
Comment modéliser expérimentalement la résistance bactérienne aux antibiotiques en 1^{re} S ?

OBJECTIFS

Objectifs cognitifs

Thème 3 - B Variation génétique et santé

Chapitre : Variation génétique bactérienne et résistance aux antibiotiques

Des mutations spontanées provoquent une variation génétique dans les populations de bactéries. Parmi ces variations, certaines font apparaître des résistances aux antibiotiques.

L'application d'un antibiotique sur une population bactérienne sélectionne les formes résistantes et permet leur développement. L'utilisation systématique de traitements antibiotiques peut augmenter la fréquence des formes résistantes par sélection naturelle.

Objectifs méthodologiques

Pratiquer une démarche scientifique, expérimenter, exprimer et exploiter des résultats.

Type de TP collaboratif

Acquis (collège et seconde)

Mutation, sélection naturelle

PROBLÈME POSÉ

« Une épidémie de gastro-entérite sévit à l'école du quartier ! Un prélèvement est effectué chez 4 enfants issus d'une même classe à l'école primaire. L'intoxication alimentaire par le staphylocoque doré est établie. Divers symptômes sont notés des vomissements, des crampes abdominales et une diarrhée. »

On cherche à établir dans la gamme d'antibiotiques disponibles, quel antibiotique spécifique le médecin généraliste devra prescrire. On veut donc identifier la sensibilité ou la résistance d'une population bactérienne à un antibiotique.

MATÉRIEL

La manipulation est très simple mais technique pour les élèves. Elle ne nécessite aucun champ stérile ni souche bactérienne. La manipulation a été conçue au départ pour des élèves de collège dans le chapitre « risque infectieux et protection de l'organisme ».

On utilisera la phénolphtaléine en milieu basique dont la couleur rose représente le film bactérien. Le dépôt dans les puits d'une solution plus ou moins acide décolore ce réactif mimant la destruction des bactéries sensibles par l'antibiotique.

Pour un groupe de 2 élèves

– une boîte de Pétri notée : A (Anatole) ou B (Basile) ou C (César) ou D (Dalhia)
Chaque binôme ne teste qu'un seul individu sur les 4 avec les 5 solutions d'antibiotiques mimés.

- un portoir présentant 5 tubes à essais :
 - solution de Pénicilline notée P et pipette
 - solution de Méricilline notée M et pipette
 - solution d'Erythromycine notée E et pipette
 - solution de Vancomycine notée V et pipette
 - solution d'Amoxicilline notée A et pipette

– balance et coupelle de pesée, 1 spatule, Agar, 1 pissette d'eau, 1 agitateur, 1 Bêcher et 1 éprouvette graduée de 25 mL, 1 flacon de NaOH, 1 flacon de phénolphtaléine, pince en bois et système de chauffage

– un emporte-pièce (= paille coupée), 1 cure-dents, 1 gabarit de perçage, 1 feutre, 1 chronomètre

- bande de papier millimétré pour mesurer les auréoles de réaction.

Composition des 5 solutions mimant les antibiotiques, pour le laboratoire :

Antibiotiques individus	Pénicilline	Méricilline	Erythromycine	Vancomycine	Amoxicilline
Anatole	eau	5 % HCl	1 % HCl	1 % HCl	eau
Basile	eau	5 % HCl	5 % HCl	1 % HCl	eau
César	eau	eau	eau	5 % HCl	eau
Dalhia	eau	eau	eau	eau	eau

MANIPULATION**Protocole distribué aux élèves (d'après e-Bug)****1. Préparation d'un gel d'agar (= gélose) à couler dans une boîte de Pétri**

– **Organiser** votre plan de travail pour manipuler proprement et en suivant les consignes de sécurité.

- **Peser** dans la coupelle 0,2 g d'agar prélevés à l'aide de la spatule.

– **Verser** 14 mL d'eau distillée puis l'agar dans le bêcher et **mélanger** soigneusement l'agar avec la spatule.

– **Chauffer** le mélange en remuant à la spatule jusqu'à ce qu'il devienne limpide et **arrêter 1 minute après le début de l'ébullition**.

– **Retirer** à l'aide de la pince en bois, attendre quelques secondes que le bêcher refroidisse afin de pouvoir le saisir sans se brûler.

– **Ajouter** 1 goutte de NaOH (noter la couleur obtenue) puis 4 gouttes de phénolphtaléine. Bien mélanger pour que l'agar prenne une couleur rose franche (représentant la croissance bactérienne) et bien mélanger.

– **Utiliser** le bêcher pour verser l'agar chaud dans la boîte de Pétri, soit une hauteur d'un 1/2 cm.

- **Égaliser** le niveau et supprimer rapidement les bulles.

– **Laisser** la boîte refroidir sans mettre le couvercle ; ne pas remuer la boîte avant prise du gel d'agar : au moins 5 min.



2. Préparation du test

- **Utiliser** le gabarit de perçage fourni pour creuser à l'aide de l'emporte-pièce les puits nécessaires dans le gel d'agar.
- **Éliminer** les disques de gel avec le cure-dent si nécessaire.

3. Réalisation des dépôts

- **Identifier** chaque puits en annotant précisément l'emplacement des antibiotiques sur le fond de la boîte.
- **Verser** un à un les antibiotiques dans chaque puits en prenant soin d'en mettre des quantités équivalentes et sans déborder.
- **Remettre** le couvercle sur la boîte de gélose et laisser agir pendant 10 minutes.
- **Mesurer** la taille de la zone décolorée (représentant l'inhibition de croissance des bactéries), si elle existe.

Nota Bene : la couleur de la gélose disparaît progressivement. Ne pas trop attendre pour réaliser les mesures et évaluer le travail de l'élève.

EXPLOITATION

Compte-rendu à réaliser par 4 :

- Réaliser un schéma ou un tableau légendé et titré des différents résultats obtenus.
- Identifier pour chaque enfant quel antibiotique il faudra administrer, proposer une hypothèse explicative du ou des cas atypiques



Photographie du test d'Anatole réalisé par un binôme d'élèves

Réponses sur les 4 tests réalisés :

- Toutes les bactéries infectant les enfants sont insensibles à la Pénicilline (antibiotique utilisé depuis le début du 20^e siècle) et à l'Amoxicilline (molécule proche de la Pénicilline).
- Méricilline et Erythromycine sont des antibiotiques efficaces pour traiter Anatole et Basile. Les bactéries les infectant ces enfants y sont sensibles.
- César est infecté par des bactéries résistantes à la Méricilline et l'Erythromycine (SARM= *Staphylococcus Aureus* Résistant à la Méricilline). Seule la Vacomycine permettra de le soigner.
- Dahlia possède un SARM atypique avec une nouvelle résistance à la Vancomycine : aucun traitement antibiotique ne sera efficace pour détruire les bactéries infectant cette enfant.

SOURCE

L'ensemble du Pack Collège est téléchargeable sur : ebug.eu, section «enseignant», onglet « collège »

[http://www.e-bug.eu/lang_fr/secondary_pack/downloads/France Senior Complete Pack.pdf](http://www.e-bug.eu/lang_fr/secondary_pack/downloads/France_Senior_Complete_Pack.pdf)



Christine POLO et Armand AUDINOS, Lycée du Grésivaudan, Meylan (38)