

I. REMPLACER LES NUMEROS EN GRAS PAR LES MOTS CORRECTS DANS LE TEXTE SUIVANT :

D'après les travaux phylogénétiques de Woese on peut séparer les organismes vivants en trois grands groupes : Les 1, les 2 et les 3. Une différence essentielle du premier groupe d'organismes par rapport aux deux autres est la composition de la 4, elle est constituée d'5 glycériques d'alkyl 6 dans le premier cas et d'7 glycériques d'8 dans le deuxième cas. Une autre caractéristique du premier groupe est de se développer dans des conditions 9 : 10 pour les méthanogènes, de haute salinité pour les 11 et de haute température et bas pH pour les 12. Dans le deuxième groupe il y a des bactéries qui se distinguent par la composition relativement simple de leur 13 puisqu'elle est composée de 14 (ou 15) et des acides 16. Ce qui les rend très sensibles au 17, enzyme qui détruit leur 18, les bactéries devenant alors des 19. La coloration de 20 teint leur 21 en 22 dû à l'absence de 23, c'est ce qui permet de les dénommer bactéries 24. A la grande différence des deux premiers groupes, les organismes du troisième groupe possèdent un 25 bien délimité par une 26. Ce groupe d'après Whittaker comprend quatre règnes : 27, 28, 29 et 30. Une caractéristique primordiale des organismes de ce groupe est de posséder des 31 spécialisés : les 32 réalisent la 33 grâce à l'oxygène et les 34 réalisent la 35 grâce à la 36 et au dioxyde de carbone. Selon la théorie de l'37 en série proposée par Margulis ces 38 seraient d'anciennes 39 pour les premiers et d'anciennes 40 pour les seconds. Des cellules 41 géantes 42 des cellules aérobies et des cellules 43, tirant ainsi parti de leur 44 convertisseur d'énergie. En revanche, les bactéries endocytées profitent des avantages conférés par leur hôte. Ce phénomène 45 est très probablement à l'origine des cellules qui constituent des nombreuses espèces aujourd'hui.

II. VRAI OU FAUX

1. Tous les microorganismes sont des bactéries.
2. Les bactéries ont besoin des mitochondries pour réaliser la respiration.
3. L'ADN des plasmides est totalement dépourvu de fonction.
4. L'anatoxine est une exotoxine dont le pouvoir toxique a été atténué ou détruit par dénaturation mais qui conserve son pouvoir antigénique.
5. Les mycoplasmes sont les plus petites cellules eucaryotes qu'on puisse rencontrer.
6. Les ribosomes des bactéries et des levures n'ont pas la même structure.
7. L'appareil de Golgi est le chromosome unique et nu que contient une cellule procaryote ; dépourvu de nucléole et de membrane nucléaire.
8. La fermentation alcoolique est essentiellement réalisée par les entérobactéries.
9. Le temps de génération ou de doublement est le temps nécessaire pour qu'une population de microorganismes diminue de moitié.
10. Si la paroi est présente, les bactéries sont dites Gram + ; si elle est absente, elles sont dites Gram -.
11. Les archéobactéries et les eubactéries représentent deux lignées évolutives distinctes des procaryotes.
12. La pénicilline est un métabolite primaire produit par une bactérie lactique.
13. Le lysozyme a pour spécificité d'hydrolyser les liaisons $\beta 1 \rightarrow 4$ du peptidoglycane.
14. L'acide dipicolinique est le constituant majeur de l'enveloppe des endospores, responsable de leur thermorésistance.
15. Les bactéries présentant une morphologie sphérique sont appelées vibrions.
16. Les procaryotes peuvent se nourrir par phagocytose.
17. Une bactérie est dite auxotrophe lorsqu'elle se multiplie seulement en milieu liquide.
18. Les acides teichoïques sont des composants caractéristiques de la paroi des bactéries à Gram positif.
19. Comme chez les bactéries, le noyau des levures est en fait un « appareil nucléaire » ne présentant aucune enveloppe nucléaire.
20. L'appertisation est le procédé qui permet la conservation prolongée des microorganismes préalablement placés dans des récipients hermétiquement fermés.
21. Les acaryotes sont des bactéries dépourvues de membrane.
22. La production d'acide sulfhydrique (H_2S) chez certaines bactéries peut être considérée comme une respiration de soufre.
23. Un halophile est une archéobactérie capable de se développer dans des milieux contenant des concentrations élevées d'acide sulfurique.
24. La capsule est l'enveloppe de nature glucidique, plus ou moins épaisse et plus ou moins visqueuse entourant certaines bactéries.
25. Les archéobactéries sont des bactéries qui se développent dans les sites archéologiques.
26. Pasteur a mis au point le vaccin contre la rage sans aucune connaissance sur le virus.
27. Les cyanobactéries sont des procaryotes qui réalisent la photosynthèse et produisent de l'oxygène.
28. On peut appeler protoplaste une cellule bactérienne entourée seulement de sa membrane plasmique.
29. Toutes les cellules eucaryotes possèdent un noyau à double membrane qui enferme l'essentiel de leur matériel génétique.
30. Le terme « auxotrophe » désigne les microorganismes capables de se développer avec du gaz carbonique comme seule source de carbone.
31. D'après Woese, il existe trois grands groupes cellulaires : les archéobactéries, les cyanobactéries et les mycètes.
32. Le lysozyme endommage fortement la paroi des bactéries Gram -.
33. La stérilisation est le procédé d'élimination partielle des microorganismes pathogènes qui consiste à porter les aliments à une température inférieure à $40^{\circ}C$ afin de ne pas altérer leurs propriétés organoleptiques.
34. Certaines bactéries n'ont besoin ni de source de carbone, ni de source d'azote dans leur milieu de culture ; elles sont alors dites prototrophes.
35. Certains vaccins sont obtenus grâce à l'utilisation des souches bactériennes atténuées.
36. Les microorganismes saprophytes vivent dans la nature se nourrissant de la matière organique en décomposition qu'ils trouvent dans l'environnement.
37. Le terme « bioréacteur » doit être préféré à celui de « fermenteur », car la culture d'un microorganisme n'est pas forcément destinée à la production d'un métabolite par voie fermentaire.
38. La respiration est un processus particulier de production d'énergie, caractérisé par une oxydation incomplète du substrat et réalisé en anaérobiose.
39. Les rayons UV ne peuvent stériliser que des milieux translucides sur une faible épaisseur.
40. La fumigation avec du formol est la meilleure façon de désinfecter une pièce.
41. Tous les antibiotiques découverts sont utilisables en thérapeutique.
42. D'après Whittaker, les archéobactéries appartiennent au règne des prototistes.
43. La synthèse des métabolites secondaires chez les microorganismes a lieu pendant la phase de croissance exponentielle.
44. Les protozoaires sont tous des procaryotes.
45. Une des caractéristiques des champignons filamenteux est de réaliser la photosynthèse.
46. La muréine est aussi appelée peptidoglycane.
47. Les archéobactéries thermoacidophiles se développent près des sources volcaniques.
48. Les bactéries photolithotrophes se développent fortement à l'obscurité et en anaérobiose.
49. Un milieu de culture riche en sources d'azote et de carbone provoque l'autolyse des microorganismes.
50. La présence de lipides composés d'éther glycériques d'alkyl isoprénoides dans leur membrane est une caractéristique des archéobactéries.

TD MICROBIOLOGIE GENERALE

III NOMENCLATURE BINOMIALE

- I. Dans la nomenclature binomiale, les noms, souvent composés, des genres des microorganismes donnent généralement des informations concernant les caractéristiques morphologiques, physiologiques, métaboliques et/ou du type d'habitat (environnement) où les microorganismes se développent.

Ci-dessous, quelques noms de genres fréquemment cités en microbiologie :

1) <i>Alcaligenes</i>	10) <i>Helicobacter</i>	19) <i>Neurospora</i>	28) <i>Spirochaeta</i>
2) <i>Archaeoglobus</i>	11) <i>Hydrogenobacter</i>	20) <i>Nitrosomonas</i>	29) <i>Staphylococcus</i>
3) <i>Aspergillus</i>	12) <i>Lactobacillus</i>	21) <i>Penicillium</i>	30) <i>Streptococcus</i>
4) <i>Bacillus</i>	13) <i>Megabacterium</i>	22) <i>Pseudomonas</i>	31) <i>Thermococcus</i>
5) <i>Bifidobacterium</i>	14) <i>Methanobrevibacter</i>	23) <i>Pyrococcus</i>	32) <i>Thermoplasma</i>
6) <i>Chlorobium</i>	15) <i>Methanococcus</i>	24) <i>Rhizobium</i>	33) <i>Thermoproteus</i>
7) <i>Desulfovibrio</i>	16) <i>Methanogenium</i>	25) <i>Ruminococcus</i>	34) <i>Vibrio</i>
8) <i>Fusobacterium</i>	17) <i>Methanospirillum</i>	26) <i>Saccharomyces</i>	35) <i>Zymomonas</i>
9) <i>Halobacterium</i>	18) <i>Micrococcus</i>	27) <i>Spirillum</i>	

Ces noms, dérivés généralement du latin et du grec signifient :

a) « ancien »	k) « fendu en deux »	w) « le sucre »	ii) « qui vibre, qui bouge »
b) « baguette, bâtonnet »	l) « ferment »	x) « long cheveu »	jj) « racine »
c) « bâton »	m) « feu »	y) « nerf, nerveux »	kk) « réduit le soufre »
d) « chaîne qui se tord facilement »	n) « fuseau »	z) « panse »	ll) « sel »
e) « champignon »	o) « gaz de marais »	aa) « petit bâton »	mm) « soufre »
f) « chaud, chaleur »	p) « globe, sphère »	bb) « petit pinceau »	nn) « spore »
g) « chose façonnée, une forme »	q) « goupillon »	cc) « petit »	oo) « une spirale »
h) « court »	r) « grain de forme arrondie »	dd) « petite spirale »	pp) « unité »
i) « du lait »	s) « grand »	ee) « producteur de nitrites »	qq) « vert »
j) « faux, fausse »	t) « grappe de raisin »	ff) « producteur de »	rr) « vie »
	u) « hélice, spirale »	gg) « qui change de forme »	
	v) « la soude »	hh) « qui produit de l'eau »	

- i) Associez les numéros des genres des microorganismes aux lettres de leur signification.
- ii) Chacun de ces microorganismes appartient à l'un des trois domaines du vivant: ARCHEA (**A**), BACTERIA (**B**) ou, EUKARYA (**E**). Associez aussi, à chaque numéro de votre liste, la lettre majuscule correspondante (**A**, **B**, ou **E**).
- iii) Quelles caractéristiques différencient les microorganismes appartenant à chacun de ces trois domaines. ?

TD MICROBIOLOGIE GENERALE

IV. QCM

Choisir la proposition juste

Les bactéries sont des cellules eucaryotes
 Les bactéries ne possèdent pas d'ADN

Les moisissures ne comportent pas de noyau
 Les protozoaires sont des cellules eucaryotes

Un seul élément n'est pas obligatoire chez la bactérie lequel ?

Le périplasme La paroi

Les ribosomes La capsule

Une seule proposition concernant les bactéries est vraie laquelle ?

Ce sont des cellules
 Elles contiennent une mitochondrie

Ce sont des enzymes
 Elles sont toujours nuisibles

Un virus

est détruit par les antibiotiques
 peut infecter une bactérie

peut se multiplier en dehors d'une cellule
 est une cellule de très petite taille

La coloration de Gram permet de

identifier les bactéries immobiles
 fixer les bactéries sur la lame

distinguer les coques des bacilles
 Aucune proposition précédente est juste

Dans la fabrication du vin, on utilise :

Des virus Des moisissures

Des levures Des staphylocoques

Quel est l'ordre juste, en partant du plus petit au plus grand microorganisme ?

Bactériophage / paramécie / bactérie
 Bactérie / bactériophage / paramécie

Bactériophage / bactérie / paramécie

Les bactéries lactiques sont :

Aérobies Méthanogènes

Prototrophes Anaérobies

D'après les travaux phylogénétiques de Woese on peut séparer les organismes vivants en trois grands domaines :

Acaryotes, Protozoaires et Eucaryotes
 Eubactéries, Archéobactéries et Eucaryotes

Mycobactéries, Eubactéries et Protistes
 Archéobactéries, Mycètes et Protistes

Les acides téichoïques sont des constituants caractéristiques de la paroi des :

bactéries gram + archéobactéries

endospores bactéries gram -

La « peste noire » pandémie qui a sévi en Europe entre 1346 et 1352 a été provoquée par un bacille du genre :

Bacillus *Clostridia*

Yersinia VIH

La présence de lipides composés d'éthers d'alkyl isoprénoides dans leur membrane est une caractéristique des :

Procaryotes Protozoaires

Eubactéries Archéobactéries

Un médicament contenant du lysozyme et de la papaïne agit sur les bactéries au niveau de :

la membrane la muréine

l'ADN la chlorophylle

L'endosymbiose en série a permis l'association de plusieurs microorganismes procaryotes conduisant à la formation d'un microorganisme :

Acaryote Procaryote

Protocaryote Eucaryote

Les microorganismes appelés levures sont des :

Eubactéries Protozoaires

Mycètes Archéobactéries

Parmi les organismes suivants, citez les procaryotes :

Clostridium botulinum *Lactobacillus casei*

Saccharomyces cerevisiae

Parmi les organismes suivants, citez les eucaryotes :

Streptomyces albus *Taenia solium*

Escherichia coli

Les ribosomes des bactéries et des levures sont :

Similaires Différents

Les photochimioorganotrophes ont besoin :

d'une source de carbone minéral d'énergie lumineuse

d'une source de carbone organique

Dans un milieu de culture, la peptone est une source :

de carbone d'acides aminés

de sels minéraux

La fermentation du glucose libère autant d'énergie que son oxydation par respiration aérobie

Vrai Faux

Un bactériophage peut contaminer tout type de cellule :

Vrai Faux

Un composé qui empêche le développement des champignons est :

Bactéricide Bactériostatique Fongistatique

Les bactéries lactiques sont nécessaires dans la fabrication du :

fromage saucisson jus de fruits

Les bactéries lactiques sont nuisibles dans la fabrication :

des fromages de la choucroute du jus de pomme

Les germes suivants sont-ils responsables d'infections alimentaires ?

Salmonella *Listeria* *Lactobacillus*

***Yersinia pestis* est un bacille Gram -. Ainsi le traitement de la maladie qu'il provoque par la pénicilline est :**

Très efficace Vaccinant Immunisant Pratiquement sans action

Un champignon filamenteux se développe sous la forme d'un réseau branché appelé :

Mycelium Conidiophore Chaînette Radiolaire

Le yaourt est un lait :

Pasteurisé Aromatisé Cru Fermenté

Un microorganisme se développant dans les milieux contenant des molécules organiques simples est appelé :

Procaryote Probiotique Protozoaire Prototrophe

***Clostridium botulinum* est une bactérie :**

Spiralée Sporulante Stationnaire Mycélienne

TD MICROBIOLOGIE GENERALE

- V. Dessinez schématiquement les différents éléments qui constituent les parois d'une bactérie à Gram positif et d'une bactérie à Gram négatif, en fléchant : la membrane plasmique, l'espace périplasmique, la membrane externe, les acides téichoïques, le peptidoglycane, les lipoprotéines, le glycocalix, les lipopolysaccharides.
- VI. A l'aide d'un tableau clair et simple, nommez et expliquez les différentes étapes de la coloration de Gram, décrivez aussi l'effet que chacune de ces étapes provoque sur les bactéries à Gram positif et à Gram négatif. Expliquez ensuite les différences entre les parois des bactéries à Gram positif et à Gram négatif.
- VII. *Les premiers eucaryotes apparaissent peut-être il y a 2,7 milliards d'années, et de façon à peu près certaine entre 1,8 et 2,1 milliards d'années : pendant au moins 1 milliard d'années, la terre n'a été peuplée que de procaryotes. La théorie endosymbiotique est actuellement la plus alléchante pour expliquer l'apparition des eucaryotes. Elle postule que la cellule eucaryote résulte de l'association de cellules procaryotiques. Emise dès 1905 par Merschkowsky, un visionnaire fasciné par la photosynthèse, elle a été popularisée par Margulis dans les années 1970 à propos des mitochondries et des chloroplastes, pour lesquels elle semble assez fermement établie.*

Réalisez un dessin schématique d'un microorganisme eucaryote photosynthétique, signalant les principales structures fonctionnelles d'origine endosymbiotique.

VIII. Faire correspondre les numéros et les lettres indiquant les bonnes réponses

- | | | |
|---------------------------|----|--|
| 1) Archéobactérie | A) | antibiotique produit par un champignon filamenteux. |
| 2) Autotrophe | B) | archæa dont leur métabolisme produit du méthane. |
| 3) Auxotrophe | C) | archæa isolées des sources d'eau proches de zones d'activité magmatique. |
| 4) Bacille | D) | archæa se développant dans des milieux hypersalins. |
| 5) Bactéries Gram - | E) | bactérie en forme de bâtonnet. |
| 6) Bactéries Gram + | F) | bactéries de forme sphérique s'organisant en chaînette. |
| 7) Chimiotrophe | G) | champignon ascomycète pouvant produire de l'éthanol. |
| 8) Eubactérie | H) | coloration différenciant deux types de bactéries par leurs caractères pariétaux. |
| 9) Eucaryote | I) | coloration permettant d'identifier les bactéries acido-alcool résistances. |
| 10) Eumycètes | J) | des molécules organiques sont leur donneur d'électrons. |
| 11) Fermentation | K) | genre de bactéries filamenteuses. |
| 12) Gram | L) | les réactions d'oxydoréduction leurs fournissent l'énergie. |
| 13) Halophiles | M) | leur donneur d'électrons est une molécule inorganique. |
| 14) Hétérotrophe | N) | leur membrane est constituée d'éthers glycériques d'alkyl isoprénoides. |
| 15) Levure | O) | leur paroi contient de la chitine. |
| 16) Lithotrophe | P) | leur paroi contient de la muréine. |
| 17) Méthanogènes | Q) | leur paroi possède des acides mycoliques. |
| 18) Mycobactéries | R) | leur paroi possède du peptidoglycane et des acides teichoïques. |
| 19) Organotrophe | S) | leur paroi possède du peptidoglycane et une membrane externe. |
| 20) Pénicilline | T) | leur source de carbone est une molécule organique. |
| 21) Photosynthèse | U) | métabolisme utilisant l'oxygène comme accepteur d'électrons. |
| 22) Phototrophe | V) | métabolisme utilisant un accepteur d'électrons exogène autre que l'oxygène. |
| 23) Procaryote | W) | métabolisme utilisant un accepteur d'électrons organique endogène. |
| 24) Prototrophe | X) | métabolisme utilisant un donneur d'électrons minéral (i.e. H ₂ O) |
| 25) Respiration aérobie | Y) | nécessite des facteurs de croissance (i.e. molécules spécifiques complexes) |
| 26) Respiration anaérobie | Z) | se développe dans des milieux simples (e.g. milieux synthétiques) |
| 27) Streptocoques | a) | structure cellulaire pourvu d'un noyau et d'organites spécialisés. |
| 28) Streptomyces | b) | structure cellulaire sans noyau et sans autres organites. |
| 29) Thermoacidophiles | g) | utilise la lumière en tant que source d'énergie. |
| 30) Ziehl-Neelsen | d) | utilise le CO ₂ comme source de carbone. |

TD MICROBIOLOGIE GENERALE

Types trophiques et croissance bactérienne

EXERCICE 1

Afin d'étudier les besoins nutritionnels de 3 souches bactériennes A, B et C, on les ensemence sur les 3 milieux suivants :

- Milieu 1 = milieu de base :

Composants	Quantités
K ₂ HPO ₄	1 g
NaCl	1 g
KNO ₃	0,5 g
MgSO ₄ , 7 H ₂ O	0,2 g
CaCl ₂ , 2 H ₂ O	0,1 g
FeSO ₄ , 7 H ₂ O	0,01 g
Eau distillée	qsp 1 litre

On ajoute à ce milieu de base stérilisé à l'autoclave, 1 g de glucose stérile.

- Milieu 2 = milieu de base + 4 g d'hydrolysate de caséine ;

- Milieu 3 = milieu de base + 4 g d'hydrolysate de caséine + 2 g d'extrait de levure.

Les résultats obtenus après incubation sont les suivants :

	Milieu 1	Milieu 2	Milieu 3
Souche A	+	+	+
Souche B	-	+	+
Souche C	-	-	+

(+ = croissance ; - = absence de croissance)

1 - Indiquer le rôle des constituants des milieux 1, 2 et 3.

2 - Dédurre des résultats les besoins nutritionnels des 3 souches A, B et C.

EXERCICE 2

A partir d'un lait cru, une souche de *Lactobacillus bulgaricus* a été isolée.

1 - Cette bactérie est ensemencée à une température de 45°C et à pH 6,2 dans le milieu suivant :

Composants	Quantités
Glucose	1 g
K ₂ HPO ₄	10,5 g
KH ₂ PO ₄	3,5 g
NH ₄ Cl	0,5 g
MgSO ₄ , 7 H ₂ O	50 mg
CaCl ₂ , 2 H ₂ O	50 mg
FeSO ₄ , 7 H ₂ O	5 mg
MnCl ₂ , 4 H ₂ O	5 mg
Eau distillée	qsp 1 litre

TD MICROBIOLOGIE GENERALE

1.1 - Comment qualifier ce milieu de culture ?

1.2 - Aucune culture n'est alors visible. La culture apparaît lorsque l'on rajoute au milieu précédent de la riboflavine sans changer les conditions physico-chimiques. Quel est le caractère de la bactérie ainsi mis en évidence ?

1.3 - La culture en milieu additionné de riboflavine, mais à une température de 15°C est négative. Comment qualifie-t-on cette bactérie ?

2 - On suit en parallèle l'évolution de la population bactérienne en bouillon MRS (Man-Rogosa-Sharpe) incubé à 45°C et pH initial de 6,2 et l'acidification du milieu de culture par la méthode Dornic. On obtient les résultats suivants :

Temps (min)	UFC / mL	Acidité (° Dornic)
0	$1,26 \cdot 10^7$	20
15	$1,26 \cdot 10^7$	20
30	$1,54 \cdot 10^7$	20
45	$2,54 \cdot 10^7$	21
60	$3,98 \cdot 10^7$	23
75	$6,24 \cdot 10^7$	27
90	$1,13 \cdot 10^8$	30
105	$1,78 \cdot 10^8$	35
120	$2,29 \cdot 10^8$	40
135	$4,85 \cdot 10^8$	50
150	$8,00 \cdot 10^8$	60
165	$9,77 \cdot 10^8$	70
180	$9,77 \cdot 10^8$	75
195	$8,00 \cdot 10^8$	78
210	$6,23 \cdot 10^8$	80
225	$4,85 \cdot 10^8$	82
240	$3,97 \cdot 10^8$	82

2.1 - Tracer sur le même graphique les courbes présentant l'évolution de la croissance et de l'acidité en fonction du temps.

2.2 - Définir et calculer le taux de croissance et le temps de génération.

2.3 - Pourquoi y-a-t-il acidification du milieu au cours de la croissance ?

2.4 - Si on maintient artificiellement le pH du milieu de culture à une valeur de 6,2, la concentration cellulaire reste constante et égale à $9,77 \cdot 10^8$ au delà de 180 minutes. Pourquoi ?

2.5 - Expliquer les différences observées au delà de 180 minutes dans les deux expériences (2.1 et 2.4).

TD MICROBIOLOGIE GENERALE

EXERCICE 3

Lactobacillus plantarum est utilisé comme complément alimentaire pour stabiliser la flore intestinale de l'animal et diminuer les risques d'infection microbienne.

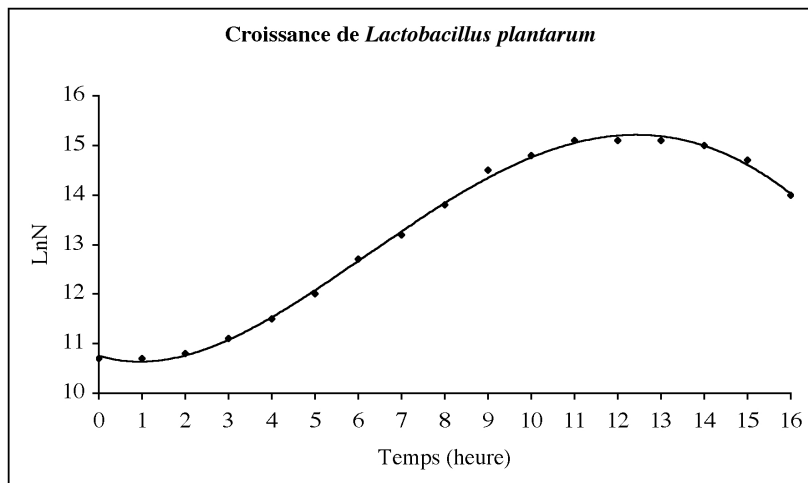
1 - *Lactobacillus plantarum* est un micro-organisme saprophyte. Définir le terme saprophyte.

2 - *Lactobacillus plantarum* est ensemencé sur deux milieux 1 et 2, dont la composition est définie dans le tableau ci-dessous pour un litre de milieu.

Composants	Milieu 1	Milieu 2
Extrait de levure	-	5 g
Glucose	5 g	5 g
NH ₄ Cl	1 g	1 g
K ₂ HPO ₄	1 g	1 g
MgSO ₄ , 7 H ₂ O	200 mg	200 mg
FeSO ₄ , 7 H ₂ O	10 mg	10 mg
CaCl ₂ , 2 H ₂ O	10 mg	10 mg
Mn, Mo, Cu, Co, Zn	0,02 à 0,05 mg de chaque	0,02 à 0,05 mg de chaque

Après incubation, seul le milieu 2 présente une culture. Commenter ce résultat. En déduire le type de besoins nutritifs de *Lactobacillus plantarum*. Préciser le type trophique de cette souche vis-à-vis de la source de carbone. Quelle expérience complémentaire faudrait-il faire pour le confirmer ?

3 - On cultive *Lactobacillus plantarum* dans le milieu 2 non renouvelé durant 24 heures pour établir la courbe de croissance suivante.



Localiser les différentes phases de la croissance. Déterminer le temps de génération et le taux de croissance.

EXERCICE 4

La bactérie *Escherichia coli* a un temps de génération de 20 minutes. On la laisse croître pendant 48 heures (il n'y a pas de phase de latence). La masse moyenne de cette bactérie est de 2 picogrammes. La masse de la Terre est de $6 \cdot 10^{21}$ tonnes. Si aucun élément n'est limitant, quel serait le rapport entre la masse de cette culture et celle de la Terre ?

EXERCICE 5

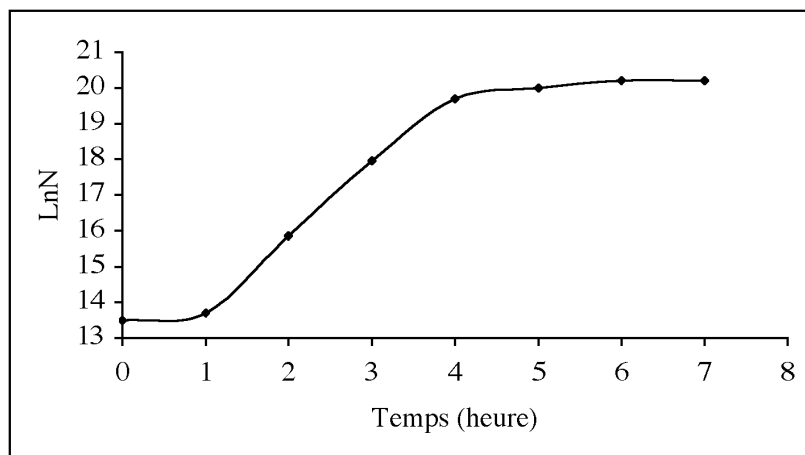
La croissance d'*Escherichia coli* en milieu non renouvelé est étudiée sur un milieu adéquat et dans des conditions favorables.

1 - Le nombre de bactéries par mL est obtenu après dilution de la suspension initiale et inoculation sur milieu nutritif en boîte de Pétri. On obtient les résultats suivants :

Dilution	Volume inoculé (mL)	Nbre de colonies / boîte
10^{-2}	0,1	951
10^{-3}	0,1	105
10^{-4}	0,1	6

Calculer le nombre N_0 de bactéries par mL dans la suspension initiale.

2 - Des mesures effectuées à des intervalles de temps réguliers ont permis de construire la courbe de croissance suivante :



2.1 - Nommer les différentes phases dans l'ordre chronologique et donner leur durée.

2.2 - Expliquer comment varie la vitesse spécifique de croissance en fonction du temps pour les différentes phases. Tracer la courbe $\mu_x = f(t)$.

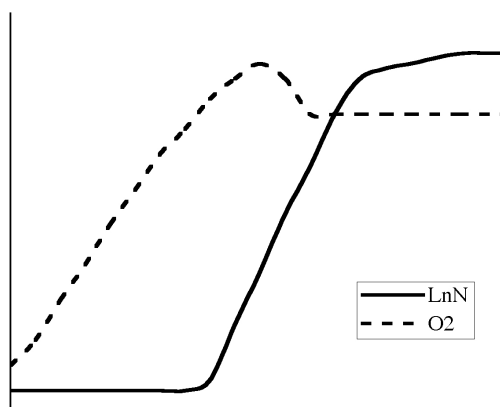
2.3 - Des mesures effectuées aux temps t_1 et t_2 ont donné les résultats suivants :

$$t_1 = 2 \text{ heures} \quad \ln N_1 = 15,85$$

$$t_2 = 3 \text{ heures} \quad \ln N_2 = 17,95$$

Justifier le choix des temps t_1 et t_2 . En déduire le temps de génération de la souche d'*E. coli* dans ces conditions.

3 - Une analyse plus approfondie de la première phase de la croissance permet de suivre simultanément l'évolution de la consommation en oxygène. On obtient les résultats suivants :



Interpréter les résultats de cette analyse et en tirer les conclusions relatives à cette première phase.

TD MICROBIOLOGIE GENERALE

EXERCICE 6

1 - *Bacillus subtilis* est une bactérie hétérotrophe. On désire cultiver une souche d'un mutant auxotrophe pour le tryptophane (notée Trp⁻) de *B. subtilis*. On dispose de deux milieux minima dont les compositions sont données dans le tableau ci-dessous :

Milieu 1		Milieu 2	
Chlorure d'ammonium	1 g	Chlorure d'ammonium	1 g
Monohydrogénophosphate de potassium	1 g	Monohydrogénophosphate de potassium	1 g
Sulfate de magnésium	0,2 g	Sulfate de magnésium	0,2 g
Sulfate de fer	0,01 g	Sulfate de fer	0,01 g
Chlorure de calcium	0,01 g	Chlorure de calcium	0,01 g
Eau distillée	Qsp 1 L	Glucose	5 g
Dioxyde de carbone	Qté suffisante	Eau distillée	Qsp 1 L

1.1 - Définir un milieu minimum.

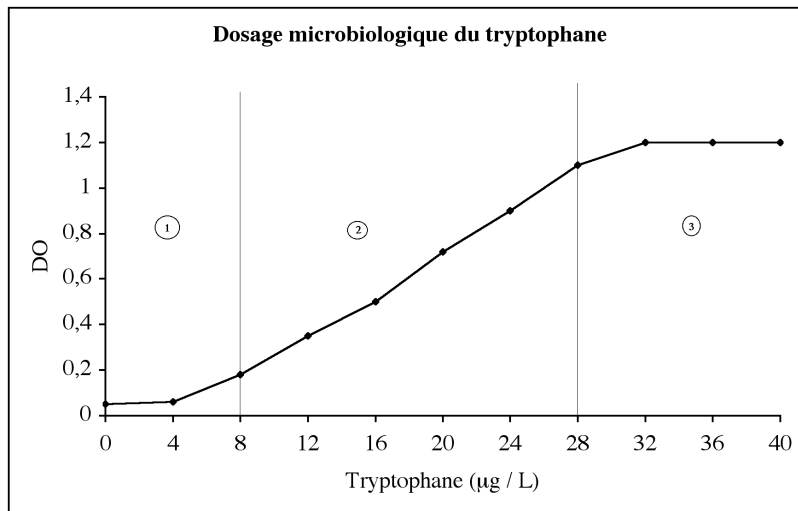
1.2 - Lequel des deux milieux convient au mutant Trp⁻ et sous quelle condition pourra-t-on le cultiver ? Justifier les réponses en définissant les termes hétérotrophe et auxotrophe.

1.3 - Nommer et définir le type trophique d'un micro-organisme capable de cultiver sur l'autre milieu.

1.4 - Justifier la présence de chaque composant dans les deux milieux.

2 - On se propose de doser le tryptophane microbiologiquement.

2.1 - Proposer un protocole pour doser cet acide aminé afin d'obtenir le graphe ci-dessous. Quelle doit être la particularité du milieu de culture ?



2.2 - Pourra-t-on utiliser la souche mutante Trp⁻ ou la souche sauvage de *B. subtilis* ?

2.3 - Quelle est la caractéristique de la partie 2 de la courbe ? En justifier l'intérêt pour le dosage. Comment peut-on qualifier le tryptophane dans cette partie ?

TD MICROBIOLOGIE GENERALE

EXERCICE 7

On détermine le taux de croissance d'une souche de *Salmonella typhimurium* dans un milieu minimum de culture additionné de solutions de tryptophane de concentrations croissantes. Les résultats expérimentaux après 18 h d'incubation à 37°C sont présentés dans le tableau suivant :

Tube de culture	Tryptophane (mg.L ⁻¹)	μ_{expo} (h ⁻¹)
1	0	0,00
2	6	0,01
3	9	0,22
4	12	0,70
5	15	1,20
6	18	1,60
7	21	2,05
8	24	2,50
9	27	2,80
10	30	2,80

- 1 - Tracer la courbe μ_{expo} en fonction de la concentration en tryptophane du milieu.
- 2 - Commenter et interpréter cette courbe.
- 3 - Que représente le tryptophane pour *S. typhimurium* ?
- 4 - Déduire le type trophique de *S. typhimurium*.
- 5 - On reproduit l'expérience dans les mêmes conditions en remplaçant la solution de tryptophane par de l'hydrolysate protéique. En phase exponentielle de croissance, on dénombre :
 - à t = 6 h : $6,32 \cdot 10^6$ bactéries / mL
 - à t = 8 h : $8,47 \cdot 10^7$ bactéries / mLCalculer le taux de croissance et le temps de génération de la souche.