

Repiquage des levures et bactéries E.coli et B.mega

Réfs. CMS/BMEGA. et CMS/ECOLI.

A RECEPTION DU COLIS :

Conserver les boites de pétriensemencées à 4°C, couvercle vers le bas.

REPIQUAGE :

Levures et bactéries E. coli : 1 fois par mois

Bactéries B. mega : 1 fois tous les 8 jours

Protocole de repiquage :

Dans des conditions stériles, prélever une colonie isolée et représentative de la souche à l'aide d'un cure-dent stérile ou d'un ensemencementeur.

Etaler en stries sur une nouvelle boîte de milieu de culture.

Cultiver à 25°C (température ambiante) :

- Bactéries E. coli et B. mega : 24 h de culture avant résultat observables
- Levures : 72h de culture avant résultats observables.

Si les nouvelles cultures obtenues sont représentatives de celle reçues initialement, il est possible de poursuivre la culture et le repiquage des souches à partir de ces boîtes fraîchement obtenues.

CONDITIONS DE TRAVAIL :

Lorsque l'on manipule des micro-organismes, il faut prendre des précautions qui sont de deux ordres : ne pas contaminer l'espèce étudiée avec des souches externes et ne pas polluer l'environnement avec nos expériences. Ainsi, il est fondamental de respecter certaines conditions expérimentales propres à l'espèce étudiée. Voici quelques règles concernant la manipulation des levures :

- nettoyage de la paillasse à l'alcool ou à l'eau de javel
- travail dans un rayon de 30 cm autour de la flamme d'un bec bunsen ou 15cm autour d'un bec électrique (ou lampe à alcool).
- mains passées à l'alcool, port d'une blouse en coton
- instruments et milieux stérilisés ouverts et utilisés autour de la flamme
- ne mettre en contact que des matériels stérilisés entre eux et avec les cellules ; ne pas poser le matériel sur la paillasse ni toucher le col des tubes ou la partie du matériel qui sera en contact avec les levures, les milieux ou les solutions
- pot avec javel pour récupérer les pipettes usagées

- éviter les mouvements brusques, ne pas parler devant des boîtes ouvertes
- les levures sédimentent rapidement, il est donc nécessaire d'agiter les suspensions avant chaque prélèvement
- noter au marqueur indélébile au dos des boîtes : initiales des binômes et dénomination de la boîte.

NB : une technique pratique permet de distribuer le matériel aux élèves tout en conservant sa stérilité : il suffit de stériliser une dizaine de serviette en papier (type essuie-main) enveloppées dans une feuille de papier aluminium = champ stérile. Fournir à chaque binôme un champ stérile, ainsi il suffit de glisser le matériel entre les deux premières serviettes (première épaisseur) et il reste stérile. De plus chaque binôme disposera de 10 serviettes donc au fur et à mesure de la manipulation, les élèves auront la possibilité de se servir de plusieurs épaisseurs pour poser leur matériel.

ELIMINATION DES DECHETS :

Décontaminer les outils et les boîtes de cultures à la javel concentrée pendant 10 minutes avant toute élimination.

Les outils peuvent ensuite être nettoyés selon les conseils du fabricant habituellement utilisés.