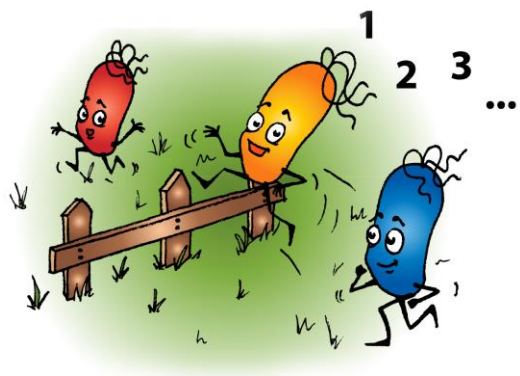


Comment compter des bactéries ?

Saviez-vous qu'on retrouve dans les océans 100 millions de fois plus de **bactéries** qu'il y a d'étoiles dans l'univers connu ? Que si on prenait tous les **virus** qui se trouvent sur notre planète et qu'on les alignait bout à bout, ils s'étendraient sur 100 millions d'années-lumière ? Que 1 kg de votre poids est en fait celui des **microorganismes** qui peuplent votre intestin ? Pourtant, les bactéries mesurent en général 0,001 mm et les virus sont encore plus petits.

Nous avons tendance à ne pas réaliser à quel point les microorganismes sont nombreux sur notre planète, probablement parce qu'il est facile d'oublier l'existence de ce qu'on ne voit pas à l'œil nu. En fait, les microorganismes sont partout, même dans des endroits où aucune autre forme de vie ne peut survivre, comme dans la glace de l'Antarctique, dans la mer Morte ou parmi les déchets radioactifs.

Non seulement les microbes sont-ils présents partout, mais ils peuplent leurs environnements en grandes quantités. Par exemple, dans une cuillère à thé de sol, il y a autant de microorganismes qu'il y a d'êtres humains sur le continent africain. Comment le sait-on ? Personne n'a envie de compter individuellement un milliard de **cellules** au **microscope** ! L'une des façons de contourner ce défi est d'utiliser un principe de **dilution** et de faire un peu de mathématiques...



→ Diluer pour quantifier

Lorsqu'un échantillon est étalé sur un milieu de culture solide, dans une **boîte de Pétri**, les microorganismes présents dans l'échantillon de départ sont répartis sur la surface du milieu de culture. Avec le temps, les cellules se multiplieront localement et finiront par former des amas de cellules visibles à l'œil nu qu'on appelle des **colonies**. On considère que chacune de ces colonies provient d'une seule cellule au départ : s'il y avait 10 cellules dans l'échantillon, il y aura 10 colonies sur le milieu de culture. Cependant, comme nous venons de l'expliquer, les microorganismes sont très nombreux dans un échantillon. Pour ne pas avoir un nombre de colonies astronomique (donc incomptable), il faut diluer l'échantillon.

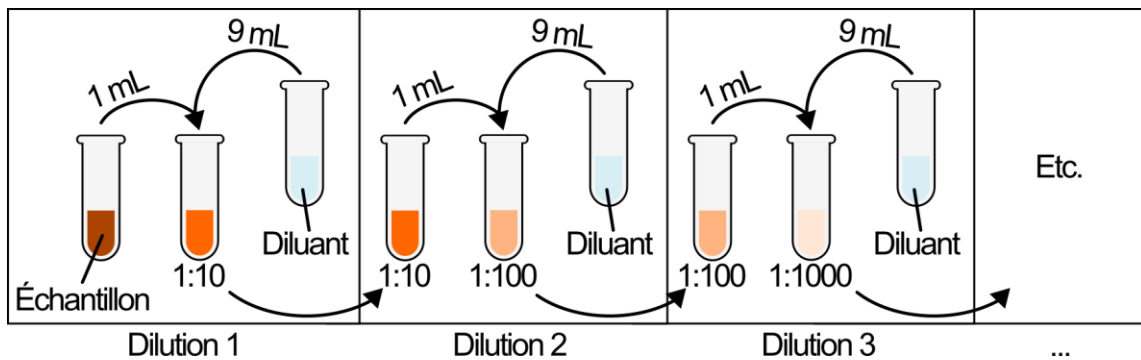


Figure 1. Culture sur milieu solide de la bactérie *Serratia marcescens*. Chacun des points rouges est une colonie provenant au départ d'une cellule unique.

Source : https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Serratia_marcescens.jpg

Le principe de la technique de dilution en **microbiologie** est le suivant :

- 1) On effectue des dilutions en série de l'échantillon, c'est-à-dire qu'on fait des dilutions de dilutions. On obtient ainsi l'échantillon pur (1:1), dix fois moins concentré (1:10), cent fois moins concentré (1:100), mille fois moins concentré (1:1000), etc.



- 2) On étale un volume connu de chacune de ces dilutions de façon homogène sur la surface d'un milieu de culture solide. Les cellules microbiennes seront alors distribuées aléatoirement à la surface du milieu.
- 3) On laisse les microorganismes se multiplier.
- 4) L'une des dilutions étalées conduira à un nombre de colonies pouvant être compté (**Figure 2**).
- 5) Sachant que chaque colonie provient d'une seule cellule et connaissant la dilution et le volume étalé, on pourra, à l'aide d'une simple règle de trois (ou « règle des produits croisés »), calculer le nombre de microorganismes présents dans la suspension originale.

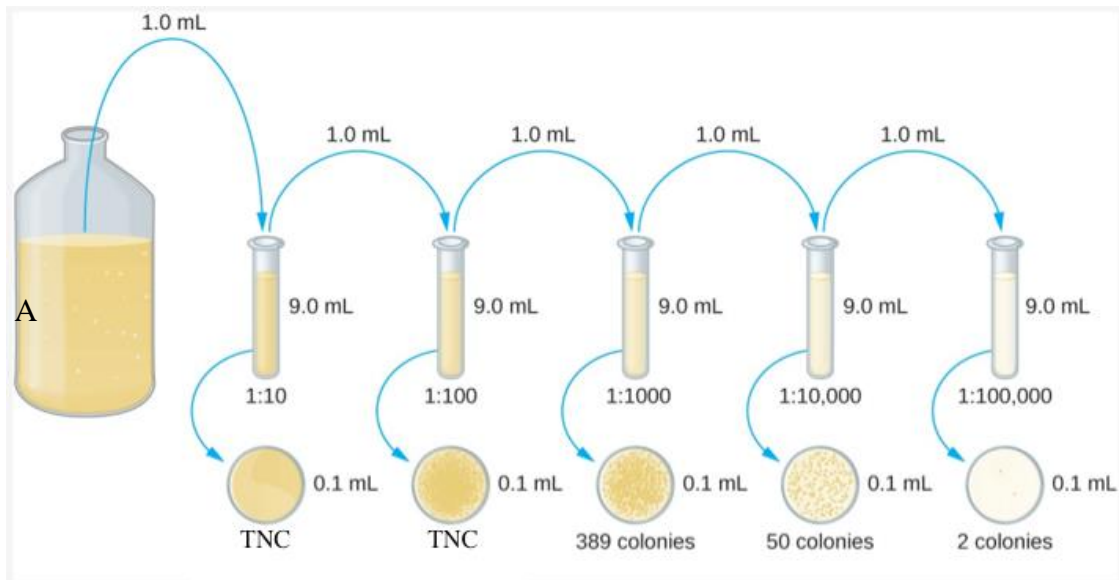


Figure 2 : Exemple de détermination du nombre de bactéries présentes dans une culture bactérienne « A ». L'abréviation « TNC » veut dire « Trop Nombreux pour être Compté » et identifie les milieux de culture sur lesquels les colonies sont tellement nombreuses qu'elles se chevauchent et sont donc incomptables. Les boîtes de Pétri les plus utilisées font 10 cm de diamètre. Sur des boîtes de cette taille, pour des raisons statistiques, on désire un nombre de colonies bactériennes situé entre 30 et 300 pour faire les calculs subséquents. Dans cet exemple, la dilution 1:10000 est donc celle qui donne le résultat souhaité.

(Source : Modifié d'après « How Microbes Grow - Biology LibreTexts »)

L'exemple ci-dessus (**Figure 2**) illustre la méthode : une suspension bactérienne « A », dont on veut connaître la concentration bactérienne (le nombre de cellules par millilitre), est diluée en transférant 1 mL de la suspension de départ dans 9 mL de diluant. Le premier tube est alors homogénéisé et 1 mL de son contenu est transféré dans un deuxième tube. On répète cette manipulation deux autres fois. On transfère, par la suite, 0,1 mL de chaque dilution sur des milieux de culture et on étale les cellules.

On peut voir que l'échantillon étalé à partir du quatrième tube contenait 50 cellules vivantes puisqu'on obtient 50 colonies. On peut donc, avec cette valeur, estimer que la suspension originale de bactéries « A » contenait 5 millions de cellules par millilitre puisqu'on connaît le volume déposé sur la gélose (0,1 mL) et la dilution effectuée (1:10000).

50 cellules dans 0,1 mL = 500 cellules dans 1 mL
 $500 \text{ cellules/mL} \times 10000 = 5\,000\,000 \text{ cellules/mL}$

Si on voulait connaître la quantité de bactéries au total dans la suspension « A » de l'exemple, il suffirait de multiplier 5 000 000 cellules/mL par le nombre de millilitres total dans la bouteille.

~~~

As-tu envie d'en apprendre plus sur les différents microbes qui peuplent nos environnements ? Si la microbiologie t'intéresse, visite notre chaîne YouTube et notre site web pour encore plus d'infos sur les microbes !

## Glossaire

### Bactérie

Parfois appelées eubactéries, les bactéries sont des organismes procaryotes. Elles forment l'un des trois grands domaines de la vie.

### Boîte de Pétri

Petite boîte en verre ou en plastique, dans laquelle on fait solidifier du milieu de culture gélosé. Les boîtes de Pétri sont utilisées pour faire croître des microorganismes en laboratoire.

### Cellule

En sciences biologiques, la cellule est l'unité fondamentale de la vie, c'est-à-dire qu'il s'agit de la plus petite unité vivante capable de se reproduire de façon autonome.

### Colonie microbienne

Masse de cellules microbiennes identiques. Une colonie se forme à partir d'une seule cellule de départ, qui se multiplie (par reproduction asexuée) au point où l'amas de cellules produites est tellement important qu'il devient possible de l'observer à l'œil nu. Des colonies microbiennes produites par des microbes d'espèces différentes auront généralement des caractéristiques (couleur, forme, taille, texture...) distinctes.

### Dilution

La dilution permet de réduire la concentration d'un élément présent dans une solution. On effectue une dilution en prenant un petit volume d'une solution très concentrée, qu'on met dans un grand volume de diluant. On obtient ainsi une solution diluée de la solution de départ.

### Microbiologie

Science consacrée à l'étude des microorganismes (microbes).

### Microorganisme

Organisme microscopique (qu'on observe à l'aide d'un microscope), microbe. Il existe toutes sortes de microorganismes : bactéries, archées, mycètes, protistes, microalgue, virus...

### Microscope

Instrument qui permet d'observer des éléments trop petits pour être visibles à l'œil nu, comme les microorganismes. Il existe plusieurs types de microscopes, le plus ancien (mais aussi le plus commun, encore aujourd'hui) étant le microscope optique, qui utilise des lentilles pour agrandir l'image. De nos jours, les microscopes optiques permettent d'observer des objets aussi petits que  $0,2 \mu\text{m}$  ( $0,0002 \text{ mm}$ ). (Pour des éléments plus petits que  $0,2 \mu\text{m}$ , il faut utiliser un autre type de microscope.)

### Virus

Les virus sont des entités biologiques moins complexes que les cellules. Ce sont des parasites cellulaires obligatoires, puisqu'ils doivent absolument infecter une cellule hôte pour se multiplier.