

DS n°5 Mycètes – Agents anti-microbiens

Les Mycètes

1. Recherche de la flore Eucaryote d'un lait cru (/12)

L'observation après coloration de Gram d'un lait cru, conservé pendant 48 h à température ambiante, donne le cliché présenté sur le document A de l'annexe 1.

Après 12 jours à température ambiante le frottis prend l'aspect du document B.

L'isolement de ce lait sur milieu OGA est présenté sur le document C, ainsi qu'un état frais en document D.

Il a été réalisé un test de blastèse, qui s'est révélé négatif. De même la recherche de capsule a été négative.

1. En comparant les documents A et B, indiquer l'évolution de la flore du lait cru.
2. À l'aide des informations données en annexe 1, donner les principales caractéristiques du milieu OGA (signification de ce sigle ?). Quels sont les micro-organismes recherchés ?
3. Qu'est ce que le test de blastèse ? Quel est l'aspect d'un résultat positif ? Quel est son intérêt ?
4. Comment rechercher la présence de capsule ? Quelle est la levure généralement mise en cause en cas de résultat positif ?
5. Faire une synthèse de l'ensemble des informations collectées et proposer une identification pour le germe observé dans le document D.
6. Ce germe fait partie des ascomycètes.
Donner les caractéristiques de ce phylum. Citer un autre exemple d'ascomycète et présenter un cycle de multiplication de ces mycètes.

Les Agents Chimiques

Les antiseptiques et désinfectants doivent avoir une action létale sur les micro-organismes en un temps court. Ces exigences ont conduits à mettre au point des techniques particulières pour évaluer leur activité antimicrobienne. Il est en particulier indispensable d'éliminer, après contact entre le produit étudié et les micro-organismes, toute activité inhibitrice résiduelle.

La fiche technique de l'annexe 3 reprend les principales étapes de l'étude de l'activité de base d'un antiseptique par la méthode de filtrat ion sur membrane.

2. Etude du schéma d'essai préliminaire (/ 5)

1. Quelles sont les informations obtenues,
 - grâce à la manipulation A ?
 - grâce à la manipulation B ?
2. Qu'attend-on pour la valeur n ?
3. Que peut-on dire
 - si $n < 0,5 N$?
 - si $n > N$?

3. Application à l'étude de l'hypochlorite de sodium (/ 8)

L'hypochlorite de sodium est un des agents chimiques les plus employés pour son action antimicrobienne.

1. Quel est son mécanisme d'action ?
2. S'agit-il d'un antiseptique ou d'un désinfectant? Justifier en définissant ces 2 termes.
3. Le neutralisant couramment employé pour l'hypochlorite est le thiosulfate de sodium.
Connaissant les couples redox en jeu, écrire l'équation de neutralisation de l'hypochlorite (la réaction se déroule en condition basique pour éviter la libération de Cl_2 toxique).
 - hypochlorite / chlorure: $\text{ClO}^- / \text{Cl}^-$, $\pi^\circ = 0,89 \text{ V}$
 - tétrathionate / thiosulfate: $\text{S}_4\text{O}_6^{2-} / \text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, $\pi^\circ = 0,10 \text{ V}$

4. Le schéma d'essai pour une souche bactérienne de l'annexe 3 a été réalisé pour 3 concentrations différentes d'hypochlorite. Les résultats obtenus sont consignés dans l'annexe 4.

A quoi correspond un degré chlorométrique ?

Quelle sera la concentration retenue d'après les critères de la fiche technique ?

Quelle est alors la réduction décimale obtenue dans les conditions de la manipulation ?

Antibiotiques

4. Etude du mécanisme d'action et des résistances (/ 15)

1. Les antibiotiques sont utilisés dans le traitement des infections bactériennes. Donner une définition complète de ces substances.

2. Les sulfamides, dont fait partie la sulfanilamide, sont parmi les premiers antibiotiques historiquement employés. Expliquer le mécanisme d'action de ces antibiotiques en vous aidant des annexes 5a, b, c.

3. On assiste, depuis quelques années, à l'apparition de résistance vis-à-vis des antibiotiques de la famille des β -lactamines (ampicilline le plus souvent) couramment préconisés pour traiter les infections à *Haemophilus*.

3.1. Donner la structure chimique de base de cette famille.

3.2. Quel est le mécanisme d'action de l'ampicilline.

3.3. Quels sont les mécanismes possibles de résistance à l'ampicilline. On distinguera les résistances naturelles des résistances acquises.

3.4. Pour étudier le mécanisme de résistance à l'ampicilline d'une souche *d'Haemophilus*, on réalise un test de Gots, tel que décrit dans l'annexe 6.

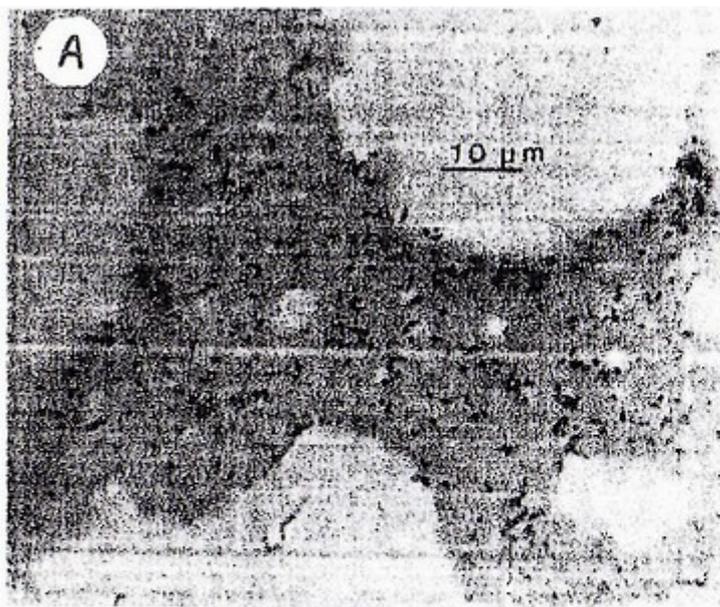
Expliquer la réalisation pratique de ce test.

Qu'observe-t-on au niveau de la souche témoin (-) ?

Qu'observe-t-on au niveau de la souche témoin (+), productrice de substance M ? Qu'est ce que cette substance M ?

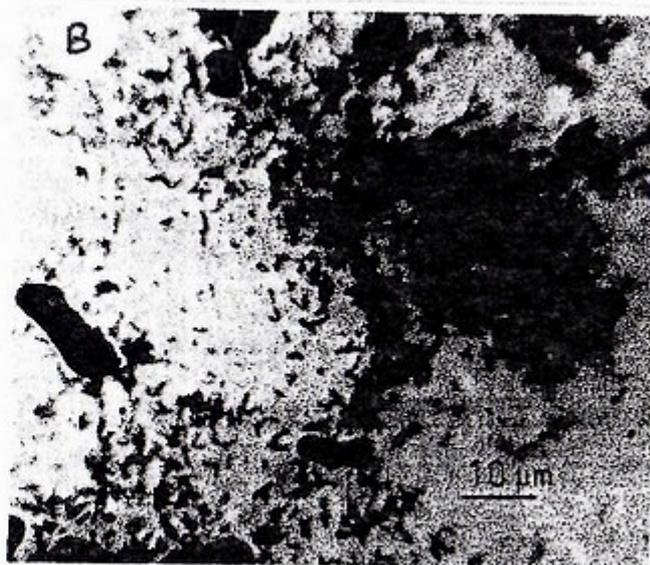
Quelle conclusion pour la souche *d'Haemophilus* étudiée.

Annexe 1 : Observation de la flore du lait cru

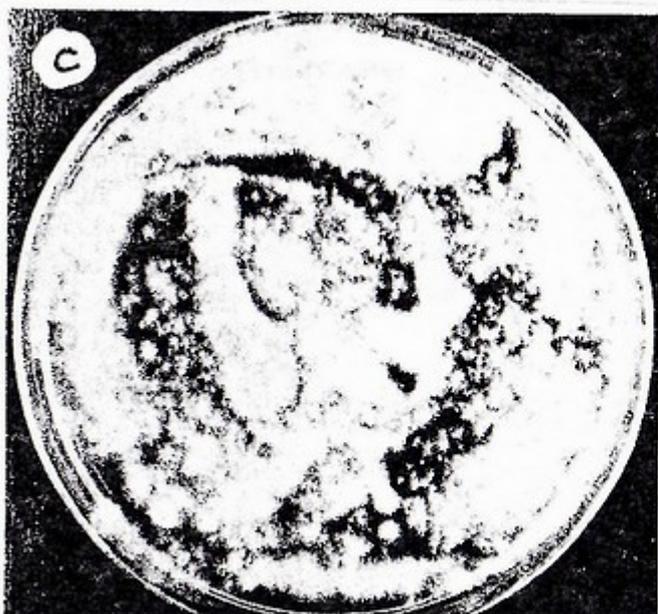


Microflore du lait.

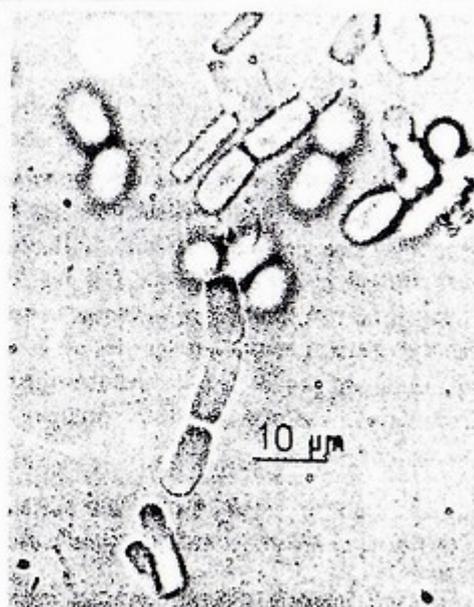
Streptococcus lactis dans un lait conservé depuis 48 h à la température ambiante. Ce streptocoque est le principal agent de la fermentation lactique spontanée du lait entre 10°C et 37°C.



Coloration de Gram sur un frottis de lait cru laissé à température ambiante pendant 12 jours



Isolément sur milieu CGA - La culture forme un duvet blanc à la surface



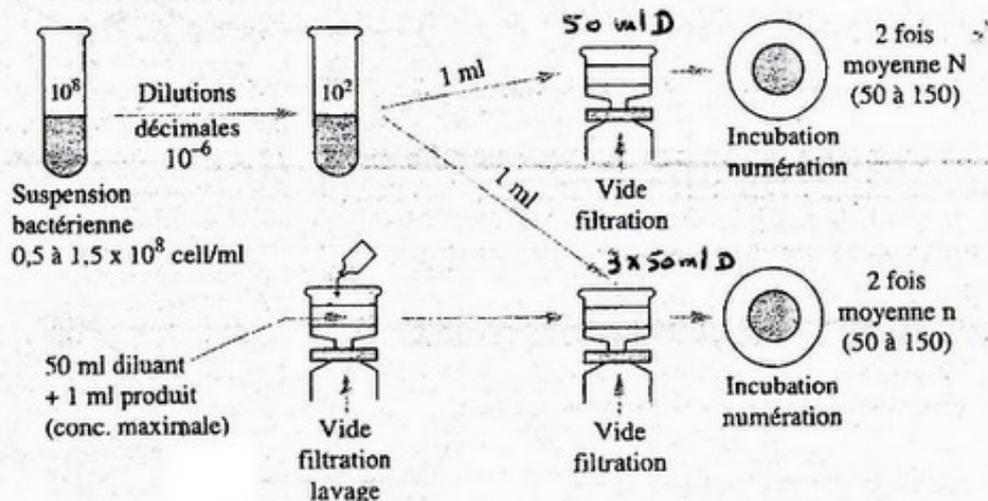
Etat frais

Annexe 2 : Composition du milieu OGA

COMPOSITION	QUANTITE
Eau	1 Litre
Extrait de Levure	5 g
Glucose	20 g
Agar	16 g
pH	7

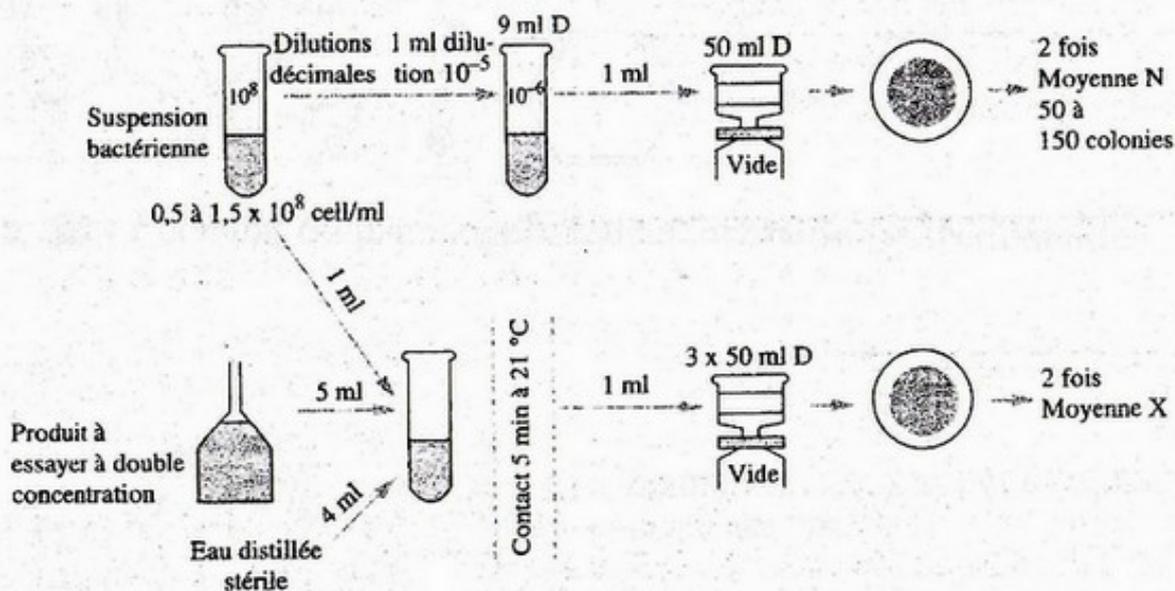
Annexe 3: Etude de l'activité de base d'un antiseptique par la méthode de filtration sur membrane

■ Schéma d'essai préliminaire pour une souche bactérienne



Interprétation :

■ Schéma d'essai pour une souche bactérienne et une dilution du produit

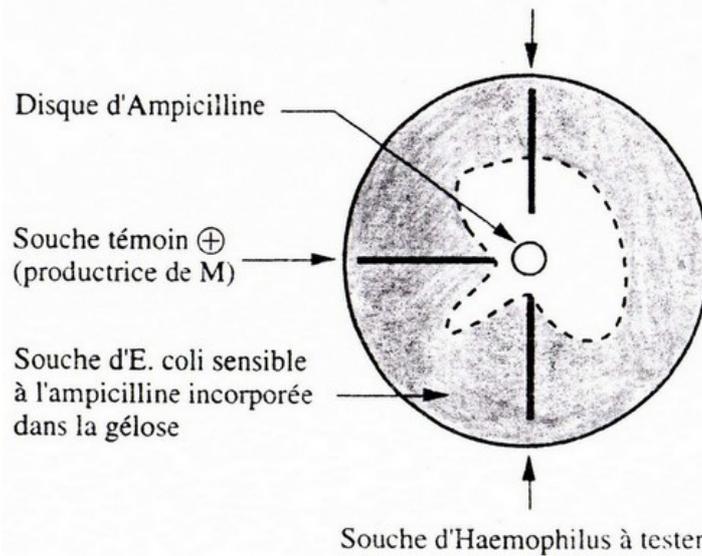


Résultat : concentration minimale du produit pour laquelle $X \leq N$

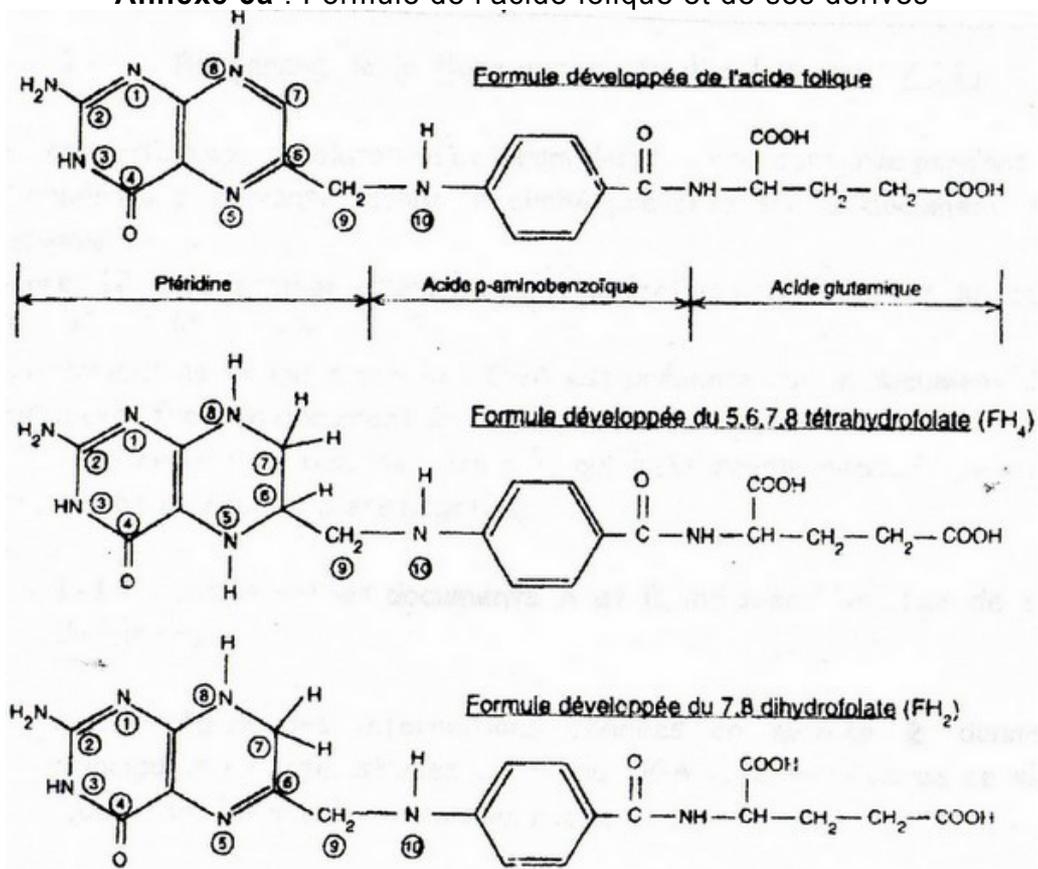
Annexe 4 : Etude de l'activité de l'hypochlorite de sodium sur une suppression d'E. coli, suivant le schéma d'essai décrit au document 2.

Concentration de la solution d'hypochlorite (en ° chlorométrique)	3	12	48
Moyenne X du nombre de colonies dénombrées sur les boîtes	200	21	0

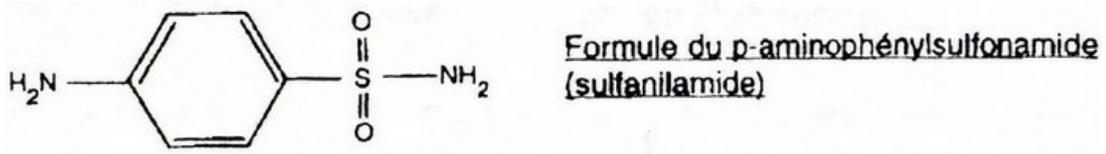
Annexe 6 : Résultat d'un test de Gots
Souche témoin \ominus (non productrice de M)



Annexe 5a : Formule de l'acide folique et de ses dérivés



Annexe 5b : Formule du p-aminophénylsulfonamide (sulfanilamide)



Annexe 5c : Schéma de la synthèse cellulaire du dTMP (désoxythymidinemonophosphate)

