COLORATION AU BLEU DE METHYLENE

1. Principe

La coloration au bleu de méthylène (BM) est une coloration très simple qui permet d'observer les bactéries, les champignons, mais aussi les cellules qui sont en général mieux conservées qu'avec la coloration de Gram. Elle permet de renseigner sur :

- la forme des bactéries
- la taille
- le mode de regroupement

2. Technique

- Réaliser un frottis et le fixer.
- Recouvrir la lame de bleu de méthylène phéniqué, 1 à 2 minutes.
- Rincer à l'eau distillée.
- **Sécher la lame entre 2 feuilles de papier Joseph.**
- Observer à l'objectif x100 à l'immersion dans l'huile et à pleine lumière.

COLORATION DE GRAM

1. Principe

La coloration de Gram permet de distinguer les bactéries à **Gram négatif qui apparaissent roses** et les bactéries à **Gram positif qui apparaissent violettes**. Cette différence de coloration est liée à des différences de nature de la paroi bactérienne.

Elle permet de renseigner sur :

- Le type Gram + ou Gram -
- la forme des bactéries
- la taille
- le mode de regroupement

2. Technique

- Réaliser un frottis et le fixer.
- plonger la lame dans le violet de gentiane (ou cristal violet) phéniqué pendant 1 minute.
- laver la lame à l'eau distillée.
- plonger la lame dans une solution de lugol pendant 1 minute
- Laver à l'eau distillée
- **Décolorer dix secondes à l'alcool.**
- **RINCER IMMEDIATEMENT A L'EAU DISTILLEE**
- plonger la lame dans la safranine (ou la fuchsine) phéniquée pendant 1 minute
- laver la lame à l'eau distillée.
- Sécher la lame en la tamponnant avec du papier Joseph.
- Observer à l'objectif x100 à l'immersion dans l'huile et à pleine lumière.