|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Destinataires : professeurs | **Réalisation d’un frottis microbien fixé** | |  |
| Elaboration | 12/10/22 | Professeurs STL Biotechnologies |
| Relecture 1 | 04/01/23 | Julie CAVALLI, Pascale DIMANCHE, Julien FIJEAN, Laura MATTIELLO, Anastasie SIGWALT |

1. Attendus pour un niveau maitrisé

* Identifier la lame (point de TPex pour le sens ou tout autre moyen)

**Si la culture est liquide :**

* Homogénéiser la suspension
* Prélever une goutte de suspension à l’aide de l’anse stérile
* Déposer l’échantillon au centre de la lame

**Si la culture est solide :**

* Prélever une goutte d’eau à l’aide de l’anse stérile
* Déposer cette goutte au centre de la lame
* Prélever un fragment de colonie microbienne avec l’anse stérile
* Dissocier la colonie dans la goutte d’eau sur la lame
* Etaler l’échantillon avec l’anse de manière spiralaire
* Stériliser l’anse métallique ou évacuer l’anse stérile jetable en DASRI
* Laisser sécher le frottis à l’air libre
* Eloigner la lame de toute source de chaleur ou d’ignition
* Recouvrir le frottis avec de l’éthanol absolu
* Laisser agir pendant 5 minutes (ou 3 minutes)
* Rejeter l’excédent l’éthanol dans un bac de récupération
* Rincer si besoin délicatement à l’aide d’une pissette d’eau distillée sans viser directement le frottis

1. **Erreurs majeures pénalisantes**

* Oubli d’homogénéiser la suspension (cas de culture en milieu liquide)
* Oubli de stériliser ou d’évacuer l’anse ayant servi à l’étalement
* Mauvaise estimation de l’état de séchage du frottis
* Non-respect du temps de fixation
* Ne pas s’éloigner de la source de chaleur lors de l’ajout de l’éthanol

1. **Erreurs mineures non pénalisantes**

* Frottis mal étalé

1. **Diversités des pratiques**

* Asepsie non nécessaire si non réutilisation du matériel biologique de matériel stérile
* Variation du temps de fixation
* Rinçage à l’eau optionnel à la fin
* Marquage du sens de la lame de diverses manières

1. **Propositions pédagogiques**

* Coloration de Gram
* Coloration au bleu de méthylène…