



Culture in vivo ASBL

SUPPORT PEDAGOGIQUE

ANIMATION A L'ATTENTION DES ELEVES DE L'ENSEIGNEMENT SECONDAIRE (SECOND ET TROISIEME DEGRES)

Avec le soutien de la Direction générale opérationnelle Economie, Emploi et Recherche du Ministère de la Région wallonne, l'ASBL Culture in vivo s'est engagée à réaliser un programme de sensibilisation et de vulgarisation relatif aux sciences du vivant. En effet, rares sont les initiatives de diffusion des sciences et des techniques orientées vers la microbiologie, la biologie moléculaire ou encore la biologie cellulaire. Des matières qui pourtant occupent le devant de la scène médiatique.

L'objectif de cette animation est d'ouvrir les élèves à la perception du monde microbien et de son implication dans la vie de tous les jours, en particulier pour la santé et l'alimentation. Il s'agit également de familiariser les élèves aux techniques courantes de laboratoire utilisées en microbiologie (préparation de milieux, mise en culture de micro-organismes, stérilisation et techniques d'asepsie).

Cette initiative s'appuie sur un module d'animation scolaire de deux périodes (un rythme imposé par les contraintes de temps inhérentes à la croissance des microorganismes). A l'occasion de la première séance, les élèves sont accueillis dans le laboratoire didactique de l'ASBL afin d'y réaliser une série d'expériences (d'une durée de trois heures environ). Pour la deuxième séance (une période de cours), l'animateur rencontre les élèves en classe afin d'analyser les résultats de leurs expériences.



Avec le soutien de la DG06 du Ministère de la Région wallonne Service public de Wallonie



ATELIER « Découverte de l'univers microbien et des techniques de microbiologie »

Animation à l'attention de l'enseignement secondaire - Support pédagogique

1. Objectifs de l'atelier

- Objectifs cognitifs

Les élèves pourront notamment :

- prendre conscience de l'omniprésence des microbes, et en particulier des micro-organismes des flores commensales,
- se familiariser avec les techniques de culture des micro-organismes,
- analyser l'efficacité des stratégies antimicrobiennes (antiseptiques, hygiène, antibiothérapie, stérilisation à la chaleur),
- prendre conscience des relations qui peuvent s'établir entre les micro-organismes (bactéries – bactériophages).

- Objectifs méthodologiques

Les élèves pourront notamment :

- réaliser des protocoles expérimentaux simples,
- respecter les conditions d'un travail aseptique,
- respecter les consignes de sécurité dans un laboratoire.

2. Descriptif des manipulations réalisées en laboratoire

2.1 Préparation de milieux de culture

Après une brève introduction sur les micro-organismes et leurs conditions de culture, les élèves sont invités à préparer des milieux de culture et à les stériliser à la casserole à pression (autoclave). Le temps de stérilisation est exploité pour réaliser d'autres expériences.

2.2 Frottis divers et action antiseptique de l'alcool

Une première série d'expériences vise à mettre en évidence la présence de micro-organismes dans l'air ou sur les êtres vivants. Concrètement, les élèves réalisent des frottis de doigt, de bouche, etc sur des boîtes de Pétri (Fig. 1) contenant un milieu nutritif. Les doigts sont appliqués sur la boîte avant et après passage à l'alcool. Ceci permet de mettre en évidence l'action antiseptique de ce solvant organique.

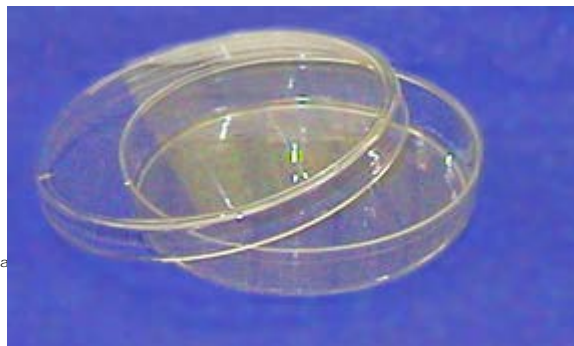




Fig 1. Boîte de Pétri

Après quelques jours d'incubation, des colonies apparaissent sur les boîtes. Elles résultent de la multiplication par divisions successives des micro-organismes en croissance sur le milieu nutritif.

2.3 Mise en culture de levures

Une autre expérience permet de mettre en évidence les levures présentes dans diverses denrées alimentaires. Les élèves « badigeonnent » une boîte de Pétri à l'aide d'un écouvillon (long coton tige) trempé au préalable soit dans la bière, soit dans une suspension de levure de boulangerie. Cette boîte de Pétri contient un milieu nutritif qui se différencie de celui utilisé pour la croissance des bactéries, par la présence de sucres, notamment.

Après une incubation de quelques jours, la multiplication des levures produira des colonies visibles à l'œil nu. En outre, lors de la deuxième séance, les élèves pourront observer leurs propres levures à l'aide d'un microscope. En effet, les cellules de levures sont plus grandes que celles des bactéries, ce qui permet leur observation sans coloration préalable.

2.4 Initiation aux techniques microbiologiques

Les élèves auront l'occasion de se familiariser avec les techniques courantes de la microbiologie : ensemencement de bactéries en milieu liquide, stries de bactéries sur boîte de Pétri, étalement de bactéries sur boîte de Pétri au râteau stérile. A la fin de la première séance, ils auront également l'occasion de couler, en conditions stériles, les milieux préparés (en surfusion à 50°C) en boîtes de Pétri.

2.5 Réalisation d'un antibiogramme

Les élèves ensemencent une boîte de Pétri par un « gazon » d'*Escherichia coli*, une bactérie non pathogène présente dans l'intestin. Cette « couche de bactéries » est coulée sur un milieu semi-solide (« top- agar ») au-dessus de la boîte de Pétri. Ce milieu durcit lorsqu'il refroidit.

Des pastilles d'antibiotiques sont déposées sur le gazon avant la mise en croissance des germes. L'action bactéricide des antibiotiques est mise en évidence par l'inhibition de croissance observable autour des pastilles. Il arrive que certaines pastilles ne provoquent pas d'inhibition de croissance. On dira dans ce cas que la bactérie est résistante à l'antibiotique en question.

2.6 Etalement de bactériophages



Les élèves ensemencent un gazon d'*Escherichia coli*, après avoir mis ces bactéries en présence de virus particuliers appelés « bactériophages ». Ces particules virales ont la particularité de parasiter des bactéries, de s'y reproduire au dépens de la cellule bactérienne et de la détruire lors de leur libération (lyse). Après une brève période d'incubation, le mélange (virus – bactéries) est étalé sur une boîte de Pétri (par la technique du « top-agar »). L'action lytique des bactériophages est mise en évidence par les plages de lyse (« trous ») observables sur le gazon de bactéries.



3 Exploitation pédagogique des résultats

3.1 Les différents types de micro-organismes

Un **microbe** peut être défini comme un être vivant dont l'observation ne peut être faite à l'œil nu et dont les cellules ne sont ni différenciées ni assemblées en tissus. Le critère principal de la définition d'un microbe est donc sa petite taille. Dans ces conditions, on doit lui préférer le terme de micro-organisme.

Une telle définition couvre un vaste spectre d'organismes forts différents, dont les bactéries, les virus, les champignons unicellulaires, etc. Les micro-organismes se répartissent en trois règnes en fonction de leurs caractéristiques :

REGNES	PROCARYOTES	MYCETES	PROTISTES EUCARYOTES	PROTISTES EUCARYOTES
Principaux groupes	Bactéries	Champignons	Protozoaires	Algues unicellulaires
Organisation cellulaire	Procaryote	Eucaryote	Eucaryote	Eucaryote
Paroi	Paroi contenant du peptidoglycane ¹	Paroi constituée de chitine et de cellulose ²	Absence	Absence
Forme	Sphérique ou en bâtonnets plus ou moins incurvés	Filamenteuse (moisissures) ou ovoïde avec formes bourgeonnantes (levures)	Généralement sphérique ou ovoïde	Généralement sphérique ou ovoïde
Mode de vie	Chimiotrophes ³ ou phototrophes ⁴	Exclusivement chimiotrophes	Exclusivement chimiotrophes	Phototrophes

Les bactéries sont les seuls êtres vivants dont la cellule est de type *procaryotique*.

Une cellule **procaryote** est une cellule d'organisation rudimentaire qui contient peu d'organites et un seul chromosome directement au contact avec le cytoplasme. Elle n'a pas de noyau vrai. La membrane cytoplasmique remplit les fonctions des mitochondries des cellules eucaryotes. Elle est caractéristique du règne bactérien.

Tous les autres micro-organismes sont de nature *eucaryotique*.

¹ Le peptidoglycane est un polyside complexe que l'on retrouve dans la paroi des bactéries.

² La chitine est un polyside complexe que l'on retrouve également dans la carapace des insectes. La cellulose est le polyside le plus répandu du monde végétal, elle entre dans la composition de la paroi de toutes les cellules végétales.

³ Organismes qui tirent leur énergie de l'oxydation de substances chimiques.

⁴ Organismes qui tirent leur énergie de la lumière.

Une cellule **eucaryote** est une cellule d'organisation complexe, comportant de nombreux organites. Elle contient un noyau vrai, délimité par une membrane nucléaire. Ce noyau contient lui-même deux jeux de chromosomes analogues deux à deux, dépositaires du matériel génétique. Elle est caractéristique du règne animal, du règne végétal et du règne des mycètes (champignons).

Les **protozoaires** sont des micro-organismes *eucaryotiques* dont la structure cellulaire se rapproche de la cellule animale du fait de l'absence de paroi et de chlorophylle.

Les champignons microscopiques sont des micro-organismes eucaryotes filamenteux se développant sur la matière organique en décomposition (moisissures) ou unicellulaires, ovoïdes, présentant des bourgeonnements (levures).

Les **moisissures** se reconnaissent aisément par leur végétation filamenteuse ou duveteuse appelée « mycélium ». Certains filaments (verticaux) se fragmentent à leur extrémité pour former des spores. Les spores sont ensuite libérées et disséminées par des mouvements d'air. Ce mode de reproduction est dit asexué. Les moisissures se développent en quelques jours sur de nombreux aliments qui deviennent impropres à la consommation. Par contre, leur développement sur (ou dans) les fromages est nécessaire pour l'affinage de nombre d'entre eux (camembert, roquefort,..).

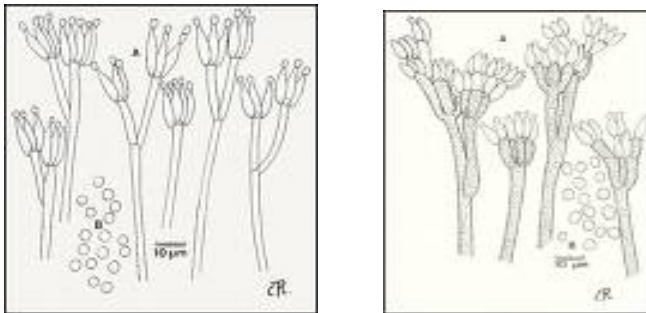


Fig 2. Schémas de quelques appareils sporifères

Les **levures** sont des champignons microscopiques unicellulaires ou qui présentent, au cours de leur développement, une phase unicellulaire. Elles se présentent sous forme de petites cellules de forme variable mais souvent ovoïde. Elles se multiplient par bourgeonnement. Les levures sont responsables de la fermentation alcoolique et interviennent donc dans la fabrication du vin, de la bière, du cidre ou encore du pain. Les levures du genre *Candida*, en particulier l'espèce *Candida albicans*, sont pathogènes pour l'homme et responsables de lésions de la peau et des muqueuses, mais aussi d'infections profondes.

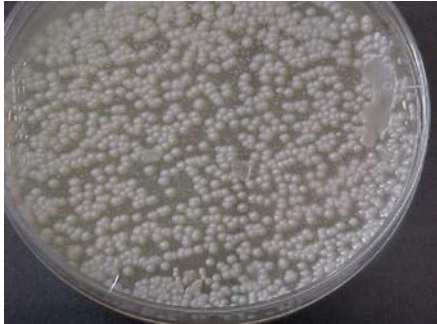
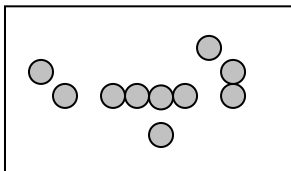


Fig. 3 Colonies de levure sur boîte de Pétri (Paul Thielen <http://www.nivelles.be.tf/>)

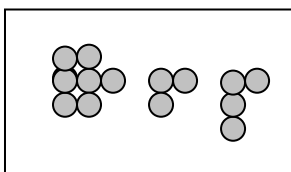
3.2 Diversité du monde bactérien

Les bactéries sont omniprésentes. Elles vivent dans notre organisme et dans notre environnement. On peut les observer sur des préparations réalisées à partir de milieux très diversifiés : aliments, sol, eaux, flores humaines et animales. Elles se présentent sous des formes variées qui constituent un des critères de leur identification.

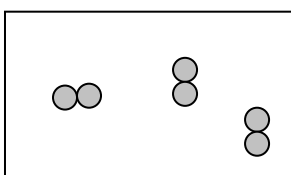
- Les bactéries de forme ronde sont appelées des **coques** (ou cocci).



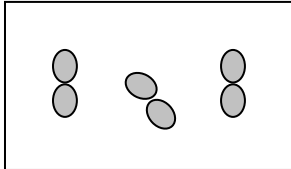
- Les coques peuvent apparaître groupées en chaînettes. Il s'agit alors, en général, de **streptocoques**. Certains sont pathogènes (angines), d'autres non pathogènes ou utiles (Streptocoques lactiques utilisés dans l'industrie laitière).



- Les coques groupées en amas plus ou moins irréguliers sont des **staphylocoques** ou des **microcoques**. Le terme « Staphylo » en grec désigne ainsi un raisin. A l'exception du Staphylocoque doré, les Staphylocoques peuvent être considérés comme non pathogènes. Les microcoques ne sont pas pathogènes et peuplent la peau.



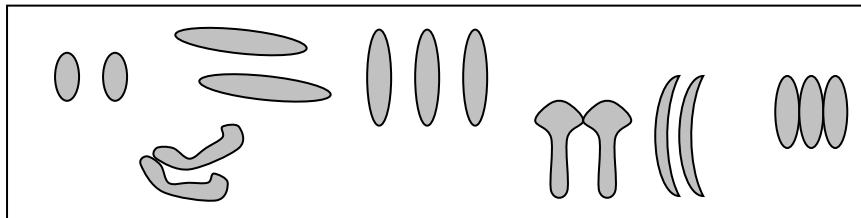
- S'ils sont reliés par deux, il s'agit de **diplocoques**. Les pneumocoques (Gram +), les *Neisseria* (Gram -), certains streptocoques (entérocoques) présentent souvent cet aspect. Le pneumocoque *Streptococcus pneumoniae* est responsable de pneumonies aiguës ou de méningites. Le germe *Neisseria* comprend des espèces très pathogènes (*Neisseria meningitidis*) ou au contraire non pathogènes (dans le pharynx).



- S'ils se présentent sous forme de **diplocoques ovoïdes**, il s'agit de bactéries du genre *Acinetobacter*. Ce sont des bactéries à Gram -, très répandues dans la nature et qui contaminent fréquemment les aliments.

➤ Les bactéries de forme cylindrique sont des **bacilles**.

Les bacilles peuvent présenter des formes et des arrangements très divers (court et large, long et fin, en massue, incurvés, fusiformes, en palissade...).



Outre cette classification morphologique, on classe les bacilles en fonction :

- de leur rapport à l'oxygène (aérobie ou anaérobie),
- de leur coloration « Gram » (cf supra),
- de la présence éventuelle de spores,
- de la présence éventuelle d'éléments inconstants (cils, flagelles).

La coloration Gram

La paroi des bactéries est principalement constituée d'un polymère complexe de nature glucidique : le peptidoglycane. Ce polymère est présent en quantité beaucoup plus importante chez les bactéries Gram+ que chez les bactéries Gram -. En outre, au-delà de cette couche de peptidoglycane, les bactéries Gram- possèdent une enveloppe externe riche en lipides.

Ces différences de composition chimique donnent des résultats différents pour le test de la coloration de Gram (violet pour les bactéries Gram +, rose pour les bactéries Gram -)

Quelques exemples de bacilles

Les bactéries du genre *Bacillus* sont des bacilles à Gram + sporulés. Il existe de nombreuses espèces saprophytes fréquentes dans l'environnement de l'homme comme *Bacillus subtilis*. Seuls *Bacillus anthracis* (agent de la maladie dite du



charbon, en raison de la couleur du sang des animaux atteints) et, dans une moindre mesure *Bacillus cereus* sont pathogènes.

Les *Lactobacillus* sont des bacilles longs à Gram + (pas de spores ni d'appendices moteurs).

Les vibrions sont des bacilles à Gram + incurvés. L'exemple type est le vibrion cholérique (agent du choléra).

Les entérobactéries sont des bacilles à Gram - très répandus dans l'intestin de l'homme et des animaux. Elles sont à l'origine d'infections hospitalières, certaines (salmonelles) sont responsables d'intoxications alimentaires.

Escherichia coli est une bactérie non pathogène présente dans l'intestin.



Fig.4 *Escherichia coli* (avec la permission du [Wadsworth Center](#) - New York State Department of Health)

Les *Pseudomonas* sont des bacilles à Gram- qui présentent une ciliature polaire.

Les *Clostridium* sont de gros bacilles à Gram + sporulés. Ce sont des anaérobies strictes dont les spores abondent dans le sol. Leur capacité à sporuler les rend particulièrement résistantes. Certaines espèces sont redoutées du fait de leur aptitude à produire de puissantes exotoxines (exemple : toxines neurotropes produites par *Clostridium botulinum*).

3.3 [Les virus et les bactériophages](#)

Un **virus** se caractérise par :

- la présence d'un seul acide nucléique (ADN ou ARN),
- une multiplication qui s'effectue à partir du seul acide nucléique présent,
- une dépendance totale vis-à-vis de la cellule hôte.

Le virus est donc un parasite intracellulaire absolu. De part sa structure particulière, le débat concernant sa nature vivante ou non vivante n'est pas clos. Il est par contre admis qu'un virus est un organisme acellulaire.

Outre le filament d'acide nucléique, les virus possèdent une **capside** constituée de plusieurs unités protéiques. Certains virus possèdent également une **enveloppe** (ils sont dits « enveloppés »), d'autres n'en possèdent pas (on parle alors de virus « nus »).

Les **bactériophages** sont des virus ayant la particularité de parasiter des bactéries.

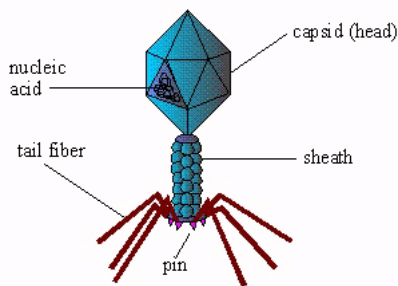


Fig 5. Schéma d'un bactériophage

Le cycle d'infection s'établit comme suit :

- Le virus adhère à la cellule bactérienne au niveau de récepteurs spécifiques (certaines cellules ne sont pas infectées car elles ne possèdent pas ces récepteurs).
- L'acide nucléique pénètre dans la cellule.
- L'acide nucléique détourne l'activité de la cellule à son profit. Celle-ci réplique l'ADN du virus et synthétise les protéines de la capsid.
- Les constituants du virus s'assemblent.
- Les virus sont libérés par lyse (destruction) de la cellule infectée.

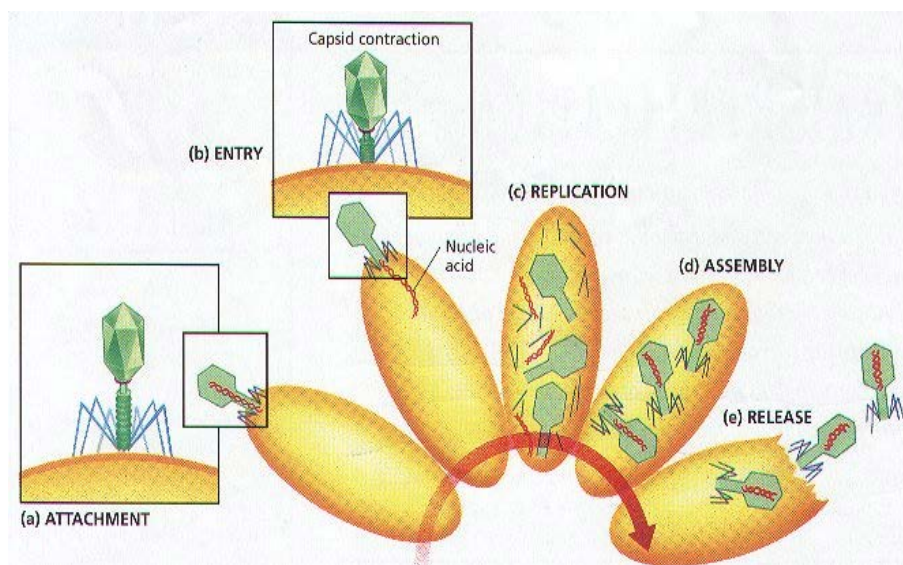


Fig 6. Schéma du cycle lytique d'un bactériophage

3.4 Cultures des micro-organismes

- La reproduction bactérienne

La reproduction bactérienne s'opère par scission : une bactérie mère donne naissance à deux bactéries filles. Cette scission peut être comparée à la multiplication des cellules par mitose. Dans les deux cas, les deux cellules filles se séparent en produisant une cloison et chaque cellule fille contient le même matériel héréditaire que la cellule mère.

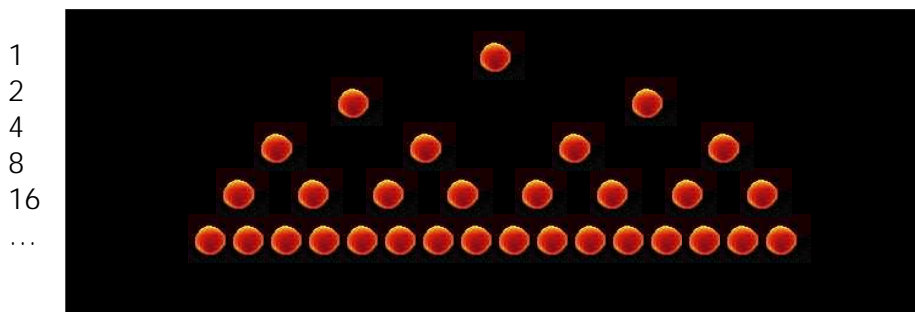


Fig. 7 Divisions successives de *Staphylococcus aureus*
(d'après James A. Sullivan www.cellsalive.com)

En se multipliant, les bactéries forment des amas, visibles à l'œil nu, appelés « **colonies** » (groupe de 10 à 100 millions de germes, voire davantage).

La vitesse de reproduction dépend des espèces et des conditions de l'environnement. Elle est caractérisée par :

- le **temps de génération** : il s'agit du temps mis par une bactérie mère pour donner deux bactéries filles (en d'autres termes, il s'agit du temps de doublement de la population bactérienne). En conditions optimales de croissance, le temps de génération varie de 20 à 30 minutes.
- le **taux de croissance horaire** : il s'agit du nombre de divisions par heure.

Pour *Escherichia coli*, le temps de génération est de 20 minutes, il y aura donc 3 divisions par heure (taux de croissance horaire de 3). Ainsi, au départ d'une seule bactérie, on obtiendrait :

- Après 1 heure : $2^3 (= 1 \cdot 3) = 8$ bactéries,
- Après 2 heures : $2^6 (= 2 \cdot 3) = 64$ bactéries,
- Après 4 heures : $2^{12} (= 4 \cdot 3) = 4\ 096$ bactéries,
- Après 7 heures : $2^{21} (= 7 \cdot 3) = 2\ 097\ 152$ bactéries.

Ce taux de croissance est considérable. Si la croissance n'était pas limitée (par la quantité de nutriments disponibles et par les déchets toxiques produits), la masse de bactéries obtenues dépasserait, au bout de 48 heures, la masse de la terre!

Après une **phase de latence** nécessaire à l'adaptation des bactéries au milieu, l'application d'un taux de croissance maximal et constant correspond à la **phase exponentielle** de la croissance bactérienne. Dans une culture en milieu liquide non renouvelé, cette croissance exponentielle est ralentie du fait de l'accumulation des déchets toxiques et de l'épuisement du milieu. Le nombre de bactéries issues d'une division compense alors approximativement celui des bactéries mortes. On parle de **phase stationnaire** de croissance. In fine, le nombre de bactéries mortes est de plus en plus important et reste toujours supérieur à celui des bactéries issues d'une division. Cela correspond à la **phase de déclin** de la culture.

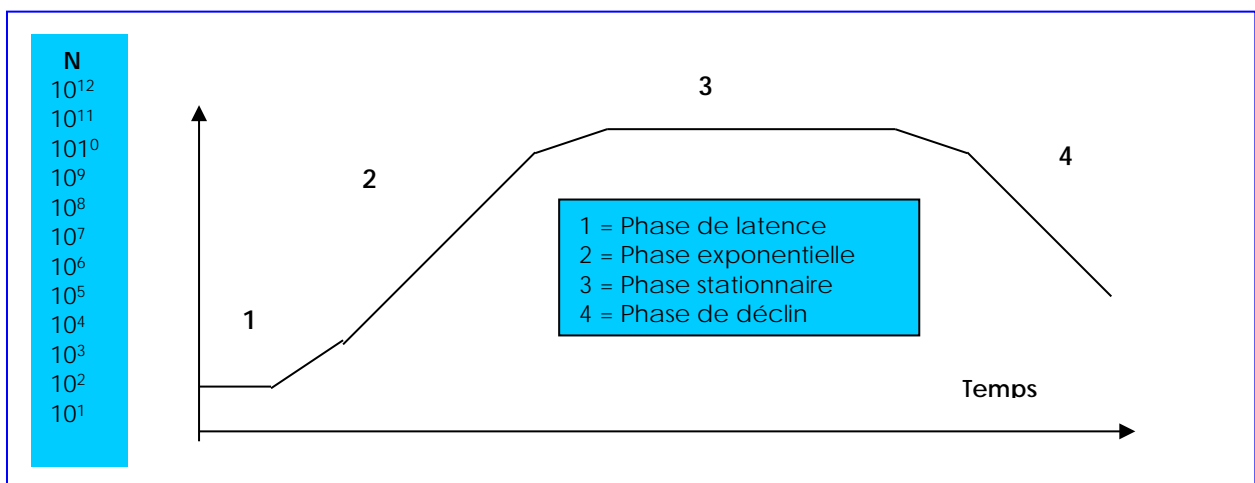


Fig. 8. Courbe de croissance bactérienne (milieu de culture liquideensemencé et incubé à 37°C)

- Paramètres de croissance : le milieu nutritif

Les bactéries doivent, pour se multiplier, trouver dans leur milieu en quantité suffisante tous les éléments chimiques qui les constituent. Trouver un milieu de culture adéquat suppose donc de connaître la nature des biomolécules qui participent à l'architecture de la cellule bactérienne. Dans la pratique néanmoins, beaucoup de milieux de culture ont été choisis de manière purement empirique. Recettes de cuisine « maison » des microbiologistes, les extraits de foie, de cervelle, de levure ou encore de pomme-de-terre ont envahi les laboratoires.



L'élément fondamental de l'architecture bactérienne est le carbone. La source de carbone peut être soit le CO₂, soit des macromolécules organiques.

- Une bactérie est dite **autotrophe** si elle peut produire toutes ses molécules carbonées à partir du seul CO₂. On trouve ces bactéries dans le milieu naturel.
- Une bactérie est dite **hétérotrophe** si elle ne peut assimiler le CO₂ mais est capable de synthétiser sa matière vivante à partir d'une ou plusieurs sources de carbone organique. La plupart des bactéries pathogènes et des bactéries intervenant sur les produits alimentaires sont hétérotrophes.

Il arrive qu'une bactérie soit incapable de produire un de ses constituants à partir de sa source de carbone. Ce constituant « déficitaire » est appelé « **facteur de croissance** ». Il doit obligatoirement être additionné au milieu de culture (généralement à faible dose) pour permettre la croissance de cette bactérie.

- Une souche capable de produire tous ses constituants carbonés à partir d'une source unique de carbone est dite **prototrophe**.
- Une souche qui nécessite pour son développement un ou plusieurs facteurs de croissance est dite **auxotrophe**.

L'énergie nécessaire pour assembler les constituants fondamentaux de la matière vivante peut être fournie :

- Soit par la lumière pour les bactéries **phototrophes**,
- Soit par l'oxydation d'une substance chimique minérale ou organique dans le cas des bactéries **chimiotrophes** ; cette oxydation peut intervenir en présence d'oxygène (respiration aérobie) ou en l'absence d'oxygène (fermentation anaérobie).

- Paramètres physico-chimiques de la croissance bactérienne

Chaque micro-organisme a une température optimale de croissance :

- Les bactéries **thermophiles** se multiplient préférentiellement entre 40°C et 60°C. Exemple : bactéries du genre *Thermophilus* dans les eaux thermales chaudes.
- Les bactéries **mésophiles** se multiplient préférentiellement entre 20°C et 40°C. C'est dans ce groupe (le plus nombreux) que l'on retrouve les bactéries pathogènes capables de se développer à la température du corps.



- Les bactéries **psychrotrophes** se multiplient préférentiellement entre 0°C et 20°C. Quelques espèces posent d'ailleurs problème dans le secteur alimentaire car leur prolifération reste importante au froid (*Listeria*, *Yersinia*).
- Les bactéries **psychrophiles** se multiplient aux alentours de 0°C.

La pression osmotique intervient également. Une concentration trop importante du milieu de culture (en sel ou en sucre par exemple) « pompe » l'eau de la cellule bactérienne et inhibe ainsi sa croissance. Au demeurant, l'eau est essentielle au développement des bactéries (d'où la longue durée de conservation des aliments secs comme les pâtes ou les légumes secs).

Enfin, le pH est un facteur non négligeable pour la croissance des bactéries. Leur développement est maximal autour de la neutralité. Il diminue puis s'arrête au fur et à mesure que l'on s'en éloigne.

3.5 Omniprésence des microbes – descriptif des différentes flores

Ce thème est illustré par les différents frottis des flores commensales réalisés par les élèves. Les colonies obtenues sur boîte de Pétri sont indicatrices des microbes qui étaient présents sur les doigts, dans la bouche, le nez ou les oreilles.

- L'ensemble des microbes qui colonisent une niche particulière (peau des doigts, conduit de l'oreille, cavité buccale, lumière intestinale etc...) constituent une **flore**.

Chaque être humain a ses propres flores qui peuvent varier un peu d'un individu à l'autre. Donc, la mise en évidence de microbes chez des individus en bonne santé est normale et ne traduit pas nécessairement un manque d'hygiène, même si les résultats de l'expérience peuvent sembler peu ragoûtants.

- La flore de l'air

La flore de l'air rassemble des micro-organismes en transit portés par les poussières. Dans la mesure où il n'y a pas d'éléments nutritifs dans l'air, l'installation durable des micro-organismes n'y est, en effet, pas possible. Ces micro-organismes sont résistants à la dessiccation (ce qui explique la prédominance de Gram+ et des moisissures). Les Gram – sont, par contre, relativement rares dans l'air. Les genres les plus représentés sont : les Microcoques, les Staphylocoques, les Bacilles et essentiellement des moisissures sous forme de spores (90% des micro-organismes de l'air).

Dans une pièce habitée, outre la flore de l'air classique, on trouve des représentants de la flore commensale de l'oropharynx (streptocoques, *Neisseria*). En l'absence de mouvement d'air, ces micro-organismes sédimentent avec les poussières qui les



portent. Au contraire, les courants d'air ont tendance à les disperser. Afin de réduire la flore microbienne dans une pièce, il convient donc d'éliminer les poussières sans les disperser (nettoyage humide), d'éviter les déplacements, la concentration des occupants voire les prises de parole (masque).

- La flore de la peau

La peau oppose aux bactéries une résistance presque toujours décisive du fait de l'existence de plusieurs couches kératinisées (difficilement dissociables par les bactéries) et de la présence à sa surface de sécrétions sébacées (douées d'activité antibactérienne). La destruction de la peau sur une surface assez importante (brûlures, plaies) est souvent à l'origine d'infection. Les différentes couches de l'épiderme sont étanches, le derme sous-jacent étant stérile sauf s'il y a lésion.

Au niveau de l'épiderme, les micro-organismes forment souvent des « micro-colonies » sur les couches kératinisées. Au niveau des poils, on trouve surtout des bactéries anaérobies qui prolifèrent au sein de follicules pilo-sébacés (racine du poil ou du cheveu).

- La **flore résidente** de la peau est constituée des espèces bactériennes qui y sont présentes en permanence et en quantités importantes. Ce sont essentiellement des bactéries Gram +.

Deux espèces sont constantes, quel que soit le territoire cutané : *Staphylococcus epidermis* et *Propionibacterium acnes*. On trouve également d'autres Staphylocoques (autre que *Staphylococcus aureus*) et différentes espèces de corynébactéries.

La flore résidente ne peut être éliminée en totalité (même par les antiseptiques les plus puissants), contrairement à la flore transitoire. Seul le port de gant est susceptible de réduire les contaminations par la flore résidente de la peau.

- Les bactéries appartenant à la **flore transitoire** sont souvent soit pathogènes, soit occasionnellement pathogènes, soit opportunistes.

Le lavage des mains constitue donc une arme indispensable contre ces micro-organismes indésirables de la flore transitoire, dont les représentants les plus fréquents sont : *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas*, Entérobactéries, *Acinetobacter*.

- La flore oropharyngée

Très abondante et diversifiée, sa composition varie selon la zone anatomique considérée. Dans la bouche, on retrouve des Streptocoques (*Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguis*). Le pharynx est quant à lui peuplé de *Neisseria*, et les fosses nasales de Staphylocoques et de Microcoques.



Dans le tartre et les espaces inter-dentaires, il s'agit plutôt de bactéries du genre : *Haemophilus*, des Streptocoques, des *Lactobacillus* et de nombreuses espèces anaérobies.

- La flore intestinale

Très abondante et diversifiée, la flore intestinale constitue un réservoir considérable de micro-organismes (nous éliminons environ 10^{12} cellules bactériennes, soit 70 gr de bactéries toutes les 24 heures !).

La flore intestinale comprend essentiellement des bactéries anaérobies (plus de 99%) mais elle peut également renfermer des bactéries aérobies opportunistes ou des bactéries aérobies pathogènes (*Salmonella*, *Yersinia*,...). Parmi les bactéries aérobies, les groupes les plus représentés sont les entérobactéries, en particulier *Escherichia coli*, et les entérocoques.

3.6 Les microbes et la maladie - les agents antimicrobiens

Remarque : Les microbes sont surtout connus pour les maladies qu'ils provoquent. Pourtant, comme en attestent les expériences sur l'omniprésence des microbes, dans leur toute grande majorité, les microbes sont tout à fait inoffensifs. Cependant, les quelques espèces de microbes responsables de maladies, qualifiés de « pathogènes » constituent une minorité bien peu silencieuse. En effet, les maladies infectieuses ont infligé et continuent à infliger un lourd tribut de souffrance à l'humanité. Citons entre autres maladies bactériennes, la peste, le choléra, la lèpre, la tuberculose, le typhus, et, parmi les maladies virales, la varicelle, la rougeole, les hépatites mais aussi le sida et certains cancers.

Le traitement des maladies infectieuses, la conservation des aliments ou la destruction des micro-organismes dans l'environnement nécessitent l'utilisation d'agents antimicrobiens. Ceux-ci peuvent être de nature chimique, physique ou biochimique.

- Les agents chimiques

Certains agents chimiques détruisent les micro-organismes ou inhibent leur développement (exemple : alcool, chlore, iode, etc). Ces agents chimiques ne sont pas nécessairement actifs sur tous les types de micro-organismes. On distingue les antiseptiques des désinfectants.

- Un **antiseptique** est un produit utilisé pour l'antiseptie dans des conditions définies.

L'**antiseptie** est définie comme une opération au résultat momentané permettant au niveau des tissus vivants de tuer ou d'éliminer les micro-organismes ou d'inactiver les virus.



- Un **désinfectant** est un produit utilisé pour la désinfection dans des conditions définies.

La **désinfection** est une opération au résultat momentané permettant d'éliminer ou de d'inhiber les micro-organismes indésirables portés par les milieux inertes contaminés.

La seule différence entre antiseptique et désinfectant est qu'ils ne sont pas destinés au même support.

Remarque : un même produit peut être à la fois antiseptique et désinfectant (comme l'alcool qui est utilisé comme antiseptique pour les mains et comme désinfectant pour les tables de travail).

- Les agents physiques

- ✓ Action de la température

Les propriétés antimicrobiennes des hautes températures sont illustrées par la stérilisation de milieux de culture à la casserole à pression (autoclave). Ces propriétés trouvent de nombreuses applications dans le domaine de la stérilisation du matériel, du linge, des produits biologiques... On constate que lorsqu'on augmente la température d'une opération de stérilisation, on peut en diminuer la durée et obtenir la même efficacité. Par ailleurs, la destruction des micro-organismes par la chaleur humide exige des températures et des temps d'application plus faibles que par la chaleur sèche.

Chaleur sèche (four Pasteur)

30 minutes à 180°C
1 heure à 170°C
2 heures à 160°C
3 heures à 140°C

Chaleur humide (autoclave)

20 minutes à 121°C
15 minutes à 126°C
10 minutes à 134°C

L'action des basses températures sur les micro-organismes est quant à elle exploitée dans le domaine de la conservation (milieux de culture stériles, denrées alimentaires, etc).



✓ Radiations ionisantes

Lorsqu'une substance est soumise à des radiations (type rayons X), les électrons périphériques de certains de ses atomes seront éjectés. D'où la formation d'ions (et l'appellation « radiations ionisantes »). Les produits soumis à ces radiations sont dits « ionisés ». Les conséquences de ces irradiations sont localisées sur des macromolécules telles l'ADN ou les enzymes (protéines). Il en résulte une inhibition du développement des micro-organismes.

Cette technique est notamment utilisée pour la conservation des aliments, la stérilisation des produits pharmaceutiques ou cosmétiques, la stérilisation du matériel chirurgical....

✓ Radiations non ionisantes (UV)

Les UV détruisent la plupart des micro-organismes (excepté les spores) en altérant leur structure. Cette technique est utilisée notamment pour la désinfection des salles de laboratoires, la stérilisation des emballages (cartons de lait) ou encore l'assainissement des chambres froides.

• Les agents biochimiques – Les antibiotiques

La découverte des antibiotiques

En 1928, Alexandre Fleming constate que les Staphylocoques dorés qu'il avaitensemencés sur une gélose nutritive, ne se sont pas développés à proximité d'une moisissure de type *Penicillium* qui avait souillé la culture. Il émet l'hypothèse que la pénicilline sécrète une substance qui tue ou inhibe le développement des Staphylocoques. C'est par hasard qu'il découvre la pénicilline. Ce premier antibiotique ne sera utilisé qu'à partir de 1942.

Les **antibiotiques** sont des biomolécules possédant une activité antimicrobienne. Ils sont capables d'inhiber et même de détruire des bactéries ou des champignons mais n'agissent pas sur les virus. Ces substances sont produites naturellement par des bactéries ou des moisissures. Ce sont leurs propres armes dans la concurrence qui les oppose à d'autres micro-organismes.

En fonction de leur nature chimique, les antibiotiques peuvent agir à différents niveaux de la bactérie : la paroi, la membrane, le chromosome ou les ribosomes. Selon la zone atteinte, la bactérie est soit tuée, soit rendue incapable de se multiplier.



Un antibiotique est efficace s'il est actif sur le micro-organisme responsable de l'infection et s'il diffuse dans l'organisme jusqu'au lieu de l'infection.

Le **seuil d'efficacité** d'un agent antimicrobien est la concentration minimale du produit antimicrobien qu'il faut utiliser pour détruire les micro-organismes. Il est important de veiller au respect de ce seuil (risque de sous- ou de sur-dosage).

Par **spectre d'activité** d'un agent anti-microbien, on entend l'ensemble des micro-organismes sur lesquels cet agent est actif. Ce spectre peut être plus ou moins large.

- La résistance aux antibiotiques

Ce thème est illustré par la réalisation d'un antibiogramme. Les élèves peuvent observer que les bactéries sont incapables de se multiplier à proximité de pastilles d'antibiotique, sauf dans les cas où la bactérie est devenue résistante à un antibiotique donné.

La résistance des micro-organismes aux agents antimicrobiens peut être **naturelle** ou **acquise**.

La résistance naturelle est connue et ne pose pas de problèmes réels car elle est prévisible. Par contre, certaines bactéries deviennent résistantes aux antibiotiques en acquérant un fragment d'ADN (le plasmide) donné par une bactérie résistante. Ce plasmide peut être transmis à d'autres bactéries pouvant appartenir à d'autres espèces. Les individus devenus résistants sont sélectionnés par l'usage de l'antibiotique (les bactéries sensibles étant détruites par le traitement). Ce phénomène peut être préoccupant en milieu hospitalier où l'usage des antibiotiques est important.

Les infections nosocomiales

Par **infection nosocomiale**, on entend : toute maladie provoquée par des micro-organismes, contractée dans un établissement de soins par tout patient après son admission, étant entendu que les symptômes apparaissent lors du séjour ou après.

Les maladies nosocomiales résultent de la conjonction de plusieurs facteurs. Le plus souvent, elles touchent des individus affaiblis et/ou immunodéprimés (dont les résistances à l'infection sont diminuées). Par ailleurs, elles interviennent dans un milieu où l'on observe une concentration importante de micro-organismes pathogènes et opportunistes, souvent résistants à un grand nombre d'antibiotiques. Enfin, les hôpitaux réunissent fréquemment des conditions favorisant le contact de ces micro-organismes avec les malades.



Les principales bactéries responsables d'infections nosocomiales sont *Staphylococcus aureus* (le plus redoutable) et d'autres Staphylocoques, *Pseudomonas aeruginosa*, les entérobactéries.

L'infection nosocomiale est l'un des plus grands problèmes de la médecine hospitalière moderne, victime du succès des antibiotiques. Depuis quelques années, des campagnes de sensibilisation ont été entreprises dans le but de restreindre la consommation en antibiotiques. Chaque année en Belgique, plus de 5000 personnes décèdent directement ou indirectement des suites d'une infection contractée en milieu hospitalier.