



Kits de coloration

Réf :
102 170

Français – p 1

Version : 8110

Coloration de Gram Hücker

L'objectif de ce kit est de réaliser une coloration de microbiologie de Gram-Hücker pour différencier les bactéries gram + et gram -.

À la réception de notre produit, assurez-vous de sa bonne composition.

1. Composition du kit

Ce kit est composé de 4 réactifs :

- Cristal Violet oxalaté – 60 mL
- Solution de Lugol – 60 mL
- Différenciateur rapide (alcool/acétone) – 60 mL
- Safranine en solution alcoolique – 60 mL



Les réactifs sont dans des flacons teintés avec bouchons compte-goutte.

Les différents réactifs doivent être conservés entre 18 et 25 °C et à l'abri de la lumière.

2. Principe

La coloration de Gram-Hücker est basée sur le même principe que la coloration de Gram. La coloration de Gram a été mise au point en 1884 par H.A Gram, un médecin biologiste danois modifié par Hücker en 1902. Les bactéries vont être différenciées lors d'une double coloration, par la nature de leur paroi et leur perméabilité à l'alcool.

On divise alors le monde bactérien en 2 groupes :

- les bactéries qui conservent leur coloration violette après décoloration par l'alcool sont nommées **bactéries Gram positif**.
- les bactéries décolorées par l'alcool, sont teintées par la safranine et apparaissent rose-orangé sont classées **bactéries à Gram négatif**.

3. Technique de coloration

1) Fixer le frottis à la chaleur douce

2) Coloration par le Cristal Violet oxalate :

- Placer le frottis fixé sur le support de coloration.
- Recouvrir la lame avec le Cristal Violet oxalate pendant 1 minute.
- Rejeter le colorant et rincer à l'eau courante pour éliminer toute trace de Cristal Violet oxalate en excès.

Le violet de gentiane se fixe sur les composants cytoplasmiques de toutes les bactéries. Le lugol permet de fixer cette coloration interne

3) Mordançage

- Rincer avec un jet de liquide de Lugol.
- Laisser le Lugol pendant 1 minute.
- Rincer abondamment à l'eau.

4) Décoloration

- Décolorer par le différentiateur rapide (alcool/acétone) 30 secondes à 1 minute.
- Rincer rapidement à l'eau.

- 5) Recoloration
 - Laisser la safranine 30 à 40 secondes selon l'épaisseur du frottis.
 - Rincer rapidement à l'eau courante et laisser sécher le frottis.

4. Observation des frottis

L'observation s'effectue au microscope x100 avec objectif à immersion, une fois les frottis colorés bien secs.

5. Résultats

La coloration de Gram permet de classer les bactéries en deux grandes catégories : Gram positif et Gram négatif (*Point 2 de cette notice – Principe*).

Cette distinction est en microbiologie un premier niveau de classement car ces deux classes ont des caractéristiques (résistances aux antibiotiques par exemple) très différentes.

Il faut cependant savoir que la coloration de Gram peut être variable pour une même espèce (par exemple, le pneumocoque se décolore facilement, de même, certaines bactéries Gram positif quand les colonies sont âgées).

Certaines bactéries sont même dites "Gram faible" ou "Gram variable" (ex. : corynèbactéries).

6. Application dérivée : Coloration des bactéries lactiques

La technique de double coloration de Gram-Hücker peut être utilisée en classe pour repérer les bactéries lactiques dans un milieu lacté.

Les bactéries lactiques classées **Gram positifs** apparaîtront en violet, tandis que les protéines du lait, décolorées par le différentiateur puis recolorées par la safranine, seront **rose-orangées**.

7. Service après-vente

Pour toute question, veuillez contacter :

JEULIN – S.A.V.
468 rue Jacques Monod
CS 21900
27019 EVREUX CEDEX France

0 825 563 563*

* 0,15 € TTC/min. à partir un téléphone fixe

Assistance technique en direct

Une équipe d'experts
à votre disposition
du lundi au vendredi
de 8h30 à 17h30

- Vous recherchez une information technique ?
- Vous souhaitez un conseil d'utilisation ?
- Vous avez besoin d'un diagnostic urgent ?

Nous prenons en charge
immédiatement votre appel
pour vous apporter une réponse
adaptée à votre domaine
d'expérimentation :
Sciences de la Vie et de la Terre,
Physique, Chimie, Technologie.

Service gratuit*

0 825 563 563 choix n°3**

* Hors coût d'appel, 0,15 € TTC/min à partir d'un poste fixe.

** Numéro valable uniquement pour la France métropolitaine et la Corse. Pour les DOM-TOM et les EFE, composez le +33 2 32 29 40 50.

Aide en ligne
FAQ.jeulin.fr

Direct connection for technical support

A team of experts
at your disposal
from Monday to Friday
(opening hours)

- You're looking for technical information ?
- You wish advice for use ?
- You need an urgent diagnosis ?

We take in charge your request
immediately to provide you
with the right answers regarding
your activity field : Biology, Physics,
Chemistry, Technology.

Free service*

+33 2 32 29 40 50**

* Call cost not included.

** Only for call from foreign countries.

