**TP 2 : Techniques de dilution et transferts aseptiques**

1. **Objectif**

Il s’agit d’exposer les différentes techniques de dilution utilisées lors des pratiques de laboratoire de Microbiologie, notamment lors du contrôle microbiologique.

1. **Matériels**

Balance, agitateur, micropipettes et embouts stériles ; Pissette : eau distillée, eau de javel et alcool ; Papier hygiénique, tubes à essai de 9 ml de l’eau physiologique et tubes à essai stériles ; Eau distillée stérile, NaCl, ampicilline ; Échantillons : lait UHT, lait cru, yaourt, levure panaire.

**3. Dilutions en Série logarithmique**

Ce sont des dilutions dont la progression est géométrique par exemple les dilutions dites décimales 0.1 (10-1 ), 0.01 (10-2 ), 0.001 (10-3 ), 0.0001 (10-4 ), 0.00001 (10-5 ), etc.

**Réalisation**

* Préparer des tubes à essai stériles avec 9ml de diluant stérile ;
* Ajouter 1ml d’échantillon de départ au premier tube. Avec la micropipette munie d’un nouvel embout stérile, on homogénéise par aspiration et soufflage le contenu du premier tube (par ailleurs mélangé à la main) et on rajoute 1ml au deuxième tube et ainsi de suite en changeant à chaque fois l’embout.

**4.Solution diluée**

C1V1 = C2V2, cette formule est une approche rapide de calculs de dilutions.

 Réalisation Vous disposez de 5 ml d'une solution de 100 mg / ml d'ampicilline et vous voulez préparer 200 µl de solution ayant 25 mg / ml.

Pourcentage (%) ou bien rapport : v / v, m / v, m / m. % (g / ml ; ml / ml) x volumes (qu’on veut préparer) = masse ou bien volume (à utiliser).

Réalisation Vous disposez du NaCl à l’état solide et vous voulez préparer 200 ml de NaCl à 3%.

 **5. Gestion des déchets**

Matériel non contaminé : papier, etc. dans la poubelle ;