

TP N° 04: Coloration spécifique - coloration de la spore

Il existe des espèces bactériennes produisant des spores dans des conditions de vie défavorables. Ces spores résistent aux conditions physico-chimiques du milieu plus facilement que les cellules végétatives. Elles ont ainsi la particularité d'être thermorésistantes.

1. Principe

Dans la méthode de **Coloration au Vert de Malachite «méthode de Schaeffer-Fulton»**, une teinture primaire verte de malachite est forcée dans la spore par vaporisation de l'émulsion bactérienne. Le vert de malachite est soluble dans l'eau et a une faible affinité pour le matériel cellulaire, de sorte que les cellules végétatives peuvent être décolorées avec de l'eau.

2. Matériel et réactifs utilisés

Bec Bunsen, pipette Pasteur, anse de platine, lames, une pince, papier buvard (absorbant), microscope optique, cristalliseur contenant un désinfectant, eau physiologique stérile, eau distillée, vert malachite, Ethanol à 96%, Fuschine et l'huile à immersion.

3. Procédure de coloration des spores

- Prenez une lame propre et faites un frottis
- Couvrir le frottis de vert de malachite, laisser agir 3 à 5 minutes, chauffer sur la veilleuse du bec Bunsen jusqu'à émission de vapeurs blanches
- Laver à l'eau et recouvrir d'une solution de fuschine basique à 0.85% et laisser agir une minute.
- Rincer, sécher entre deux feuilles de papier filtre et observer au grossissement 100x à l'immersion. Les spores de couleur vertes sont libres ou incluses dans des corps bactériens roses

4. Compte-rendu

chercher la présence ou l'absence de la spore pour chaque souche bactérienne ; A, B, C,D et E.