

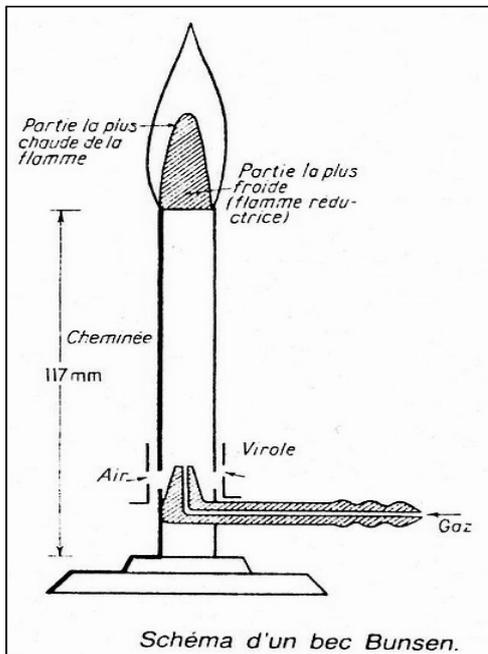
## Le travail en conditions aseptiques

### OBJECTIFS

Le travail en conditions stériles en microbiologie poursuit 2 objectifs :

- la protection de la manipulation contre les contaminations extérieures,
- la protection du manipulateur vis à vis des germes qu'il manipule.

### LE BEC BUNSEN



#### - Description du matériel

Le gaz débouche par un petit orifice à la partie inférieure d'un tube cylindrique ou cheminée. Il est

enflammé à sa sortie à la partie supérieure.

La manœuvre d'une virole qui dégage ou obstrue 2 trous diamétralement opposés permet le réglage de l'arrivée d'air et de moduler la température de la flamme.

La température moyenne de la flamme est de 700 à 1 000°C selon les régions de cette flamme.

Les becs Bunsen sont en général munis d'une veilleuse, qui permet de les laisser en attente entre

2 manipulations.

#### - Utilisation

Enflammer le gaz, la virole étant fermée, puis, à l'aide du robinet d'arrivée du gaz, régler son débit pour obtenir une flamme d'environ 10 cm de hauteur. Tourner ensuite la virole pour obtenir une flamme chauffante, non éclairante, non bruyante.

Un cône bleu clair doit se former. C'est à son extrémité que la flamme est la plus chaude (jusqu'à 1 500°C).

L'échauffement de l'air autour de la flamme assure une zone de convection de 10-15 cm autour du bec dans laquelle l'air est stérile. C'est dans cette zone qu'il faut se situer pour travailler.

Tout le matériel utilisé pour ensemercer doit être préalablement stérilisé :

- porter l'ose de platine au rouge en la passant dans la flamme, en commençant par la vis, puis la laisser refroidir à proximité du bec avant usage.

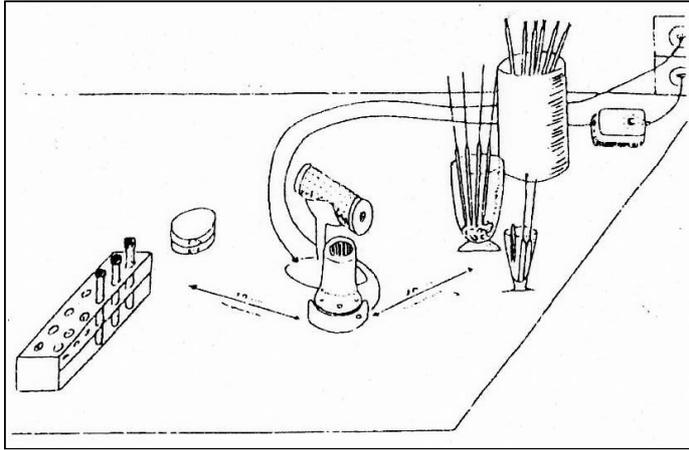
(NB : réitérer la manipulation immédiatement après usage pour limiter le risque de contamination de la paillasse et du manipulateur)

- procéder de même avec le fil droit.

- stériliser la surface des pipettes Pasteur par 2-3 passages successifs au dessus de la flamme (ne pas les maintenir dans la flamme sinon le verre fond). Laisser refroidir à proximité du bec avant usage.

(Après usage, les pipettes Pasteur ne sont pas rechauffées, mais directement jetées dans un bac contenant un décontaminant tq l'eau de javel).

## LE BEC HOFMANN OU BEC ÉLECTRIQUE



### - Description du matériel

Dans certaines conditions où l'usage du gaz est interdit, la source de chaleur est assurée par une céramique munie d'une résistance électrique.

Ces appareils sont équipés d'un variateur qui permet de moduler la température de chauffage.

A l'intérieur du creuset cette température peut dépasser les 1 000°C.

### - Utilisation

Lors d'une utilisation courante, régler le variateur au 3/4 du maximum de chauffe. Une fois allumé (durée de chauffage environ 2 minutes), il ne doit pas être éteint en cours de manipulation (risque de détérioration rapide des résistances). Utiliser le variateur pour baisser le chauffage au minimum, s'il y a lieu.

La zone de stérilité assurée par le bec Hofmann est légèrement plus grande que celle du bec Bunsen (15-20 cm).

Ici, il faut surtout se méfier de la température excessive que peut atteindre la céramique :

- organiser sa paillasse avant d'allumer le bec, pour ne plus avoir à y toucher par la suite.
- placer les portoirs de tubes, boîtes de Pétri ... à plus de 20 cm du bec Hofmann pour éviter qu'ils ne deviennent brûlants ou fondent.

Le bec Hofmann est utilisé, comme le bec Bunsen, pour stériliser le matériel d'ensemencement, mais :

- vous ne parviendrez pas à porter au rouge les fils métalliques (se contenter de les maintenir 3-5 secondes dans le creuset sans toucher les bords)
- les pipettes Pasteur ne doivent jamais toucher la céramique, au risque de fondre et de rester collées.

**Remarque:** Une autre façon de travailler en conditions stériles est l'usage des Postes de Sécurité Microbiologique (PSM), qui assurent la protection du manipulateur et de la manipulation par des flux d'air stérile. Aucune source de chaleur ne doit alors être utilisée à l'intérieur de l'enceinte pour ne pas perturber les mouvements d'air.

La stérilité du matériel d'ensemencement est assurée en utilisant du matériel emballé stérile à usage unique.

## BIBLIOGRAPHIE

Le laboratoire de bactériologie médicale (N. Marchai, J.L. Bourdon, F. Bimet)