

MISE EN CULTURE EN MILIEU SOLIDE DE CELLULES EN CONDITIONS STERILES

Matériel	1. Préparer la paillasse pour la manipulation en champs stérile	2. Couler la gélose dans une boîte de Pétri	3. Mettre les cellules / ensemercer une boîte de Pétri gélosée	4. Faire diffuser des substances dans une boîte de Pétri gélosée
<ul style="list-style-type: none"> - boîte(s) de Pétri - erlenmeyer - pipettes stériles et poires à pipeter si nécessaire, - étaleur stérile, disques stériles - tube contenant la suspension de cellules à mettre en culture - flacon de milieu nutritif liquide - bec électrique - eau de Javel diluée dans un récipient, savon, papier absorbant, poubelle de table, plaque froide, marqueur - agar-agar et sa spatule - pince en bois, pince stérile et cure dent - eau distillée stérile - balance et son verre de montre - solution(s) à faire diffuser si nécessaire 	<ul style="list-style-type: none"> - S'attacher les cheveux si nécessaire, se laver les mains avec du savon et nettoyer la paillasse avec de l'eau de javel diluée. - placer le bec électrique au centre de la paillasse. - Veiller à placer tout le matériel nécessaire dans la zone de stérilité crée par le bac électrique. 	<ul style="list-style-type: none"> - Dissoudre [.....] g d'agar dans [.....] mL d'eau distillée. - Compléter avec [.....] mL de milieu nutritif pour les cellules. - Chauffer le mélange jusqu'à apparition de l'ébullition. - Attendre quelques secondes que la solution refroidisse à peine et verser-la dans [.....] boîte(s) de Pétri. - Fermer la/les boîte(s) et Laisser refroidir sur une plaque froide. 	<ul style="list-style-type: none"> - Avec une pipette stérile, déposer [.....] mL/ gouttes de suspension de cellules par boîte de Pétri. - Avec l'étaleur, répartir la suspension sur toute la surface de la gélose. <p>- Avec une pince stérile, imbiber un disque stérile de la solution à faire diffuser et le déposer sur la gélose.</p> <p>- Renouveler l'opération autant de fois que nécessaire avec d'autre(s) disque(s) stérile(s).</p> <p><i>Penser à annoter le positionnement des disques dans la boîte.</i></p>	

Sécurité

Précautions de manipulation



Le matériel contaminé par des microorganismes présente un risque pour l'environnement.



L'eau de Javel est corrosive

- **Veiller** à réaliser toutes les manipulations dans la zone de stérilité autour du bec électrique.
- **Veiller** à allumer un peu à l'avance le bec électrique afin d'optimiser la zone stérile ;
- **Veiller** à agiter les suspensions de cellules avant la mise en culture
- Une fois utilisé, **placer** le matériel contaminé hors dans un récipient contenant de l'eau de Javel diluée.

