

صبغة كرام Gram stain

تعد صبغة كرام طريقة سريعة وخطوة أولى في تشخيص وتصنيف البكتيريا كسالبة لصبغة كرام gram negative أو موجبة لصبغة كرام gram positive بالاعتماد على الخصائص الكيميائية والفيزيائية لجدار البكتيريا الخلوي استنادا إلى اختلاف اللون الذي تأخذه البكتيريا في هذه الصبغة.

سميت صبغة كرام بهذا الاسم نسبة إلى العالم الدنماركي Hans Christian Gram عام 1884 .

التصنيع بصبغة كرام-

المواد المستعملة :-

الصبغة الابتدائية Crystal Violet

محلول اليود – مثبت Iodine

كحول معقم أو استون مزيل الألوان

الصبغة المعادلة Safranin

شرائح زجاجية Slides

زيت السدر

وسط زرع يحتوي على مزرعة بكتيرية

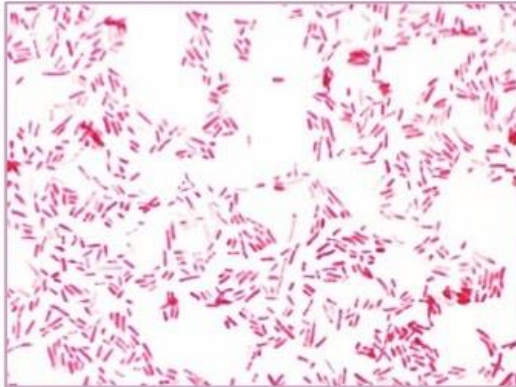
طريقة العمل:

- 1- ضع مسحة من المزرعة البكتيرية بواسطة Loop وسط الشريحة وتمزج مع قطرة من الماء بحركة دائرية ثم تفرش و تمرر فوق اللهب عدة مرات و سيعمل التسخين على تثبيت البكتيريا فلا تنزلق بسهولة أثناء استخدام الصبغة.
- 2- ضع محلول الصبغة Crystal Violet بكمية وافرة على المسحة البكتيرية لمدة 30-40 ثانية .
- 3- اغسل الشريحة جيدا بالماء.
- 4- ضع محلول الصبغة Iodine بكمية وافرة على المسحة البكتيرية لمدة دقيقة.
- 5- اسكب محلول اليود ولا تغسل الشريحة .
- 6- ضع عدة قطرات من محلول مزيل الألوان لمدة 10-15 ثانية .
- 7- اغسل الشريحة جيدا بالماء.
- 8- ضع محلول الصبغة المعادلة Safranin بكمية وافرة على المسحة البكتيرية لمدة 30 ثانية.
- 9- اغسل الشريحة جيدا بالماء ثم اتركها لتجف أو ضعها بين طبقتين من ورق النشاف.

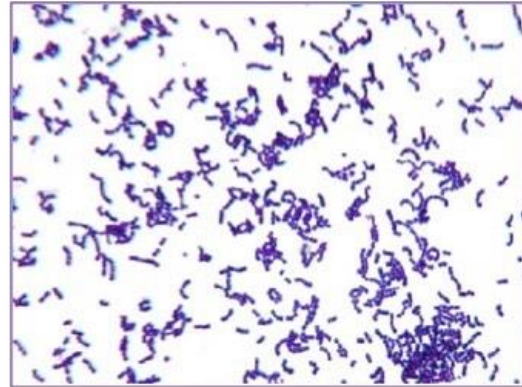
10- افحص تحت المجهر باستعمال العدسة الزيتية.

الغرض من القيام بهذه العملية هو تمييز البكتريا الموجبة لصبغة كرام عن البكتريا السالبة لصبغة كرام و هي احدى الصفات التشخيصية للبكتريا .
البكتريا الموجبة لصبغة كرام G^+ تتصبغ باللون الازرق او البنفسجي
البكتريا السالبة لصبغة كرام G^- تتصبغ باللون الوردي الفاتح .

ان سبب اختلاف استجابة خلايا البكتريا لصبغة كرام يعود الى اختلاف التركيب الكيميائي لجدار الخلية البكتيرية إذ ان جدار البكتريا السالبة يحتوي على نسبة أعلى من الليبيدات Lipids والمواد الدهنية ، مقارنة بالبكتريا الموجبة التي يكون جدارها أقل محتوى من الدهون.
جدار البكتريا الموجبة تحتوي على طبقات سميكة من مادة Peptidoglycan (90-95%) مقارنة بالبكتريا السالبة (5-10%).



Gram-Negative Bacteria



Gram-Positive Bacteria