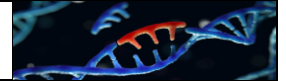
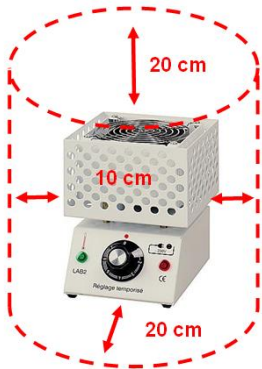


[illegible]



Partie B : Protocole expérimental



Pour la réussite de ce TP, il faut veiller à travailler dans des conditions stériles afin que le milieu de culture ne soit pas contaminé par des cellules extérieures.

- Pour la préparation des boîtes de Pétri, **toutes les manipulations doivent être réalisées dans la zone stérile, c'est-à-dire à moins de 30 cm de la source de chaleur (bec électrique).**
- Pour le déplacement des boîtes jusqu'à l'intérieur de la lampe à UV, **les couvercles doivent être placés sur les boîtes.**
- Veillez à ne pas circuler dans la classe. Limitez au maximum les projections de salives pendant la manipulation, donc restez silencieux.
- Ne pas toucher le milieu des boîtes de pétri avec les mains et bien les laver en fin de séance : on ne contrôle jamais totalement ce que l'on fait pousser sur un milieu complet...

Avant de manipuler !

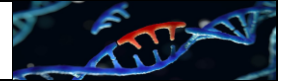
Chaque binôme doit tester 2 durées d'irradiations différentes. Vous devez, dans un premier temps, vous répartir les tâches au sein de la classe afin de pouvoir ensuite partager tous les résultats. **Temps à tester : T=0, T= 30 sec, T= 60 sec, T= 90 sec, T = 120 sec.**

Temps choisis pour le binôme :

1. Mettez votre blouse, attachez vos cheveux s'ils sont longs.
2. Nettoyez minutieusement la paillasse à l'alcool. **Ne pas mettre d'alcool sur le bec électrique.**

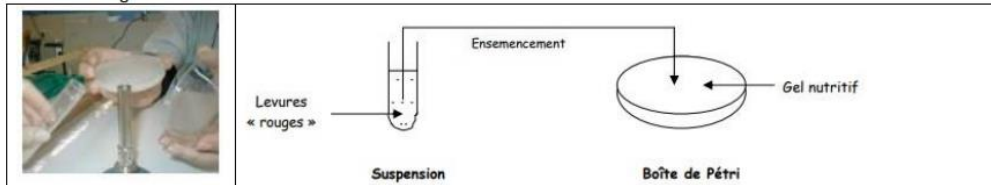
Tableau d'attribution des binômes :

Temps d'exposition (secondes)	0	20	40	60	80
Binômes					

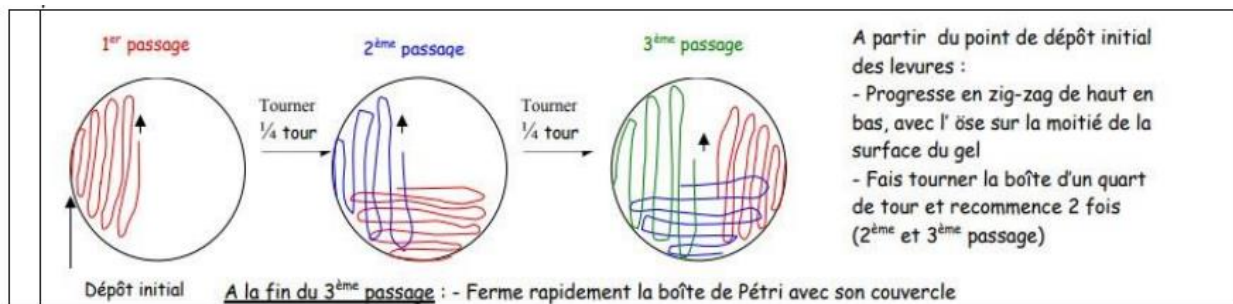


Etape 1 : Ensemencement des boîtes de Pétri avec la souche de levure Ade2-

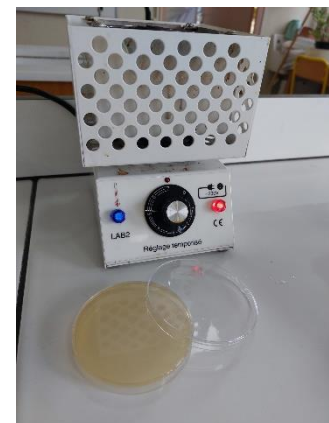
1. Allumez le bec électrique pour créer la zone de stérilité (passez progressivement du thermostat 1 à 7).
2. **Les boîtes de pétri sont des environnements stériles. Ne les ouvrir qu'à la dernière minute. Notez votre nom de manière lisible sur la tranche du couvercle de votre boîte de pétri, ainsi que la durée d'exposition.**
3. Agitez la suspension de levures puis prélevez 1ml de la solution (avec la pipette plastique stérile). Déposez ce prélèvement sur la boîte de pétri.



4. Etalez l'échantillon sur toute la gélose avec l'étaleur stérile en suivant le protocole ci-dessous.



5. Inclinez la gélose à 45° et pipetez l'excédent de liquide. Jetez ensuite la pipette et son contenu dans le bœcher de javel). **Mettez vos instruments utilisés dans l'eau de javel pour désinfection.**
6. Laissez sécher la gélose ensemencée pendant 10-15 minutes à l'envers comme sur la photographie ci-contre.



Etape 2 : L'irradiation des boîtes de Pétri

L'enceinte UV est à manipulée avec l'aide du professeur. Elle a été allumée une heure avant l'utilisation et reste allumée durant toute la manipulation. L'énergie débitée est ainsi constante.

1. Se munir de gants, de lunettes anti-UV.
2. Insérez la boîte de pétri ensemencée dans la lampe à UV. Otez immédiatement le couvercle et le placez sur le dos (l'intérieur du couvercle est donc exposé aux UV. Déclencher immédiatement le chronomètre.
3. Une fois le temps écoulé, replacer rapidement le couvercle sur la boîte puis retirer la boîte de l'enceinte à UV.
4. Placez la boîte fermée dans le bac prévue à cet effet. la boîte de pétri sera ensuite placée à l'étuve à 28°C pendant 48h.

Fin du TP : Les instruments utilisés doivent être placés dans le bœcher contenant de la javel. La pailleasse doit être lavée à l'alcool. Lavez-vous les mains soigneusement avec du savon.



COMPTE rendu : Protocole expérimental.

Protocole : Sous forme de schéma, détaillez votre protocole expérimental.