

## Mise en évidence de la présence de bactéries dans le yaourt

### Réalisation et observation d'un frottis de yaourt coloré au bleu de méthylène

#### Remarques d'ordre pédagogique :

L'objectif essentiel de l'observation réalisée est de prendre conscience de l'existence de nombreux micro-organismes dans le yaourt, certains en forme de bâtonnets (les bacilles), d'autres de forme sphérique (les coques). Il est indispensable pour cela d'insister sur le fait que le bleu de méthylène colore les cellules vivantes.

On peut s'interroger sur la pertinence de faire réaliser par les élèves un dessin d'observation de la préparation réalisée. D'autres modalités de restitution des observations sont envisageables (identification sur une photo, comptage, etc.).

Une fois la caractéristique du vivant posée, la comparaison sera faite avec les observations de cellules animales ou végétales pour arriver à dégager l'une des caractéristiques essentielles de ces micro-organismes : leur taille.

Une modalité de travail intéressante pourrait être de demander aux élèves de justifier, à partir de leurs observations, une affirmation telle que « il y a de nombreux micro-organismes dans le yaourt », ou encore « les micro-organismes sont des êtres vivants beaucoup plus petits que les cellules animales et végétales ».

Il n'est pas envisageable à ce stade d'aller plus loin dans la structure et l'organisation d'une cellule bactérienne. On n'évoquera pas le fait qu'elle n'ait pas de noyau par exemple.

L'observation de ces micro-organismes pourra être à l'origine d'un questionnement sur une relation de cause à effet entre leur présence et les transformations à l'origine de la formation du yaourt. Une étude expérimentale pourra alors être menée.

## Deux protocoles de réalisation d'un frottis de yaourt sont proposés :

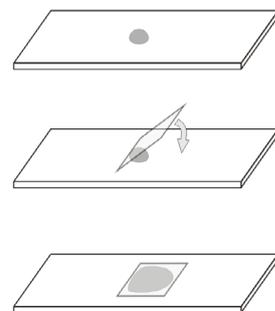
### Protocole 1

#### Matériel et réactifs :

- Surnageant de yaourt
- Pipette Pasteur
- Lame
- Lamelle
- Bleu de méthylène
- Microscope optique

#### Mode opératoire :

1. Marquer le côté de la face supérieure de votre lame avec un petit point de blanc correcteur afin de repérer là où le surnageant de yaourt va être déposé.
2. Prélever une goutte de surnageant avec une pipette Pasteur et la déposer au centre de la lame qui doit être bien propre et sèche.
3. Prélever une goutte de colorant de bleu de méthylène et la déposer sur la goutte de surnageant.
4. Déposer une lamelle selon le schéma ci-dessus en évitant d'emprisonner des bulles d'air.
5. Observer au microscope optique, à forte luminosité, à l'objectif  $\times 40$ .



### Protocole 2

#### Matériel et réactifs :

- Surnageant de yaourt
- Coton tige
- Lame
- Bleu de méthylène
- Ethanol
- Microscope optique
- Bac à coloration

#### Mode opératoire :

1. Marquer le côté de la face supérieure de votre lame avec un petit point de blanc correcteur afin de repérer là où le surnageant de yaourt va être déposé.
2. Prélever une goutte de surnageant avec un coton tige et la déposer au centre de la lame qui doit être bien propre et sèche.
3. Étaler la goutte de surnageant sur la lame en effectuant des mouvements circulaires de façon à obtenir un étalement mince et homogène de 2 ou 3 cm.



**ETALEMENT du frottis sur 2-3 cm**  
(en spirale du centre vers la périphérie)

4. Attendre que le frottis sèche.
5. Placer la lame sur le bac à coloration puis verser une à deux gouttes d'éthanol (alcool).
6. Attendre que le frottis sèche.
7. Placer la lame sur le bac de coloration et la recouvrir de **bleu de méthylène pendant 1 minute.**
8. Rincer délicatement à l'eau distillée.
9. Sécher entre deux morceaux de papier filtre sans frotter.
10. Observer au microscope optique, à forte luminosité, à l'objectif ayant le grossissement le plus élevé.