

## 1.6 Un laboratoire typique

Bonjour à nouveau ! Nous avons déjà vu les trois systèmes principaux à cultiver les virus : cultures de cellules, animaux de laboratoire, et œufs embryonnés. Nous avons déjà commenté que celui premier mentionné, les cultures cellulaires, est la plus fréquente et presque tous les laboratoires de virologie ont des infrastructures pour les cultiver. Nous allons voir en quoi ils consistent.

Tout d'abord nous allons parler de l'équipement minimal que nous avons besoin dans notre laboratoire.

Un élément fondamental est la hotte à flux laminaire ou le clapet de la biosécurité. Dans la hotte à flux laminaire nous n'utilisons pas de Bunsen ou tout autre type de brûleur. La stérilité est assurée par un flux d'air constant, unidirectionnel filtrée à travers des filtres spéciaux qui piègent les particules. Évidemment, en plus nous devons suivre les techniques stériles alors que les cultures ne sont pas contaminées. Il existe trois types de hottes. Le type I serait comparable à une hotte d'extraction de gaz. Le type II est la plus courante pour la culture cellulaire. Type III, c'est ce que vous avez vu dans quelques films. Vous le reconnaîtrez car il est scellé hermétiquement, il comprend des gants et est utilisé pour les micro-organismes qui ont besoin de niveau de biosécurité 4, que nous avons vu dans une vidéo précédente. Avant de commencer à travailler et à la fin de celui-ci nous devons nettoyer la hotte soigneusement à l'alcool à 70 %.

Nous avons également besoin d'un incubateur à CO<sub>2</sub>, qui fournit la bonne température de cellules et une atmosphère à faible teneur en O<sub>2</sub> que ce que nous respirons, parce que la majorité des cellules qui sont utilisées viennent de l'intérieur du corps, où la concentration d'O<sub>2</sub> est plus faible que l'atmosphère. En outre, il a généralement une teneur en humidité, généralement 95 %, pour que les flacons avec cellules ne pas dessèchent.

Dans notre laboratoire, nous avons besoin d'un microscope inversé, qui a les objectifs en bas pour pouvoir observer correctement les flacons avec la culture cellulaire.

Les autres matériels moins spécifiques sont un bain d'eau, de porter les milieux de culture à la bonne température donc lorsque nous l'ajoutons à cellules, nous ne pas les choquer ; et une centrifugeuse, ou plutôt, centrifugeuses pour tubes de différents volumes : 15 ou 50 ml et microtubes de 1,5 ml. En outre, nous avons besoin d'un réfrigérateur à 4°C, un congélateur à -20°C et un système pour préserver les cellules ultra congelées, comme un congélateur de -80 °C ou d'azote liquide.

En plus de l'appareil, Nous avons besoin de contenants dans lesquels à cultiver le virus. Aujourd'hui, ils sont faits de plastique et non réutilisables. Plusieurs fois, les flacons rectangulaires sont utilisés. Nous les poser sur leur plus grand côté, afin que les cellules ont plus de surface à cultiver. Ils sont connus comme T25 si la surface de ce grand côté est 25 cm<sup>2</sup>, T75 si c'est 75 cm<sup>2</sup>, etc. D'autres fois boîtes rondes semblables à des boîtes de Pétri pour les bactéries sont utilisées ou même plaques de 6, 24, 48 ou 96 puits. Rien de tout cela ne devrait fermer hermétiquement, parce qu'il est nécessaire qu'il y a échange de gaz, éliminer le CO<sub>2</sub> qui est produit par la respiration cellulaire, et l'utilisation de l'O<sub>2</sub>. Les flacons T peuvent avoir un bouchon avec un filtre afin de faciliter cet échange de gaz mais qui évite la pénétration des bactéries ou spores fongiques.

Nous devons également utiliser les pipettes jetables d'ajouter une quantité exacte de liquide, conseils de micropipette, tubes de volumes différents, y compris les microtubes de 1,5 ml et cryotubes qui pouvant supporter la congélation.

Un aspect très important est le milieu de culture. Les cellules sont très sensibles aux variations de pH, salinité, osmolarité, etc., donc, le milieu de culture doit être rigoureusement contrôlé. Le milieu de culture contient des acides aminés essentiels, glucides, vitamines et minéraux. Habituellement il est additionné de sérum bovin fœtal et des antibiotiques et des antifongiques.

Dans cette vidéo, nous avons cherché à décrire ce que nous avons besoin dans un laboratoire de virologie fondamentale, y compris le matériel et les consommables (c'est-à-dire qui sont utilisé avec utilisation). Dans la vidéo suivante, nous verrons ce qui arrivera aux cellules infectées par le virus.

Je vous remercie pour votre attention.