الصبغ المركب

الصبغ بطريقة جرام

Gram-staining procedure

اكتشفها العالم الدنمركى Christian Gram سنة 1884عند صبغه للأنسجة المصابة ببعض البكتريا حيث تأخذ الأنسجة لون بنى خفيف Brownish والبكتريا لون بنفسجى غامق وقد اتضح من التجربة أن استخدام صبغة الجنسيان البنفسجى مع اليود يكون داخل الخلايا معقد بنفسجى لا يزيله الكحول أو الأسيتون من البكتريا الموجبة لجرام G^+ ويزيله الكحول أو الأسيتون من البكتريا السالبة لجرام G^- .

خطوات صبغة جرام

1- تحضير الغشاء وتثبيته جيدا .

2



غمر الغشاء بصبغة الجنسيان البنفسجي لمدة 1 دقيقة

3- إزالة الزيادة من الصبغة في حوض الصبغ.

4- غسل الشريحة بتيار هادئ من الماء.



5

غمر الغشاء باليود لمدة 1 دقيقة.

6- إزالة الزيادة من اليود في حوض الصبغ.



7

غسل الغشاء بالكحول 95% حتى تتساقط قطرات خالية من الصبغة.

8- غسل الشريحة بتيار هادئ من الماء.

10- إزالة الزيادة من الصبغة في حوض الصبغ.

11- غسل الشريحة بتيار هادئ من الماء.

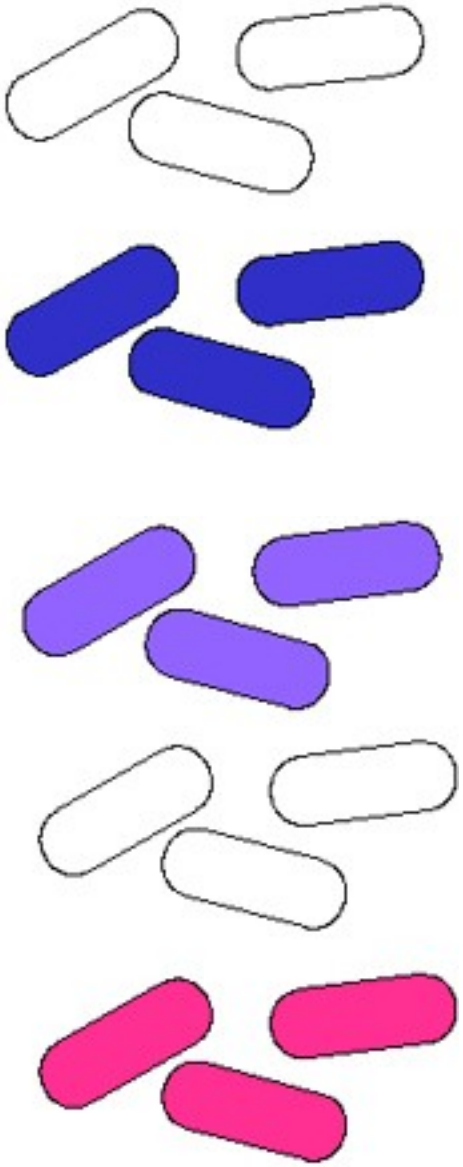
12- تجفيف الغشاء بإستخدام اللهب المباشر.



9

غمر الغشاء بصبغة أحمر الفوكسين لمدة 1 دقيقة

البكتريا السالبة لجرام G^-



تثبيت الغشاء

↓

الجنسيان البنفسجي

↓

اليود

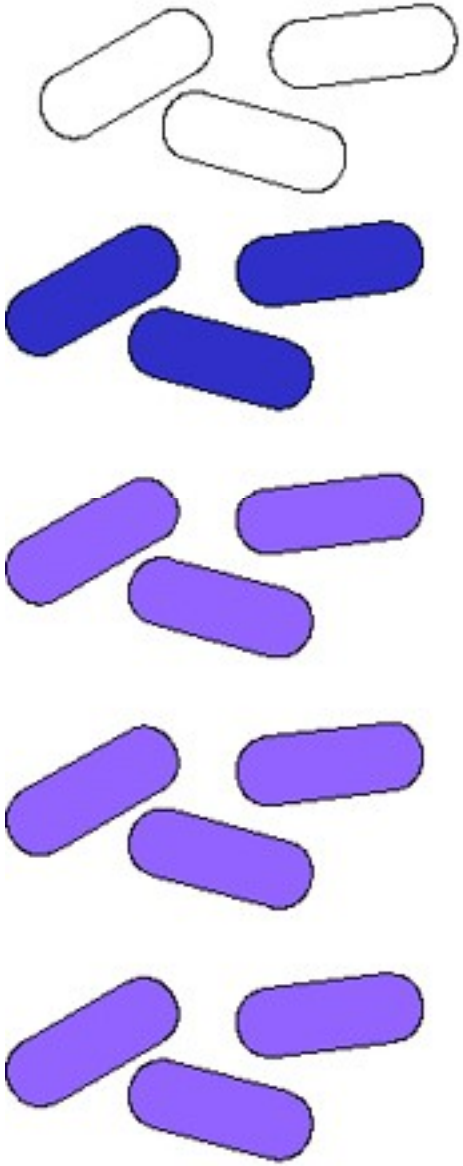
↓

الكحول

↓

أحمر الفوكسين

البكتريا الموجبة لجرام G^+



الأساس العلمي

عند معاملة خلايا البكتريا بصبغة الجنسيان البنفسجى ثم اليود يتكون داخلها معقد بنفسجى

بعض البكتريا تفقد هذا المعقد عند معاملتها بالكحول فتصبح شفافة , وتكتسب لون صبغة أحمر الفوكسين

وتسمى

بالبكتريا السالبة لجرام G^-

بعض البكتريا تحتفظ بالمعقد داخل خلاياها حتى بعد غسيلها بالكحول فتبقى محتفظه باللون البنفسجي

وتسمى

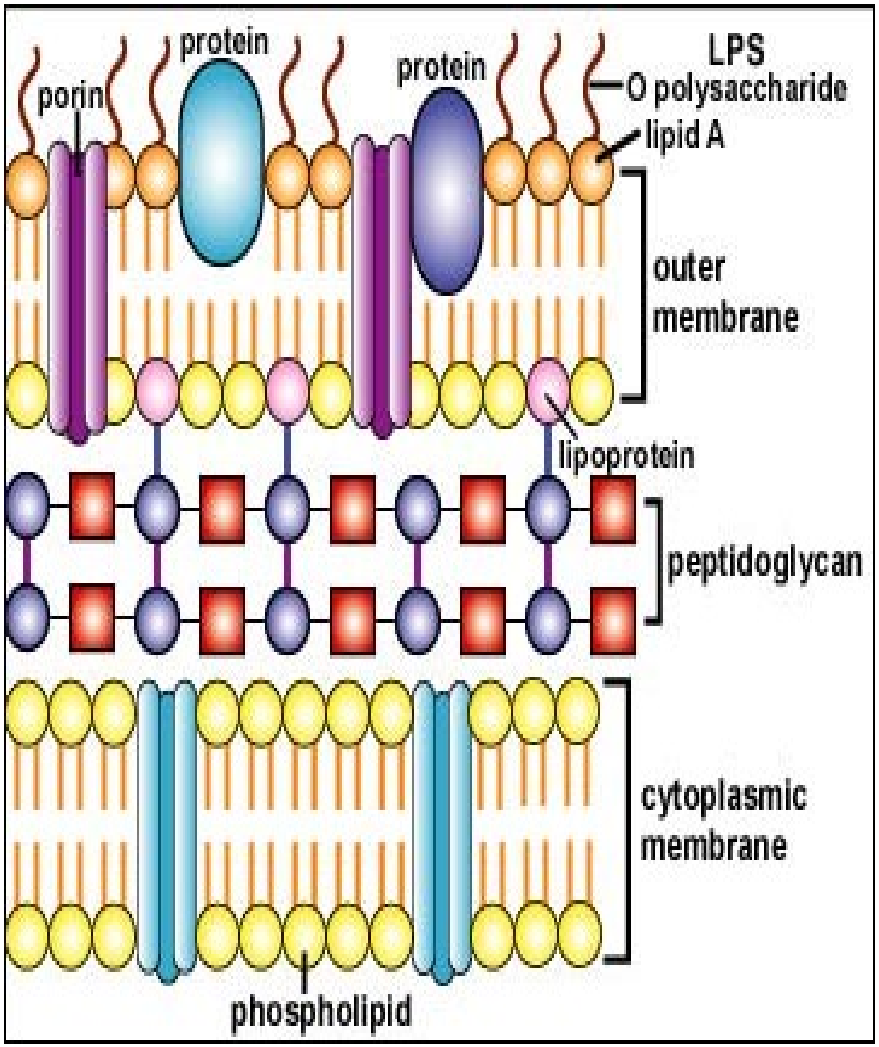
بالبكتريا الموجبة لجرام G^+

ويفسر ذلك بعض النظريات

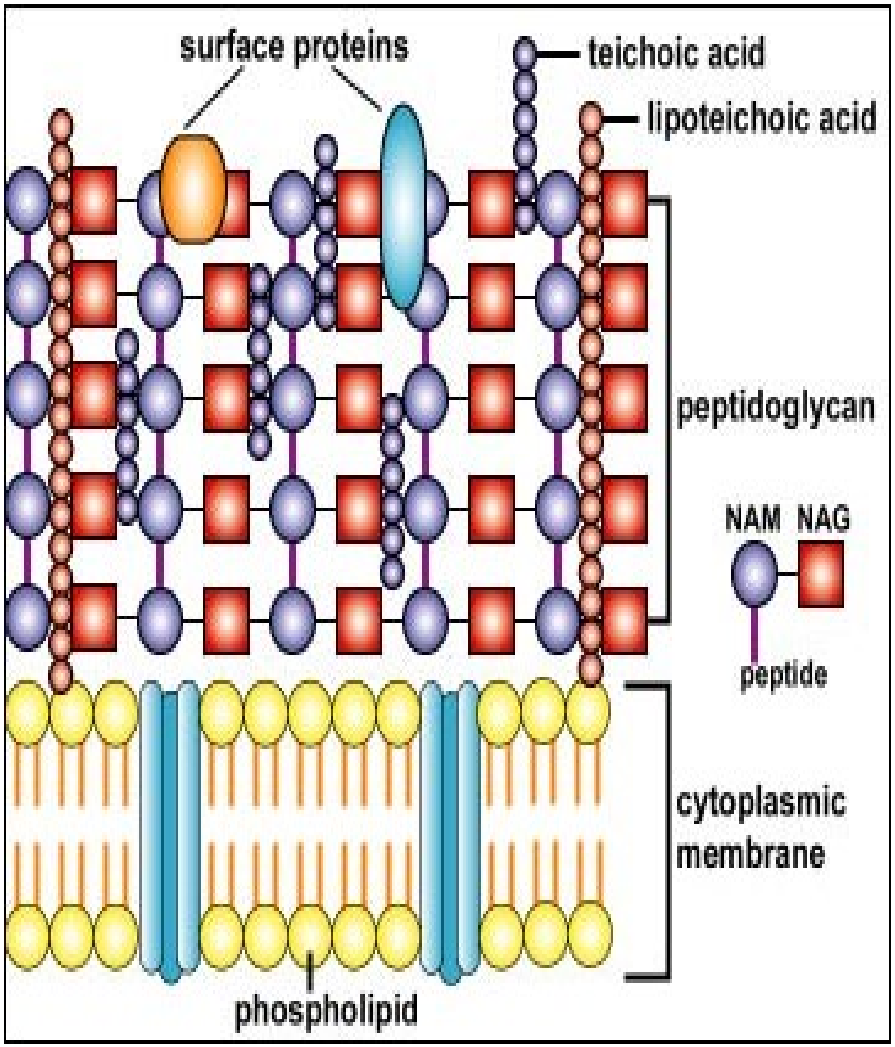
النظرية الأولى: (الاختلاف فى تركيب الجدار)

جدار البكتريا G^+ به نسبة عالية من مركب Peptidoglycan ونسبة منخفضة من الدهون أما جدار البكتريا G^- فبه نسبة أعلى من الدهون و بالتالى فإن المعاملة بالكحول تعمل على إذابة الدهون فى جدار البكتريا G^- محدثا فتحات كبيرة يخرج منها معقد الصبغة, بينما تتكون فتحات صغيرة في جدار البكتريا G^+ لا يخرج منها المعقد.

البكتريا السالبة لجرام



البكتريا الموجبة لجرام



النظرية الثانية: (الاختلاف فى تركيب البروتوبلازم)

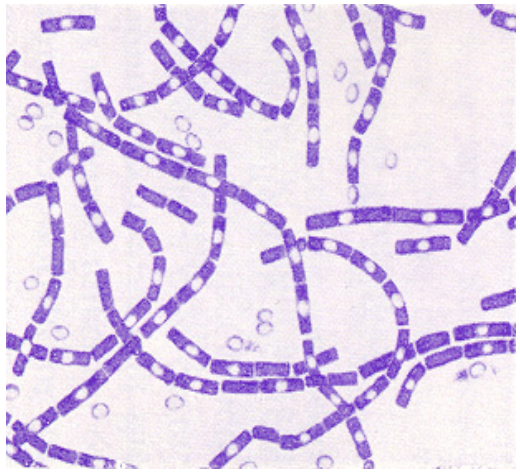
يختلف التركيب الكيميائى لبروتوبلازم الخلايا G^+ , G^- حيث يتكون معقد من الجنسيان واليود وبروتوبلازم الخلايا G^+ فتحتفظ باللون البنفسجى ولا يتكون هذا المعقد مع الخلايا G^- .

الأهمية البكتريولوجية لصبغة جرام

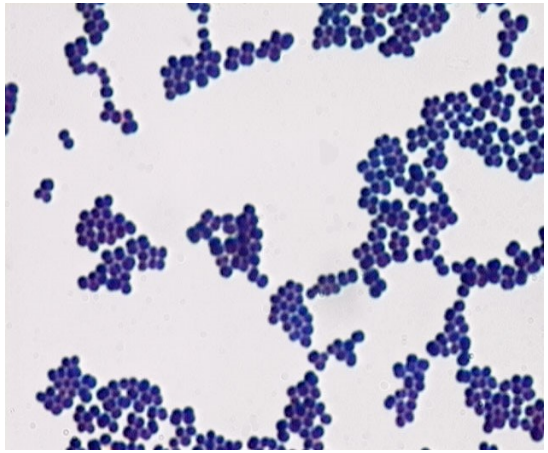
1- تستخدم فى تقسيم البكتريا الى نوعين البكتريا G^+ و البكتريا G^-.

2- تستخدم فى الكشف عن نقاوة المزارع البكتيرية.

3- تستخدم فى تشخيص بعض الأمراض.



Bacillus subtilis



***Micrococcus* spp**



Escherichia coli

انتشارالبكتريا فى الطبيعة

تنتشر البكتريا فى الطبيعة انتشارا واسعا وذلك:

- لصغر حجمها حيث يسهل حملها بالهواء.
- سرعة تكاثرها حيث توجد باعداد كبيرة.
- تنوع إحتياجاتها الغذائية.

ومع ذلك هناك اماكن محدودة خالية من البكتريا هى:

- الأنسجة الداخلية للحيوانات السليمة و النباتات.
- الأعماق البعيدة من التربة.
- داخل الصخور.
- داخل البراكين النشطة.

إختبار مدى إنتشار البكتريا في الهواء و التراب و الجلد

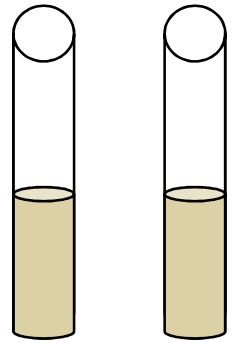
الأدوات المطلوبة:

1- عدد 2 انبوبة اجار مغذي عميق معقم.

2- عدد 2 طبق بترى معقم.

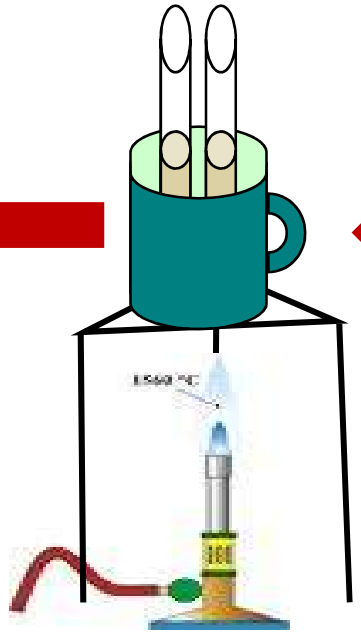
3- حمام مائي.

4- ترمومتر.



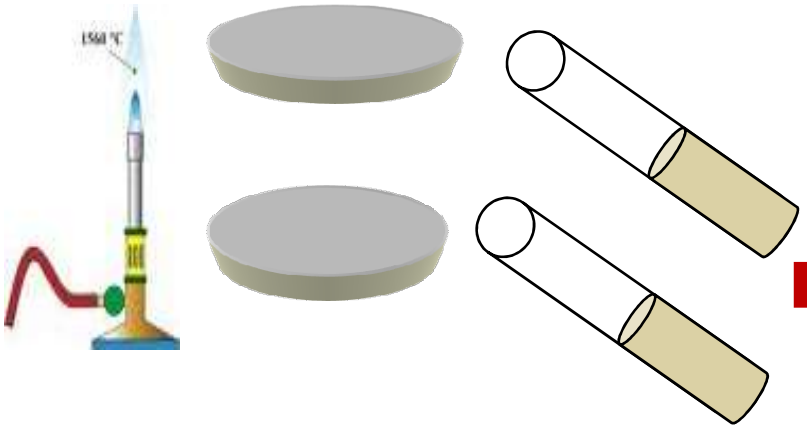
2 أنبوبة بيئة
أجار عميق

اسالة بيئة الآجار
العميق علي 100 ° م



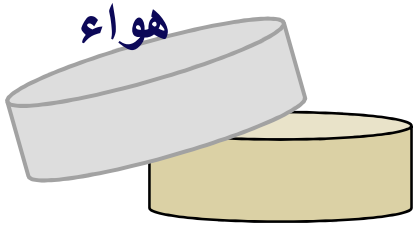
تبريد البيئة الى
50 ° م

- تحريك الأطباق رحويا
- ترك الأطباق حتى يتجمد الاجار



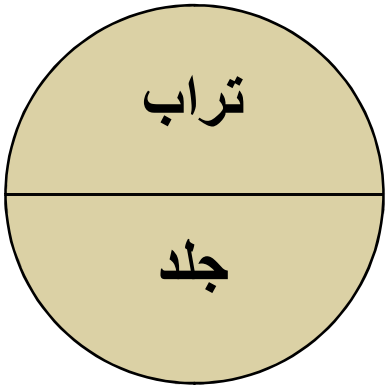
صب الأجار في الأطباق
بجوار اللهب

يكتب على أحد الأطباق هواء و يترك مفتوحا بعيدا عن اللهب لمدة 15 دقيقة



غلق الطبق

تقسم قاعدة الطبق الاخر الى قسمين و يكتب على أحدهما تراب و الآخر جلد



التحضين على 30 ° م
لمدة 48 – 72 ساعة

-التخطيط بإصبع اليد على سطح البيئة في النصف المكتوب علية جلد

- إمرار قطعة من القطن بما عليها من تراب على سطح البيئة في النصف المكتوب علية تراب

بعد التحضين:

تتكون مجاميع ميكروبية (مستعمرات Colonies) يمكن رؤيتها بالعين المجردة نتيجة لتكاثر الميكروبات وتكون عدد كبير من الخلايا.

