

Coloration de Gram

1° But :

Bactéries	Gram positif	Gram négatif
Caractéristiques de structure	Paroi épaisse qui ne contient pas ou peu de lipide.	Paroi plus fine contenant des lipides.
Comportement à l'égard de réactif ou de colorant	Paroi imperméable à l'alcool.	-
Violet de Gentiane	Le violet se fixe dans la bactérie sur un constituant du cytoplasme et engendre un complexe violet. → Cytoplasme coloré en violet.	
Lugol	Le Lugol favorise, renforce la stabilité du complexe. → Cytoplasme est violet foncé.	
Ethanol	La paroi des Gram + ne contenant pas de lipides est imperméable à l'alcool. → Cytoplasme reste violet.	Les lipides de la membrane externe de la paroi sont solubles dans l'alcool. La paroi est donc fragilisée. → Cytoplasme est décoloré.
Fuschine	La Fuschine est sans action sur ces bactéries. → Cytoplasme reste violet.	Le colorant de contraste peut agir. → Cytoplasme coloré en rose.
Résultat	Bactérie colorée en violet	Bactérie colorée en rose

2° Technique :

- Faire un frottis des bactéries sur une lame propre et sèche ;
- Sécher le frottis ;
- Fixer à l'alcool puis rincer à l'eau, ou à la flamme en passant trois fois dans la flamme (ou au-dessus du bec) ;
- Colorer au Violet de Gentiane pendant 30 secondes ;
- Recouvrir la lame de Lugol 3 fois 10 secondes ;
- Faire couler l'éthanol sur la lame jusqu'à décoloration ;
- Rincer à l'eau distillée ;
- Contre colorer à la Fuschine phénolée pendant 15 secondes.
- Rincer à l'eau distillée ;
- Sécher le frottis.

3° Observation de la préparation :

Observer le frottis à l'immersion (objectif $\times 100$).

4° Résultat :

Il faut noter la forme, la taille et le mode de groupement.

Il faut aussi observer attentivement le cytoplasme : coloration homogène ou hétérogène.