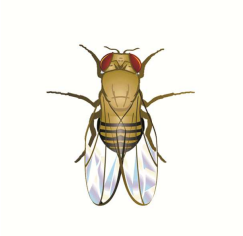
NOUVEAU PROTOCOLE DE SCIENCES PARTICIPATIVES



A RECEPTION DU COLIS :

☑ **Vérifier la composition** du colis indiquée ci-dessous

- Tubes de larves :
  Afin de bloquer le développement, il faut les congeler dès réception.
  1- Vider le contenu des tubes dans une passoire fine. Le passer sous l'eau du robinet afin de dissoudre le milieu et de nettoyer les larves.
  2- Puis les placer dans une boîte de Pétri au congélateur.
  3- Décongeler juste avant la séance de TP.

- Tubes de mouches adultes :
  Placer à température ambiante jusqu'à la séance de TP.

COMPOSITION pour 10 à 15 binômes

✓ **Drosophiles s'étant développées sur milieu avec antibiotique:**
1 tube de larves
15 tubes de jeunes mouches (contenant une quinzaine de mouches chacun)

✓ **Drosophiles s'étant développées sur milieu sans antibiotique:**
1 tube de larves
15 tubes de jeunes mouches (contenant une quinzaine de mouches chacun)

✓ **4 entonnoirs**

✓ **30 tubes d'observation des mouches**

Microbiote humain et santé

Ce kit permet de tester l'effet de la présence du microbiote intestinal sur le déplacement de la drosophile.
Les élèves vont procéder à deux activités en parallèle :
1) Dissection de la larve de drosophile s'étant développée sur un milieu normal, ou sur un milieu avec antibiotique. Ils vont effectuer une coloration de GRAM et observer au microscope l'effet des antibiotiques sur les bactéries intestinales de la larve (lames, lamelles et colorants non fournis).
2) Transfert des mouches dans les tubes d'observations (grâce aux entonnoirs fournis) et suivi vidéo d'un échantillon de mouche s'étant développées sur les milieux avec ou sans antibiotique. Ainsi ils vont comparer les vitesses de déplacement avec éventuellement un suivi logiciel (gratuit).
Les données récoltées seront mise en partage dans le cadre des sciences participatives, afin d'augmenter la taille de l'échantillon et le nombre de réplicas et ainsi, essayer d'avoir des observations cohérentes.
Ils vont pouvoir en déduire que le microbiote a un rôle important sur les performances locomotrices des drosophiles.

Contexte scientifique

Une multitude d'articles scientifiques sur le microbiote ont été publiés au cours de ces dernières années par des chercheurs. Leur rapide vulgarisation, parfois de façon simpliste dans les médias et sur Internet, n'est pas sans poser question.
De plus, le traitement de l'ensemble des données disponibles devient difficile et met parfois en évidence des résultats contradictoires…ainsi va la construction du savoir scientifique…
L'étude des données sur la relation microbiote-déplacement chez la Drosophile peut être l'occasion de montrer comment se construit la science, entre données statistiques, conditions expérimentales, résultats contradictoires… Les expérimentations auxquelles les élèves participent modestement permettent de mieux comprendre ce qu'est la science et d'aiguiser leur regard critique (répétitions des protocoles, conditions expérimentales définies, nombre de générations sur le milieu, influences des substances utilisées, notamment des antibiotique, directement sur le système nerveux).

L'hyperactivité des Drosophiles traitées aux antibiotique est présentée dans l'article de Nature d'octobre 2018 (à télécharger sur la page du produit sur SORDALAB.COM). Cette hyperactivité a été remise en cause par d'autres chercheurs qui aboutissent à la conclusion d'une baisse de l'activité des Drosophiles en présence d'amoxicilline.
Les élèves vont tester cette expérience et discuter de la fiabilité de leurs résultats, l'objectif étant alors pour eux de comprendre comment se construit un savoir scientifique et que quelques résultats ne peuvent permettre la stabilisation de ce savoir.

Pour ce faire, dans le cadre d'un programme de Science participative, Sordalab propose aux élèves de différents lycées de mutualiser leurs résultats pour les confronter à ceux présentés dans Nature.
L'objectif est donc de compléter des résultats déjà obtenus, pour nourrir le débat sur cette relation microbiote- déplacement de la drosophile.

	Etat du microbiote	**Activité des Drosophiles**	**Croissance larvaire**
Milieu sans antibiotique	Réalisation des dissections Colorations Gram Microscopie	Tests / Eventuellement films et utilisation du logiciel Kinovea	Observations
Milieu avec antifongique et avec antibiotique			

Fiche technique : réalisation des lames de tubes digestifs de larves de Drosophiles :

Côté professeur

Juste avant le TP, décongeler les larves, les égoutter et travailler immédiatement après (sinon il y a un risque de noircissement des larves).

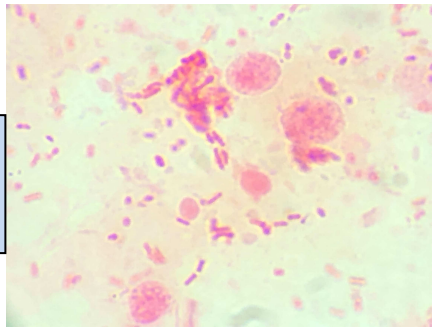
Côté élève (film de la dissection associé au texte)

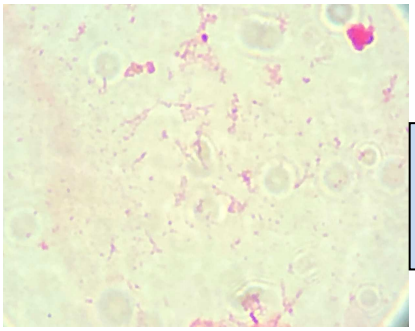
1- Prélever à la pince fine (voire très fine si possible) la larve et appliquer l'avant portant les mandibules noires contre la lame.
2- Tirer doucement sur l'extrémité postérieure de la larve en restant parallèle à la lame de façon à appliquer et coller le tube digestif progressivement contre le verre. L'étalement du tube digestif sur toute sa longueur est alors visible, laisser en place les extrémités du corps sur la lame, elles partiront éventuellement lors de la coloration.
3- Sécher la lame à l'aide d'un sèche-cheveu ou à proximité d'un bec électrique afin de fixer la préparation sur la lame.
4- Pratiquer une coloration Gram (gants et lunettes, hotte ou pièce aérée) :
   - Verser sur la préparation quelques gouttes de violet de gentiane, attendre 30 secs.
   - Rincer à l'eau distillée
   - Verser sur la préparation quelques gouttes de Lugol, attendre 30 secs.
   - Rincer à l'éthanol
   - Verser sur la préparation quelques gouttes de Fuchsine, attendre 30 secs.
   - Sécher la lame

NB : Placer un nombre différents de points ou des lettres au blanco sur les lames pour pouvoir les distinguer après coloration (l'alcool, utilisé en rinçage, enlevant toute trace de marqueur).

5- Observer au microscope (lamelle inutile) objectif X10 puis X40 ou X60, voire X100 (huile à immersion nécessaire). Le réglage lumière à l'aide du diaphragme est déterminant.
6- Déterminer les Bactéries Gram + et Gram - mais aussi les éventuels Champignons (Levures de type Saccharomyces cerevisae).

Témoin sans antibiotique, sans antifongique





Avec antibiotique

Remarque : l'observation des organes et des différentes cellules différenciées, mais aussi du microbiote vivant est possible sans coloration. Il suffit de placer une goutte d'eau physiologique à l'étape 2, puis une lamelle pour éviter l'assèchement de la préparation.

Une vidéo de référence (secours) est disponible sur la page de kit sur SORDALAB.COM

Observation des déplacements

Chaque binôme dispose de :

- 1 tube de jeunes mouches élevées sans antibiotique
- 1 tube de jeunes mouches élevées avec antibiotique
- 2 tubes d'observation

Mettre en place la chaine d'acquisition vidéo (un Smartphone suffit)

Grâce aux entonnoirs fournis, transférer les mouches dans les tubes préalablement identifiés (avec ou sans antibiotique).

Attendre 2 minutes (**acclimatation**)

Taper les 2 tubes (avec ou sans antibiotique) en même temps

Lancer la capture vidéo pour 1 minute

L'observation simple suffit.

Une vidéo de référence (secours) est disponible sur la page de kit sur SORDALAB.COM

Ils peuvent, si les conditions s'y prêtent (temps disponible) utiliser ensuite le logiciel KINOVEA (à télécharger gratuitement sur internet en recherchant KINOVEA sur un moteur de recherche) afin de mesurer la vitesse de déplacement des mouches. Pour cela il est nécessaire de faire une acquisition vidéo des mouches individuellement placées dans des tubes.

Remplir le tableau et le questionnaire ci-dessous et les envoyer à info@sordalab.com

Nom du Lycée, et Ville :

Température de la salle au moment de l'expérimentation

Etat général des mouches (en forme, pas en forme)

Nombre de jours depuis la réception des mouches

Conditions de stockages des mouches depuis la réception (étuve à T°C réglée sur :… ; posée sur la paillasse, dans une salle à T°C : … ; T°C inconnue depuis la réception mais temps plutôt chaud/ froid, présence de chauffage dans la salle)…

Numéro du binôme	**Nombre d'individus par tubes au cours du suivi vidéo**	**Durée de l'acclimatation**	**Durée de la vidéo analysée**	**Avec antibio.**	**Sans antibio.**
				si plus mobiles, indiquer ++	**si plus mobiles, indiquer ++**
				si identique: indiquer -- dans les deux cases	
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
...					