**MISE EN CULTURE EN MILIEU LIQUIDE DE CELLULES EN CONDITIONS STERILES**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Matériel** | 1. **Préparer la paillasse pour la manipulation en champs stérile** | 1. **Placer les cellules dans un tube de culture** | 1. **Ajouter une solution à tester dans un tube de culture** |
| - tubes de culture  - pipettes stériles et poires à pipetter si nécessaire  - tube contenant une suspension de cellules à mettre en culture  - flacon de milieu nutritif liquide stérile  - solution(s) à tester si nécessaire  - eau distillée stérile  - bec électrique  - eau de Javel diluée, savon, papier absorbant, poubelle de table, coton / parafilm | - **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 travail stérile crée par le bac électrique. | - Avec une pipette stérile, **prélever** …… mL de milieu nutritif liquide et le déposer dans un tube de culture.  - Avec une autre pipette stérile, **déposer** …… mL / gouttes de suspension de cellules à mettre en culture dans le tube de culture.  **- Renouveler** l’opération autant de fois que de tubes de culture nécessaires.  **- Boucher** chaque tube avec du coton cardé/ parafilm | - Dans un tube de culture, **ajouter** …… mL / gouttes de solution à tester.  **- Renouveler** l’opération autant de fois que nécessaire.  - Dans le/ les autres tubes dans lesquels il n’y a pas eu d’ajout de solution à tester, **ajuster** au même volume avec de l’eau stérile.  **- Boucher** chaque tube avec du coton cardé/ parafilm |
| **Sécurité** | **Précautions de manipulation** | | |
| http://bip.cnrs-mrs.fr/acmo/img/pollut.jpgLe matériel contaminé par des microorganismes peut présenter un risque pour l’environnement.  L’eau de Javel est corrosive à forte concentration | - **Veiller** à réaliser toutes les manipulations dans la zone de travail stérile autour du bec électrique.  - **Veiller** à allumer un peu à l’avance le bec électrique afin d’optimiser la zone de travail 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.  blouselunettes | | |