

Thème 2 – Chapitre 2 – Activité 2

SUR LES TRACES D'ALEXANDER FLEMING

Éléments de réponse

PRÉSENTATION

1.

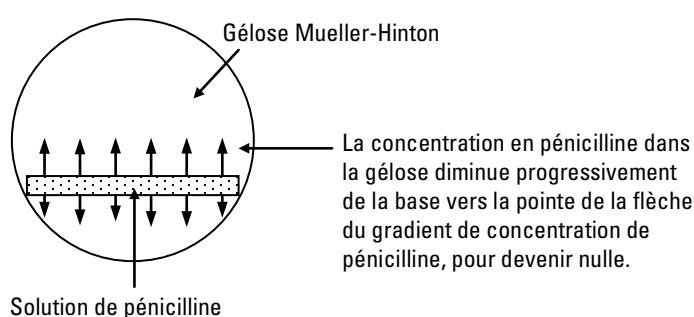
- Ensemencer la gélose Mueller-Hinton avec une suspension de *Staphylococcus aureus* par la technique de l'écouvillonnage (voir fiche technique 3 p 121).
- À l'aide d'une anse de platine, « toucher » une colonie de *Penicillium notatum* pour prélever du mycélium et des spores de moisissure.
- Déposer le mycélium prélevé au centre de la gélose.
- Incuber 48 à 72 h à 30 °C.

2.

- Une gélose Mueller-Hinton
- Une suspension de *Staphylococcus aureus* d'opacité 0,5 Mac-farland
- Une gélose Sabouraud ensemencée avec *Penicillium notatum* incubée 72 h à 30 °C.
- Un écouvillon stérile
- Une anse de platine

1. ÉTUDE DE LA SENSIBILITÉ DE DIFFÉRENTES ESPÈCES BACTÉRIENNES À LA PÉNICILLINE

1.1.



1.2.

La création d'un gradient de concentration en pénicilline dans la gélose Mueller-Hinton permet d'étudier et de comparer le comportement de différentes souches bactériennes en fonction de la concentration en pénicilline dans le milieu gélosé.

1.3.

Bactéries	Morphologie	Structure
<i>Staphylococcus aureus</i> (coque Gram +)	Bactérie de forme ronde.	Colorée en violet par la coloration de Gram, paroi épaisse (absence de membrane externe).
<i>Bacillus subtilis</i> (bacille Gram +)	Bactérie en forme de bâtonnet.	Colorée en violet par la coloration de Gram, paroi épaisse (absence de membrane externe).
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (bacille Gram -)	Bactérie en forme de bâtonnet.	Colorée en rose par la coloration de Gram, paroi fine (présence d'une membrane externe).
<i>Escherichia coli</i> (bacille Gram -)	Bactérie en forme de bâtonnet.	Colorée en rose par la coloration de Gram, paroi fine (présence d'une membrane externe).

1.4.1.

La paroi bactérienne est composée de peptidoglycane.

1.4.2.

On peut faire l'hypothèse suivante : les bactéries ayant une paroi épaisse (contenant beaucoup de peptidoglycane) seront plus sensibles à la pénicilline, puisque cet antibiotique bloque une étape de la synthèse de cette molécule. On peut donc supposer que les bactéries appartenant aux espèces *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* seront les plus sensibles à cet antibiotique (voir tableau réponse 1.3.).

1.5.

Les résultats expérimentaux montrent :

- une zone d'inhibition de 10 mm de la croissance de *Staphylococcus aureus* entre la rigole creusée dans la gélose et le début de la culture bactérienne ;
- une zone d'inhibition de 4 à 5 mm de la croissance de *Bacillus subtilis* entre la rigole creusée dans la gélose et le début de la culture bactérienne ;
- une zone d'inhibition de 4 à 5 mm de la croissance d'*Escherichia coli* entre la rigole creusée dans la gélose et le début de la culture bactérienne ;
- une absence de zone d'inhibition de la croissance de *Pseudomonas aeruginosa* entre la rigole creusée dans la gélose et le début de la culture bactérienne.

1.6.

L'espèce bactérienne la plus sensible est celle dont la croissance a été le plus inhibée par la présence d'antibiotique (pénicilline) dans la gélose, donc d'après les résultats expérimentaux obtenus on en déduit que l'espèce bactérienne la plus sensible à la pénicilline est *Staphylococcus aureus*.

1.7.

Les résultats obtenus pour les espèces *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* sont en accord avec l'hypothèse faite en 1.4.2. En ce qui concerne les espèces *Bacillus subtilis* et *Escherichia coli*, les résultats obtenus montrent une sensibilité équivalente à la pénicilline pour ces deux espèces bactériennes, alors que l'on pensait que l'espèce *Bacillus subtilis* serait plus sensible à la pénicilline que l'espèce *Escherichia coli*.

1.8.

Pour expliquer la différence de sensibilité à la pénicilline des espèces bactériennes *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*, on peut faire l'hypothèse que la membrane externe de *Pseudomonas aeruginosa* est imperméable à la pénicilline alors que celle d'*Escherichia coli* est perméable à la pénicilline. Dans le cas de *Pseudomonas aeruginosa* la pénicilline ne peut pas atteindre sa cible car elle reste à l'extérieur de la bactérie : l'antibiotique n'inhibe pas sa croissance. Dans le cas d'*Escherichia coli* la pénicilline traverse la membrane externe, peut atteindre sa cible (une des étapes de la synthèse du peptidoglycane) et inhiber la croissance de cette espèce bactérienne.

2. ÉTUDE DE L'INFLUENCE DE DIFFÉRENTES ESPÈCES DE MOISSURES SUR LA CROISSANCE DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS

2.1.

	<i>P. chrysogenum</i>	<i>P. notatum</i>	<i>A. niger</i>	<i>P. roqueforti</i>
Diamètre de la zone d'inhibition de croissance de <i>S. aureus</i>	11 mm	9 mm	Absence de zone d'inhibition de croissance.	Absence de zone d'inhibition de croissance.

2.2.

Plus le diamètre de la zone d'inhibition de croissance de *S. aureus* autour des colonies de moisissures est important, plus *S. aureus* est sensible à la moisissure ou à une substance produite par la moisissure et qui diffuse dans le milieu gélosé. D'après les résultats expérimentaux obtenus, on en déduit que la bactérie *S. aureus* est la plus sensible à la moisissure appartenant à l'espèce *Penicillium chrysogenum*.

2.3.

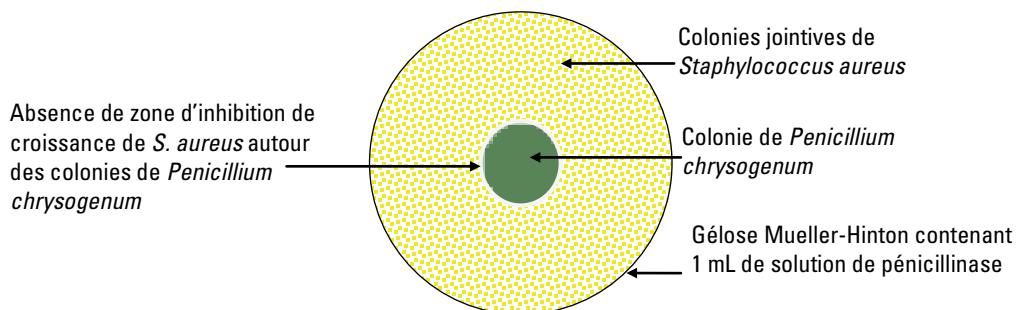
Les résultats expérimentaux de l'expérience 1 ont montré que toutes les espèces bactériennes ne présentent pas la même sensibilité à la pénicilline et que l'espèce *S. aureus* fait partie des espèces bactériennes très sensibles à cet antibiotique. Le premier « heureux hasard » est donc qu'Alexander Fleming travaillait sur l'espèce bactérienne *S. aureus*. Les résultats expérimentaux de l'expérience 2 ont montré que *S. aureus* n'était pas sensible à toutes les espèces de moisissures. Le second « heureux hasard » est donc que les géloses d'Alexander Fleming ensemencées avec *S. aureus* aient été contaminées par une moisissure appartenant à l'espèce *Penicillium notatum*, moisissure produisant une substance antibactérienne (pénicilline) à laquelle *S. aureus* est sensible.

3. IDENTIFICATION DE L'ANTIBACTÉRIEN PRODUIT PAR *PENICILLIUM CHRYSOGENUM*

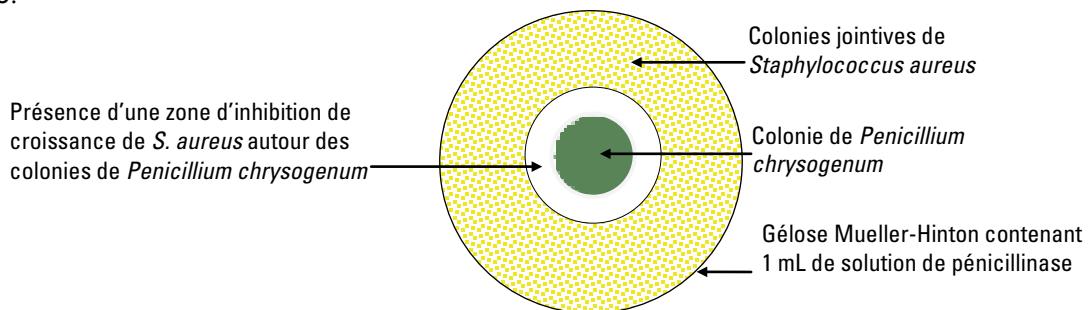
3.1.

Si l'agent antibactérien produit par la moisissure *Penicillium chrysogenum* est de la pénicilline, alors la penicillinase ajoutée dans la gélose va hydrolyser cette molécule et l'effet antibactérien attendu vis-à-vis de *S. aureus* ne sera plus présent (absence d'une zone d'inhibition de croissance).

3.2.



3.3.



3.4.

Les résultats expérimentaux obtenus pour l'expérience 3 et présentés dans le document 8, sont ceux schématisés en 3.2., soit une absence de zone d'inhibition de croissance de *Staphylococcus aureus* autour des colonies de *Penicillium chrysogenum*. L'agent antibactérien produit par *P. chrysogenum* auquel est sensible *Staphylococcus aureus* (voir résultats de l'expérience 2), est devenu inactif. On en conclut que l'agent antibactérien produit par cette espèce de moisissure est un agent antibactérien détruit par la penicillinase, c'est donc de la pénicilline. *Penicillium chrysogenum* produit également de la pénicilline comme *Penicillium notatum*.