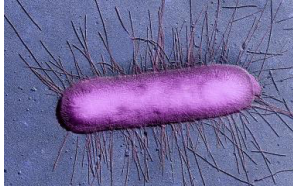
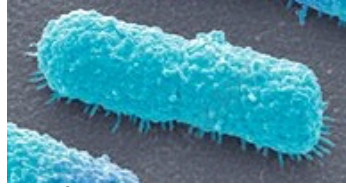


#### H4. Variation génétique bactérienne et résistance aux antibiotiques.



Bactérie *Escherichia coli*.

<https://www.pasteur.fr>



Bactérie *Bacillus megaterium*.

<https://www.sciencephoto.com>

Les bactéries sont très diverses et sont nécessaires au fonctionnement de notre organisme comme celles de notre **microbiote intestinal**. D'autres bactéries sont **pathogènes** et sont responsables de nombreuses maladies que seuls les antibiotiques peuvent éradiquer. Mais chaque année, 12 500 personnes meurent en France à cause de bactéries multirésistantes.

**On veut déterminer si les antibiotiques testés sont efficaces sur deux espèces bactériennes différentes.**

**Pour répondre, on vous demande :**

- **d'effectuer** le protocole demandé, et d'en **présenter** les résultats suivant le mode de communication le plus approprié ;
- **d'interpréter** vos résultats et de **conclure**.

#### Ressources complémentaires

**Matériel à votre disposition :** pince, pipette et râteau (pour étalement) stériles, souches bactériennes de *Bacillus megaterium* et d'*Escherichia coli*, disques contenant divers antibiotiques (ampicilline **AM**, pénicilline **PC**, tétracycline **TC** et acide nalidixique **NA**).

**Principe de l'antibiogramme :** l'antibiotique contenu dans chaque pastille diffuse dans le milieu gélosé ensemencé en bactéries (tapis bactérien visible à l'œil nu au bout d'un certain temps d'incubation) en créant un gradient exponentiel de concentration, celle-ci étant d'autant plus grande que l'on est proche de la pastille. L'efficacité d'un antibiotique correspond à la surface de la zone sans bactéries autour de ce dernier (= zone d'inhibition circulaire).

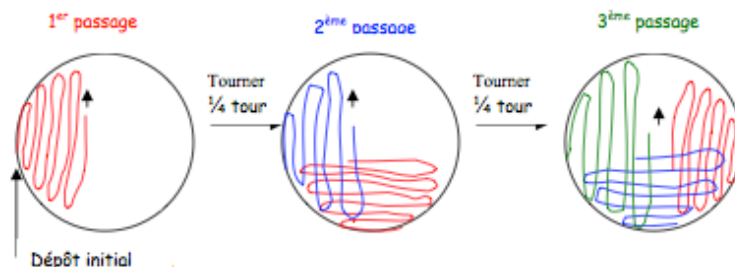
#### Protocole et consignes de sécurité :

Vous allez **manipuler** des bactéries non pathogènes en conditions stériles. Le port de la blouse est obligatoire, cheveux attachés pour les personnes aux cheveux longs ! Les antibiotiques sont des substances dangereuses qu'il ne faut ni sucer, ni ingérer.

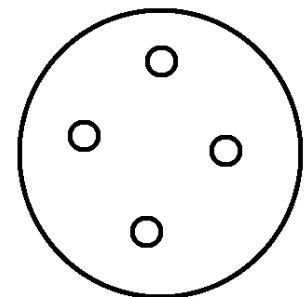
**VEILLER SURTOUT A NE PAS EN PERDRE OU A EN DISSEMINER DANS LA SALLE !**

- **Enlever** tout matériel inutile de votre paillasse. La **nettoyer** avec un chiffon imbibé d'eau de javel.
- Vous **laver** soigneusement les mains au savon puis les **passer** à l'alcool (quelques gouttes).
- **Allumer** la plaque chauffante.
- **Mettre** un masque et ne pas parler devant les boîtes ouvertes.
- **Éviter** les mouvements brusques.
- À partir de ce moment **manipuler** autour de la plaque chauffante et **rester** dans un rayon de 20 cm maximum pour ne pas contaminer les boîtes (même consigne que pour les levures et les UV).

- **Déposer** avec une pipette 0,5 mL de la suspension notée *E. coli* (pipette « *E. coli* ») sur le milieu gélosé de la boîte de pétri 1.
- **Tourner** immédiatement la boîte de manière à répartir le liquide uniformément à la surface et **étaier** avec « le râteau ».
- **Refermer** le couvercle de la boîte et l'**annoter** dans un endroit qui ne gêne pas la vision « *E. coli* + nom du binôme ».



- **Laisser** sécher 25 min (pendant ce temps, réaliser l'ensemencement de la souche *B. megaterium* : le protocole est exactement le même).
- Au bout des 25 min, **verser** l'excédent de liquide dans un bécher « poubelle » puis **déposer** à la pince stérile un disque de chaque antibiotique sur la boîte de façon régulière (espacer au maximum les disques les uns des autres et du bord). **Refermer** la boîte, la **maintenir horizontalement** et ne plus l'ouvrir.



Exemple de disposition des disques dans la boîte de pétri.

En fin de manipulation :

- **Ranger** votre paillasse et **placer** tous les instruments dans l'eau de javel. Se **laver** les mains ;
- Ne plus ouvrir les boîtes de Pétri.

Les boîtes de pétri sont mises en culture entre 25 et 35°C pendant 24 à 48 h (puis mises au réfrigérateur à 4°C pour conservation).