



Ad oggi la distinzione tra batteri Gram positivi e Gram negativi rappresenta la metodologia più in uso per classificare i batteri. La distinzione si basa sulla diversa colorazione che i batteri assumono dopo essere stati sottoposti alla colorazione di Gram, una tecnica ideata dall'omonimo batteriologo danese Hans Christian Gram nel 1884.

### Tecnica della colorazione di Gram

La tecnica prevede una colorazione differenziale (si utilizzano due coloranti nel corso della procedura) a seguito della quale, al microscopio ottico, i *gram positivi* appaiono di colore violetto mentre i *gram negativi* sono di colore rosa.

La procedura prevede quattro tappe fondamentali:

- Prima fase: si tratta il preparato (fissato precedentemente su un vetrino) con **colorante al cristalvioletto** per 3-5 minuti.
- Seconda fase: si elimina il colorante lavando il preparato con **soluzione di iodio** e facendolo agire per circa 2 minuti.
- Terza fase: si decolora il vetrino con **acetone** per 5 secondi, avendo cura di risciacquarlo subito con acqua.
- Quarta fase: si tratta il vetrino con il secondo colorante di contrasto (**safranina**) e si lascia agire per 30 secondi, in seguito ai quali si lava il vetrino con acqua e si lascia essiccare all'aria.

A seguito della colorazione al microscopio ottico si osserverà che i batteri che assumono il colore del secondo colorante sono *gram negativi*, mentre gli altri, colorati con il cristalvioletto, sono *gram positivi*. Cosa è che permette ai Gram positivi e negativi di assumere una colorazione diversa? La risposta risiede nella diversa composizione chimica della parete batterica.

## Parete batterica di Gram positivi e Gram negativi

La parete svolge funzioni fondamentali per la cellula batterica, quali regolazione della pressione osmotica, protezione della membrana plasmatica da ambiente esterno e regolazione dell'entrata dei nutrienti nella cellula. Non in tutti i batteri però ha la stessa composizione chimica ed è questo che ha permesso la distinzione in Gram positivi e negativi.

Nei *gram+* la parete è formata per il 90% da **mureina** (peptidoglicano) e da componenti quantitativamente minori come acidi teloici, acidi teucuronici e **proteine**. La mureina è composta da due tipi di catene che intrecciandosi tra loro e formando numerosi strati conferiscono rigidità nonché spessore alla parete. Queste sono:

- catene glicaniche formate dalla successione lineare di due zuccheri modificati che si ripetono alternativamente, ossia N-acetilglucosamina (NAG) e acido N-acetilmuramico (NAM) uniti da legami  $\beta$  (1-4) glicosidici;
- catene peptidiche formate dall'unione di un pentapeptide (coda di cinque amminoacidi) al NAM attraverso un **legame peptidico**.

Nei *gram-* la parete è formata soltanto dal 15-20% di mureina, che inoltre risulta essere monostratificata, per il fatto che non tutti i NAM si legano con un pentapeptide, diminuendo la possibilità di formare legami crociati. Ciò che li distingue dai *gram+* è la presenza di una **membrana esterna** formata da un doppio strato fosfolipidico, che rappresenta una prima barriera al passaggio di sostanze. In essa sono presenti:

- proteine transmembrana (Omp), che veicolano il passaggio di molecole idrofile attraverso il doppio strato fosfolipidico;
- Lipopolisaccaridi (LPS) formati da una componente lipidica e una polisaccaridica;
- Lipoproteine formate da una componente lipidica intramembranale e una proteica che sporge sul lato periplasmatico (spazio tra membrana esterna e strato di mureina) legandosi alla mureina.

## Cosa avviene dunque durante la colorazione di Gram?

Il primo colorante (cristalvioletto) colora tutte le cellule batteriche indifferentemente in quanto viene inglobato nello strato di peptidoglicano. La decolorazione fa in modo che solo i *gram negativi* si decolorino in quanto l'acetone attacca le strutture lipopolisaccaridiche della membrana esterna che,

disciogliendosi, permettono al colorante di fuoriuscire dal sottile strato di peptidoglicano. A questo punto i *gram negativi* sono incolore e saranno visibili soltanto con il secondo colorante, che li farà apparire di colore rosa.

In conclusione, ad oggi la colorazione di Gram rimane un ottimo strumento di classificazione batteriologica che spesso permette di individuare nuovi batteri patogeni e di conseguenza di scegliere le terapie antibiotiche migliori.

**Attenzione:** I nostri PDF a volte non contengono tutto il materiale presente nell'articolo originale o potrebbero non essere aggiornati.

**Articolo completo:** <http://www.biopills.net/articoli/ripassiamo-aiuto-studio/microbiologia/colorazione-di-gram-identificare-batteri-gram-positivi-e-gram-negativi/>

© BioPills. All Rights Reserved