

Coloration de Gram

Méthode de Coloration de Gram

La coloration de Gram est une technique de coloration utilisée en microbiologie pour différencier les bactéries en deux groupes principaux, appelés Gram-positives et Gram-négatives. Le principe de cette coloration repose sur les différences dans la composition de la paroi cellulaire des bactéries.

Le critère principal qui détermine la différence entre les deux types de bactéries est l'épaisseur de leur paroi cellulaire. Les bactéries Gram-positives ont une paroi cellulaire épaisse composée principalement de peptidoglycane, tandis que les bactéries Gram-négatives ont une paroi cellulaire plus mince composée de peptidoglycane et d'une membrane externe contenant du lipopolysaccharide.

Objectif :

Différencier les bactéries en fonction de la composition de leur paroi cellulaire.

Matériel nécessaire :

1. Échantillon bactérien
2. Cristal violet (solution violet de gentiane)
3. Lugol (solution d'iode)
4. Éthanol ou alcool éthylique
5. Fuchsine

Procédure :

1. **Fixation** : Fixer les bactéries sur une lame de verre en les chauffant légèrement. Cela peut être fait en passant la lame au-dessus d'une flamme.
2. **Coloration initiale** : Appliquer le cristal violet sur les bactéries. Laisser agir pendant environ 1 minute.
3. **Fixation du cristal violet** : Ajouter le Lugol (solution d'iode) sur le cristal violet. Laisser agir pendant environ 1 minute. Cette étape fixe le cristal violet dans la paroi cellulaire.
4. **Décoloration** : Laver la lame à l'éthanol ou à l'alcool éthylique. Cela élimine le cristal violet des bactéries. La durée de décoloration doit être surveillée attentivement, car elle varie selon les types de bactéries.
5. **Contre-coloration** : Appliquer la fuchsine sur les bactéries. Laisser agir pendant 1 minutes. La fuchsine colore les bactéries qui ont perdu le cristal violet.

6. **Lavage final** : Rincer la lame à l'eau pour éliminer l'excès de colorant.
7. **Observation** : Observer les bactéries au microscope. Les bactéries qui conservent la coloration violette sont appelées "Gram-positives", tandis que celles qui prennent la coloration safranine sont appelées "Gram-négatives".

Résultats :

- **Gram-positif** : Bactéries avec une paroi cellulaire épaisse qui retient le cristal violet.
- **Gram-négatif** : Bactéries avec une paroi cellulaire plus mince qui ne retient pas le cristal violet et prend la coloration rose.

Revision #5

Created 18 December 2023 15:51:15 by Bunturi Polina

Updated 12 January 2026 13:50:08 by Kernanec Alan