الصبغة Stain or Dye

جدار الخلية البكتيرية يحتوي على مجاميع مشحونة بالشحنة السالبة مثل مجاميع الكاربوسكيل carboxyl groups coo- لذلك فالصبغات الموجبة اي ذات الشحنات الموجبة يمكنها المرور الى داخل الخلية والارتباط مثال على ذلك الصبغات البسيطة simple stain تستخدم للفحص الأولي للتأكد من وجود البكتيريا في عينة معينة، من أمثلتها Methylene blue, crystal violet, basic purple dye\صبغات قاعدية

safranine, malachite green. acid fucsin and congo red\ صبغات حامضية

الصبغات التفريقية Differential stain

أولا صبغة جرام Gram stain

تعتبر صبغة جرام من أهم أنواع الصبغات المستخدمة في المستشفيات للتعرف على البكتيريا. ويعود الفضل في اكتشافها إلى الطبيب ذو الأصل الدانمركي هانس كريستيان جرام الذي كان يعمل في مختبر التشريح التابع لمستشفى Berlin في العام 1880 للميلاد. حيث قام بتطوير هذه الطريقة لتساعده على تفرقة أنواع البكتيريا المسببة لذات الرئة (Pneumonia)، حيث كانت أحد أنواع البكتيريا تصبغ بلون أحمر وأطلق عليها (بكتيريا سالبة جرام) والأخرى باللون الأزرق (بكتيريا موجبة جرام). و يعتمد لون البكتيريا في صبغة جرام على التركيب الكيميائي لجدار الخلية.

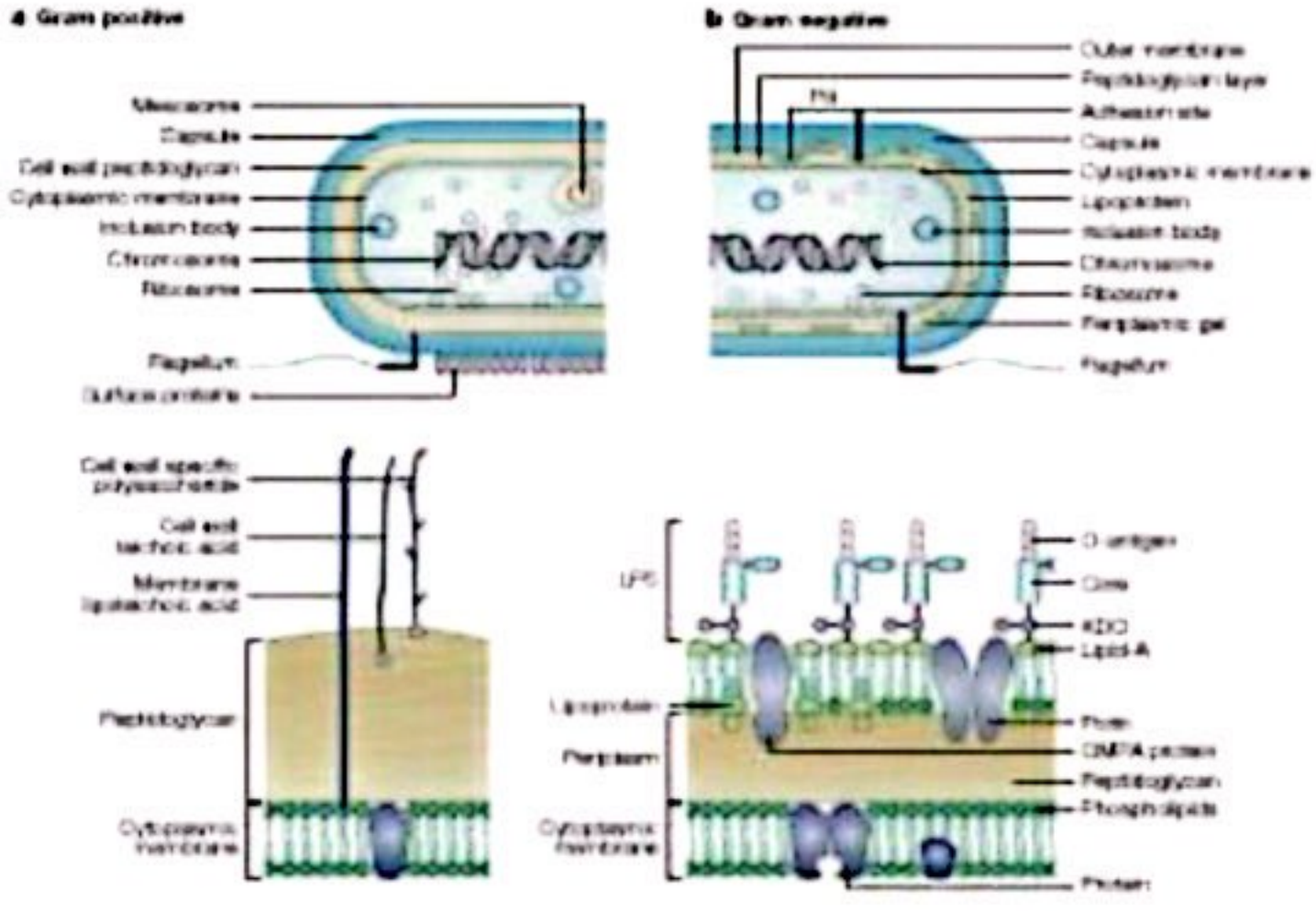
- **التفاعلات عند إضافة الصبغة**

عند إضافة Crystal violet إلى الشريحة تدل هذه الصبغة إلى داخل جدار الخلية ، و عند إضافة محلول اليود Iodine Solution يتفاعل مع Crystal violet ليكون مركب يسمى Crystal violet – Iodine complex فعند إضافة الكحول Alcohol يدخل إلى جدار الخلية فإذا كان المركب الأول قابلاً لذوبان في الكحول فإنه سوف يذوب ويخرج خارج جدار الخلية وبذلك يفرغ جدار الخلية من أي صبغة فعند إضافة Safranin ذات اللون الأحمر فإنها ستدخل إلى جدار الخلية وتلونها وبذلك تكون البكتيريا سالبة لصبغة جرام أما إذا كان المركب الأول غير قابل للذوبان في الكحول فإن الـ Crystal violet سوف يثبت في جدار الخلية فعند إضافة Safranin فإنها لن تجد لها مكان داخل الخلية لتثبت فيه وبذلك تكو البكتيريا موجبة لصبغة جرام .

- **الفرق بين البكتريا الموجبة لصبغة جرام والسالبة**

Scanned with CamScanner

هو تركيب جدار الخلية الكيميائي حيث الموجبة لصبغة جرام تحتوي على أحماض أمنية أقل من السالبة لصبغة جرام و تحتوي مود دهنية في البكتيريا السالبة لجرام أعلى من الموجبة لجرام ، و الجدار الخلوي في البكتيريا الموجبة لصبغة جرام أقل تعقيداً من البكتيريا السالبة حيث إن الجدار الخلوي في البكتيريا الموجبة لصبغة جرام تتكون من طبقتين وهما طبقة الموكوبيبتيد mucopeptide وتعرف بـ peptidoglycan و الطبقة الثانية مكون من حمض التيكوئيك teicoic acid ، أما جدار الخلوي للبكتيريا السالبة لصبغة الجرام تتكون من ثلاث طبقات هي طبقة الموكوبيبتيد mucopeptide وتعرف بـ peptidoglycan و طبقة دهنية سكرية lipo polysaccharides و طبقة دهنية بروتينية lipo protein .



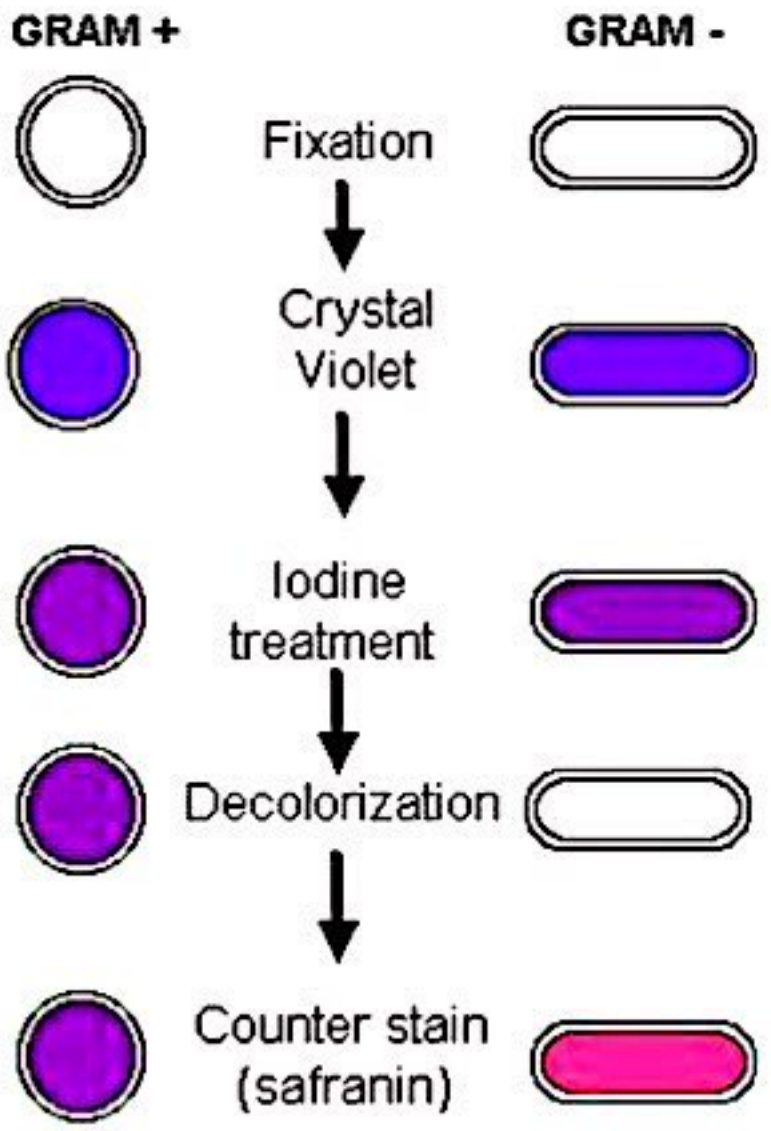
شكل الجدار الخلوي للبكتيريا الموجبة و السالبة لجرام

• طريقة الصبغة

1. تثبيت المعلق البكتيري
2. نضيف صبغة الكرستال البنفسجي Crystal violet لمدة دقيقة ثم تغسل بالماء (تيار خفيف)
3. نضيف اليود Iodine Solution لمدة دقيقة ثم تغسل بالماء (تيار خفيف
4. نضيف الكحول Alcohol لمدة 20ثانية ثم تغسل بالماء (تيار خفيف) .

Scanned with CamScanner

5. نضيف الصفرانين Safranin لمدة 30 ثانية ثم تغسل بالماء (تيار خفيف)
6. تجفف الشريحة ثم تفحص .



ثانيا صبغة الحامض الصامدة Acid- fast stain

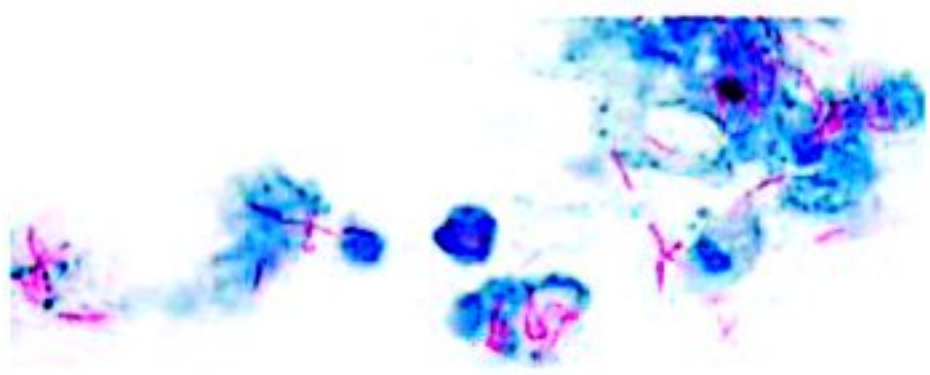
تستعمل لتمميز الكائنات التي تقاوم التنصيل أي ازالة اللون بمحلول الكحول الحامضي حيث تستخدم لتشخيص جرثومة السل الرئوي Mycobacterium tuberculosis ويرمز لها TB

تتلخص خطوات هذا التصبيغ ب:- أخذ عبنة من بلغم الشخص المصاب بالسل الرئوي ثم استخدام المكونات التالية

1. Carbol fuchsin
2. Acid- alcohol
3. Methylene blue

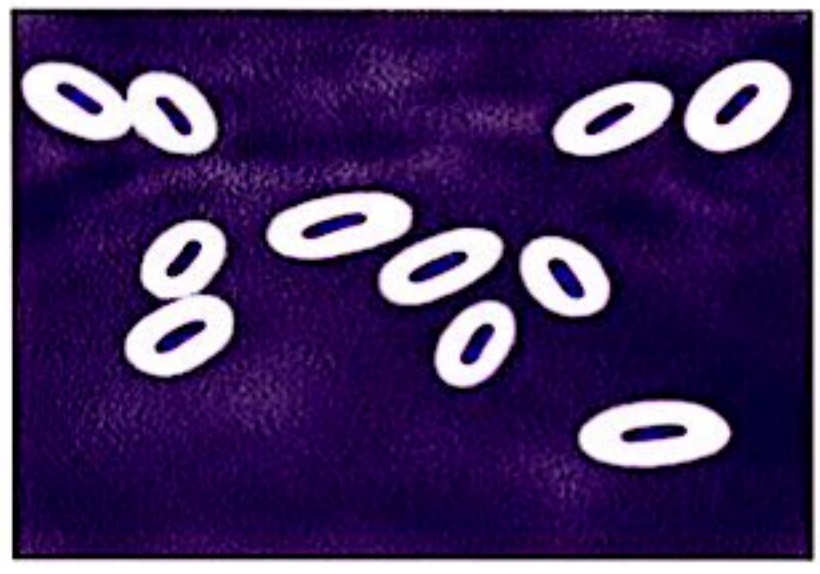
Scanned with CamScanner

هذه البكتيريا تقاوم القصر بالأحماض والكحولات لإحتواءها على مادة (mycolic acid) وهي مادة شمعية wax material في الخطوة رقم2 يمكن تمميز هذه البكتيريا وذلك لانها الوحيدة التي لاتقصر بالتالي تصتبغ باللون الاحمر بينما تصطبغ باقي البكتيريا باللون الازرق. ان المصطلح صامدة للحامض تعني هناك خاصية فيزيائية لهذه البكتيريا تشير إلى مقاومتهم للا زالة الصبغة بالاحماض خلال عملية الصبغ. الكائنات صامدة للحمض تكون صعبة التمييز بواسطة التقنيات الأساسية.على سبيل المثال. يمكن صبغ هذه الكائنات بواسطة صبغ مركزة وباستخدام الحرارة. إذا تم صبغها، هذه الكائنات تكون مقاومة للحامض المخفف.



التصبيغ السلبي Negative stain

تستخدم لصبغ كبسول البكتيريا المحفظة مثال عليها India ink. بما ان جدار خلية البكتيريا سالبةوالصبغة سالبة اذن يحصل تنافر فتظهر لنا الخلية شفافة محاطة بالصبغة من الخارج.



Scanned with CamScanner