

"MIKROCHEMIA"

Artur Rutkowski
00-354 Warszawa, ul. Dynasy 4
Regon 010970713, NIP 526-102-36-52

Barwienie preparatów mikrobiologicznych metodą Grama



Wytwórca:
„MIKROCHEMIA” ARTUR RUTKOWSKI
00-354 Warszawa ul. Dynasy 4

Odczynniki

1. Fiolet krystaliczny fenolowy
2. Płyn Lugola
3. Odbarwiacz
4. Fuksyna karbolowa

Zasada:

Preparat utrwalony nad płomieniem barwi się fioletem krystalicznym., następnie dobarwia płynem Lugola i odbarwia odbarwiaczem, a wreszcie zabarwia fuksyną.

Bakterie, które nie odbarwiły się, są fioletowe (Gram – dodatnie), bakterie, które odbarwiły się, są różowe (Gram– ujemne).

Technika barwienia:

Po sporządzeniu rozmazu badanego materiału preparat suszymy i utrwalamy, przeciągając go kilkakrotnie nad płomieniem.

Na utrwalony preparat ułożony na mostku nad wanienką, nalewa się fiolet krystaliczny na 1–2 min. Barwnik spłukuje się małą ilością wody i dodaje się płyn Lugola na 1–2 min.

Ponownie spłukuje się barwnik wodą.

Na tym etapie przeprowadza się odbarwianie za pomocą odbarwiacza, który kroplami opuszcza się na preparat aż do odbarwienia, tj. do chwili, gdy spływa czysty odbarwiacz.

Odbarwiacz spłukuje się wodą.

Preparat podbarwia się fuksyną karbolową, przez około 30 sekund. Barwnik spłukuje się wodą i suszy w temperaturze pokojowej, najlepiej w pozycji pionowej.

W mikroskopie widoczne są bakterie zabarwione albo na kolor ciemnofioletowy (granatowy), są to bakterie Gram-dodatnie, albo na kolor czerwony, są to bakterie Gram-ujemne.

W jednym preparacie mogą się znajdować różne gatunki bakterii o różnym zabarwieniu, np Gram-dodatnie ziarniaki i Gram-ujemne pałeczki.

Różna barwliwość bakterii barwionych tą metodą zależy od składu chemicznego komórek bakteryjnych.

Bakterie Gram-dodatnie zawierają w komórce bakteryjnej kwasy teichojowe, są to polimery fosforanu glicerynowego i rybitolowego, oraz rybonukleinian magnezu połączony z białkiem. Fiolet krystaliczny po połączeniu się z rybonukleinianem magnezu i jodem / płyn Lugola / tworzy nierozpuszczalny w alkoholu związek – parajodozanilinę, która pozostaje w komórce.

Bakterie Gram-ujemne mają inną budowę chemiczną i dlatego barwniki wypłukiwane są odbarwiaczem z komórek.

DYSTRYBUTOR:
PTH HYDREX Sp. z o.o.
04 - 313 Warszawa, ul.T. Żana 4
telefon/fax: 0 (prefix) 22
673 13 60 673 13 54
673 13 61 673 19 63