

TP N°: 01 Utilisation du microscope et observation d'un frottis

Objectifs

- Amener l'étudiant à savoir Préparer un frottis bactérien.
- Amener l'étudiant à savoir utiliser correctement le microscope.

A. Le microscope

- Les différentes parties du microscope sont montrées dans la figure 1.

B. Préparation d'un frottis (Figure 2.)

1. Déposer une goutte d'eau distillée sur une lame propre.
2. Flamber l'anse de platine et la laisser refroidir (dans la zone stérile du bec bunsen).
3. Après refroidissement de l'anse, prendre aseptiquement une fraction d'une colonie bactérienne isolée (dans une culture en boîte de Pétri) et la déposer dans la goutte d'eau.
4. Mélanger à l'aide de la boucle de l'anse ; étaler sur une grande surface de la lame.
5. En étalant, essayer de chauffer sur un feu modéré du bec bunsen. Continuer jusqu'à avoir une couche fine sèche.
6. Flamber à nouveau l'anse de platine.

- le frottis réalisé ne soit ni trop épais ni trop fin (figure 3).
- **Observation** : Préparer 03 lames (frottis)

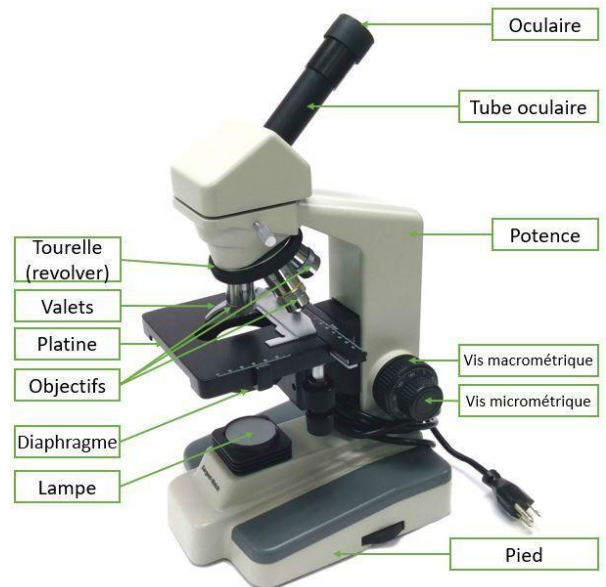


Figure 1. Présentation des différentes parties du microscope.

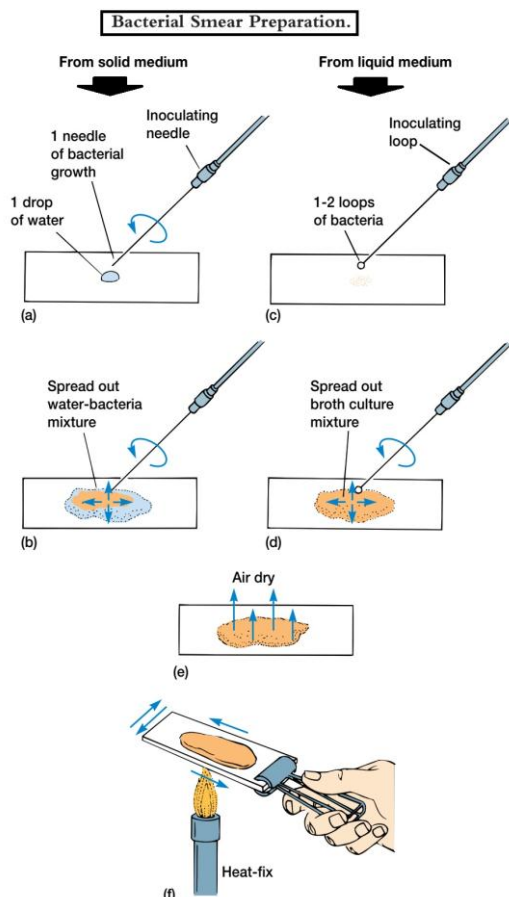


Figure 2. Préparation d'un frottis.

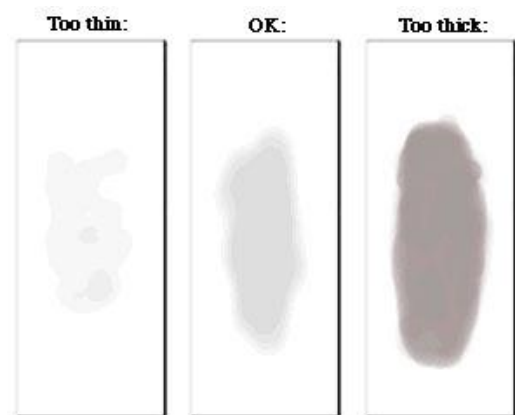


Figure 3. Le frottis au milieu est acceptable.

C. Coloration simple du frottis (Figure 4.)

1. Colorer le frottis avec du bleu de méthylène alcalin pendant 1 à 1½ minutes ; une lame avec la fuchsine pendant 5 à 10 secondes ; et une lame avec du cristal violet pendant 20 à 30 secondes.
2. Rincer avec de l'eau pendant quelques secondes.
3. Sécher la lame avec du papier absorbant (ne pas frotter le frottis lors du séchage de la lame car cela éliminera les bactéries colorées).
4. Examinez sous immersion d'huile et remplir le rapport du TP.

D. Observation au microscope (Figure 5.)

1. Mettre sous tension la source de lumière après s'être assuré que le potentiomètre de réglage de l'intensité lumineuse se trouve sur sa position minimale (Figure 5.1).
2. Ouvrir les diaphragmes de champ (au-dessus du collecteur de lumière situé après la lampe) et d'ouverture (à l'entrée du condenseur)(Figure 5.2).
3. Positionner la préparation à observer sur la platine porte objet.
4. Préparer la **mise au point à un faible grossissement** en amenant la préparation à moins d'un millimètre de la lentille de l'objectif x40 (Regarder sur le côté du microscope, les yeux ne sont pas sur les oculaires)(Figure 5.3).
5. Tourner le revolver porte objectifs pour positionner un objectif de faible grossissement (x10).
6. Observer en utilisant les objectifs (x4, x10, x40 et après utilisation de l'huile à immersion par x100).

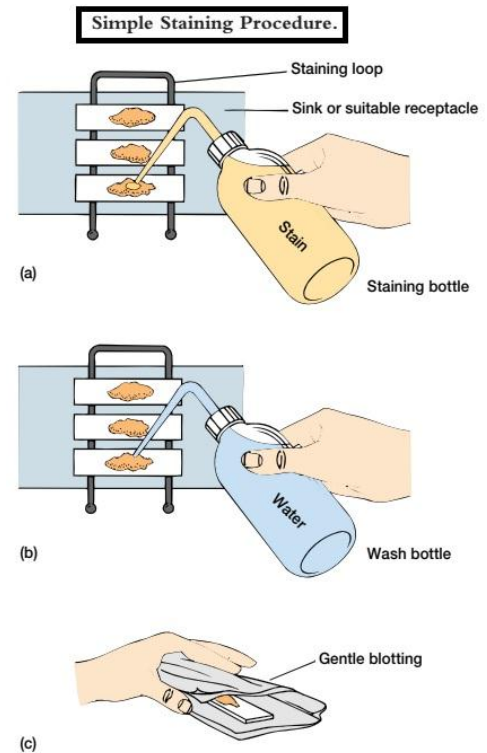


Figure 4. Coloration simple d'un frottis.

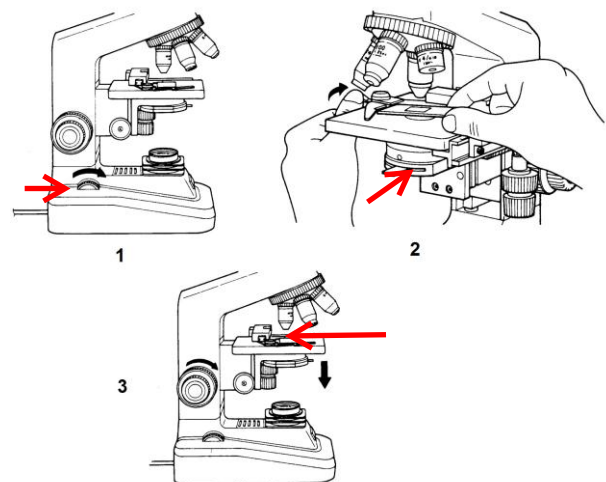


Figure 5. mise au point du microscope

Observation

- Après avoir fini l'observation, l'étudiant nettoie l'objectif x100 et éventuellement l'objectif x40 par un papier joseph imbibé d'acétone.
 - Potentiomètre au minimum
 - Redresser l'objectif x4 en position d'observation
 - Eteindre le microscope 'off'
 - Débrancher le secteur
 - Remettre la housse.
 - Placer la lame utilisée dans le bac de lavage
 - Nettoyage de la paillasse et l'arranger
 - Se laver les mains
- ✓ **Remettre le compte rendu avant de quitter le laboratoire.**

compte rendu

Date :

Noms et Prénoms

1-.....

2-.....

3-.....

4-.....

Poste :.....

Groupe :.....

Titre :

Objectif :.....

Matériels :

-
-
-
-
-

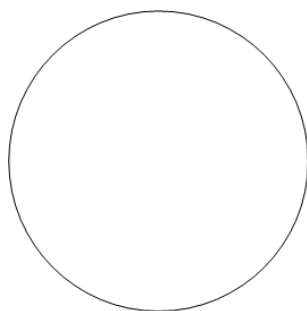
Méthode :

-
-
-
-
-

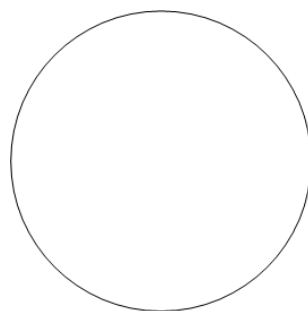
Résultats :

- Schémas de (x4 ;x10 ;x40 ;x100)
- Autres observations et descriptions

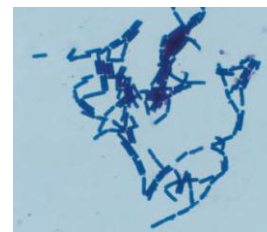
Bactérie (frottis)	frottis1	frottis2	frottis3
Grossissement			
Colorant			
Forme cellulaire(forme)			
Couleur de la cellule			
Couleur du fond(l'arrière-plan)			
Regroupement de cellules			



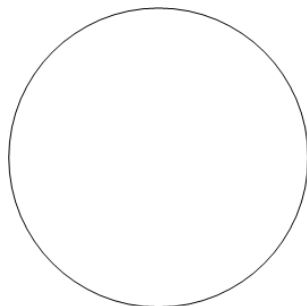
X4



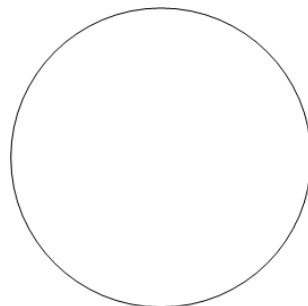
X10



Exemples



X40



X100

