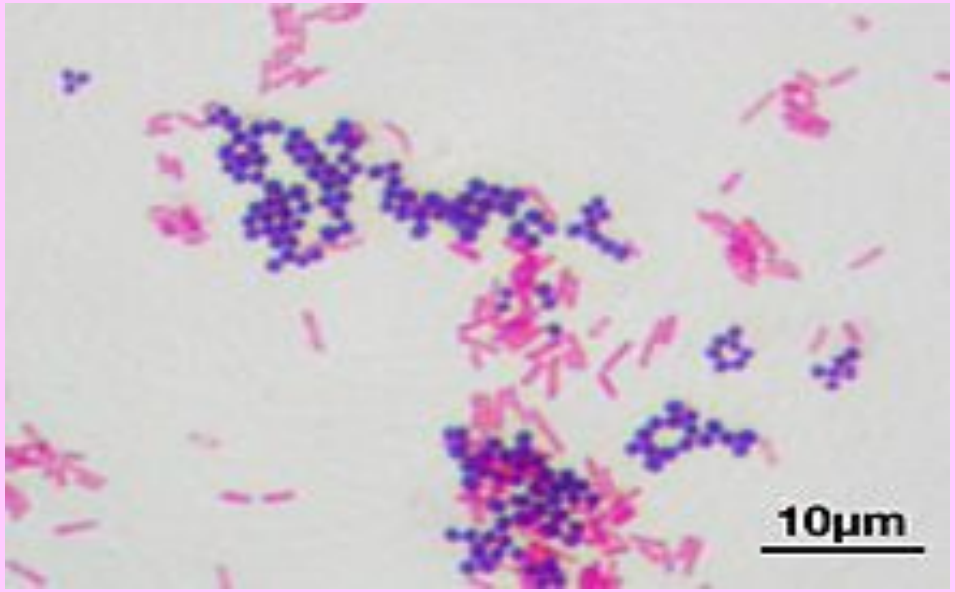
Окраска бактерий по Граму и причины грамвариабельности



Классификация и идентификация

Гр$^{+}$

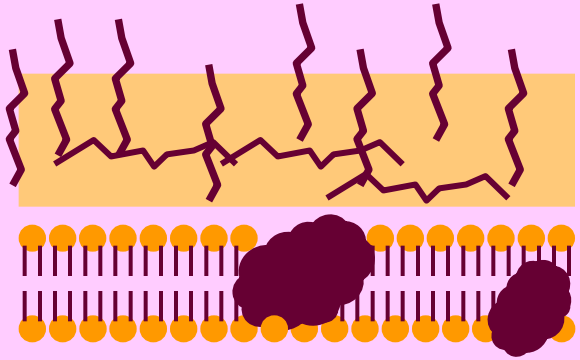
Гр$^{-}$

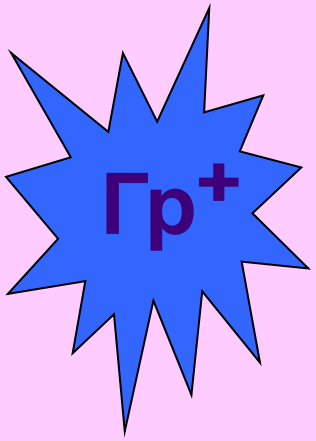
бактерии

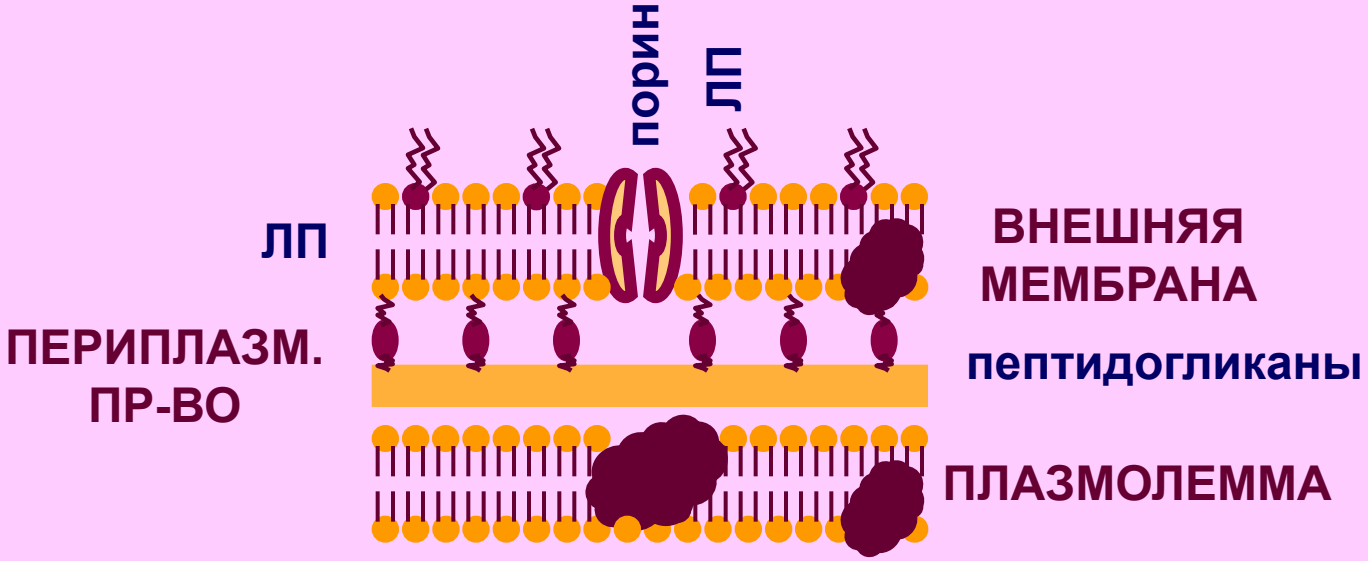
Кристиан Грам

- Ганс Кристиан Йоахим Грам (1853–1938). Датский бактериолог, в 1884 году предложил метод окрашивания бактерий, получивший его имя

Различия в строении клеточной стенки







Основные различия

Гр$^+$

- Перитрихи
- Пили почти всегда отсутствуют
- Деление путём септирования
- Устойчивы к плазмолизу
- Способны к образованию эндоспор

Гр$^-$

- Разные типы жгутикования
- Пили есть
- Деление перетяжкой
- Чувствительны к плазмолизу
- Не образуют эндоспор

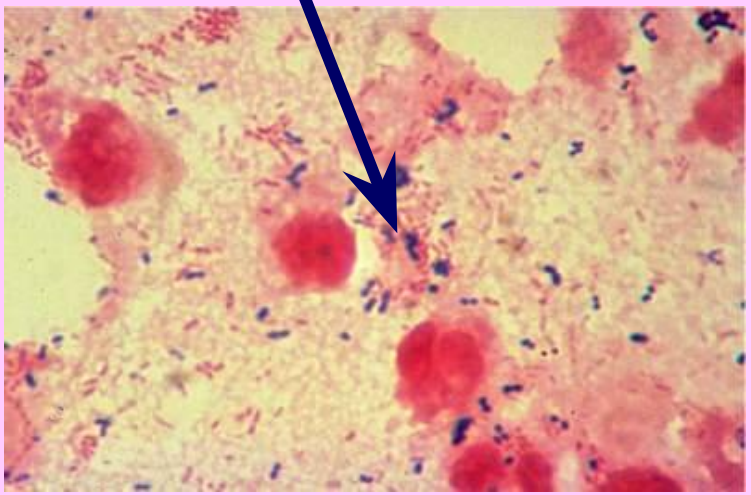
ВЫВОД:

- Глубокая сверхдревняя дивергенция между 2-мя группами
- Форм, промежуточных между ГР$^+$ и ГР$^-$ в настоящее время не существует

Грамвариабельные бактерии

Гр+

Гр-



Фирмикуты

р. *Dienococcus*

р. *Corynebacterium*

Грациликуты

р. *Gardnerella*

р. *Xantobacter*

Механизм окрашивания

- При фиксации препарата нарушается целостность поверхностных структур

- Гр$^+$ обладают большим изоэлектрическим сродством к основным красителям => комплекс генциан-виолет+пептидогликан+I_2 более прочен

- Обработка спиртом приводит к вымыванию красителя из тонкого ПГ Гр(-)

- Фуксин окрашивает обесцвеченные поверхностные структуры Гр(-)

Требования

-Технические

- Длительность промывки этанолом (ацетоном)

- Толщина мазка, время, качество реактивов

-К культуре

- Активно растущие (живые клетки)

Грамвариабельность

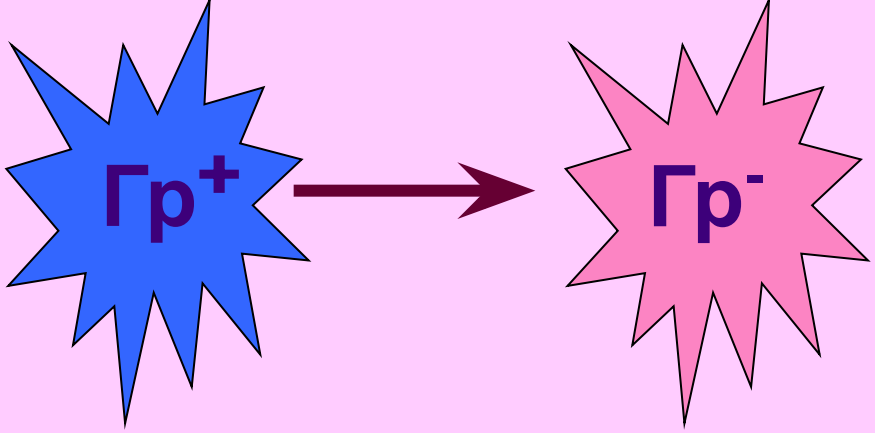
Гр$^-$

- **Грамвариабельность** – различная окрашиваемость клеток монокультуры или изменение отношения клетки к окраске в течение цикла её развития

Зависит от:

- pH
- Состав среды
- Возраст культуры
- Наличие или отсутствие ростовых факторов

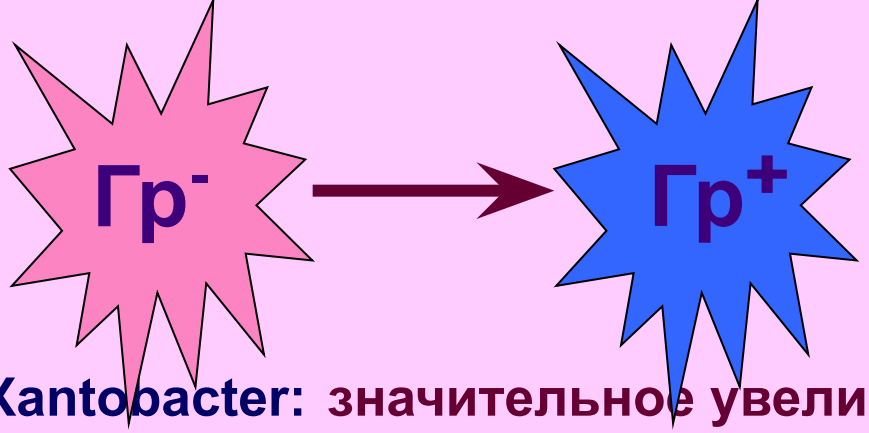
Гр$^+$



- р. Desulfotomaculum: старение => **обесцвечивание**

- Молочнокислые: активный рост => **обесцвечивание**
  (недостаточный синтез ПГ)
- Автолиз одной из клеток колонии

- Молочнокислые: “линька” => **обесцвечивание**



- p.Leptotrichia, Xantobacter: значительное увеличение ПГ-слоя
- Доп. поверхностные белковые слои (капсула) => денатурация => плотная оболочка
- Клетки активно растущих культур => слой белково-пептидной природы => денатурация => плотная оболочка
- Наличие гранул полифосфатов
- Кардинальное изменение структуры стенки

Промежуточные формы

Гр$^+$

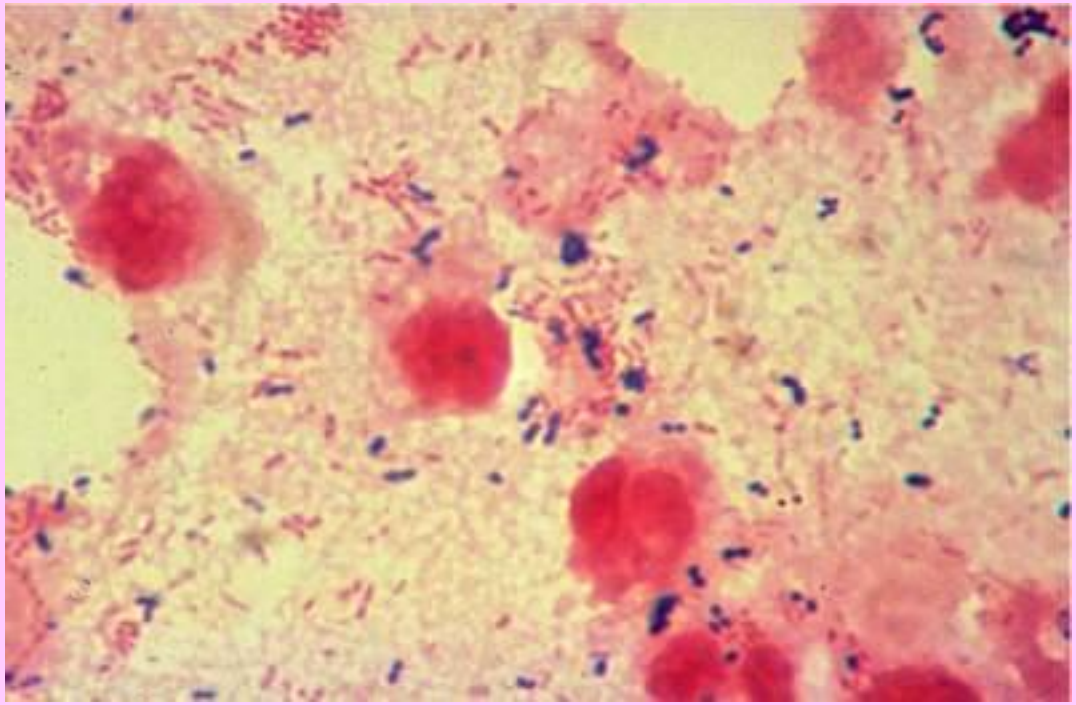
- Наружная мембрана у р. *Corynebacterium*
- Период спорообразования у Гр(-)
- Изменение характерного типа деления: активно растущие фирмикуты – перетяжка
- Стареющие грациликуты – перегородка (р. *Neisseria, Leptotrichia*)
- Измениение клеточной стенки в течение жизни (р. *Dienococcus, Xantobacter*)

Гр$^-$

Выводы:

- Окраска по Граму даёт лишь **ориентировочное представление** о характере строения клеточной стенки и об этапе развития клетки
- В силу изменения строения клеточной стенки в течение жизни некоторые роды бактерий могут быть отнесены к **грамвариабельным** (р. *Dienococcus, Gardnerella, Xantobacter*).

Гр$^{-}$

СПАСИБО!

Гр$^{+}$