

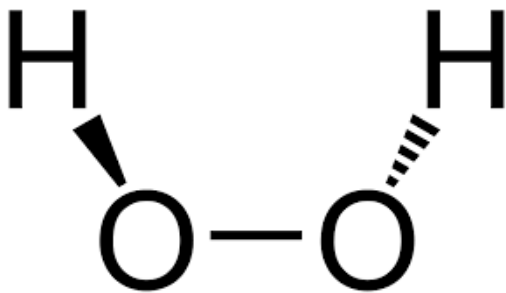
Effet du H₂O₂ sur la croissance et la bioluminescence de la bactérie

- [Bibliographie et expérimentation](#)

Bibliographie et expérimentation

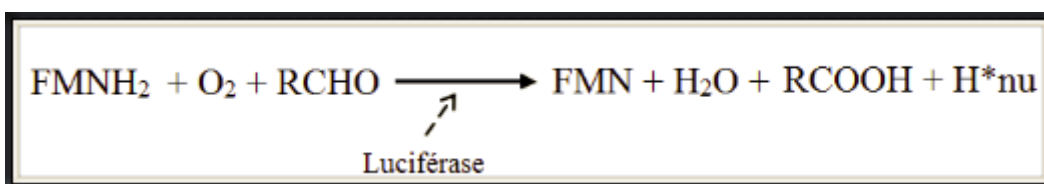
1) Le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)

Le peroxyde d'hydrogène est une molécule d'eau à laquelle on a ajouté un atome d'oxygène, c'est-à-dire **l'eau oxygénée**. Cette molécule possède quelques caractéristiques qui en font un bon désinfectant : c'est un produit à **grand pouvoir oxydant**, ce qui le rend très réactif face à la matière organique, et ce qui lui donne un vaste spectre d'activité vis à vis des micro-organismes : il a **un bon pouvoir bactéricide, virucide, et même sporicide**. Son mécanisme d'action consiste en l'oxydation des groupes sulfhydryles et des doubles liaisons des enzymes des bactéries, en provoquant une modification de la conformation des protéines formant ces enzymes, avec la perte de leur fonction, et par conséquent, la mort cellulaire.



2) La luciférase bactérienne et stress oxydatif.

Ce type de réaction nécessite 4 composés : la luciférase bactérienne ; la flavine mononucléotide réduite ou FMNH₂ qui sert de luciférine ; un aldéhyde utilisé comme cofacteur RCHO (en biochimie, un cofacteur est une substance chimique non protéique, mais qui est nécessaire à l'activité biologique de celle-ci) ; et l'oxygène moléculaire O₂.



La luciférase bactérienne est sensible au stress oxydatif. En relisant la bibliographie, nous avons vu que des concentrations en H₂O₂ ont été utilisées pour voir l'intensité de la bioluminescence. En

effet des concentrations de H₂O₂ ont été utilisés de 50 µM, 100 µM et 250 µM.

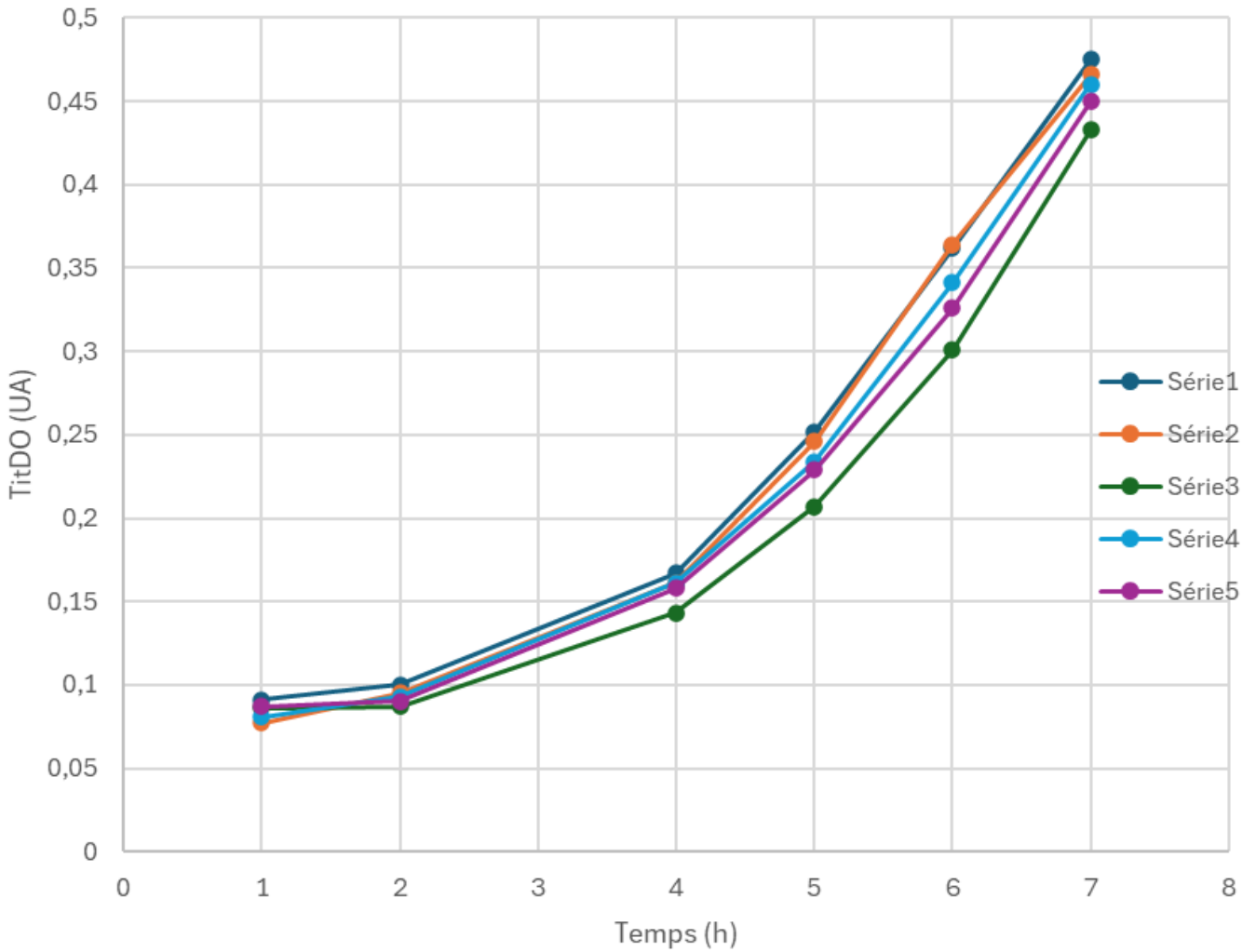
3) Protocole Expérimental

Pour réaliser cette expérience, j'ai lancé 5 cultures bactériennes avec 200µL de la suspension mère de bactérie bioluminescente et 10mL de milieu classique. J'ai transféré 2mL de cette culture dans des cuves de spectro. J'ai ensuite fait des mesures de DO de cette culture au bout de 1h d'incubation.

Après la lecture de la DO j'ai ajouté le H₂O₂ aux concentrations voulus dans les cuves. j'ai préalablement dilué au 1/1000ème dans un erlenmeyer pour avoir une concentration de 8,79mM. Puis j'ai ajouté 11µL, 22µL et 55µL dans les cuves de spectro pour être à 50µM, 100µM et 250µM. et j'ai mesuré les DO toutes les heures.

DO Témoin 1	DO témoin 2	DO avec 50µM	DO avec 100µM	DO avec 250µM
DO 1h= 0,091	DO 1h= 0,071	DO 1h= 0,081	DO 1h= 0,087	DO 1h= 0,086
DO 2h= 0,100	DO 2h= 0,095	DO 2h= 0,093	DO 2h= 0,090	DO 2h= 0,087
DO 3h= /	DO 3h= /	DO 3h= /	DO 3h= /	DO 3h= /
DO 4h= 0,163	DO 4h= 0,161	DO 4h= 0,161	DO 4h= 0,158	DO 4h= 0,143
DO 5h= 0,252	DO 5h= 0,246	DO 5h= 0,234	DO 5h= 0,229	DO 5h= 0,207
DO 6h= 0,362	DO 6h= 0,364	DO 6h= 0,341	DO 6h= 0,326	DO 6h= 0,301
DO 7h= 0,475	DO 7h= 0,466	DO 7h= 0,46	DO 7h= 0,45	DO 7h= 0,433

Courbe de croissance en fonction du H2O2



Série 1: Témoins sans H2O2 Série 2 : Témoins sans H2O2 Série 3: 50µM de H2O2 Série 4 : 100µM de H2O2 Série 5: 250 µM de H2O2

On observe que le H2O2 a une influence sur la croissance de la bactérie. En effet, la DO baisse en fonction de la concentration du H2O2. A ces concentrations, le H2O2 ne tue pas la bactérie mais ralenti sa croissance. Cependant, nous n'avons pas observé de différences sur la bioluminescence de la bactérie. Je pense que l'enzyme a besoin d'un cofacteur (FMN) pour pouvoir réagir à l'oxydation du H2O2. C'est une réaction d'oxydo-réduction.