



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMEDICAS Y TECNOLOGICAS  
T.S.U EN HISTOTECNOLOGIA  
TRABAJO MONOGRAFICO**



**IMPORTANCIA DE LAS TINCIÓN DE GRAM PARA LA  
IDENTIFICACIÓN DE LA ESCHERICHIA COLI**

**AUTORES:**

ARTEGA JESUS C.I: 20.967.917

FARFAN GERALDINE C.I: 21.099.016

LUIS PINTO C.I: 20.498.188

**TUTOR ESPECIALISTA:**

**MSC. MERLIN VILLAMIZAR**

**VALENCIA, MAYO, 2015**



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMEDICAS Y TECNOLOGICAS  
T.S.U EN HISTOTECNOLOGIA  
TRABAJO MONOGRAFICO**



**CONSTANCIA DE APROBACION**

La presente es con la finalidad de hacer constar que el informe monográfico  
titulado

**IMPORTANCIA DE LAS TINCIÓN DE GRAM PARA LA  
IDENTIFICACIÓN DE LA ESCHERICHIA COLI**

**Presentado por los bachilleres**

**JESUS ARTEAGA C.I 20 967 917**

**GERALDINE FARFAN C.I 21 099 016**

**LUIS PINTO C.I 20 498 188**

Hacemos constar que hemos examinado y aprobado el mismo, y que aunque no  
nos hacemos responsables de su contenido lo encontramos correcto en su calidad  
y forma de presentación.

FECHA \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Yoseila Pérez

\_\_\_\_\_  
María Alejandra Pérez

\_\_\_\_\_  
Osmarys Mena



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**  
**ESCUELA DE CIENCIAS BIOMÉDICAS Y TECNOLÓGICAS**  
**T.S.U. EN HISTOTECNOLOGÍA**  
**INFORME MONOGRÁFICO**



**CONSTANCIA DE ENTREGA**

**INFORME MONOGRÁFICO** La presente es con la finalidad de hacer constar que el Informe Monográfico titulado:

**IMPORTANCIA DE LA TINCION DE GRAM PARA LA IDENTIFICACION DE LA BACTERIA *ESCHERICHIA COLI*.**

Presentado por los bachilleres:

Arteaga Jesús C.I. 20.967.917

Farfán Geraldine C.I. 21.099.016

Pinto Luis C.I. 20.498.188

Fue leído y se considera apto para su presentación desde el punto de vista metodológico, por lo que tienen el derecho de hacer la presentación final de su **INFORME MONOGRÁFICO**. Sin más a que hacer referencia, se firma a petición de la parte interesada a los \_\_\_\_ días del mes de mayo del año 2015.

Nombre del tutor:

C. I. N°

---

Firma



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMEDICAS Y TECNOLOGICAS  
T.S.U EN HISTOTECNOLOGIA  
TRABAJO MONOGRAFICO**



**IMPORTANCIA DE LAS TINCIÓN DE GRAM PARA LA IDENTIFICACIÓN DE LA  
ESCHERICHIA COLI**

**BACHILLERES:**

JESUS ARTEAGA  
GERALDINE FARFAN  
LUIS PINTO

**TUTOR:** MERLIN VILLAMIZAR

**RESUMEN**

La tinción de Gram, también conocida como coloración de Gram, es una técnica de laboratorio que se utiliza rutinariamente en los estudios microbiológicos de las bacterias. Fue diseñado por Christian Gram, un científico danés, en el año 1884. El objetivo de Gram era conseguir una prueba con la que fuera posible diferenciar grupos de bacterias para así poder estudiarlas y clasificarlas. La prueba resulto todo un éxito y pronto se convirtió en una prueba muy útil no solo para el estudio de las bacterias sino también para identificarlas rápidamente en una infección y entre una de las bacterias más estudiadas de la Escherichia coli. Por su gran importancia en la flora intestinal, esta bacteria de bacilos Gram negativos usa el método de tinción de Gram ya que pertenece al gran grupo de bacterias Gram negativas que puede causar infecciones en humanos. El objetivo del artículo es utilizar el método de tinción de Gram para identificar y estudiar la bacteria Escherichia coli

**Palabras clave:** tinción de Gram, Escherichia coli, bacteria.



UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMEDICAS Y TECNOLOGICAS  
T.S.U EN HISTOTECNOLOGIA  
TRABAJO MONOGRAFICO



**IMPORTANCIA DE LAS TINCIÓN DE GRAM PARA LA IDENTIFICACIÓN DE LA  
ESCHERICHIA COLI**

**BACHILLERES:**

JESUS ARTEAGA  
GERALDINE FARFAN  
LUIS PINTO

**TUTOR:** MERLIN VILLAMIZAR

**Abstract:**

Gram staining, also called gram's method, is a method for the laboratory that used for microbiology research. The name comes from Christian Gram, a Danish bacteriologist in 1884. The main object of the method was differentiating bacterial species to study and to classify them. The method was really successful and early became in the method plus used to study bacterium and differentiating into an infection. Escherichia coli is a Gram negative bacterium that use this method. This is commonly found in the lower intestine and they are important for normal floral of the gut. They are Gram-negative rod-shaped bacterium and we will study the Gram staining to identify it.

**Key words:** Gram stain, Escherichia coli, Bacterium.

## ÍNDICE

	P.P
CONSTANCIA DE APROBACIÓN.....	II
RESUMEN.....	III
ABSTRACT.....	IV
INTRODUCCIÓN.....	7
ANTECEDENTES.....	9
DESARROLLO.....	16
CONCLUSIÓN.....	21
BIBLIOGRAFÍA.....	24

## Introducción

A través de los años la salud del ser humano ha sido concebida como el factor común para la estabilidad física del individuo. Sin embargo esa estabilidad puede ser afectada por agentes patógenos como el caso de las bacterias que generan enfermedades infecciosas. Una de las bacterias que generan este tipo de enfermedades es la *Escherichia coli* generando mayormente problemas en el tracto intestinal del ser humano.

Existen variedades de métodos para identificar las bacterias como la prueba de ureasa, prueba de vogues y unos de los más utilizados es el método de la tinción de Gram.

La tinción de Gram o coloración de Gram es un tipo de tinción diferencial empleado en bacteriología para la visualización de bacterias, sobre todo en muestras clínicas. Debe su nombre al bacteriólogo danés Christian Gram (1853-1938), que desarrolló la técnica en 1884. Se utiliza tanto para poder referirse a la morfología celular bacteriana, como para poder realizar una primera aproximación a la diferenciación bacteriana. Christian Gram, desarrolló una técnica de tinción que permite separar a las bacterias en dos grandes grupos: Gram positivas y Gram negativas (1).

Considerándose Bacteria Gram positiva a las bacterias que se visualizan de color morado, y Bacteria Gram negativa a las que se visualizan de color rosa o rojo o grosella .

La tinción de Gram revela que la bacteria *Escherichia coli* esta integrada por bacilos Gram negativos, no esporulados, móviles con flagelos peritricos(2) o inmóviles es la bacteria más encontrada en el material fecal del hombre y en muchas especies animales, su nicho ecológico natural es el intestino delgado y grueso, forma parte de la flora nativa intestinal y se encuentra en calidad saprobio sin causar daños, por el contrario muchas cepas del E. coli producen sustancias que son útiles al hospedero. E. coli es la especie predominante de la flora

anaeróbica facultativa del colon humano. Las infecciones producidas por la cepa *E. coli* patógenas pueden estar limitadas a mucosas o bien diseminarse. Cuatro síndromes clínicos pueden resultar de la infección por cepas patogénicas; infecciones de vías urinarias, sepsis, meningitis y enfermedades diarreicas.

Como punto relevante se realizara distintos estudios de casos de identificación de la bacteria *Escherichia coli* atreves de la tinción de Gram.

### **Planteamiento del problema**

En este sentido, es importante conocer sobre la tinción de Gram. Ésta es la técnica principal utilizada de forma cualitativa para identificar la bacteria *E. coli* ya que es efectiva por la morfología de la bacteria. Es por esto que se quiere relacionar la mayor información recopilada acerca del tema, ya que se puede estudiar a diario este tipo de bacteria, afecta a nivel mundial y sobre todo en países en desarrollo. Así también prevenir enfermedades a futuro. Es por ello el material de aporte y sustento para el estudio por documentar y ampliar el conocimiento científico.

Teniendo en cuenta como objetivo general.

- Determinar la tinción de Gram y su procedimiento.
- Identificar la tinción de Gram como estudio para la bacteria *Escherichia coli*
- Mencionar los diferentes métodos de prevención e higiene para no contraer enfermedades derivadas de la bacteria *Escherichia coli*.

Es así que la ciencia en sus estudios bacterianos ha realizado el método de tinción el cual cumple con agrupar las bacterias en dos grandes grupos, para su estudio e investigación. Esto con el fin de proveer fármacos para suspender y extinguir cualquier complicación de la salud. Debido a que si no se trata los síntomas pueden en último caso llevar a la muerte. Por ello el principal objetivo es conocer sobre la tinción de Gram.

## Justificación del problema

El interés de la investigación es la importancia de la tinción de Gram para detectar la bacteria *Escherichia coli*, cuando esta, es contaminada por otro bacilo, que por la ingesta de productos infectado entran al organismo alterando el funcionamiento de la *Escherichia coli*; produciendo así síntomas de dolencia y desgaste de la flora bacteriana. Por tanto la investigación cumple con los parámetros metodológicos y documentales por su relevancia científicas con relación a la detección de la bacteria.

En efecto, en relación a la detección de esta bacteria a través de los métodos tradicionales, surge una interrogante ¿cómo el método de tinción es la forma científica para detectar y tratar la bacteria e. coli? es decir, como se puede vincular la histopatología en sus métodos específicamente de tinción en la detección de esta mortal bacteria.

Los antecedentes de una investigación son las bases científicas de estudios que bajo el orden de diagnóstico, ejecución y evaluación dieron resultados de acuerdo a su objetivo a alcanzar. Por tanto se citan aquellos estudios previamente realizados que le dan sustento a la investigación.

Coralles,L. y colaboradores en el año 2008 elaboraron un estudio en que la E. Coli y Salmonella spp. son responsables de toxoinfecciones .

El estudio se inició con el reconocimiento de la planta física, el talento humano y servicios con que cuenta la planta de faenado.Se eligieron 20 operarios de la planta encargada de la manipulación de carne bovina y porcina para el estudio bacteriológico. Se realizó la toma de dos muestras seriadas, provenientes de las manos en los operarios de porcinos y de los guantes en los operarios de bovinos. La obtención de las muestras se realizó con un escobillón estéril, en caldo nutritivo y caldo tetracionato selectivo para Salmonella. El tipo de técnica utilizada fue toma de muestra, al mismo operario, por barrido/frotis de manos y/o guantes con escobillón estéril en dos momentos diferentes El escobillón se introdujo en los

tubos que contienen caldo nutritivo y tetracionato,. Posterior se realiza lectura macroscópica de la presencia de turbidez en el medio líquido y coloración de Gram, para verificar el crecimiento bacteriano. obteniendo diversidad en las reacciones bioquímicas de la flora bacteriana Gram negativa aislada y coloración de Gram para verificar la pureza del cultivo.

Teniendo como resultado estudio microbiológico, en la primera toma de muestra, se observó en los caldos nutritivos desarrollo de flora mixta, conformada de acuerdo con su morfología por: cocos Gram positivos, bacilos Gram negativos y bacilos Gram positivos.

El estudio bacteriológico no demostró la presencia de *Salmonella* spp. En manos ni guantes de los operarios, Se evidenció una variedad significativa de microorganismos patógenos para consumo humano, entre ellos uno de los agentes de estudio *Escherichia coli*, el cual fue positivo en las dos tomas de muestra.(4)

Gonzales, C. el presente trabajo tuvo como objetivo determinar la frecuencia de Vaginosis Bacteriana y otros tipos de flora vaginal alterada en mujeres sexualmente activas que acuden a la consulta ginecológica del Instituto de Prevención y Asistencia Social del Ministerio de Educación (IPASME). Se estudiaron 136 pacientes entre febrero del 2002 y noviembre del 2003. El diagnóstico clínico y microbiológico de Vaginosis Bacteriana y de otro tipo de flora vaginal se realizó mediante los criterios de Amsel, y mediante la evaluación, según los criterios de Nugent y Donders, del extendido teñido con la coloración de Gram. El extendido de la secreción vaginal, teñido con la coloración de Gram confirmó el diagnóstico de Vaginosis bacteriana y la diferenció de Vaginitis aerobica. *Gardnerella vaginalis* fue el microorganismo más frecuentemente aislado de las pacientes con Vaginosis Bacteriana, mientras que *Streptococcus* grupo B, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* fueron más frecuentes en pacientes con Vaginitis Aeróbica. Para el tratamiento adecuado de las pacientes con dichas

infecciones es importante realizar, además del examen clínico, el examen directo de la secreción vaginal teñido con la coloración de Gram (5).

Lic. Vizcaya. En el período comprendido entre julio de 1993 y mayo de 1995, se estudiaron 464 muestras de heces procedentes de niños menores de 5. Se investigó la presencia de los agentes bacterianos, parasitarios y virales recomendados internacionalmente. Las bacterias aisladas como patógenos únicos con mayor frecuencia fueron: *Shigella* (42,85 %), *Shigella sonnei* fue la especie más encontrada (66,67 %); le siguieron en orden de frecuencia las *Campilobacterias* termotolerantes, *Aeromonas* sp. y *Escherichia coli* enteropatógena, con 15; 15 y 13,5 %; respectivamente. Se encontró además, 6,5 % de parásitos y 24,12 % de Rotavirus El estudio se realizó en la ciudad de Mérida del 1 de junio de 1993 al 31 de mayo de 1995. Se analizó un total de 613 muestras de heces, provenientes de 464 niños con enfermedad diarreica aguda. Para el estudio bacteriológico la muestra fue colocada en el medio de Cary-Blair, conservado a temperatura ambiente y procesada en un tiempo que no excedió a las 48 h. De la muestra completa se realizó el examen directo macroscópico y microscópico, los frotis fueron coloreados con Gram. teniendo como resultados Las tasas de aislamiento de las bacterias más frecuentemente aisladas como patógeno único en la EDA fueron *Shigella* sp. (42,85 %), *Aeromonas* sp. (15,0 %), *campilobacterias* termotolerantes (15,0 %) y *Escherichia coli* enteropatógena (13,57 %). Es importante mencionar que también se aislaron otras bacterias como *Salmonella* sp. (2,85 %), *Escherichia coli* enterotoxigenica (2,85 %), *Klebsiella pneumoniae* (6,42 %), *Pseudomonas aeruginosa* (0,71 %) y *Edwardsiella tarda* (0,71 %) como patógenos únicos.(6)

Para el año 2011 en Venezuela; la entonces Ministra del Poder Popular para la Salud (Eugenia Sader) expresó que la bacteria *Escherichia coli* (*E. coli*) había ocasionado algunos decesos en Europa la cual se transmite a través de los alimentos, no se encuentra en el país, ni (para la fecha) existían reportes de que vaya a ingresar. Asegurando, en ese mismo comunicado, que Venezuela cuenta

con las medidas preventivas para combatirla en caso de que eventualmente llegara a entrar(7).

La ministra precisó que esta afección puede ser atacada reforzando las medidas de higiene que la ciudadanía aplicó a principios de año cuando en el territorio nacional se produjo un brote de cólera. “Nosotros tuvimos recientemente una experiencia en enero donde el pueblo venezolano salió exitoso al fortalecer las acciones sanitarias”, apuntó. Sader instó en ese momento a la ciudadanía a lavarse las manos cada vez que consuman alimentos o acudan al sanitario. Los conminó además a higienizar las frutas y verduras y a no dejar las comidas destapadas(7).

Carlos B, y colaboradores dice que el papel moneda es uno de los artículos de mayor circulación en el mundo, por lo que un solo billete puede recorrer grandes distancias y ser manipulado por muchas personas. Se seleccionó una muestra por conveniencia de 101 billetes, captados en las cajas de pago del Laboratorio Clínico de la Congregación Mariana, en el periodo de diciembre 2008 a mayo 2009. cada billete se frotó por ambas caras con un aplicador de a Cuando se evidenció turbidez, se realizó una coloración de Gram para verificar la presencia y el tipo de contaminación bacteriana presente. Los resultados obtenidos de los 101 billetes analizados, se obtuvieron 124 aislamientos. De éstos, el género más frecuentemente aislado correspondió a *Bacillus* spp., aislado en 65 billetes (52,4%). Otras bacterias aisladas correspondieron a cocos grampositivos, en 29 billetes (23,4%), y los estafilococos coagulasa negativos fueron los que predominaron, los cuales se aislaron en 25 billetes (20,2%). También fue posible aislar bacterias con morfología de bacilos gramnegativos en 30 de los billetes (24,2%). Diecinueve de dichos aislamientos (15,3%) correspondieron a miembros de la familia Enterobacteriaceae, y *Pantoea agglomerans* (anteriormente, *Enterobacter agglomerans*) fue la especie más frecuentemente aislada (8,9%). Siete de los bacilos de *Escherichia coli*. gramnegativos (5,6%).(8)

Sergio D, realizó un estudio descriptivo y retrospectivo con todos los pacientes que ingresaron por urgencias a la Clínica CES, de enero de 2005 a abril de 2010, llevados a cirugía para drenaje de peritonitis o absceso peritoneal adquiridos en la comunidad. Se realizó una revisión manual y detallada de las historias clínicas, recolectando los datos de las variables incluidas en el instrumento de recolección. Se excluyeron todos los pacientes en cuyas muestras no se hubiera practicado tinción de Gram y cultivo en la primera intervención, que tuvieran peritonitis secundaria a un procedimiento quirúrgico o con algún tipo de intervención intraabdominal previa, aquellos con más de 48 horas de estancia hospitalaria previa al drenaje de la peritonitis, con trauma penetrante o exposición previa a antibióticos por otras razones. Por protocolo, las muestras para la tinción de Gram y cultivo se tomaron durante la primera inspección de la cavidad abdominal, siempre después de una adecuada asepsia y antisepsia quirúrgica, para evitar contaminación por patógenos hospitalarios, y se cultivaron en agar sangre y medio de MacConkey para aerobios. Se revisaron 319 historias de la base de datos de la clínica. Para la inclusión en el trabajo, se tuvo en cuenta el resultado del cultivo de la primera intervención practicada. De las 319 historias, 83 cumplieron los criterios de inclusión.

En 49 % de las coloraciones de Gram, no se observó ningún microorganismo, en 31 % hubo flora mixta y en 20 % se aisló un microorganismo. De estos aislamientos (20 %), 44% correspondió a un bacilo Gram negativo de *Escherichia Coli* y 25 %, a un coco Gram positivo (9)

Dra. Tersilia G, para el año 2011 se realizó un estudio de identificación y sensibilidad antimicrobiana de bacterias gramnegativas causantes de neumonía en pacientes VIH/sida. El Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades reconoce a la neumonía bacteriana recurrente (más de 2 episodios/año) como una de las enfermedades defensoras del sida. Dentro de la familia Enterobacteriaceae se involucran en la etiología de la neumonía los siguientes microorganismos: *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*.

Métodos se realizó en el Laboratorio de Microbiología Clínica del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí", un estudio descriptivo prospectivo para identificar las bacterias gramnegativas que ocasionaron neumonía en pacientes VIH/sida

Recolección y procesamiento de las muestras biológicas: la recepción de las muestras se realizó antes del ingreso de los pacientes en la sala y aún en los casos hospitalizados, se evitó el tratamiento con antimicrobianos antes de su recolección. Esputo (para tinción de Gram y cultivo). Se recolectó en todos los pacientes estudiados al ingreso o en las primeras 24 h, con previo enjuague de la cavidad bucal. Los resultados de todas las muestras procesadas provenientes de los pacientes estudiados se aislaron 74 bacterias potencialmente patógenas, de las que se identificaron 32 cepas de bacterias gramnegativas provenientes del esputo (43,2 %). No se aisló ningún microorganismo a partir del hemocultivo. Como se observa en la tabla, se aislaron 11 cepas (34,3 %) de *K. pneumoniae*. Los microorganismos que le siguieron en orden de frecuencia fueron: *Pseudomonas aeruginosa* (8 cepas: 25 %), *E. coli* (4 cepas: 12,5 %)(10)

Con este estudio monográfico es de relevancia para la investigación; por considerar la importancia de la detección y atención de la bacteria, considerando los resultados. De allí la importancia de la tinción como método científico biológico para su detección y así lograr resumir los casos de brotes en las personas que son contagiadas con la misma.

La naturaleza de la investigación se lleva bajo el perfil correspondiente a las ciencias puras o aplicadas por lo cual la naturaleza es descriptiva por cuanto las estrategias de recolección de datos consistieron en obtener la información directamente de documentos físicos y virtuales sobre la tinción de Gram en la bacteria *E. coli*.

## **Desarrollo**

### **Marco teórico:**

En 1884, un bacteriólogo danés, Christian Gram, desarrolló una técnica de tinción que permite separar a las bacterias en dos grandes grupos: Gram positivas y Gram negativas, basados en si retienen o no, el colorante primario (cristal violeta) luego del proceso de decoloración. Los organismos que retienen el cristal violeta luego de la adición del agente decolorante, el alcohol, aparecen como azul oscuro o violeta, y se designan como Gram positivos; aquellos que pierden el cristal violeta y se tiñen con el colorante secundario, la safranina, aparecen como rojos y se designan como Gram negativos(11)

Un examen minucioso de un extendido bacteriano teñido diferencialmente, provee una información muy importante sobre la caracterización morfológica e identificación de la muestra. Por ejemplo, una reacción positiva o negativa a la Tinción de Gram es sumamente importante como medio primario de clasificación.

### **PREPARACIÓN DE LAS LÁMINAS**

Para realizar una coloración, ya sea simple o diferencial, es necesario como primer paso, preparar el extendido de la muestra sobre la lámina portaobjeto y fijarlo para posteriormente añadir el o los colorantes y observar la muestra teñida bajo el microscopio de luz (12)

#### **Preparación del extendido:**

1. Colocar en cada una de las láminas limpias, secas y desgrasadas, una gota de solución salina utilizando el asa de platino previamente esterilizada.
2. Tomar asépticamente con el filamento una pequeña muestra del cultivo sólido y mezclar con la gota de solución salina para obtener una suspensión. También puede utilizarse un cultivo líquido, en dicho caso, la muestra se toma con el asa de platino y no es necesario colocar la gota de solución salina

3. Extender la suspensión con el asa de platino previamente esterilizada y enfriada
4. Dejar secar la lámina a temperatura ambiente
5. Fijar la muestra extendida a la lámina utilizando calor. Esto se logra pasando la lámina varias veces por la llama del mechero (máximo 3 veces). La lámina no debe calentarse mucho y ello se verifica tocando suavemente el dorso de la mano con lámina(11)

### **Tinción de Gram:**

1. Colocar las láminas extendidas y fijadas en una bandeja adecuada y cubrir su superficie con cristal violeta por un minuto. Lavar con agua destilada y escurrir
2. Cubrir la superficie de la lámina con la solución de lugol por un minuto. Lavar con agua destilada y escurrir
3. Colocar cada una de las láminas en posición inclinada y decolorarlas con alcohol a 95° hasta que el color libre deje de salir (aproximadamente 10-20 segundos). Lavar con agua destilada y escurrir

Este es el paso más importante de la coloración ya que una excesiva adición del alcohol permite la salida del colorante primario de las células Gram positivas

4. Cubrir las láminas con safranina por 30 segundos. Lavar con agua destilada y escurrir
5. Secar las láminas utilizando papel absorbente.
6. Colocar una gota de aceite de inmersión sobre las láminas teñidas y secas y examinarlas bajo un microscopio de luz, utilizando el objetivo de inmersión.(90X-100X)

Observar varios campos hasta encontrar aquél, donde las células están adecuadamente separadas, para permitir la visualización de la morfología, arreglo de las células, presencia de endosporas y su reacción al Gram.

Este método de la tinción de Gram sirve para diagnosticar una infección causada por bacterias. También puede identificar el tipo de bacteria causante de la infección.

Este examen puede ayudar a encontrar la causa de diversos problemas de salud, como:

- Enfermedad o infección intestinal.
- Enfermedades de transmisión sexual (ETS)
- Dolor articular o hinchazón inexplicables.
- Signos de una infección cardíaca o acumulación de líquido en el saco delgado que rodea el corazón (pericardio).
- Signos de infección del espacio alrededor de los pulmones (espacio pleural).
- Tos que no desaparece o si está expectorando material con un mal olor o un color raro.
- Úlcera cutánea infectada.(12)

### **Fundamentos de diferenciación de Gram positivo y Gram negativo**

Los fundamentos de la técnica se basan en las diferencias entre las paredes celulares de las bacterias Gram positivas y Gram negativas. La pared celular de las bacterias Gram positivas posee una gruesa capa de peptidoglicano, además de dos clases de ácidos teicoicos: anclado en la cara interna de la pared celular y unido a la membrana plasmática, se encuentra el ácido lipoteicoico, y más en la superficie, el ácido teicoico que está anclado solamente en el peptidoglicano (también conocido como mureína).(13)

Por el contrario, la capa de peptidoglicano de las Gram negativas es delgada, y se encuentra unida a una segunda membrana plasmática exterior (de composición distinta a la interna) por medio de lipoproteínas. Tiene una capa delgada de peptidoglicano unida a una membrana exterior por lipoproteínas. La membrana exterior está hecha de proteína, fosfolípido y lipopolisacárido. Por lo tanto, ambos

tipos de bacterias se tiñen diferencialmente debido a estas diferencias constitutivas de su pared. La clave es el peptidoglicano, ya que es el material que confiere su rigidez a la pared celular bacteriana, y las Gram positivas lo poseen en mucha mayor proporción que las Gram negativas. La diferencia que se observa en la resistencia a la decoloración, se debe a que la membrana externa de las Gram negativas es soluble en solventes orgánicos, como por ejemplo la mezcla de alcohol/acetona. La capa de peptidoglucano que posee es demasiado delgada como para poder retener el complejo de cristal violeta/yodo que se formó previamente, y por lo tanto este complejo se escapa, perdiéndose la coloración azul-violácea. Pero por el contrario, las Gram positivas, al poseer una pared celular más resistente y con mayor proporción de peptidoglicano, no son susceptibles a la acción del solvente orgánico, sino que este actúa deshidratando los poros, cerrándolos, lo que impide que pueda escaparse el complejo cristal violeta/yodo, y manteniendo la coloración azul-violeta.(13)

La tinción de Gram es utilizada comúnmente como estudio para la bacteria *Escherichia coli*. Ella está integrada por bacilos Gram negativos no esporulados, móviles con flagelos peritricos o inmóviles, aerobios-anaerobios facultativos, capaces de crecer en agar MacConkey y en medios simples con o sin agregado de NaCl, fermentadores, esto quiere decir que pertenece a ese gran grupo de bacterias Gram negativas,

### **Reservorios y métodos de transmisión**

La principal vía de transmisión de la *Escherichia coli* son los alimentos contaminados, como por ejemplo, carne molida, productos cárnicos crudos o insuficientemente cocidos, hamburguesas, embutidos fermentados, leche no pasteurizadas, yogurt, queso, mayonesa, papa, lechugas, jugos de manzanas no pasteurizadas, aguas, entre otros. La contaminación de los alimentos se debe al contacto de las heces del ganado. Otra forma de transmisión incluye el contacto directo del hombre con los animales la contaminación cruzada durante la preparación de alimentos, y la transmisión persona a persona por la ruta fecal-oral

es importante destacar que la dosis infecciosa capaz de ocasionar la enfermedad por parte de este grupo bacteriano es de 10 a 100 Gramos de bacterias por alimentos.(13)

Se debe enfatizar que también pueden constituir riesgo de transmisión aquellos individuos que está recuperándose de un episodio diarreico, ya que pueden seguir eliminando gérmenes a través de las heces.

### **Mecanismo de daño**

Al colonizar tejidos extraintestinales, la *Escherichia coli* produce procesos inflamatorios piógenos similares a otras bacterias y en ocasiones de mayor intensidad por los factores propios de esa bacteria. Se ha mencionado que es la bacteria que produce mas infecciones en heridas en los hospitales, puede infectar las vías respiratorias y las meninges, como consecuencia de una invasión a circulación sanguínea. Las septicemias por *Escherichia coli* son muy preocupantes por la gravedad de su pronostico. Se pueden instalar en hígado, vías respiratorias u otros órganos. Cuando hay perforación intestinal, son las responsables de la peritonitis consecutiva a la dicha lesión.

Las infecciones urinarias son producidas por *Escherichia coli* en mas del 70% de los casos y pueden ser el agente etiológico de la enteritis y la enterocolitis (diarrea del turista).(13)

## CONCLUSION

La Escherichia Coli es una bacteria Gram negativa que se aloja en el intestino grueso como el delgado de seres humanos y animales. Al colonizar tejidos extraintestinales se vuelve una amenaza para la salud pública produciendo procesos piógenos de gran intensidad. Es una de las bacterias que produce más infecciones en pabellones hospitalarios, afectando las vías respiratorias, las meninges y es la responsable principal de la peritonitis tras una perforación intestinal; sin embargo, también la conseguimos en contaminaciones cruzadas de alimentos, mal higiene en partes íntimas siendo la bacteria que genera un 70% de infecciones urinarias, entre otras.

El método de tinción de Gram diagnostica una infección causada por una bacteria. La Escherichia Coli, una bacteria Gram negativa utiliza, como su nombre lo indica, el método de tinción de Gram para identificarla y aislar su presencia. También permite identificar entre una flora normal y una flora alterada para luego dar un diagnóstico. El fundamento de la técnica se basa en las diferencias de las paredes celulares entre las bacterias Gram negativas, donde la capa de peptidoglicano es delgada y las de las bacterias Gram positivas con capas gruesas. Esta diferencia de espesores de paredes tiene como ventajas que las bacterias se tiñen diferentes siendo más fácil su identificación.

El método pone a prueba la resistencia a la decoloración para identificar una bacteria Gram negativa de la Gram positiva. La Gram negativa es soluble en compuestos orgánicos y sus paredes delgadas permiten que se escape el complejo violeta/yodo perdiendo la coloración (azul-violácea), caso contrario con las Gram positivas que por poseer paredes más gruesas impiden escapar el complejo manteniendo la coloración (Azul/violeta).

La consolidación de las técnicas más eficientes para prevenir contraer las enfermedades derivadas de la Echerichia Coli está relacionada con la higiene, tanto personal como alimenticia. La cocción de los alimentos de forma adecuada, evitar la contaminación cruzada entre tipos de carnes al momento de almacenaje y

preparación y consumiendo bebidas pasteurizadas hace disminuir la probabilidad de contraer dichas enfermedades. Es recomendable hacer talleres de información en educación inicial para crear la cultura de higiene en las personas y así combatir este tipo de enfermedades antes de contraerla.

## Referencias Bibliográficas

1. Benson Harold. 1979 microbiological applications, a laboratory manual in general microbiology. Third edition. Wm, C. Brown Company Publisher.
2. Custodio J. Guía III identificación de enterobacterias. Slideshare [INTERNET] 2010 [publicado 20 Sep. 2010] publicado en salud y medicina. disponible en el link: <http://es.slideshare.net/jcustodio91/guia-iii>
3. Raul Romero Cabello. Editor. Microbiología y parasitología humana 3ra edición. 2007 p. 25-30
4. Corrales, L. Caicedo, D. 2008. Identificación de Salmonella y Escherichia coli en manos y guantes de manipuladores en planta de sacrificio y faenado de un municipio de Cundinamarca. [internet] 2008 [publicado sep. 2008] disponible en el link: file:///C:/Users/Mariale/Downloads/102-692-1-PB.pdf
5. Gonzales, C. Moreno, M. 2006. Flora vaginal en pacientes que asisten a consulta ginecológica. Rev. Soc. Venez. De microbiología. [internet] 2006 [publicado jun. 2006] disponible en el link. [http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1315-25562006000100005&lng=pt&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562006000100005&lng=pt&nrm=iso&tlng=es)
6. Lic. Vizcaya, L. Lic. Flore, A. Dr. Hernández J. (1998) origen bacteriano de la enfermedad diarreica aguda en Venezuela, revista cubana de Medicina Tropical [internet] 1998. [Publicado 11 marzo de 1998] disponible en el link. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0375-07601999000100002](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07601999000100002)
7. Vázquez, M. 2011. Gobierno dice estar preparado para enfrentar bacteria *Escherichia coli*. (Diario el Tiempo) [Citado el 14 jun 2011] pág. Salud, Disponible en el link: <http://eltiempo.com.ve/locales/zonanorte/salud/gobierno-dice-estar-preparado-para-enfrentar-bacteria-e-coli/24104>

8. Carlos B, Santiago E, Maria Teresa C, Elisa S, Billetes como fómites de bacterias con potencial patógeno para el hombre. Scielo [Interne]. 2010 [Citado Junio del 2010] Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0123-93922010000200006](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-93922010000200006)
9. Sergio D, Felipe S, Carlos Andres C, Diego P, Microbiología de la peritonitis secundaria adquirida en la comunidad, Clínica CES. Rev Colomb Cir [Internet].2012;(27):40-45. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rcci/v27n1/v27n1a5.pdf>
10. Dra. Tersilia G, Dra. Isabel M, Lic. Daniel S, Identificación y sensibilidad antimicrobiana de bacterias gramnegativas causantes de neumonía en pacientes VIH/sida. Rev Cubana Invest Bioméd [Internet]. 2012 [Citado en Marzo 2012]. 2012 vol.31 no.1 Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0864-03002012000100006&script=sci\\_arttext](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0864-03002012000100006&script=sci_arttext)
11. Vizcarrondo, M. Gutierrez, S. 2001, laboratorio de microbiologia- morfología y tinción de los microorganismo, trabajo practico [noviembre 2001] pag. 6.2 – 6.7
11. Dr. Jatin, M. 2011 medline plus información de la salud tinción de Gram [05 dic. 2014] pag. 2
12. Soogaard, M. Norgard, M. (2007) first notification of posotive blood cultures. High accuracy of the Gram stain report, ariculo en la revista journal of clinical microbiology, pag. 113, [2007]
13. Mendez, A. 2011, enfermedades bacterianas, gastrointestinales [internet] publicado [04 jun 2011] disponible en el link: <http://blog.ciencias-medicas.com/archives/1373>