

Protocole de TP

Coloration de Gram des bactéries du microbiote buccal

► A - Faire un frottis

1. Nettoyer une lame à l'alcool.
2. À l'aide d'un écouvillon stérile, se frotter l'intérieur des joues.
3. Frotter l'écouvillon sur la lame stérile.
4. Laisser sécher à l'air.
5. Passer 3 fois la lame dans la petite flamme du bec Bunsen pour fixer l'échantillon à la chaleur.

► B - Coloration (*attention aux éclaboussures, mettez des gants*)

1. Déposer quelques gouttes de solution de violet de gentiane (cristal violet) sur le frottis fixé. Laisser agir 1 minute. (Le violet de gentiane colore le cytoplasme des bactéries.)
2. Jeter l'excès de colorant dans un bécher.
3. Rincer très brièvement en faisant couler de l'H₂O sur la lame au-dessus du frottis (pas directement sur le frottis).
4. Déposer quelques gouttes de Lugol sur le frottis. (Le Lugol permet de fixer le violet dans les bactéries.)
5. Laisser agir 1 minute.

6. Jeter la solution de Lugol dans un bécher et rincer brièvement à l'H₂O comme précédemment décrit.
7. Décolorer en faisant couler la solution de décoloration sur la lame jusqu'à ce que le violet ne s'écoule plus du frottis (5 à 10 secondes). (La solution de décoloration contient un mélange d'alcool et d'acétone.)
8. Rincer à l'H₂O.
9. Laisser sécher à l'air.
10. Observer au microscope.