# Objectif général

Mise en évidence la présence de quelques agents biologiques dans l’environnement.

# Travaux pratiques

## Réalisation d’empreintes sur différents supports

Bagues, cheveux, poignées de porte, air ambiant, talons de chaussure, vernis à ongle, téléphones…

## Reconnaissance des différentes familles d’agents biologiques

* Observation de levures et bactéries dans le kéfir de lait
* Observation de moisissures de fromages
* Observation d’acariens : artison du fromage
* Observation de paramécies dans une infusion de persil du commerce

## Test de détection du biofilm bactérien

|  |  |
| --- | --- |
| 1. OBJECTIF | Mise en évidence des agents biologiques dans l’environnement |
| 1. MATERIEL NECESSAIRE | * **Boîtes contact ou lames gélosées pour diagnostic rapide (LGDR)** * **Géloses PCA (plate count agar - flore totale) coulées en boîte de Pétri** * **Ecouvillons** * **Pince métallique** * **Conteneur pour déchets piquants coupants (DASRI)** * **Scotch** * **Feutre résistant à l’eau** * **Etuve (facultative)** * **Poste de lavage des mains ou lingettes désinfectantes ou gel hydro alcoolique** |
| 1. METHODES | **Réaliser des empreintes des différents objets sur des géloses coulées en boîte de Pétri** : bagues, cheveux, pièces de monnaie, montres…   1. Prendre une gélose PCA coulée en boîte de 9 cm de diamètre et délimiter au feutre sur le fond 4 à 6 parties. 2. Identifier par un numéro l’empreinte de l’objet réalisée sur le fond de la boîte. 3. Plaquer l’objet sur la gélose et le retirer (sauf cheveux).   **Réaliser des prélèvements de surface** **sur les géloses contact** : poignées de porte, plans de travail, tenues professionnelles, téléphones portables….   1. Prendre une boîte contact ou lame gélosée. 2. Appliquer la gélose durant 5 secondes sur la surface à prélever. 3. Identifier le support de prélèvement.   **Réaliser un prélèvement de l’air ambiant sur une gélose PCA.**   1. Disposer une boîte de gélose ouverte sur un plan de travail pendant la durée de la séance. 2. La refermer. 3. Identifier le support de prélèvement.   **Toutes les boîtes doivent être scotchées, avec interdiction de les ouvrir.**   * Incuber ces géloses 24h /48h à 37°C ou environ une semaine à température ambiante. * Observer les géloses après incubation. * Noter vos observations et vos conclusions dans le tableau ci-dessous.   **Eliminer les déchets par la filière DASRI.**  Remarque : les consignes générales d’hygiène seront respectées (antisepsie des mains, …). |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 1. OBSERVATIONS ET CONCLUSION | | |
| Empreintes d’objets | **Observations** | **Conclusion** |
|  |  |  |
| Prélèvements de surface | **Observations** | **Conclusion** |
|  |  |  |

1. Observation de levures et bactéries dans le kéfir de lait
2. Observation de moisissures de fromage
3. Observation d’acariens : artison du fromage (acarien dans la moquette)
4. Observation de paramécies dans une infusion de persil

|  |  |
| --- | --- |
| 1. OBJECTIF | Identifier certains groupes d’agents biologiques |
| 1. MATERIEL NECESSAIRE | * **Poste de lavage de mains réglementaire** * **Lames, lamelles, microscope, pipette pasteur** * **Kéfir de lait (disponible en magasin BIO ou sur internet)** * **Fromage : camembert, Cantal avec artison** * **Infusion de persil (3 jours)** * **Conteneur pour déchets piquants coupants (DASRI)** * **Scotch** * **Feutre résistant à l’eau** * **Etuve (facultative)** |
| 1. METHODE | * **Réaliser un état frais entre lame et lamelle** :   1 - Prendre une lame et y déposer un prélèvement à l’aide de la pipette Pasteur (si le milieu est solide, déposer une goutte d’eau au préalable sur la lame).  2 - Recouvrir d’une lamelle.  3 - Réaliser la mise au point et observer à l’objectif adéquat.  4 - Réaliser un dessin des agents biologiques observés.  5 - Eliminer les lames et lamelles dans un conteneur pour déchets coupants.  **Remarque : les consignes générales d’hygiène pourront être adaptées (ex : lavage des mains, tenue professionnelle…) selon les équipements de la salle dans laquelle se déroule cette activité.** |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 1. OBSERVATIONS ET CONCLUSION | | |
| Observations | **Dessins** | **Conclusion**  **(Indiquer le type à l'aide du document annexe)** |
| 1 |  |  |
| 2 |  |  |
| 3 |  |  |
| 4 |  |  |

**ANNEXE : LES DIFFERENTS TYPES DE MICRO-ORGANISMES EN MICROSCOPIE OPTIQUE**

|  |  |
| --- | --- |
| Photographies | Type de microorganismes |
| **https://sites.google.com/site/grainedesvt/svt-3eme/partie-3/chapitre-2-evolution-des-organismes-vivants** | LEVURE |
| **http://huezsvtjm.weebly.com/seacutequence---la-protection-de-lorganisme-contre-les-agents-pathogegravenes.html** | BACTERIE |
| **http://www.afblum.be/bioafb/acariens/acariens.htm** | ACARIEN |
| **https://sites.google.com/site/martinsvt38/3eme/3eme-th1-chap-1-l-organisme-face-aux-microbes** | MOISISSURE |
| **http://forum-svt.ac-toulouse.fr/viewtopic.php?t=878** | PROTOZOAIRE |

|  |  |
| --- | --- |
| 1. OBJECTIF | Mettre en évidence le biofilm bactérien sur différents supports |
| 1. MATERIEL NECESSAIRE | * **Poste de lavage de mains réglementaire** * **Kit de détection du biofilm bactérien « biofilm test » : sous forme spray** * **Support : dispositif médical ou plan de travail souillé** * **EPI : Lunettes et gants de protection** * **Papier essuie tout** * **Détergent désinfectant ou lingette désinfectante** * **Poubelle** |
| 1. METHODE | 1. Identifier les pictogrammes du produit utilisé (spray).  2. S’équiper des EPI.  3. Mettre en pratique.  3.1. Réaliser un témoin positif  - Déposer un cheveu sur le support  - Appliquer le spray (couleur orangé)  - Laisser agir 5 mn.  - Lire le résultat.  ***Indications de lecture***  *Test positif : apparition d’une mousse blanche révélant la présence d’un biofilm*  *bactérien.*  *Test négatif : absence de mousse blanche révélant l’absence de biofilm bactérien*   * 1. Sur le support souillé :   - Appliquer le spray  - Laisser agir 5 minutes environ  - Lire le résultat et conclure.  - Nettoyer le support pour éliminer le spray, à l’aide d’un papier essuie tout et l’évacuer dans la poubelle normale.  3.3. Sur le support nettoyé et désinfecté :  - Pratiquer un nettoyage et désinfection (Détergent désinfectant ou lingette désinfectante) du support choisi.  - Appliquer le spray  - Laisser agir 5 minutes environ  - Lire le résultat et conclure.  - Nettoyer le support pour éliminer le spray, à l’aide d’un papier essuie tout et l’évacuer dans la poubelle normale.  **Remarque : Les consignes générales d’hygiène pourront être adaptées (ex : lavage des mains, tenue professionnelle…) selon les équipements de la salle dans laquelle se déroule cette activité.** |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 1. OBSERVATIONS ET CONCLUSION | | |
| Tests | **Lecture du résultat** | **Conclusion** |
| 1 |  |  |
| 2 |  |  |

# Fournitures

* **Spray** pour détection du biofilm bactérien Ultrad (LCB Biofim Test) : LCB Food Safety (http://www.lcbfoodsafety.com/Process-69.html), revendeur Grosseron (https://www.grosseron.com/biofilmtest\_51-385-1-851-1-12756.html)
* **Boite Contact** ou **Lame gélosée** (Biomérieux <http://www.biomerieux-culturemedia.com/product/78-count-tact-agar--ct->) VWR (<https://fr.vwr.com/store/content/externalContentPage.jsp?path=/fr.vwr.com/fr_FR/microbiology_contact_plates_slides.jsp>)
* **Kéfir** : boisson fermentée à partir de lait ou jus sucrés contenant bactéries et levures.
* **Artison** du fromage : achat d’un cantal spécifique en contenant.
* **Conteneur DASRI** : des contrats peuvent être passés avec des sociétés privées qui fournissent, par exemple, un conteneur de 30 l par trimestre avec enlèvement pour un coût minime environ 180 €TTC par an en 2019. Ce dispositif peut être couplé avec le service infirmerie, ce qui en réduit le prix.