

الأحياء المجهرية

**Microbiology**

(( ))

صفاء نعمت حسين

## تصبيغ البكتريا بصبغة كرام Gram Stain

وهي من الصبغات التفريقية التي ورد ذكرها فيما سبق والتي تستخدم لتصبيغ البكتريا بهدف التشخيص وتحديد المواقع التصنيفية لها ومن هذه الصبغات صبغة كرام وسميت بهذا الاسم مكتشفها الطبيب الدنماركي Dr.Hans Christian 1883  
الآتية وحسب تسلسل استخدامها في عملية التصبيغ :

- 1- Crystal Violet
- 2- Iodine Solution ( Gram's Iodin)
- 3- Ethanal %95
- 4- Safranin ( Counter Stain)

تتلخص خطوات لتصبيغ بما يأتي :

- 1- بعد تحضير الغشاء من البكتريا المراد تصبيغها تضاف قطرات من صبغة الكريستال البنفسجي وتترك بحيث تلامس الغشاء لفترة دقيقة واحدة .
- 2-
- 3- تضاف قطرات من محلول اليود على الغشاء وتترك لدقيقة .
- 4-
- 5- تضاف قطرات من الكحول الايثيلي ( بتركيز %95 )
- 6- يغسل الكحول الزائد بالماء .
- 7- Safranin 1/2 دقيقة ثم تغسل

- 8- تجفف الشريحة وتفحص بالعدسة الصغرى ثم بالعدسة الزيتية ، حيث نلاحظ البكتريا قيد الفحص أما اكتسبت لون الصبغة وهي صبغة الكريستال البنفسجي فيظهر عندئذ تحت المجهر باللون البنفسجي وتسمى البكتريا في هذه الحالة ببكتريا موجبة لصبغة كرام ويرمز لها G+ g+ إنها تظهر تحت المجهر بلون الصبغة الأخيرة وهي صبغة السفرانين الوردي وتسمى البكتريا في حالة ظهورها باللون الوردي أو ببكتريا سالبة لصبغة كرام ويرمز لها ب- g- .
- باللون البنفسجي صفة خاصة بالبكتريا على

أمثلة على البكتريا السالبة لجنس كرام g- التي تظهر بصورة دائماً وليس بين فترة وتظهر باللون

*Escherichia coli , Enterobacter aerogenes , Salmonella typhi , Shigelle dysanteria* وجميع البكتريا ضمن عائلة Enterobacteraceae  
أمثلة على البكتريا الموجبة لصبغة كرام g+ والتي تظهر تحت المجهر باللون

*Clostridium Spp , Bacillus Spp , Lactobacillus Spp , Streptococcus Spp*

ما جرت عملية التصبيغ على مراحل وتم فحص الخلية البكتيرية في كل مرحلة تحت المجهر :

لون البكتيريا تحت المجهر		مراحل التصبيغ
بكتريا g-	بكتريا g+	
		محلول اليود
عديم اللون		الكحول الايثيلي
-		السفرانين
		الأخيرة

### النظريات التي تفسر تصبيغ خلايا البكتيريا بـ

احتفاظ خلايا بعض البكتيريا لصبغة الكريستال البنفسجي وظهورها تحت المجهر بصبغة السفرانين وظهورها تحت المجهر باللون يعود هذا الاختلاف التباين في التركيب الكيماوي لجدار الخلية بين هذين النوعين من البكتيريا .

فجدار خلايا كرام السالبة من البكتيريا على نسبة عالية من المواد الدهنية التي يزال جزء منها الكحول في المرحلة الثانية من عملية التصبيغ الذي يؤدي صبغة الكريستال اليود من الخلية الخارج فتكون الخلية مهياة وهي صبغة السفرانين عليه تبدو هذه من البكتيريا باللون الوردي عند الانتهاء من تصبيها بصبغة كرام بخلاف البكتيريا الموجبة لصبغة كرام والتي تظهر تحت المجهر باللون البنفسجي حيث تحتوي في جدارها الخلوي على نسبة واطئة ( في حدود 2%) من المواد الدهنية . وهناك نظرية تفسر احتفاظ خلايا كرام الموجبة بلون الكريستال البنفسجي وهي خلايا هذه البكتيريا تحتوي نسبة عالية من ايونات المغنسيوم  $Mg^{++}$  هم معقد الصبغة واليود بمكونات الخلية ذات السلوك الحامض ويوضح الجدول الفروقات بين بكتريا g- g+ :

G-	G+	
قليل الحساسية	كثير الحساسية	الحساسية تجاه المضادات الحيوية وبخاصة البنسلين
كثيرة ( 20-30%)	قليلة (2-3%)	محتوى الجدار الخلوي من المواد الدهنية
غير موجودة أو نادرة		Mesosomes الميزوزومات
يؤثر	يؤثر	Lysozyme أنزيم