

TP5- La résistance aux antibiotiques

« En juin 2011, la bactérie *Escherichia coli* (...) a fait 76 morts en Europe. Elle avait comme particularité, outre sa virulence, d'être très résistante aux antibiotiques. Le phénomène touche d'autres colibacilles, des bactéries très communes qui peuplent par millions les tubes digestifs des hommes et des animaux. Certaines ont aujourd'hui la capacité de résister à quasiment tout l'arsenal thérapeutique, laissant les médecins désarmés. » *Le Monde, Le boom des bactéries résistantes aux antibiotiques, 30/08/2011.*

Objectif de connaissance: On cherche à savoir quelle est l'origine des résistances aux antibiotiques des bactéries.

Objectifs de savoir faire: Réaliser une manipulation d'après un protocole. Adopter une démarche explicative .



Documents de référence

Doc1. Analyse d'un antibiogramme

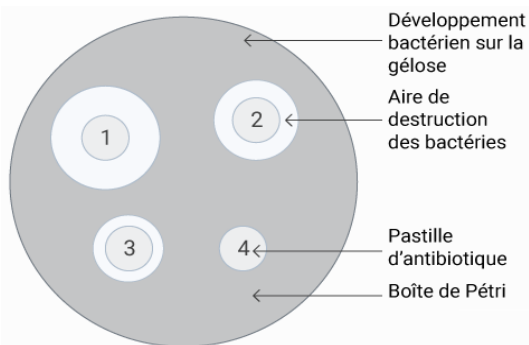
Un **antibiogramme** est une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une bactérie vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques.

Principe d'un antibiogramme

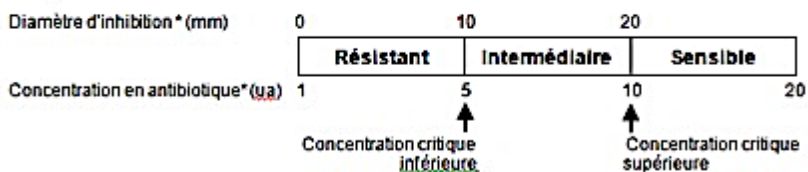
Un **antibiotique** imprègne un disque de papier buvard déposé sur une gélose d'une culture bactérienne. Il migre dans la gélose à partir du disque créant ainsi une zone circulaire imbibée d'antibiotique. En fonction de la sensibilité du microorganisme vis-à-vis de l'antibiotique, apparaît autour du disque, une zone d'inhibition plus ou moins grande où la croissance bactérienne est stoppée.

Lecture d'un antibiogramme

Pour chaque antibiotique on possède un abaque qui présente le rapport entre le diamètre de la zone d'inhibition de culture autour du disque et la concentration de l'antibiotique

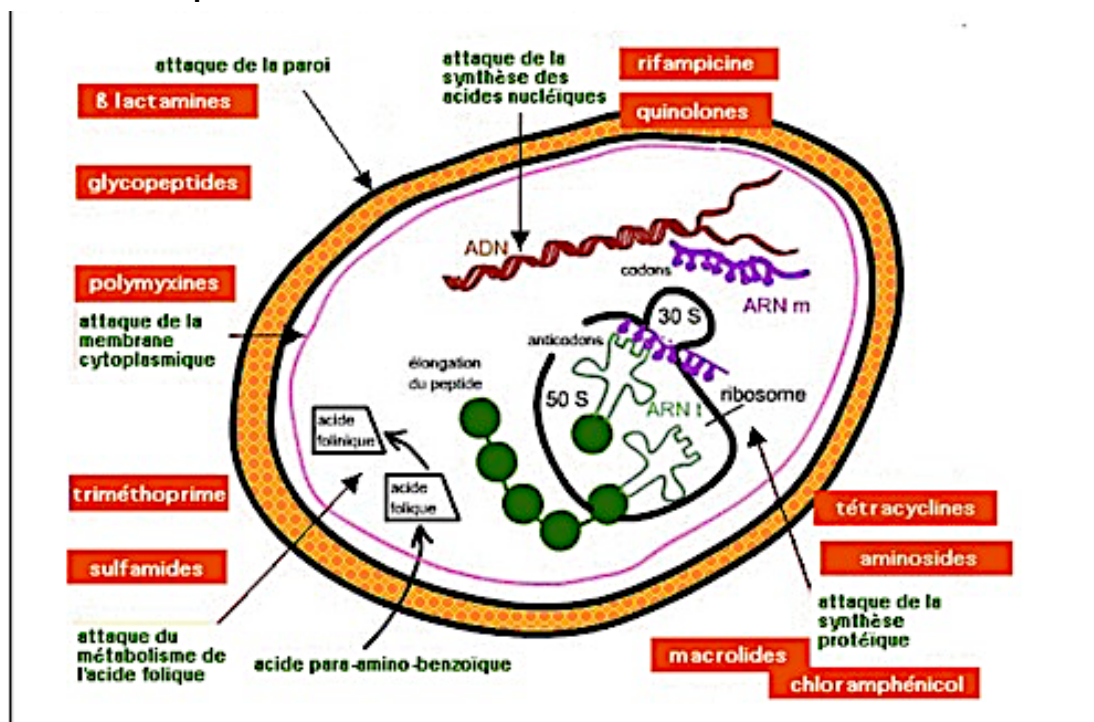


1 : bactérie sensible à cet antibiotique
2 – 3 : bactérie de sensibilité intermédiaire
4 : bactérie résistante



* Valeurs données à titre indicatif et variables selon l'antibiotique et selon la souche bactérienne.

Doc. 2 Mode d'action des antibiotiques



**Matériel**

- une boîte de pétri gélosée contenant un milieu nutritif gélosé ainsi que la souche de bactérie *Escherichia coli*.
- une micropipette avec 4 pointes,
- une pince pour déposer les pastilles antibiotiques,
- 4 tubes contenant chacun un antibiotique: Céfotaxime (C), Pénicilline (P), Tétracycline (TE) et Polymyxines (PM).

Protocole de réalisation l'antibiogramme

- Vous disposez de tubes à essais portant le nom de différents antibiotiques.
- Avec une micropipette, **placer** une goutte d'un des 4 antibiotiques sur une pastille de papier filtre.
- Avec une pince, **déposer** la pastille sur la gélose. **Renouveler** l'opération avec les 3 autres antibiotiques. **Espacer** au maximum les disques les uns des autres et du bord.

Attention :

À changer la pointe de la micropipette entre chaque utilisation d'antibiotiques

À rincer la pince entre chaque utilisation.

La pastille ne doit pas goutter sur la gélose.

- Marquer les endroits où sont posés les antibiotiques et marquer la boîte de votre nom.

Mise en culture pendant 15min.**La résistance des bactéries aux antibiotiques**

Activité 1 : Les bactéries sont naturellement résistantes aux antibiotiques

Monsieur X a été hospitalisé dans un service de chirurgie digestive. Après son opération, on lui a placé une sonde nasale qui a permis de le nourrir. Pendant sa durée d'hospitalisation, Monsieur X a attrapé une **infection nosocomiale** dont l'agent pathogène est la bactérie *Escherichia coli*. Cette infection s'est manifestée par de la fièvre, de vives crampes d'estomac, des maux de tête et des diarrhées fréquentes. Un premier traitement antibiotique lui a été administré sans résultats probants, cette souche bactérienne étant **antibiorésistante**. L'équipe médicale a réalisé alors un **antibiogramme** afin de cibler l'antibiotique qui serait le plus efficace.

Observer les résultats afin de déterminer les résistances naturelles (sensible, intermédiaire et résistant) de cette souche bactérienne aux antibiotiques utilisés.

Récapituler vos observations dans un tableau à double entrée.

Ranger le matériel**ORIGINE DE LA RÉSISTANCE À UN ANTIBIOTIQUE**

Activité 2 : Un phénomène inquiétant : l'acquisition de résistance et les multi-résistances

Un des antibiotiques testés parmi les 4 est un antibiotique de synthèse assez récent de la classe des céphalosporines. Jusqu'à présent, son large spectre d'action lui conférait une forte activité bactéricide sur de nombreuses bactéries.

Pourtant, depuis quelques temps, certaines bactéries y sont devenues résistantes. C'est le cas de nouvelles souches d'*Escherichia coli* qualifiées de « **BLSE** » (bêta-lactamases à spectre étendu). Comme les autres souches d'*E. coli*, *E.coli*-BLSE produit de la bêta lactamase, une enzyme qui dégrade la molécule d'antibiotique la rendant ainsi inactive.

Le séquençage du **gène** qui permet la synthèse de **bêta-lactamase** a été réalisé chez *E. coli* et chez la souche *E.coli*-BLSE.

Séquence de référence de bactéries sensibles à l'antibiotique.



Position dans la séquence nucléotidique

« tirets » = nucléotides identiques

Nature du changement

1- Analyse des séquences du **gène** (séquence ADN)

2- Analyse des séquences de l'**enzyme** (séquence protéique)

Se connecter au site suivant pour **expliquer** pourquoi les bactéries résistantes sont de plus en plus nombreuses. Prendre des notes pour en faire un résumé.

http://www.youtube.com/watch?v=26xiGxTAUbl&feature=player_embedded#!