

Étude du phénomène de diffusion dans la cinétique d'inhibition bactérienne

RAMADIER Guillaume (1003)



Bactérie *E. coli* (x 15 000)

Bactéries : *E. coli*

Milieu : Gel d'agar nutritif à $15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$

Antibactérien : Solution aqueuse d'ions Ag^+



❖ Cinétique d'inhibition

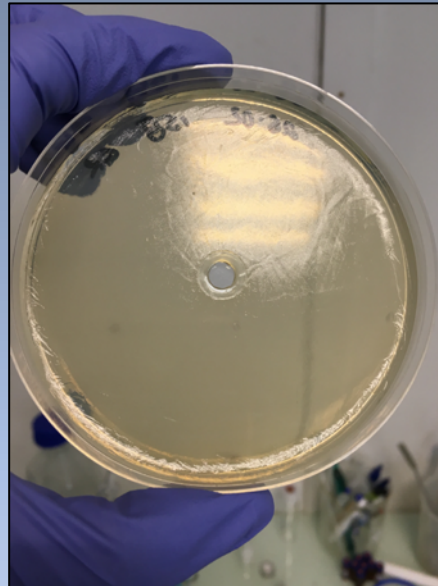
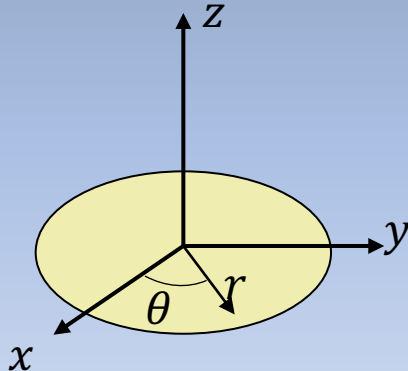
Loi de Chick-Watson

$$v_{max} = -\frac{dN}{dt} = k \cdot C_{Ag^+}^n \cdot N$$

❖ Diffusion

Loi de Fick

$$\frac{\partial C_{Ag^+}(r, t)}{\partial t} = D_{Ag^+} \cdot \nabla^2 C_{Ag^+}(r, t)$$



❖ Cinétique de croissance bactérienne

Loi de Monod

$$\frac{dN}{dt} = \mu \cdot N$$

avec

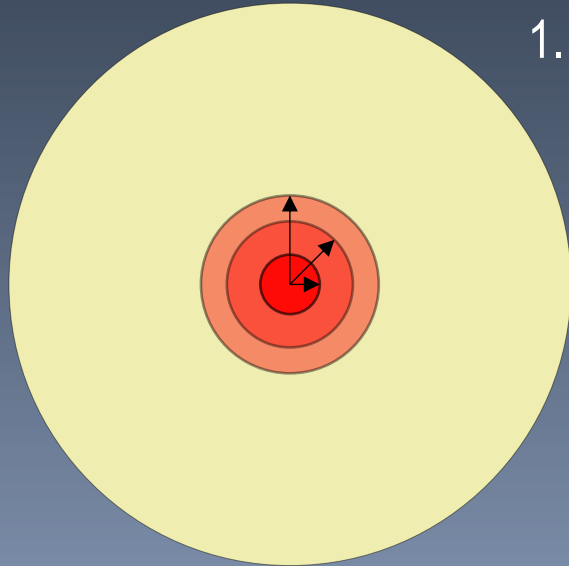
$$\mu = \frac{\mu_{max} [Substrat]}{K_M + [Substrat]}$$

CINÉTIQUE D'INHIBITION

DIFFUSION

COUPLAGE CINÉTIQUE/DIFFUSION





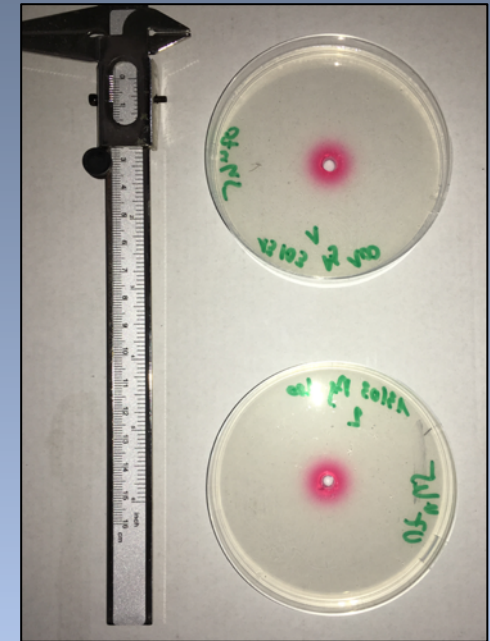
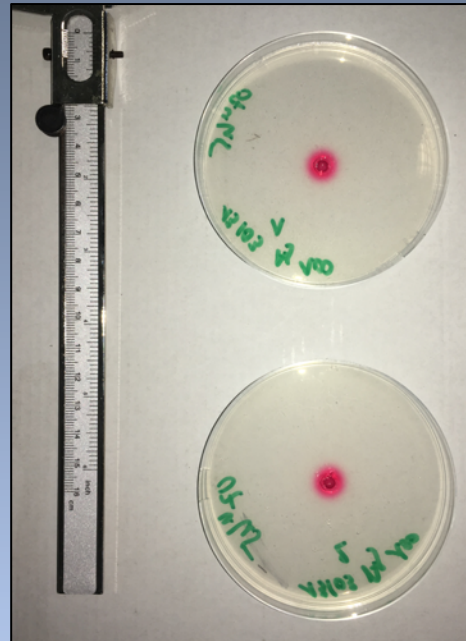
1. **Gélose** (15 g.L^{-1})

2. Ajout de **Ag⁺** dans le puits ($50 \mu\text{L}$)

3. Suivi du **halo**

Limites :

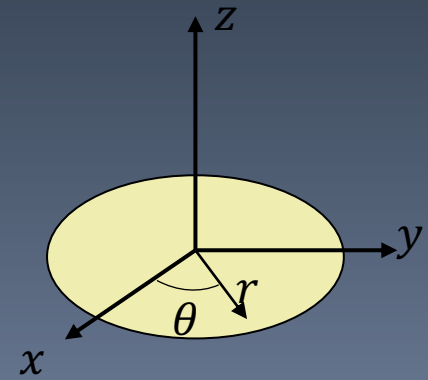
- Colorant
- Pas de bactéries



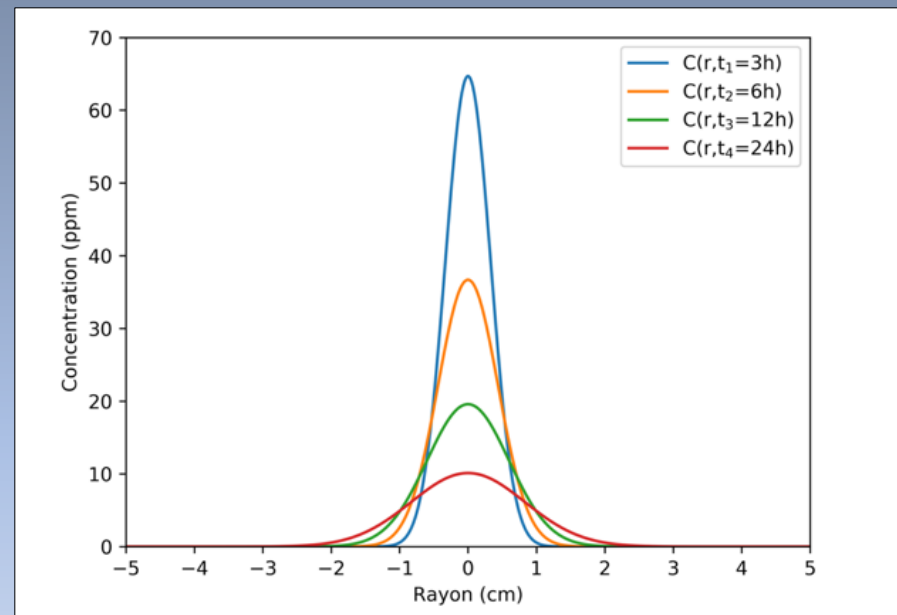
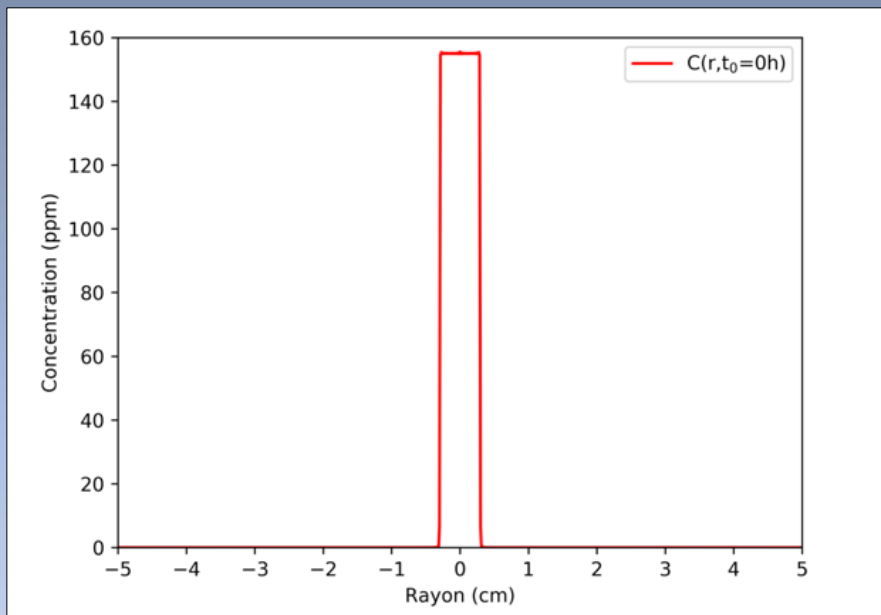
TEMPS



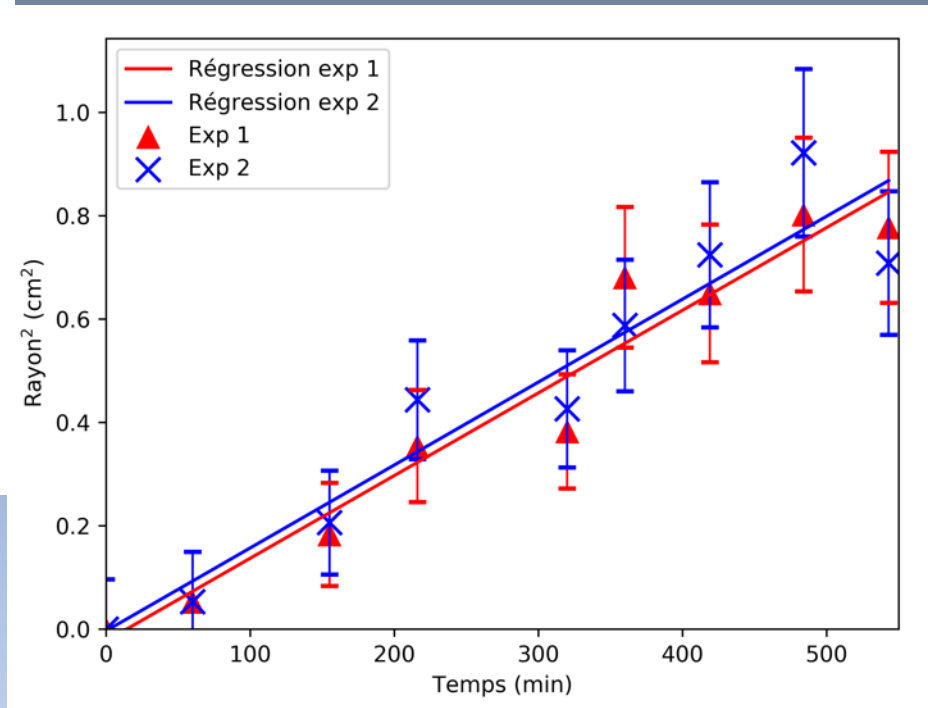
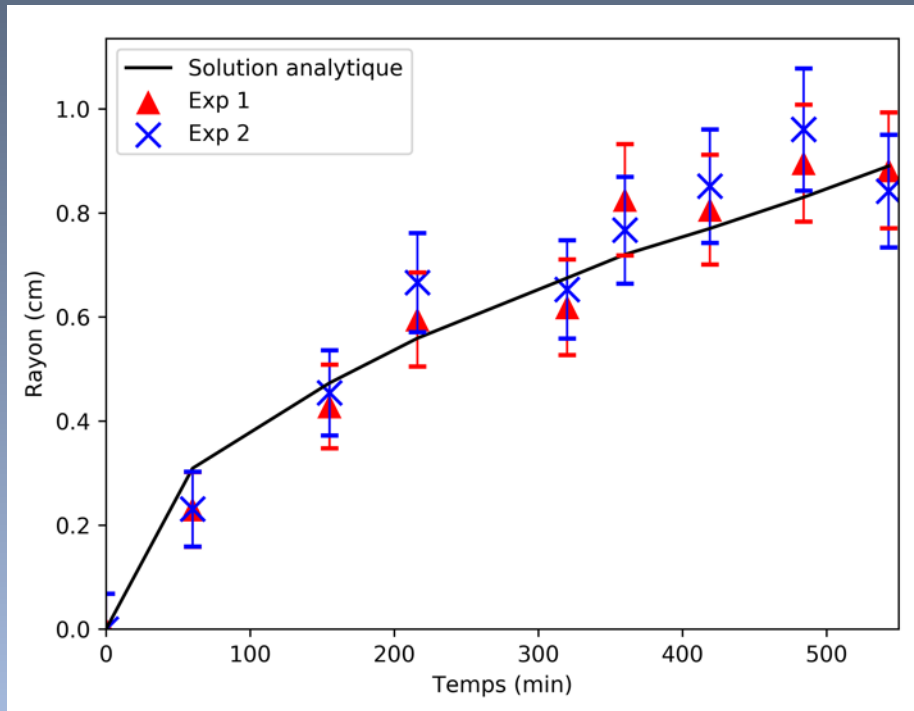
- Symétrie cylindrique infinie $C_{Ag^+}(r, \theta, z, t) = C_{Ag^+}(r, t)$
- Solution à variables séparées $C_{Ag^+}(r, t) = f(r) \cdot g(t)$
- Conditions initiales ($a = \text{rayon du puits}$)



$$C(r, t) = \frac{2C_0}{R^2} \sum_{i=1}^{+\infty} e^{-\lambda_i^2 D_{Ag^+} t} \frac{J_0(\lambda_i r)^2}{J_1(\lambda_i R)^2} \int_0^a r J_0(\lambda_i r) dr$$



<i>Temps (min)</i>	<i>0</i>	<i>60</i>	<i>155</i>	<i>216</i>	<i>320</i>	<i>360</i>	<i>419</i>	<i>484</i>	<i>543</i>
<i>Exp 1 (cm)</i>	<i>0</i>	<i>0,23</i>	<i>0,42</i>	<i>0,59</i>	<i>0,61</i>	<i>0,82</i>	<i>0,80</i>	<i>0,89</i>	<i>0,88</i>
<i>Exp 2 (cm)</i>	<i>0</i>	<i>0,24</i>	<i>0,46</i>	<i>0,67</i>	<i>0,66</i>	<i>0,77</i>	<i>0,86</i>	<i>0,97</i>	<i>0,85</i>



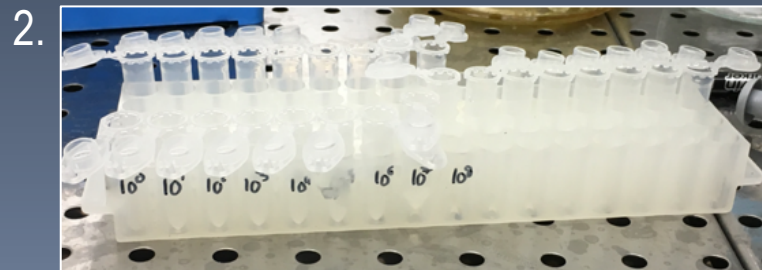
$$D_{Ag^+}^{max} = (4.3 \pm 0.8) \cdot 10^{-11} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$$



Pression 1 atm
 Température : 37 °C
 Agitation : 160 RPM
 Milieu stérile

- 16 mL de suspension bactérienne (sans milieu nutritif)
- 3 mg.L⁻¹ d'ion Ag⁺

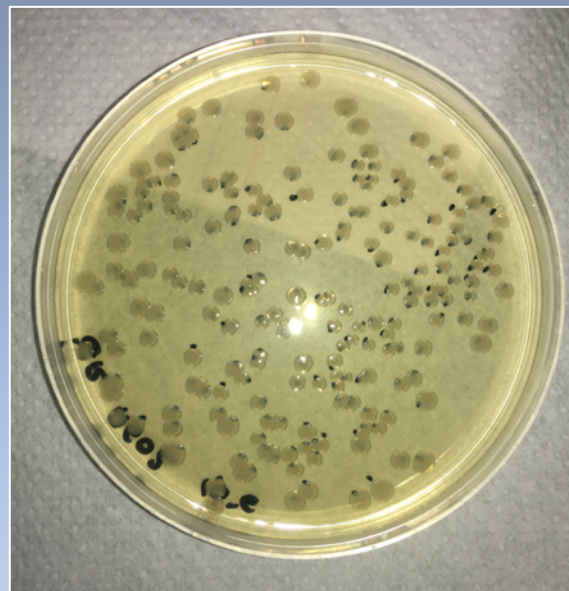
1. Prélèvement de 100 μL de solution.



3. Incubation à 37°C pendant 24 h

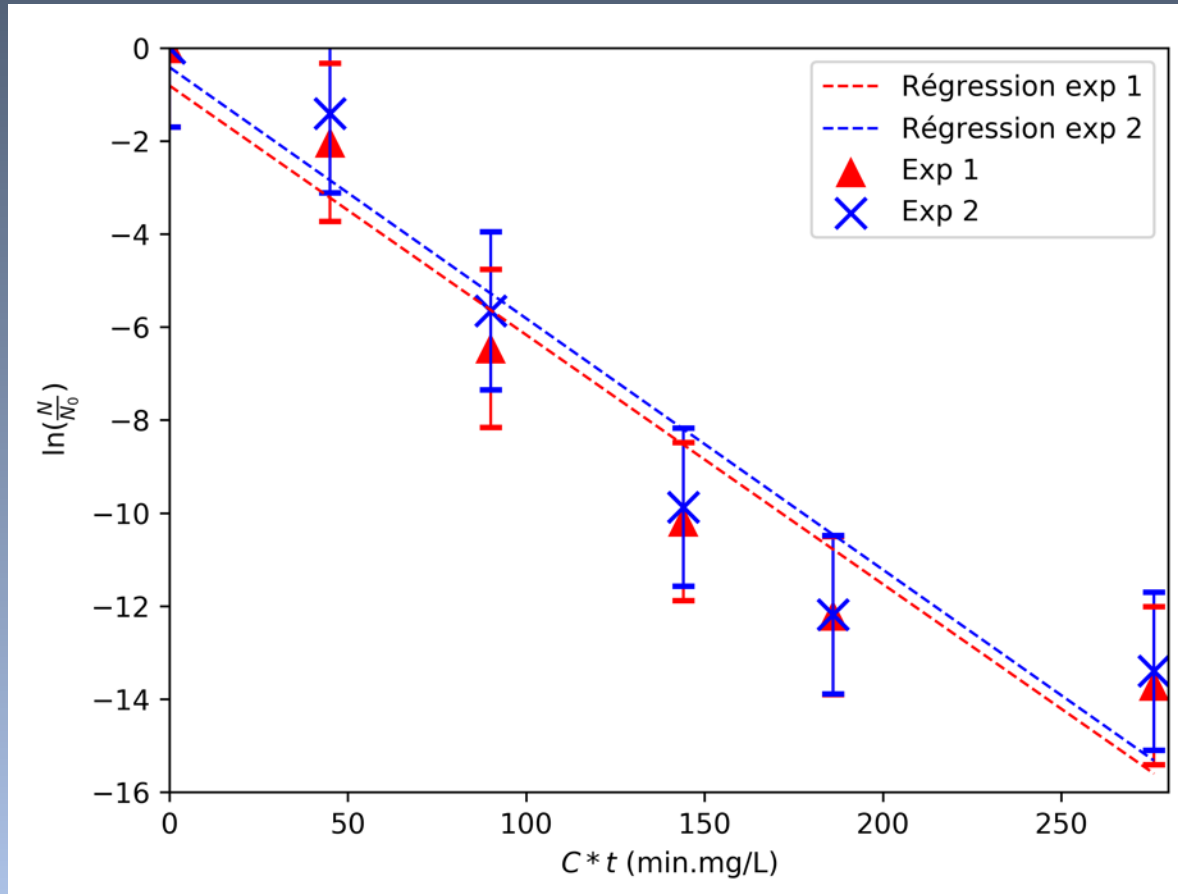
1 bactérie ⇒ 1 colonie après incubation

4.



Colonies formées après 24 h

$$v = -\frac{dN}{dt} = k \cdot C_{Ag^+}^n \cdot N \quad n = 1 \quad \Rightarrow \quad \ln\left(\frac{N}{N_0}\right) = -k \cdot C_{Ag^+} \cdot t$$



$$k (T = 37^\circ C) = (1.5 \pm 0,3) \cdot 10^{-1} \text{ L.mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$$

1. Gélose (15 g.L^{-1}) **stérilisée** (autoclave)
2. Ajout de **Ag^+** dans les puits ($50 \mu\text{L}$ à \neq concentrations)

Concentration (mg.L^{-1})	0	2	3	5	10	20	50	100	155

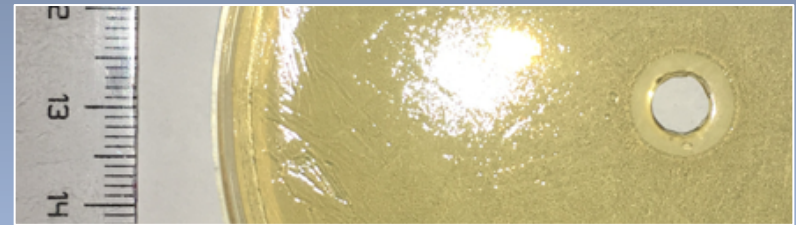
3. Étalement de la **suspension bactérienne** ($200 \mu\text{L}$)
4. Incubation à **37°C** pendant **24 h**

Étalement de la suspension bactérienne
sans Ag^+

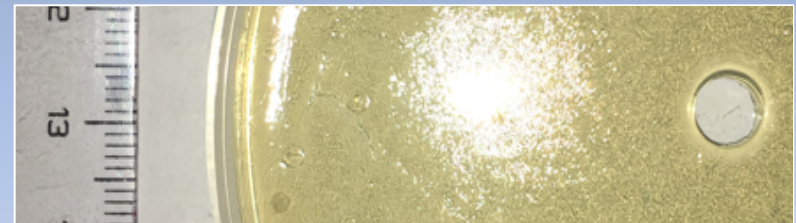
Dénombrement



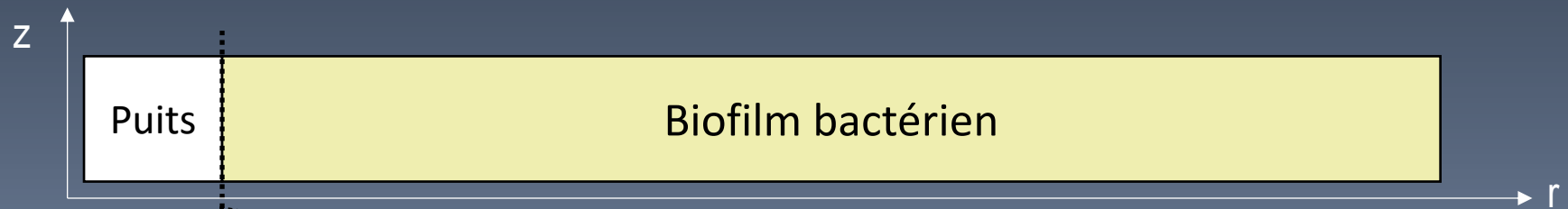
Accès à N_0^S (CFU.m^{-2})



155 mg.L^{-1}



20 mg.L^{-1}



Solution de Ag^+

- ✓ Diffuse dans le biofilm

$$\frac{\partial C_{Ag^+}(\vec{r}, t)}{\partial t} - D_{Ag^+} \cdot \nabla^2 C_{Ag^+}(\vec{r}, t) = 0$$

- ✓ Réagit avec les bactéries
- ✓ $C_{Ag^+}(t) = C_{Ag^+}(t = 0)$

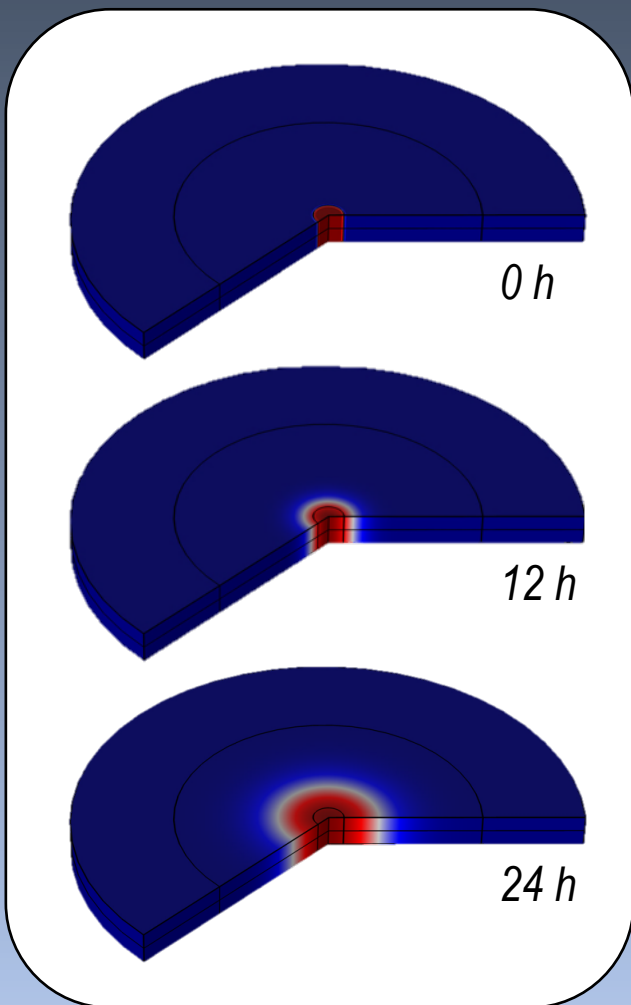
E. coli

- ✓ Ne diffuse pas
- ✓ Croissance
- ✓ Réagit avec Ag^+

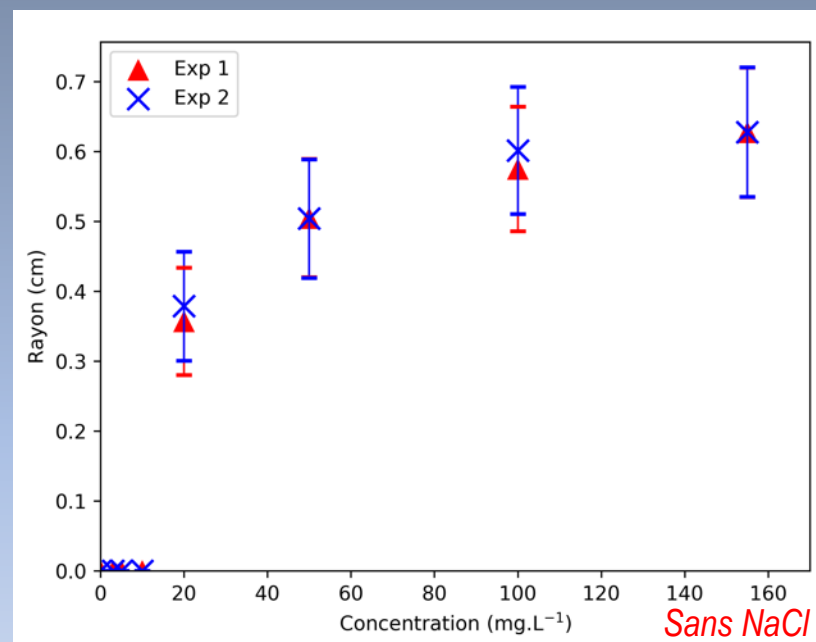
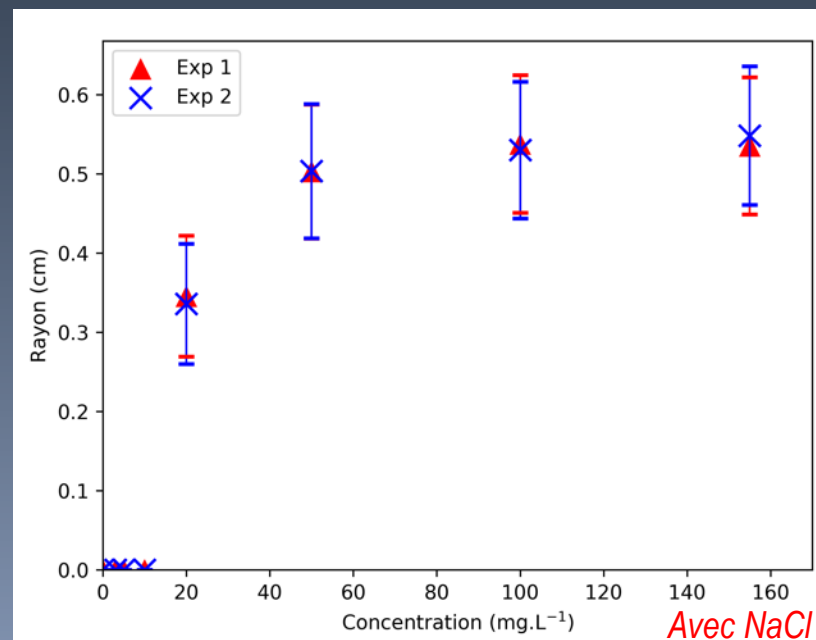
$$r = \frac{dN}{dt} = \underbrace{\mu_{max} \cdot N}_{\text{Production}} - \underbrace{k \cdot C_{Ag^+} \cdot N}_{\text{Disparition}}$$

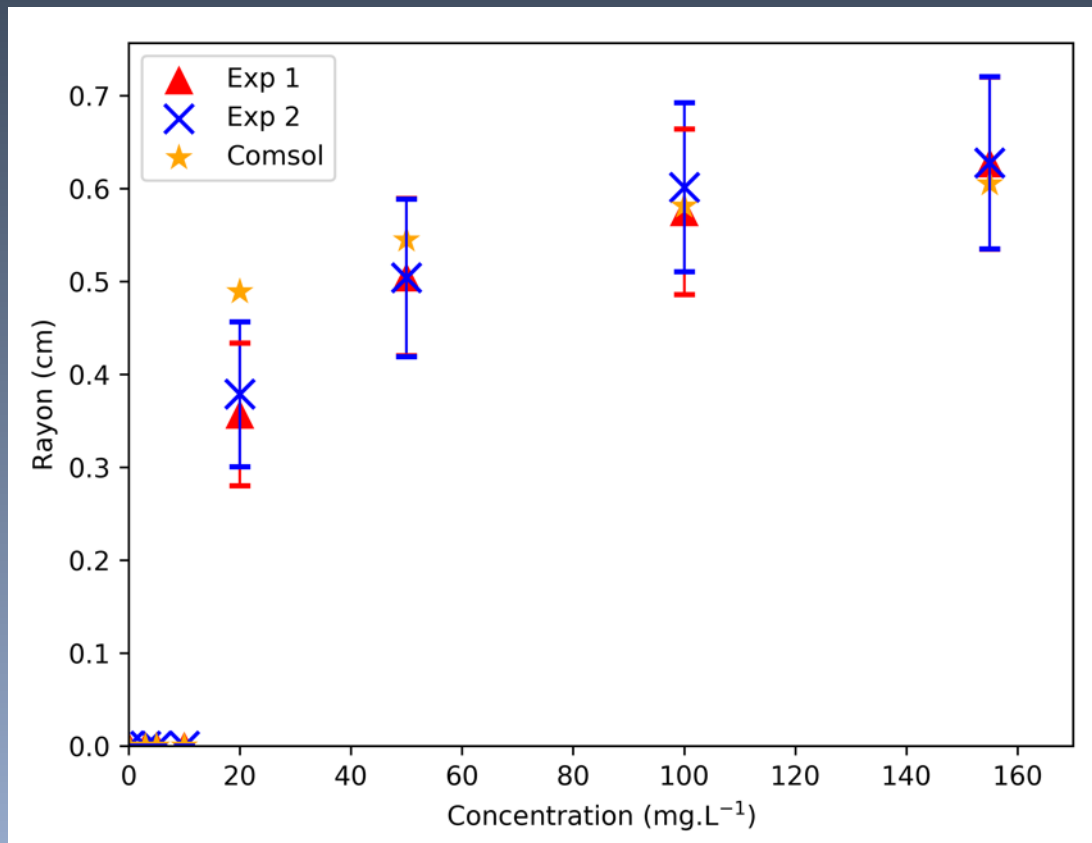
Production

Disparition

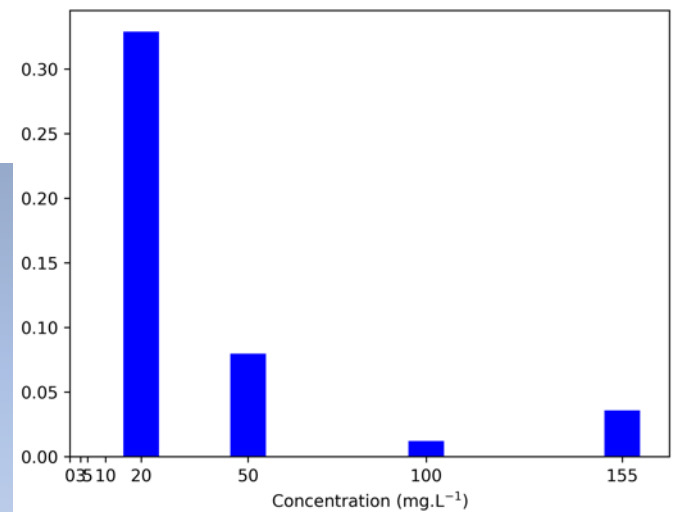


Diffusion de Ag^+





$$D_{Ag^+} = (9.9 \pm 0.1) \cdot 10^{-12} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$$



Erreur relative

- Caractérisation du **transport** de l'antibactérien

Diffusion = Phénomène limitant

- **Mesure indirecte** de D_{Ag^+} dans le biofilm