

TP : Variation génétique bactérienne et résistance aux antibiotiques

Objectifs du TP :

- modéliser un test de résistance bactérienne aux antibiotiques, et comprendre l'origine de cette résistance.
- se familiariser avec la démarche type ECE (évaluation des compétences expérimentales)

1ère partie

Mise en situation et recherche à mener

Dans un laboratoire hospitalier, une culture de bactéries a été séparée en 2 lots :

- lot 1 : culture mise au congélateur (le froid empêche les bactéries de se multiplier mais ne les tue pas)
- lot 2 : culture laissée à température ambiante (dans ces conditions, une bactérie fait une mitose toutes les 30 minutes)

Les antibiotiques sont des molécules qui tuent les bactéries en s'attaquant à leur paroi.

Depuis que les antibiotiques sont utilisés en médecine pour combattre les maladies liées à une infection bactérienne, des formes de résistance ne cessent d'apparaître.

On cherche à savoir si des bactéries résistantes aux antibiotiques sont apparues dans la culture de bactéries laissée à température ambiante.

Ressources

- une boîte de Pétri contenant une culture de bactéries du lot 1
- une boîte de Pétri contenant une culture de bactéries du lot 2

- tout matériel usuel de laboratoire
- 3 antibiotiques différents

Information : La présence de nombreuses bactéries vivantes sur le milieu confectionné dans la boîte de Pétri, colore celui-ci en bleu foncé

Etape 1 : Concevoir une stratégie pour résoudre une situation problème (durée maximale : 10 minutes)

Proposer une stratégie de résolution permettant de tester si les bactéries du lot 2 ont effectivement acquis une résistance à certains antibiotiques.

Appeler l'examineur pour présenter oralement votre proposition et obtenir la suite du sujet.

*On entend par stratégie que vous proposiez **une démarche d'investigation** pour résoudre le problème posé.*

*Elle doit préciser **ce que vous voulez faire, comment vous voulez le faire** (outils...), et **les résultats attendus** qui vous permettront de répondre au problème (ex : si on observe... alors... sinon...).*

*Elle peut prendre la forme d'une hypothèse et d'une conséquence vérifiable.
Pas de protocole détaillé, rester global, utiliser des verbes d'action, si expérience préciser le ou les témoins...*

*Un ou des schémas peuvent accompagner sur un brouillon.
Le jour de l'ECE officielle, elle sera donnée **oralement** au professeur examinateur.*



Etape 2 : Mettre en œuvre un protocole de résolution pour obtenir des résultats exploitables

Mettre en œuvre le protocole n°1.

Appeler l'examineur pour vérifier le résultat et éventuellement obtenir une aide.



Il faut respecter le protocole fourni.

Ce n'est pas parce qu'il est différent de ce que vous aviez proposé que votre stratégie n'était pas valable !

Etape 3 : Présenter les résultats pour les communiquer

Comparer les résultats avec votre voisin puis, sous la forme de votre choix, **présenter et traiter les données brutes** pour qu'elles apportent les informations nécessaires à la résolution du problème.



Un texte n'est pas une forme de communication pertinente ! On attend selon le sujet une photo, un dessin d'observation, un croquis, un schéma, un tableau, un graphique, une copie d'écran d'un logiciel... correctement présenté (titre, légendes...).

Ne pas commencer à interpréter !!

Etape 4 : Exploiter les résultats obtenus pour répondre au problème

Exploiter les résultats pour déterminer si les bactéries du lot 2 ont effectivement acquis une résistance à certains antibiotiques.



Ne pas répéter les observations précédentes !!

Vous devez rédiger une conclusion de quelques phrases, répondant bien au problème posé. Si vous aviez émis une hypothèse dans la stratégie, il faut indiquer si elle est validée ou non. Un petit schéma-bilan est possible, cela dépend du sujet.

Matériel disponible et protocole d'utilisation du matériel

Matériel

les souches utilisées dans ce TP sont non pathogènes

- une boîte de Pétri contenant une culture de bactéries du lot 1

- une boîte de Pétri contenant une culture de bactéries du lot 2
 - 3 antibiotiques différents :
 érythromycine (flacon 1) ;
 gentamicine (flacon 2) et céfatoxime (flacon 3)

- des pastilles de papier filtre
 - une pince fine
 - plaque à 3 concavités
 - feutre
 - essuie-tout

Le tout en 2 exemplaires pour que chaque élève soit responsable de sa manipulation :

- lot 1 + flacons 1 2 3 rouges

- lot 2 + flacons 1 2 3 bleus

- suite bureautique LibreOffice et ses fiches techniques

Protocole : à lire entièrement avant de commencer

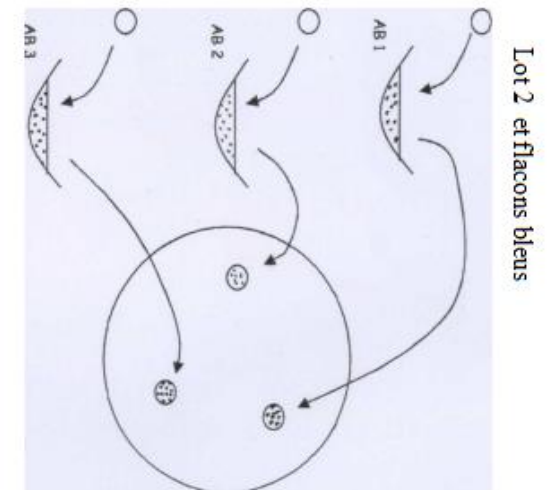
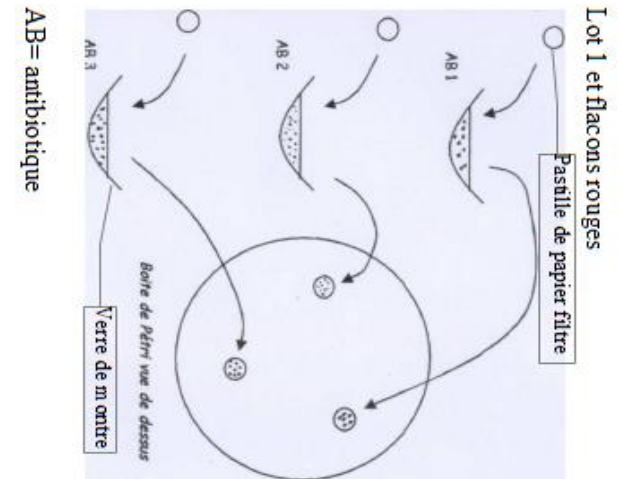
Il est essentiel d'utiliser une pipette différente pour chaque antibiotique

1. Positionner la plaque à 3 concavités (ou puits) sur la pailasse
2. Prélever, à l'aide d'une pipette plastique quelques gouttes érythromycine (flacon 1)
3. Les déposer dans le puits n°1
4. Refaire les étapes 2 et 3 pour la gentamicine (flacon 2) puis pour la céfatoxime (flacon 3)
5. Prélever, à l'aide de la pince, un petit morceau de papier filtre, bien l'imbiber au moins une minute dans le puits n°1
6. Le déposer délicatement sur la culture de E. coli
7. Noter l'emplacement sur une feuille de brouillon
8. Laver les extrémités de la pince dans le bêcher préalablement rempli d'eau du robinet puis les essuyer avec un papier « essuie-tout »
9. Recommencer les étapes 5 à 8 avec les deux autres antibiotiques, fermer la boîte.
10. Marquer les emplacements des antibiotiques au feutre sur le couvercle de la boîte

Appeler le professeur pour vérification et ramassage des plaques à concavités

Observation des résultats

11. Après un contact d'environ **10** minutes, ôter à l'aide de la pince, les 3 disques de papier filtre. Les déposer sur un papier « essuie-tout ». Rincer et essuyer les extrémités de la pince entre chaque prélèvement.
12. Jeter le papier « essuie-tout » à la poubelle
13. Noter les résultats sur votre brouillon.



2ème partie

Mise en situation et recherche à mener

On cherche à expliquer l'origine de l'acquisition de la résistance à un antibiotique par les bactéries du lot 2.

Etape 1 : Concevoir une stratégie pour résoudre une situation problème (durée maximale : 10 minutes)

Proposer une stratégie de résolution permettant d'expliquer l'origine de l'acquisition de la résistance à un antibiotique par les bactéries du lot 2.

Appeler l'examineur pour présenter oralement votre proposition et obtenir la suite du sujet.

Etape 2 : Mettre en œuvre un protocole de résolution pour obtenir des résultats exploitables

Mettre en œuvre le protocole n°2.

Appeler l'examineur pour vérifier le résultat et éventuellement obtenir une aide.

Etape 3 : Présenter les résultats pour les communiquer

Sous la forme de votre choix, **présenter et traiter les données brutes** pour qu'elles apportent les informations nécessaires à la résolution du problème.

Etape 4 : Exploiter les résultats obtenus pour répondre au problème

Exploiter les résultats pour expliquer l'acquisition de la résistance à un antibiotique par les bactéries du lot 2.

Fiche-protocole

Matériel : Anagène 2014 et sa fiche technique

Protocole n°2 : comparaison de séquences d'un gène avec anagène2

1. Lancer le logiciel Anagène 2014.
2. Ouvrir le fichier « E.C-lactamase.edi » situé dans votre dossier classe.
3. Utiliser les fonctionnalités du logiciel pour argumenter l'acquisition par les bactéries de la résistance à l'antibiotique.

Information : ce gène est présent sous la forme SHV-1 dans les bactéries du lot 1 et sous la forme SHV-2 dans les bactéries du lot 2.

Fiche-protocole

Matériel : Anagène 2014 et sa fiche technique

Protocole n°2 : comparaison de séquences d'un gène avec anagène2

1. Lancer le logiciel Anagène 2014.
2. Ouvrir le fichier « E.C-lactamase.edi » situé dans votre dossier classe.
3. Utiliser les fonctionnalités du logiciel pour argumenter l'acquisition par les bactéries de la résistance à l'antibiotique.

Information : ce gène est présent sous la forme SHV-1 dans les bactéries du lot 1 et sous la forme SHV-2 dans les bactéries du lot 2.

Fiche-protocole

Matériel : Anagène 2014 et sa fiche technique

Protocole n°2 : comparaison de séquences d'un gène avec anagène2

1. Lancer le logiciel Anagène 2014.
2. Ouvrir le fichier « E.C-lactamase.edi » situé dans votre dossier classe.
3. Utiliser les fonctionnalités du logiciel pour argumenter l'acquisition par les bactéries de la résistance à l'antibiotique.

Information : ce gène est présent sous la forme SHV-1 dans les bactéries du lot 1 et sous la forme SHV-2 dans les bactéries du lot 2.