones localizadas y posibles gastroenteritis.

Streptococcus pyogenes. Causante de infecciones supurativas en el trayecto respiratorio, así como de fiebre reumática.

Streptococcus agalactiae. Frecuente en casos de meningitis neonatal, endometritis y neumonía.

Streptococcus faecalis. Usual en infecciones en vías biliares y urinarias, habita en el colon humano.

Streptococcus pneumoniae. Responsable de neumonías e infecciones en las vías respiratorias, así como otitis, meningitis y peritonitis.

Streptococcus sanguis. Causante de endocarditis, cuando ingresa al torrente sanguíneo a través de lesiones en su hábitat, la boca y la mucosa dental.

Clostridium tetani. Bacterias responsables de los tétanos, entran al cuerpo desde el suelo por traumatismos en las extremidades.

Bacillus anthracis. Se trata de la conocida bacteria del ántrax, tanto en su versión cutánea como en la pulmonar.

Clostridium botulinum. Causante del botulismo clásico y el infantil, habita en el suelo y en los alimentos mal conservados.

Clostridium perfringens. Esta bacteria segrega toxinas que destruyen la pared celular, y es responsable de las gangrenas gaseosas, la enteritis necrosante y la endometritis.

Ejemplos de bacterias gramnegativas

Neisseria meningitidis. Peligrosa bacteria causante de meningitis y meningococemias, coloniza las vías respiratorias humanas y asciende a las meninges por vía sanguínea.

Neisseria gonorrhoeae. Conocidísima por ser la causante de la gonorrea, común enfermedad de transmisión sexual.

Escherichia coli. Habitante usual del colon humano, está involucrada en las llamadas “diarreas del viajero”, así como en meningitis neonatal, sepsis e infecciones urinarias.

Salmonella typhi. Bacteria responsable de la enfermedad conocida como fiebre tifoidea, suele transmitirse por vía fecal-oral: contaminación de aguas, mala disposición de excretas o higiene defectuosa.

Salmonella enteritidis. Suele ocasionar enterocolitis y septicemia con abscesos si llega a pasar del intestino a la sangre.

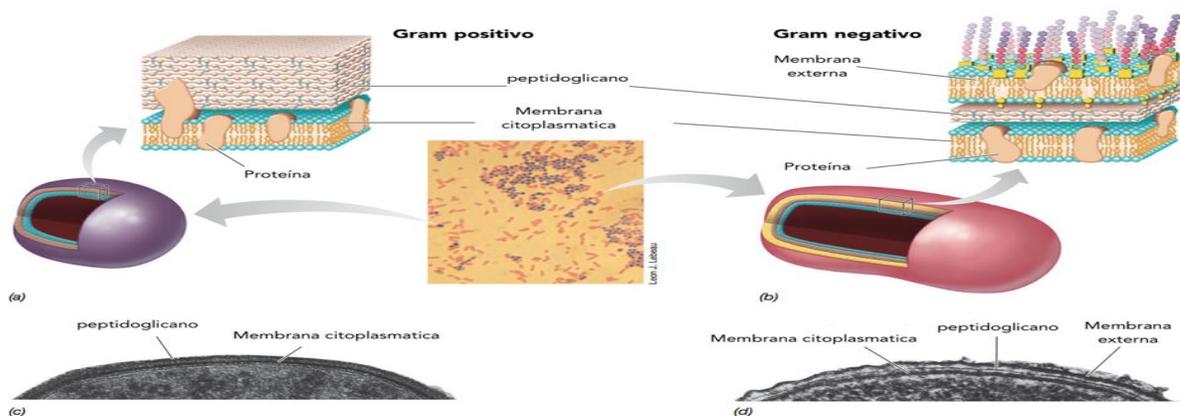
Haemophilus influenzae. Bacilo usualmente aerobio, es responsable de numerosas meningitis, otitis, sinusitis, bronconeumonías, celulitis y artritis séptica.

Bordetella pertussis. Causante de la enfermedad conocida como Tos ferina, de alta mortalidad infantil.

Brucella abortus. Ocasiona la brucelosis, una enfermedad del ganado que se transmite al hombre por contacto con los animales o por ingesta de lácteos sin pasteurizar.

Francisella tularensis. Responsable de la llamada “fiebre del conejo” o tularemia, se transmite al hombre mediante vectores (ácaros u otro tipo de exoparásitos) de los conejos, ciervos y animales semejantes.

Pasteurella multocida. Bacilo anaeróbico, transmitido por la mordedura de animales domésticos infectados, tales como perros y gatos. Se disemina a través de la piel e infecta el sistema respiratorio, causando también celulitis.



CONCLUSION

La tinción de Gram se suele usar para saber si usted tiene una infección bacteriana. Si es así, la prueba muestra si la infección es grampositiva o gramnegativa, la tinción de Gram también puede usarse para diagnosticar infecciones por hongos, en caso en la medicina El profesional de la salud necesita tomar una muestra del lugar donde se sospecha que hay una infección o de ciertos fluidos corporales, esto depende del tipo de infección. Los tipos más comunes de tinción de Gram se enumeran a continuación Si le diagnostican una infección bacteriana, es probable que le receten antibióticos. Es importante que tome su medicamento siguiendo las indicaciones del médico, incluso si sus síntomas son leves.

Referencias

1. Lab Tests Online [Internet]. Washington D.C.: American Association for Clinical Chemistry; c2001–2020. Bacterial Wound Culture; [updated 2020 Feb 19; cited 2020 Apr 6]; [about 2 screens]. Available from: <https://labtestsonline.org/tests/bacterial-wound-culture>
2. Lab Tests Online [Internet]. Washington D.C.: American Association for Clinical Chemistry; c2001–2020. Gram Stain; [updated 2019 Dec 4; cited 2020 Apr 6]; [about 2 screens]. Available from: <https://labtestsonline.org/tests/gram-stain>
3. Lab Tests Online [Internet]. Washington D.C.: American Association for Clinical Chemistry; c2001–2020. Sputum Culture, Bacterial; [updated 2020 Jan 14; cited 2020 Apr 6]; [about 2 screens]. Available from: <https://labtestsonline.org/tests/sputum-culture-bacterial>
4. Lab Tests Online [Internet]. Washington D.C.: American Association for Clinical Chemistry; c2001–2020. Strep Throat Test; [updated 2020 Jan 14; cited 2020 Apr 6]; [about 2 screens]. Available from: <https://labtestsonline.org/tests/strep-throat-test>
5. Lab Tests Online [Internet]. Washington D.C.: American Association for Clinical Chemistry; c2001–2020. Urine Culture; [updated 2020 Jan 31; cited 2020 Apr 6]; [about 2 screens]. Available from: <https://labtestsonline.org/tests/urine-culture>
6. Merck Manual Consumer Version [Internet]. Kenilworth (NJ): Merck & Co., Inc.; c2020. Diagnosis of Infectious Disease; [updated 2018 Aug; cited 2020 Apr 6]; [about 2 screens]. Available from: <https://www.merckmanuals.com/home/infections/diagnosis-of-infectious-disease/diagnosis-of-infectious-disease>
7. Merck Manual Consumer Version [Internet]. Kenilworth (NJ): Merck & Co., Inc.; c2020. Overview of Gram-Negative Bacteria; [updated 2020 Feb; cited 2020 Apr 6]; [about 2 screens]. Available from: <https://www.merckmanuals.com/home/infections/bacterial-infections-gram-negative-bacteria/overview-of-gram-negative-bacteria>