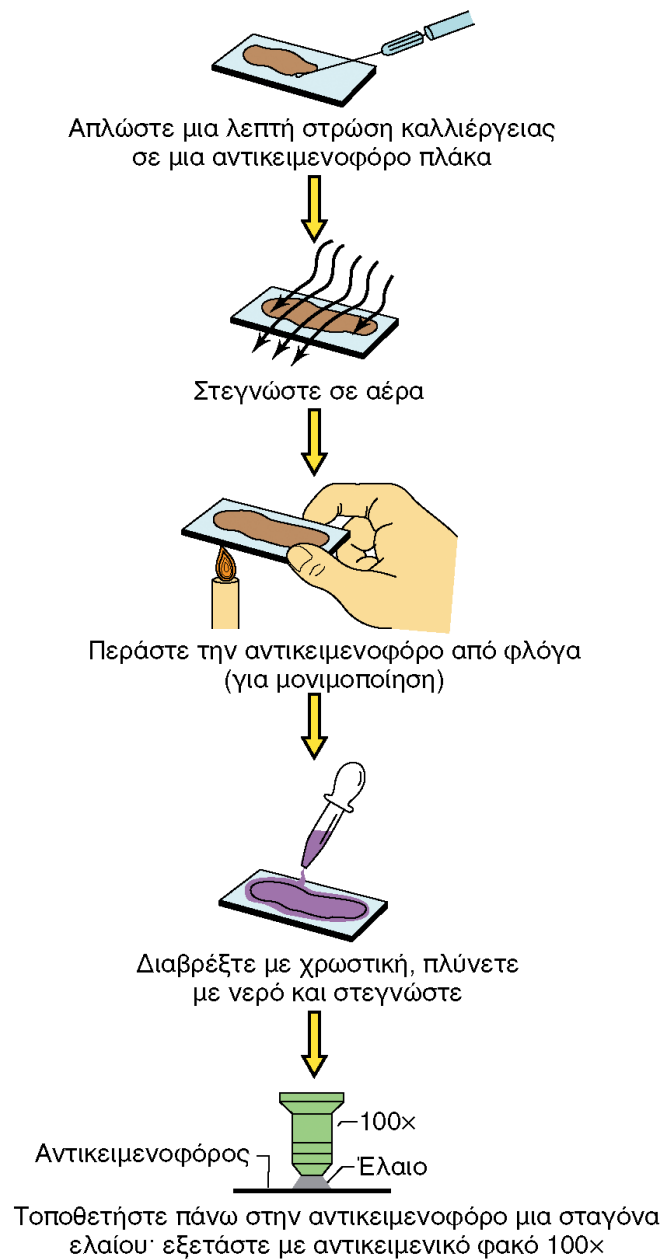


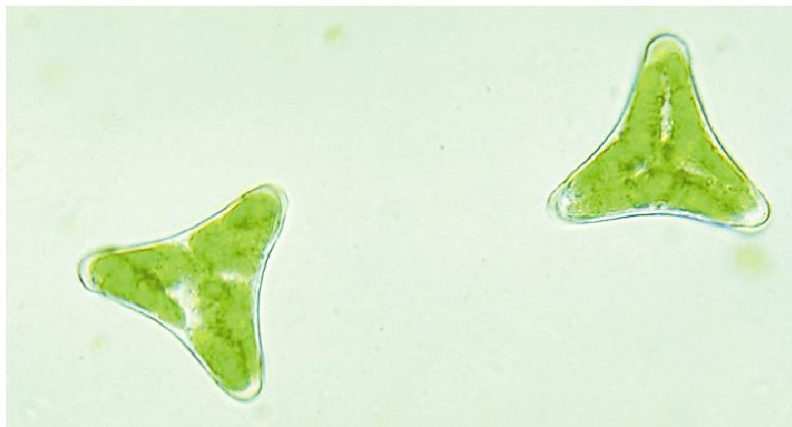
# ΧΡΩΣΕΙΣ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ

---



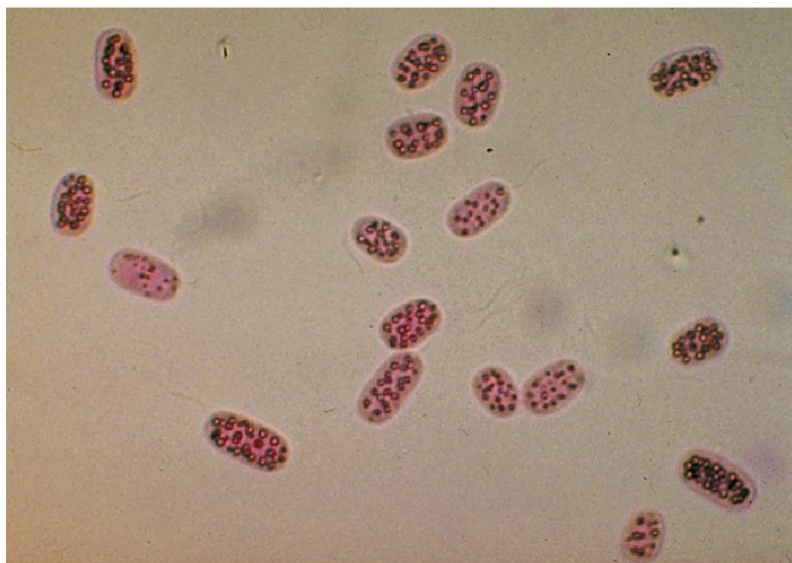
Εικόνα 4.3

Χρώση κυττάρων για μικροσκοπική παρατήρηση.



T. D. Brock

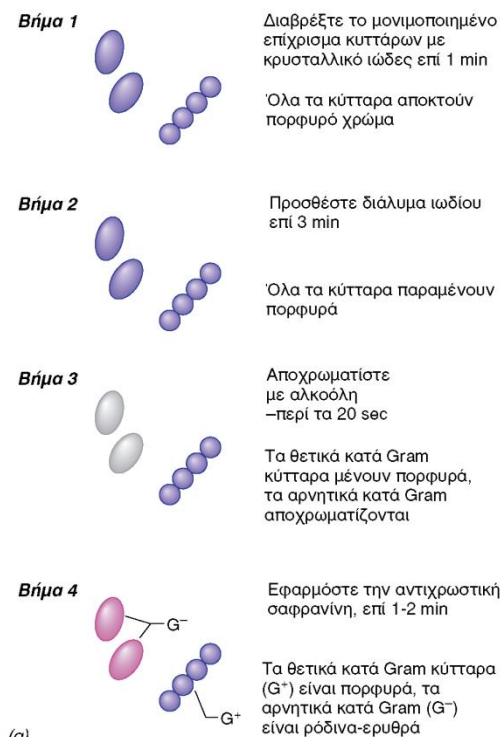
(a)



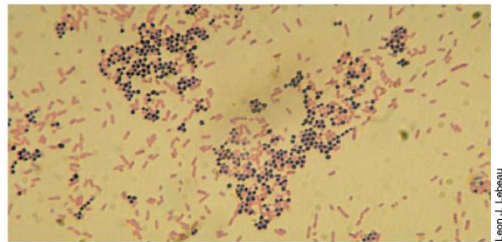
Norbert Pfennig

(β)

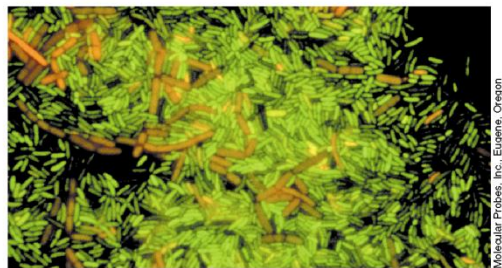
**Εικόνα 4.2** Μικροφωτογραφίες χρωσμένων μικροοργανισμών που έχουν ληφθεί με μικροσκόπιο φωτεινού πεδίου. (α) Ένα χλωροφύκος (ευκαρυώτης). (β) Ένα πορφυρό φωτοτροφικό βακτήριο (προκαρυώτης). Τα κύτταρα του χλωροφύκου έχουν διάμετρο περί τα 15  $\mu\text{m}$ , ενώ τα βακτηριακά κύτταρα έχουν διάμετρο περί τα 5  $\mu\text{m}$ .



(α)



(β)

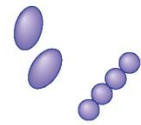


(γ)

# Χρώση κατά Gram: κατατάσσει τα βακτήρια σε Gram Θετικά και Gram αρνητικά ανάλογα με την δομή του κυτταρικού τους τοιχώματος

**Εικόνα 4.4** Χρώση κατά Gram. (α) Βήματα στη διαδικασία της χρώσης κατά Gram. (β) Μικροφωτογραφία θετικών κατά Gram (πορφυρό-κυανό) και αρνητικών κατά Gram (ερυθρό-ρόδινο) βακτηρίων που έχουν υποστεί χρώση κατά Gram: πρόκειται, αντιστοίχως, για τα είδη *Staphylococcus aureus* και *Escherichia coli*. (γ) Μικροφωτογραφία κυττάρων *Pseudomonas aeruginosa* (αρνητικό κατά Gram, πράσινο) και *Bacillus cereus* (θετικό κατά Gram, πορτοκαλί) μετά από χρώση με την μέθοδο **LIVE Bac Light**<sup>TM</sup>. Η μέθοδος αυτή επιτρέπει τη διάκριση μεταξύ θετικών κατά Gram και αρνητικών κατά Gram κυττάρων σε ένα και μόνο βήμα χρώσης.

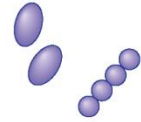
**Βήμα 1**



Διαβρέξτε το μονιμοποιημένο επίχρισμα κυττάρων με κρυσταλλικό ιώδες επί 1 min

Όλα τα κύτταρα αποκτούν πορφυρό χρώμα

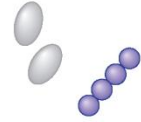
**Βήμα 2**



Προσθέστε διάλυμα ιωδίου επί 3 min

Όλα τα κύτταρα παραμένουν πορφυρά

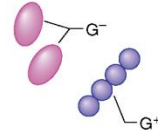
**Βήμα 3**



Αποχρωματίστε με αλκοόλη -περί τα 20 sec

Τα θετικά κατά Gram κύτταρα μένουν πορφυρά, τα αρνητικά κατά Gram αποχρωματίζονται

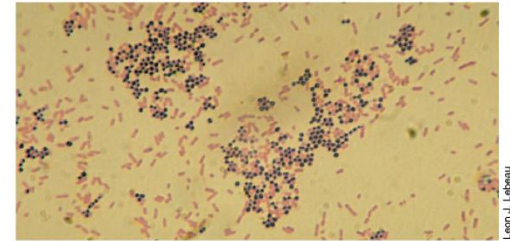
**Βήμα 4**



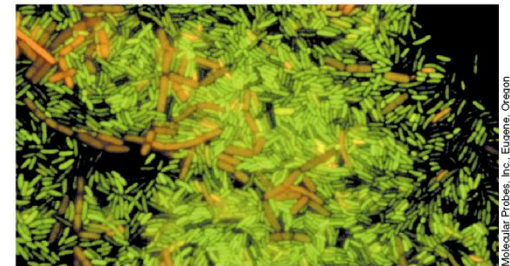
Εφαρμόστε την αντιχρωστική σαφρανίνη, επί 1-2 min

Τα θετικά κατά Gram κύτταρα ( $G^+$ ) είναι πορφυρά, τα αρνητικά κατά Gram ( $G^-$ ) είναι ρόδινα-ερυθρά

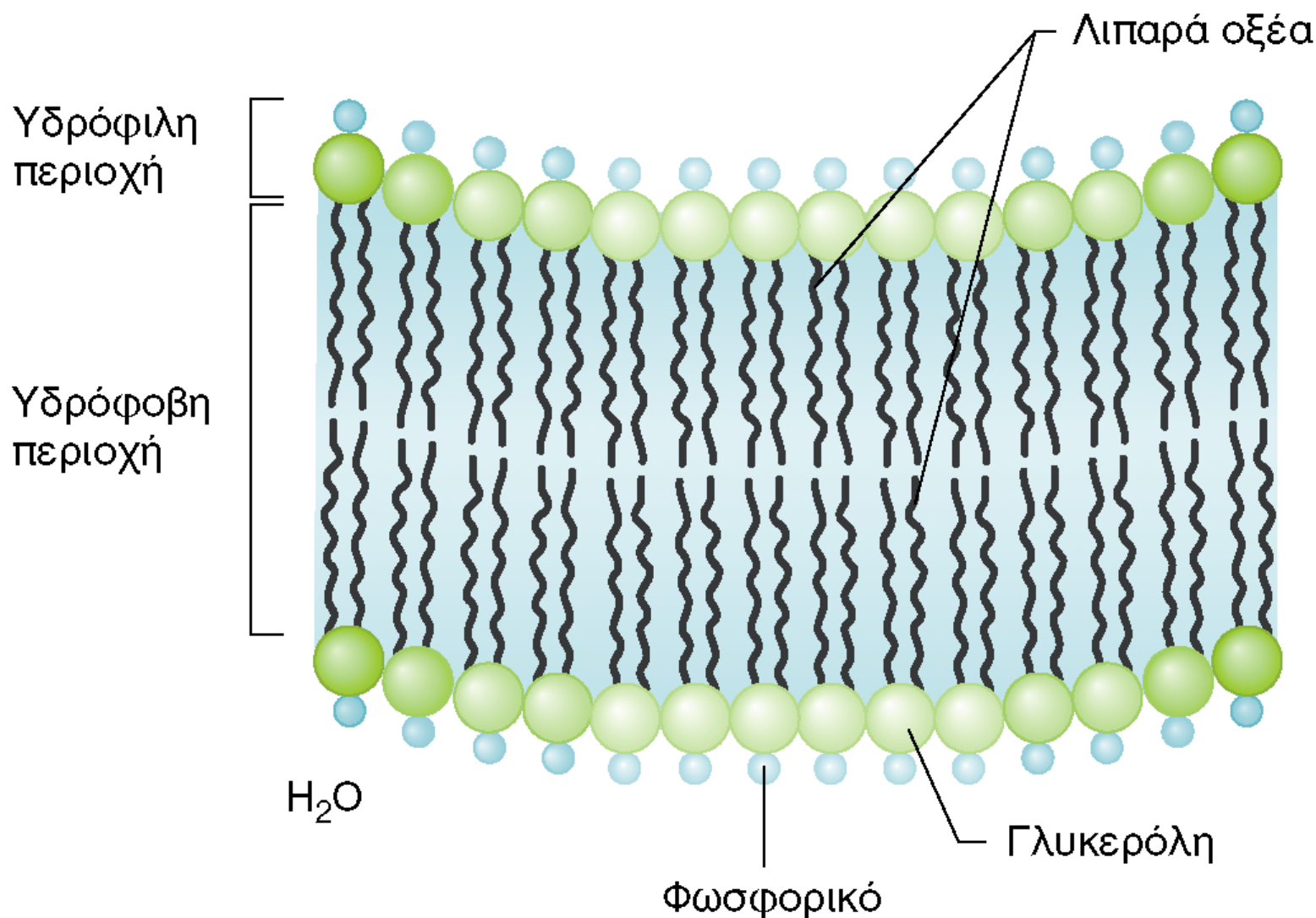
(α)



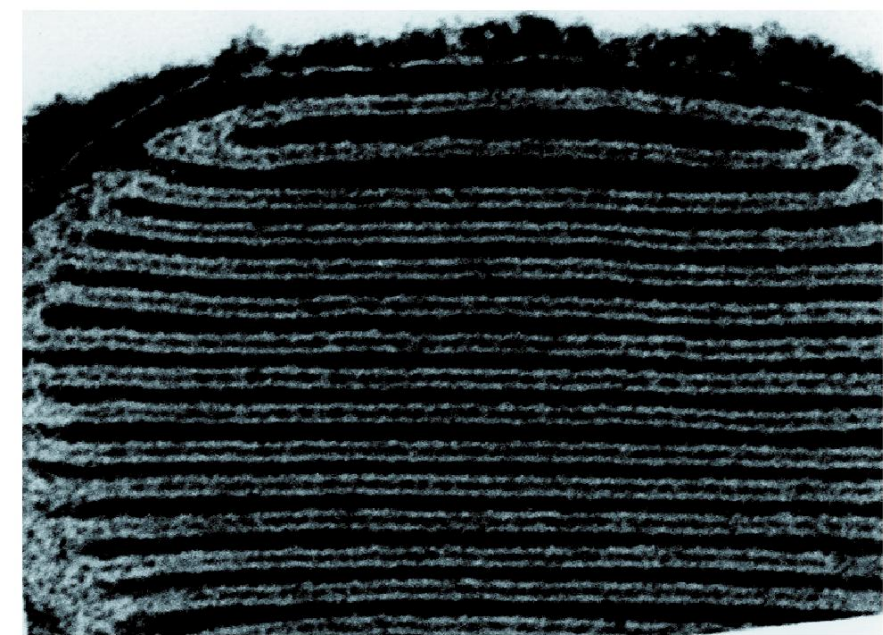
(β)



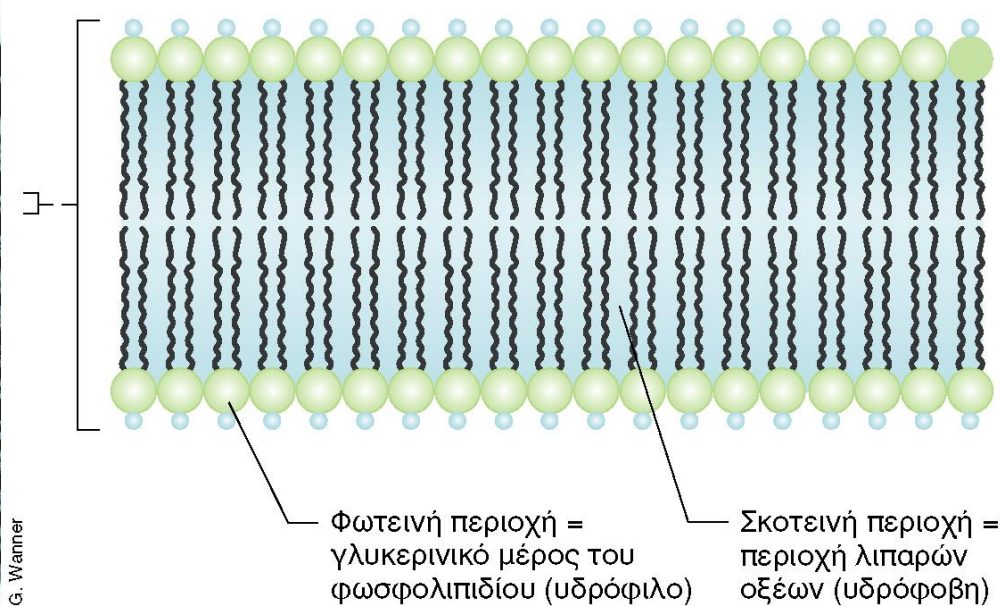
(γ)



**Εικόνα 4.15** Δομή μιας διπλοστιβάδας φωσφολιπιδίων. Η κυτταροπλασματική μεμβράνη έχει πλάτος περί τα 8 nm (80 Å).



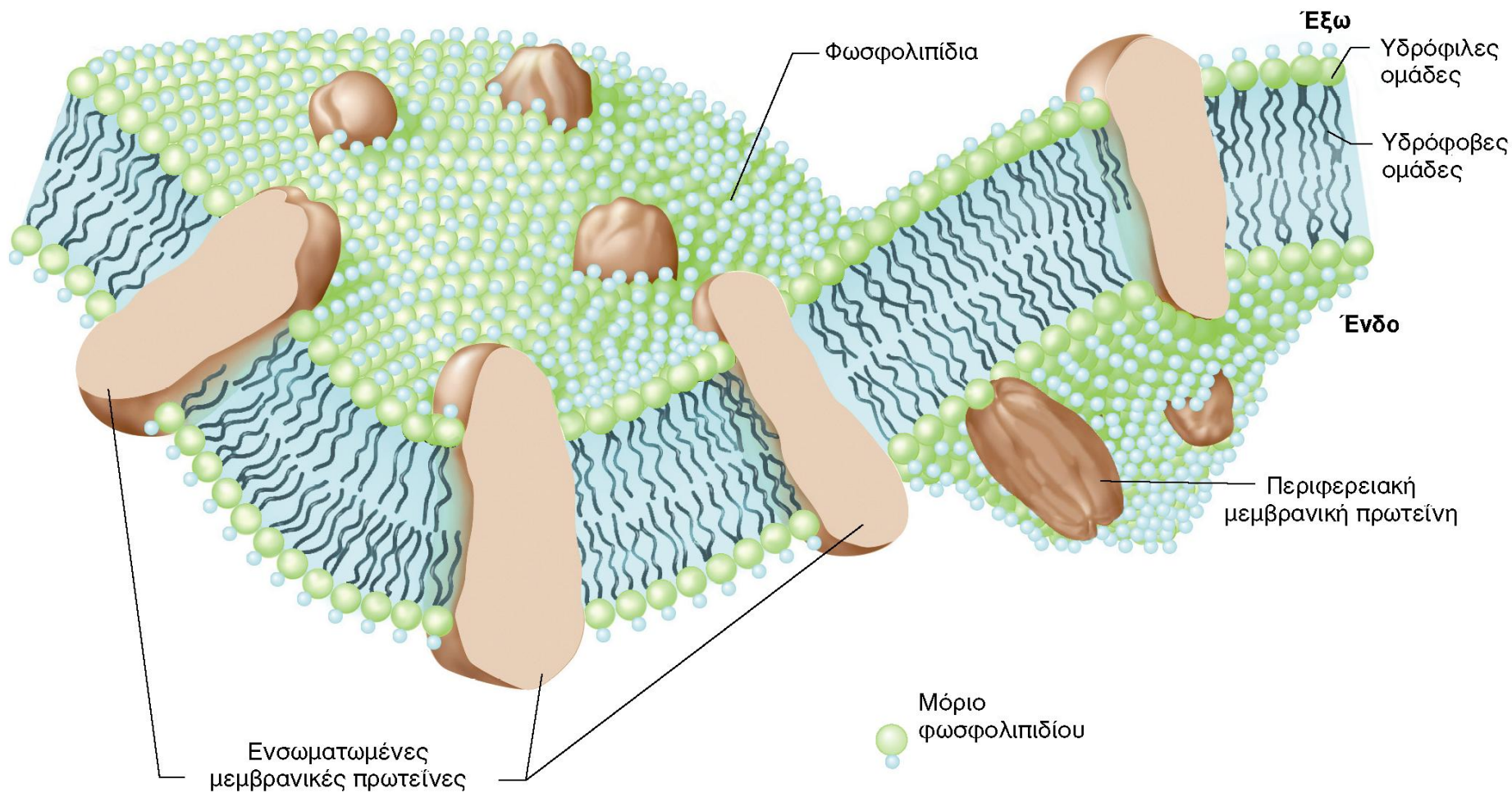
G. Wanner



(α)

(β)

**Εικόνα 4.16** Η κυτταροπλασματική μεμβράνη. (α) Ηλεκτρονικό μικρογράφημα μεμβρανικών θυλακίων που προέρχονται από την κυτταροπλασματική μεμβράνη του φωτοτροφικού βακτηρίου *Halorhodospira halochloris*. Παρατηρήστε τις διακριτές διπλοστιβάδες λιπιδίων (στοιχειακές μεμβράνες). Πάχος διπλοστιβάδας: ~ 8 nm. (β) Σχηματική εικόνα μιας στοιχειακής μεμβράνης του (α), υπό μεγέθυνση.



**Εικόνα 4.17** Διάγραμμα δομής της κυτταροπλασματικής μεμβράνης. Η εσωτερική επιφάνεια (Ένδο) στρέφεται προς το κυτταρόπλασμα και η εξωτερική επιφάνεια (Εξω) προς το περιβάλλον. Ο θαλλός της στοιχειακής μεμβράνης αποτελείται από φωσφολιπίδια, με τις υδρόφοβες ομάδες να κατευθύνονται προς το εσωτερικό και τις υδρόφιλες προς το εξωτερικό, όπου επικοινωνούν με μόρια νερού. Ενσωματωμένες στον θαλλό της μεμβράνης είναι πρωτεΐνες με σημαντικά υδρόφοβη διαμεμβρανική περιοχή. Στις υδρόφιλες επιφάνειες της μεμβράνης μπορούν να προσαρτώνται υδρόφιλες πρωτεΐνες και άλλες πολικές ή και φορτισμένες ουσίες, όπως ιόντα μετάλλων. Πέρα από κάποιες χημικές διαφοροποιήσεις, η γενική δομή της κυτταροπλασματικής μεμβράνης είναι όμοια τόσο στους προκαρυωτικούς όσο και στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς (σημειώστε, ωστόσο, την εξαίρεση που αναφέρεται στην Εικόνα 4.20δ).

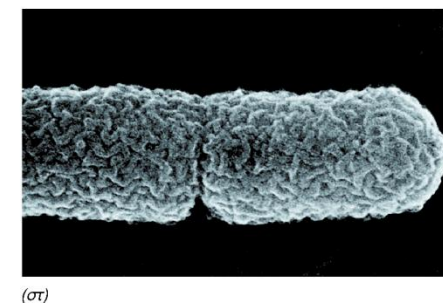
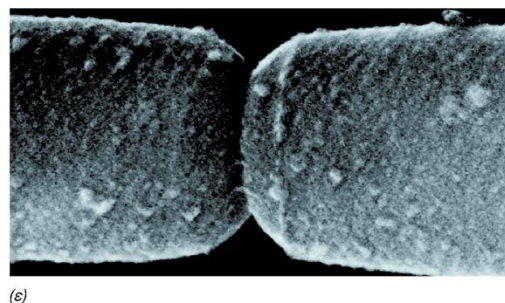
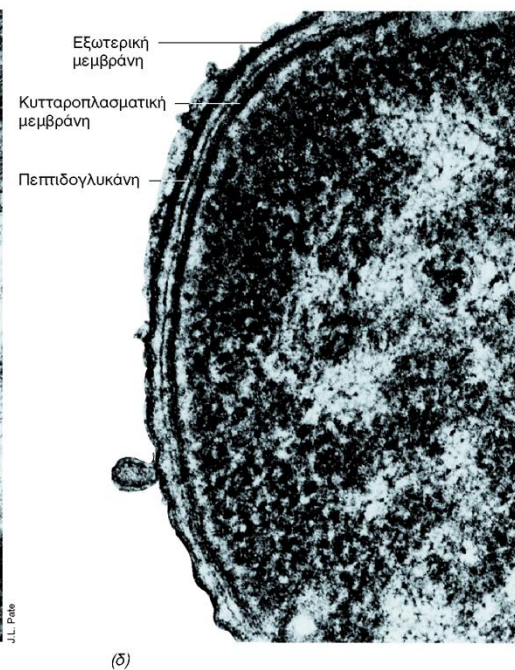
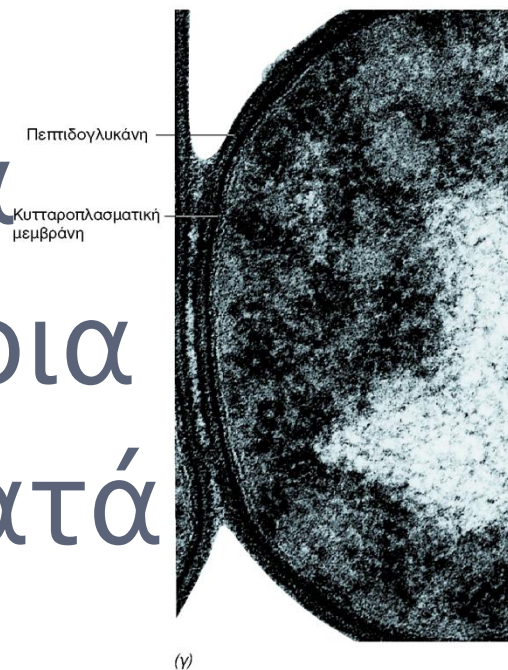
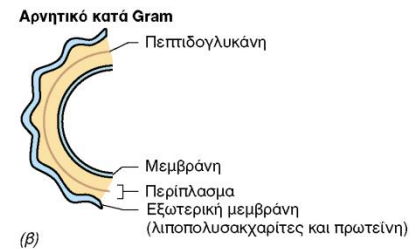
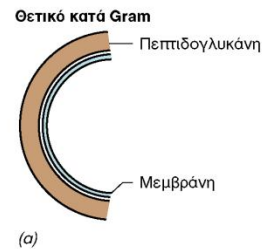
# Κυτταρικό τοίχωμα

- ινώδης στιβάδα
- μηχανικά ισχυρή
- εναποτίθεται από ένα κύτταρο, έξω από την κυτταρική μεμβράνη του
- κοινό στα φυτά, βακτήρια, μύκητες, φύκη
- δεν υπάρχει στα περισσότερα ζωικά κύτταρα

# Τα Βακτηριακά κύτταρα κατατάσσονται ανάλογα με την δομή του κυτταρικού τους τοιχώματος

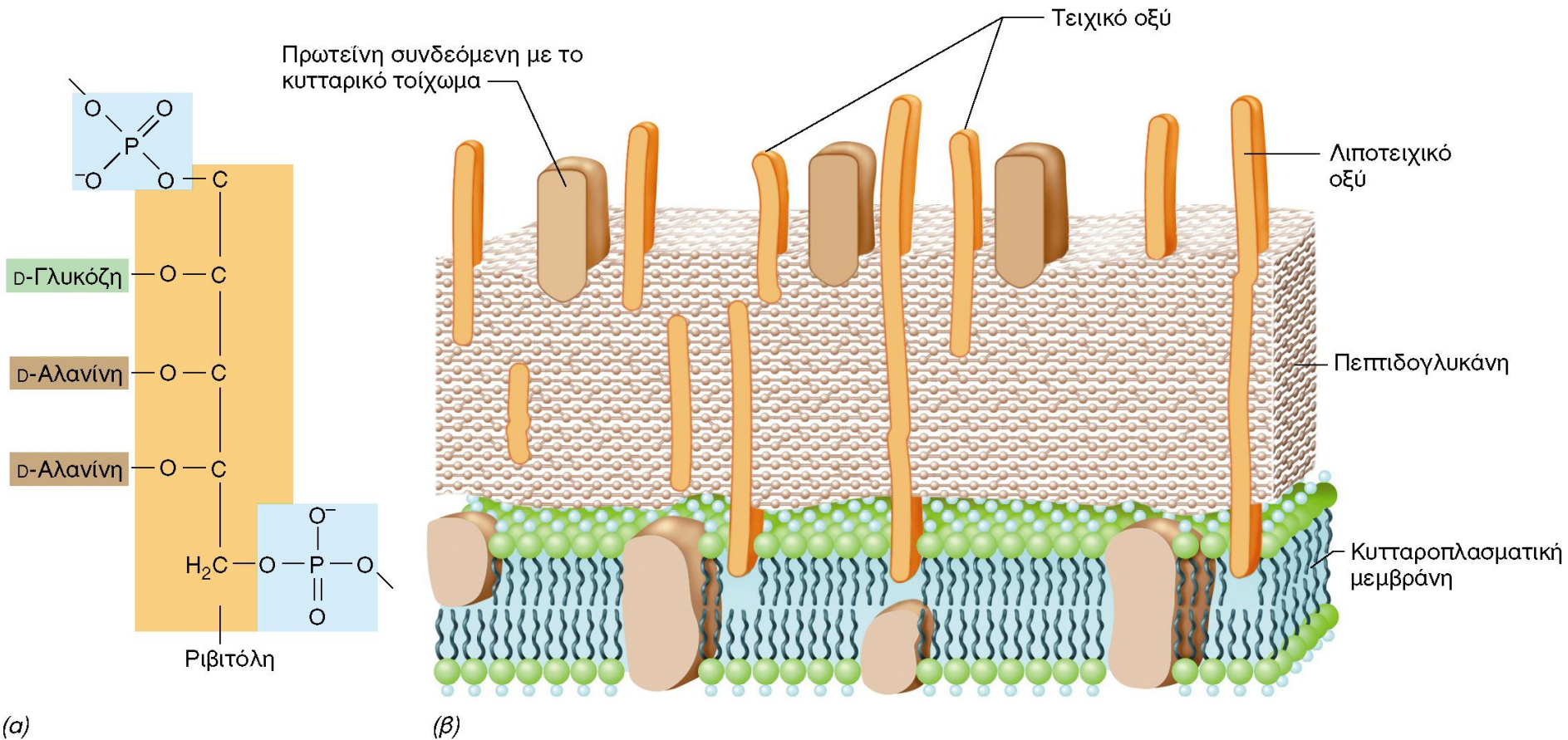
- Θετικό κατά Gram κυτταρικό τοίχωμα
- Αρνητικό κατά Gram κυτταρικό τοίχωμα

# Κυτταρικό τοίχωμα σε θετικά κατά Gram βκτήρια αρνητικά κατά Gram βακτήρια



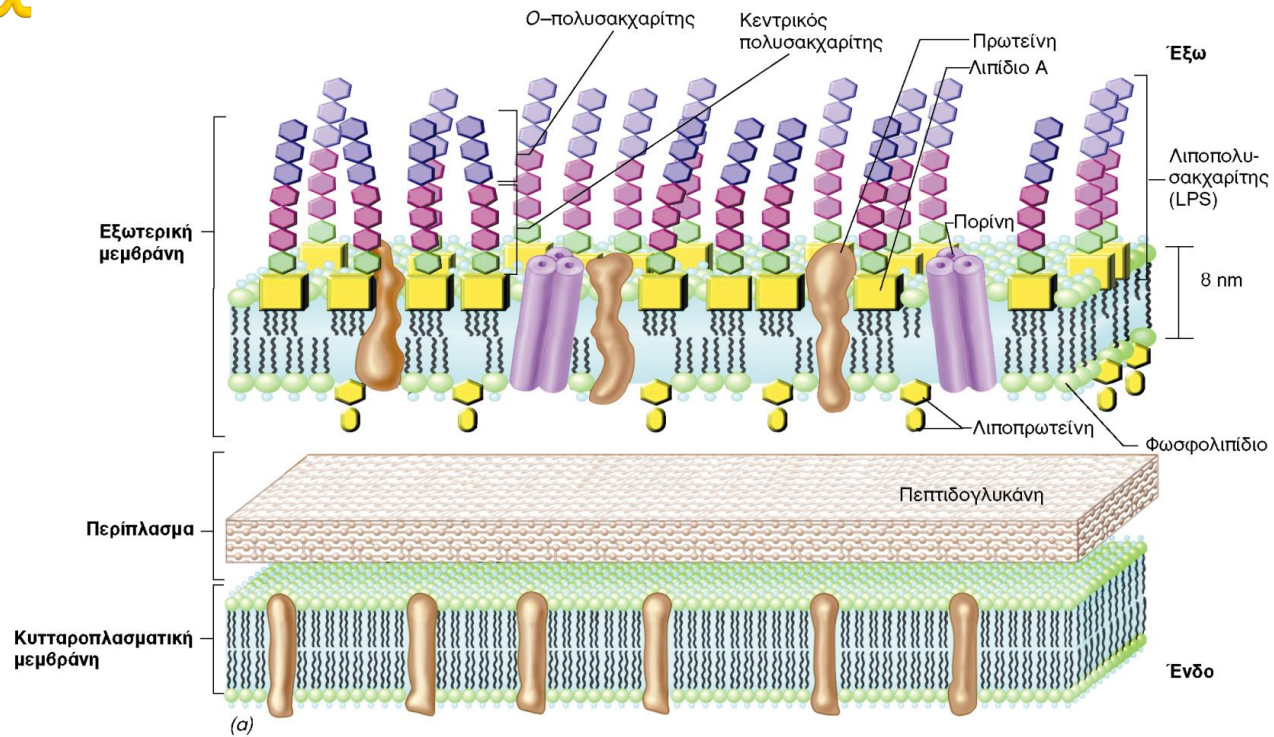
**Εικόνα 4.28** Κυτταρικά τοιχώματα των βακτηρίων. (α, β) Σχεδιαγράμματα θετικών και αρνητικών κατά Gram κυτταρικών τοιχωμάτων. (γ) Ηλεκτρονικό μικρογράφημα που δείχνει το κυτταρικό τοίχωμα ενός θετικού κατά Gram βακτηρίου, του *Arthrobacter crystallopoietes*. (δ) Ένα αρνητικό κατά Gram βακτήριο, το *Leucothrix mucor*. (ε, στ) Ηλεκτρονικά μικρογραφήματα σύρωσης ενός βακτηρίου θετικού κατά Gram (*Bacillus subtilis*) και ενός αρνητικού κατά Gram (*Escherichia coli*). Παρατηρήστε την υφή επιφανείας στα κύτταρα των (ε) και (στ). Διάμετρος ενός κυττάρου *B. subtilis* ή *E. coli*: περί το 1 μm.

# Θετικό κατά Gram κυτταρικό τοίχωμα

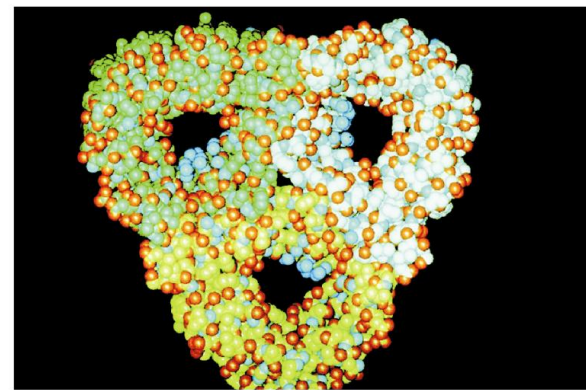


**Εικόνα 4.32** Τειχικά οξέα και συνολική δομή του θετικού κατά Gram κυτταρικού τοιχώματος. (α) Δομή του τειχικού οξέος ριβιτόλη του *Bacillus subtilis*. Το τειχικό οξύ είναι ένα πολυμερές αποτελούμενο από τις επαναλαμβανόμενες μονάδες ριβιτόλης, που απεικονίζονται εδώ. (β) Συνοπτικό διάγραμμα της δομής του τοιχώματος.

# Αρνητικό κατά Gram κυτταρικό τοίχωμα

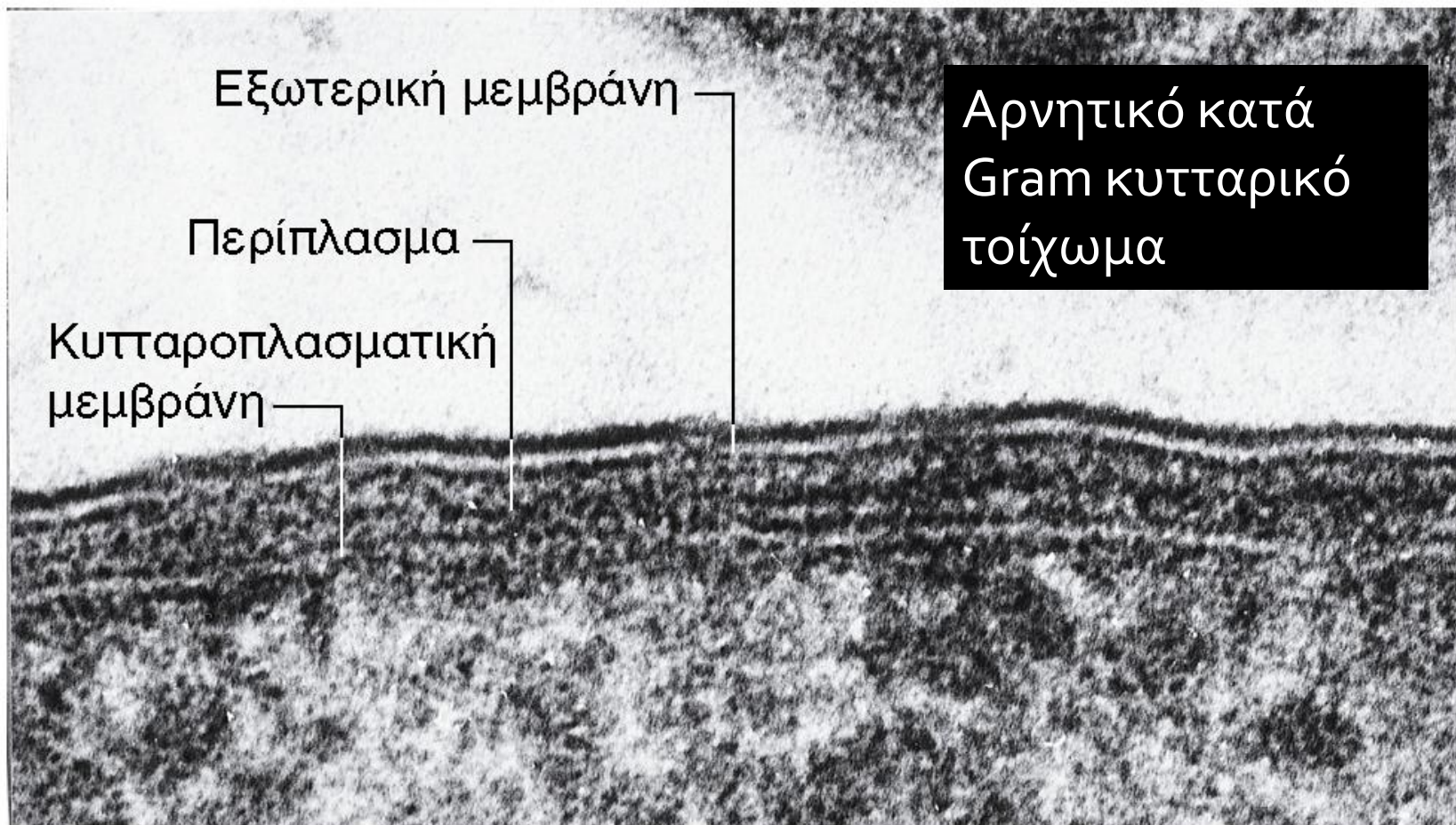


**Εικόνα 4.36** Το αρνητικό κατά Gram κυτταρικό τοίχωμα. Αν και συχνά αποκαλείται η «δεύτερη λιπιδική διπλοστράβαδα», η χημεία και η αρχιτεκτονική της εξωτερικής μεμβράνης διαφέρουν σημαντικά από τις αντίστοιχες της κυτταροπλασματικής μεμβράνης. (α) Διάταξη λιποπολυσακχαρίτη, λιπιδίου A, φωσφολιπιδίων, πορινών, και λιποπρωτεϊνών στην εξωτερική μεμβράνη. (Για λεπτομέρειες της δομής του LPS, βλ. Εικόνα 4.35). Το λιπίδιο A μπορεί να είναι τοξικό για τον άνθρωπο, οπότε αναφέρεται ως ενδοτοξίνη (🦠 Τμήμα 21.12). (β) Μοριακό μοντέλο πορίνης. Παρατηρήστε την ύπαρξη τριών πόρων που κάθε ένας σχηματίζεται από ένα μόριο πορίνης. Η όψη που βλέπουμε είναι κάθετη προς το επίπεδο της μεμβράνης, ενώ το μοντέλο βασίζεται στην ανάλυση περιθλασιγράμματος ακτίνων X της πορίνης του *Rhodobacter blasticus*.



(β)

Georg E. Schulz

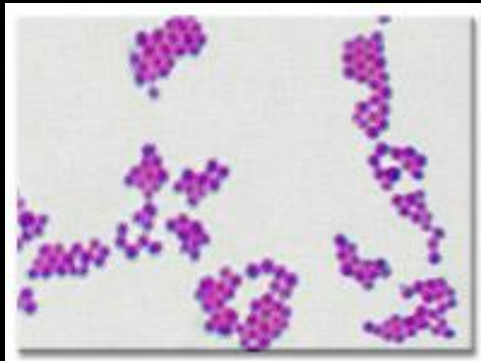


**Εικόνα 4.37** Λεπτή τομή του κυτταρικού φακέλου της *Escherichia coli*, υπό μεγάλη μεγέθυνση, όπου φαίνεται το πύκνωμα του περιπλάσματος, μεταξύ κυτταροπλασματικής και εξωτερικής μεμβράνης. Τα μεγάλα, σκοτεινά σωματίδια στο κυτταρόπλασμα είναι ριβοσώματα.

# Χρώση κατά GRAM βακτηρίων.

Θετικά κατά GRAM:

ΙΩΔΗ



Gram-positive  
bacteria  
(*Staphylococcus  
epidermidis*)

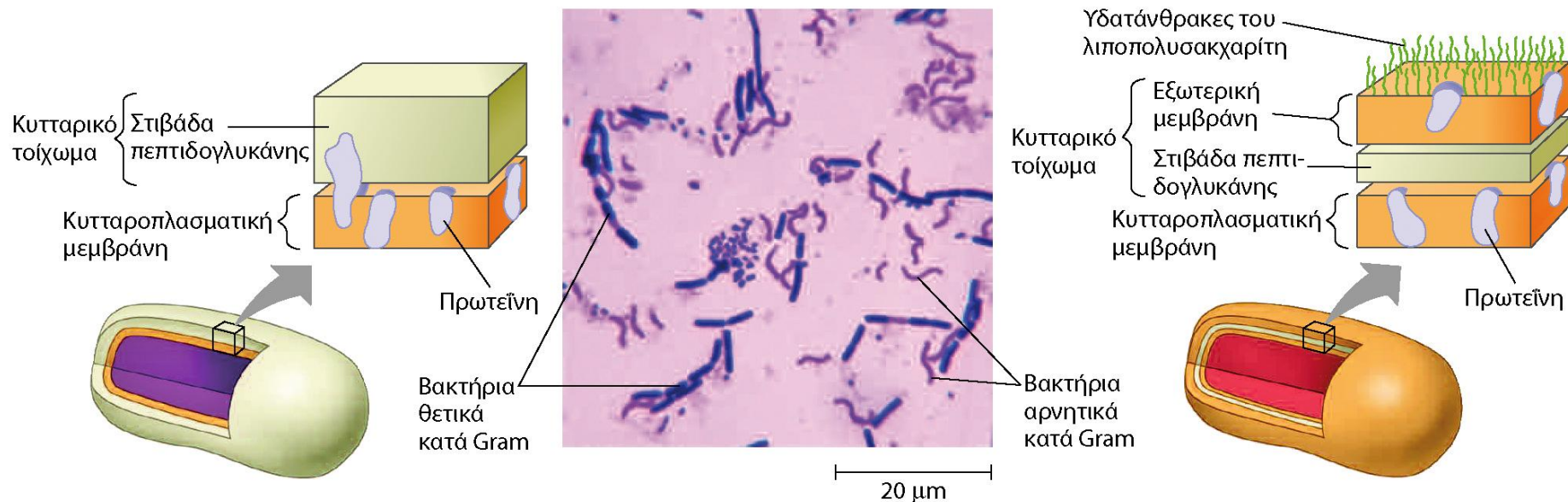
Αρνητικά κατά GRAM:

ΚΟΚΚΙΝΑ



Gram-negative  
bacteria  
(*Escherichia coli*)

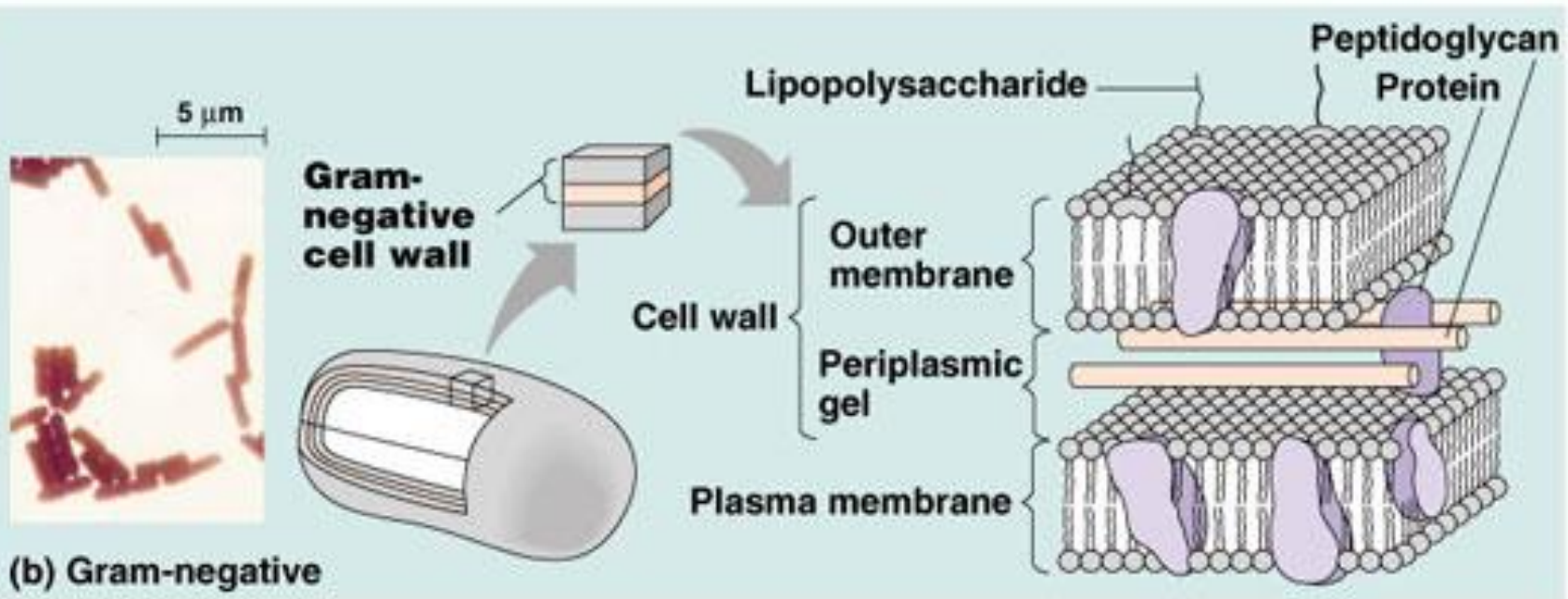
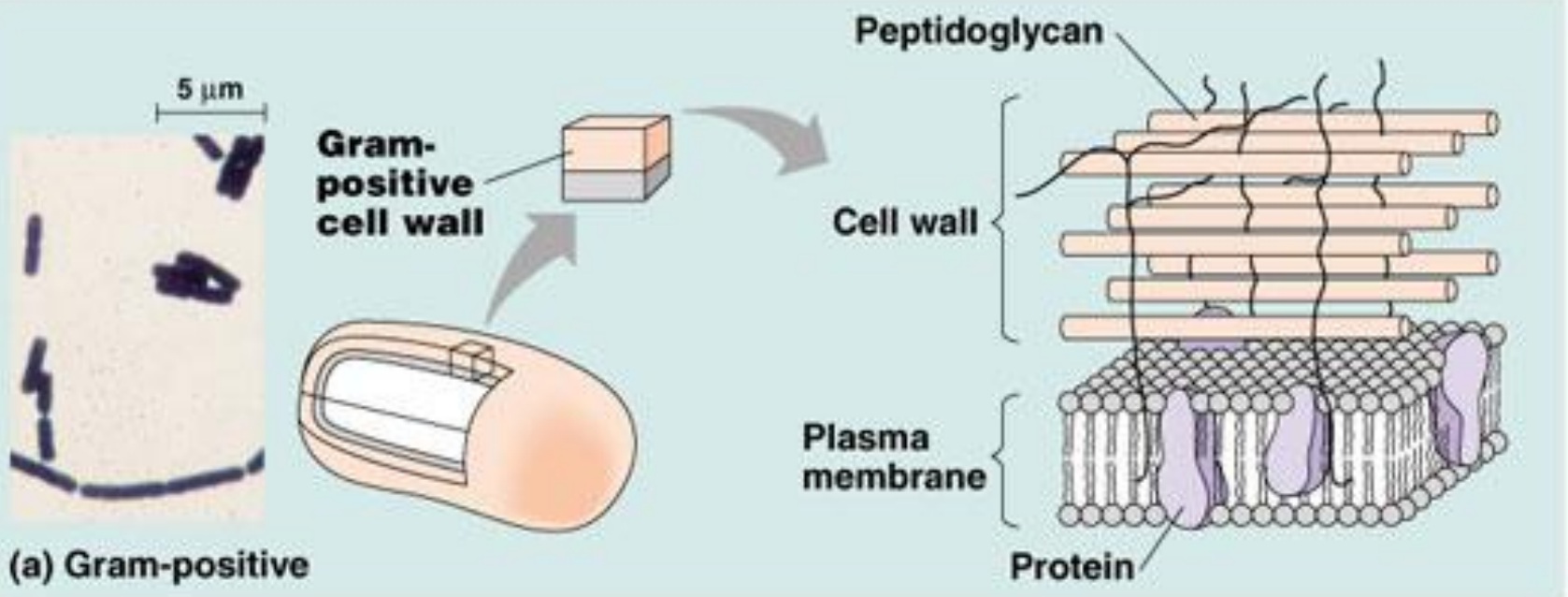
# Χρώση κατά Gram: διαφορές μεταξύ θετικών και αρνητικών κατά Gram βακτηρίων.

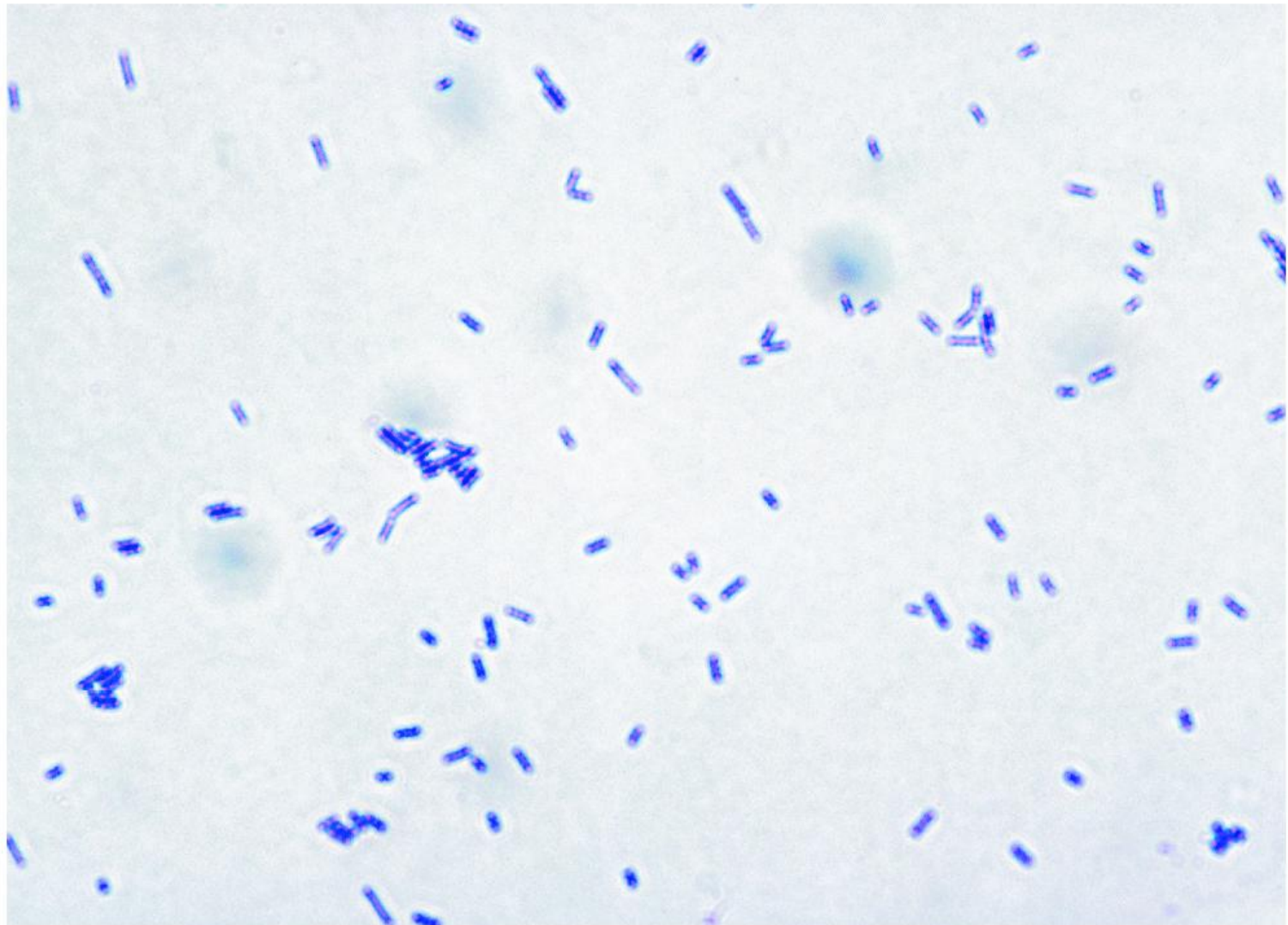


**(α) Βακτήριο θετικό κατά Gram.** Το παχύ κυτταρικό τοίχωμα των θετικών κατά Gram βακτηρίων αποτελείται από πεπτιδογλυκάνη και παγιδεύει τη χρωστική κρυσταλλικό ιώδες στο κυτταρόπλασμα. Η πλύση με αιθυλική αλκοόλη δεν αφαιρεί τη χρωστική, η οποία δεν αφήνει να φανεί η σαφρανίνη, η κόκκινη χρωστική που προστίθεται στη συνέχεια.

**(β) Βακτήριο αρνητικό κατά Gram.** Η στιβάδα της πεπτιδογλυκάνης στα αρνητικά κατά Gram βακτήρια είναι πιο λεπτή και βρίσκεται ανάμεσα στην κυτταροπλασματική μεμβράνη και σε μια εξωτερική μεμβράνη. Η χρωστική κρυσταλλικό ιώδες ξεπλένεται εύκολα από το κυτταρόπλασμα, με αποτέλεσμα στο μικροσκόπιο το κύτταρο να φαίνεται ροζ ή κόκκινο.

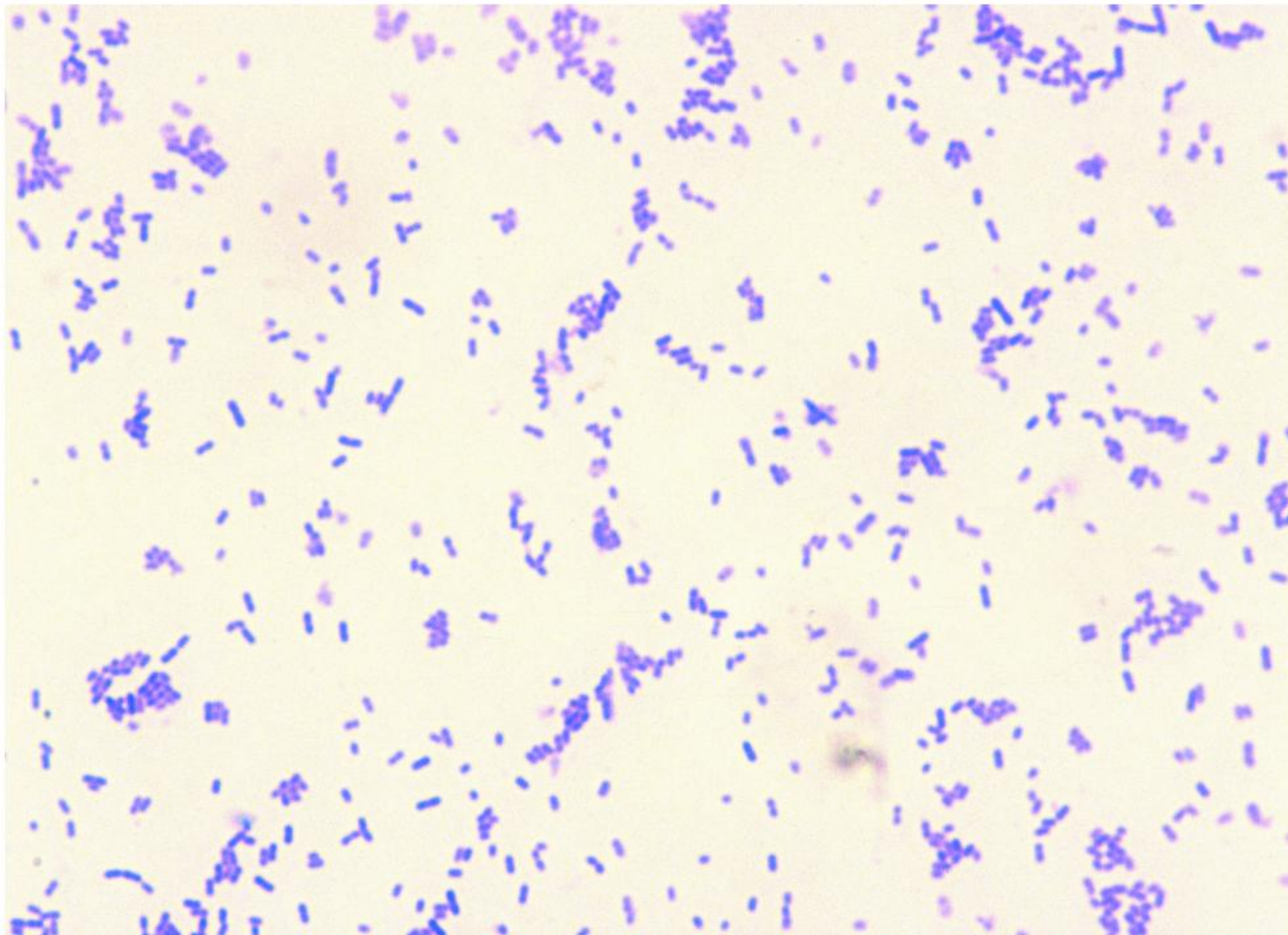
▲ **Εικόνα 27.3 Χρώση Gram.** Αρχικά, τα δείγματα βάφονται με κρυσταλλικό ιώδες (crystal violet) και ιώδιο, κατόπιν ξεπλένονται με αιθυλική αλκοόλη και τέλος βάφονται με μια κόκκινη χρωστική όπως η σαφρανίνη. Η δομή του κυτταρικού τοιχώματος του βακτηρίου καθορίζει το χρώμα που θα προκύψει από τη χρώση (OM).





John M. Martinko

**Εικόνα 29.2** Χρώση κατά Gram του *Clostridium perfringens*. Κάθε μεμονωμένος, θετικός κατά Gram βάκιλλος έχει διάμετρο 1  $\mu\text{m}$  περίπου.



John M. Martinko

**Εικόνα 29.5** Χρώση κατά Gram της *Listeria monocytogenes*. Οι βραχείς, θετικοί κατά Gram βάκιλλοι έχουν διάμετρο 0,5  $\mu\text{m}$  περίπου.