

*République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*

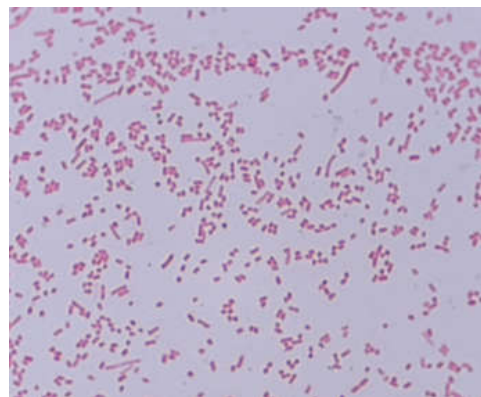
*Université A. Mira Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie*

Polycopié de cours pédagogique au profit des étudiants de deuxième année Licence (L2)

Sciences de la Nature et de la Vie

Travaux Dirigés de Microbiologie Générale

Dr. MAIRI Assia



Préambule

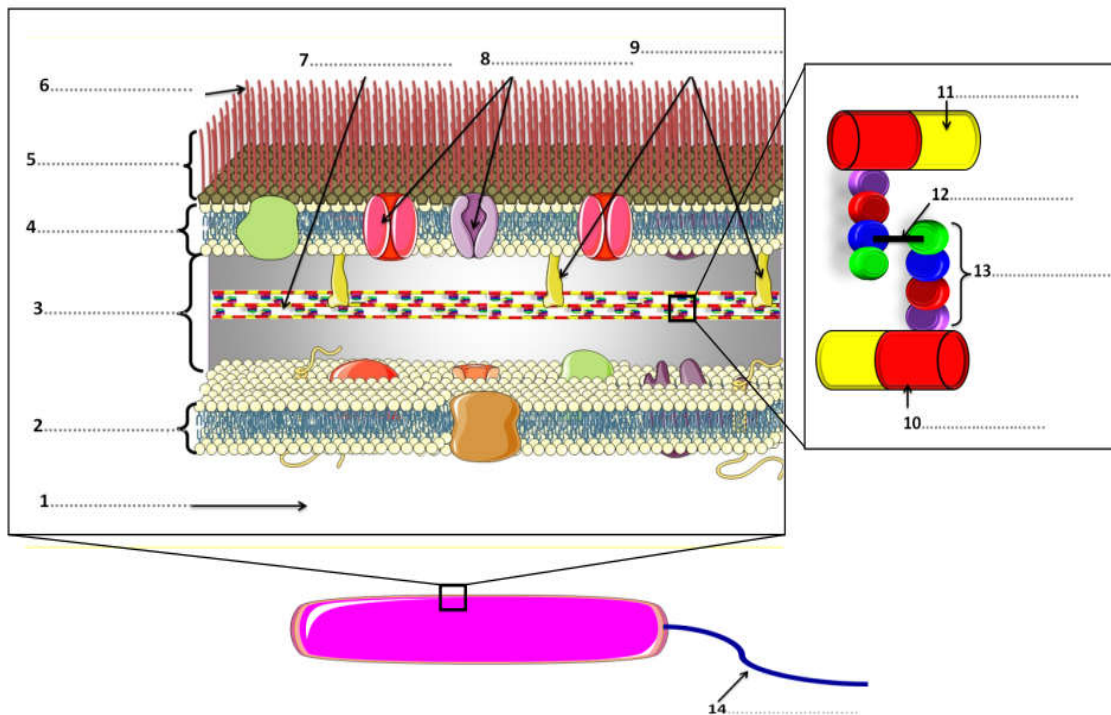
Bienvenue dans ce polycopié de cours dédié aux travaux dirigés de microbiologie ! Destiné aux étudiants de deuxième année de licence SNV, ce document regroupe une série d'exercices couvrant divers aspects de la matière, tels que la structure de la cellule bactérienne, la nutrition et la croissance, les agents antimicrobiens, et bien d'autres sujets encore. Les exercices ont été conçus de manière variée, incluant des QCM, des remplissages de blancs, des questions vrai ou faux, et d'autres formats pour offrir une expérience d'apprentissage diversifiée. Nous espérons que ce polycopié vous aidera à mieux comprendre et à apprendre efficacement la microbiologie.

Partie 1 : Exercices

I. Structure Bactérienne

I.1. Exercices

Exercice N°1 : La bactérie *Pseudomonas aeruginosa* est responsable de diverses infections chez l'Homme. Dans le but d'étudier sa structure, on vous propose la figure suivante:



1. A quoi correspondent les chiffres de 1 à 14 (complétez sur la figure ci-dessus) ?
2. Préciser la forme, le type de ciliature ainsi que le résultat expérimental de la coloration de Gram sur cette bactérie.
 - La forme :
 - Type de ciliature :
 - Résultat expérimental de la coloration de Gram :
3. L'élément de structure 2 représenté sur la figure joue un rôle dans les échanges cellulaires. Expliquez les termes suivants:
 - Uniport :
 - Symport :
 - Antiport :
4. Complétez: L'élément 14 (sur la figure) est de nature..... Il joue un rôle principal dans la.....et également un rôle dans le..... Ce

dernier se traduit par un changement de rotation duen présence d'une substance ou

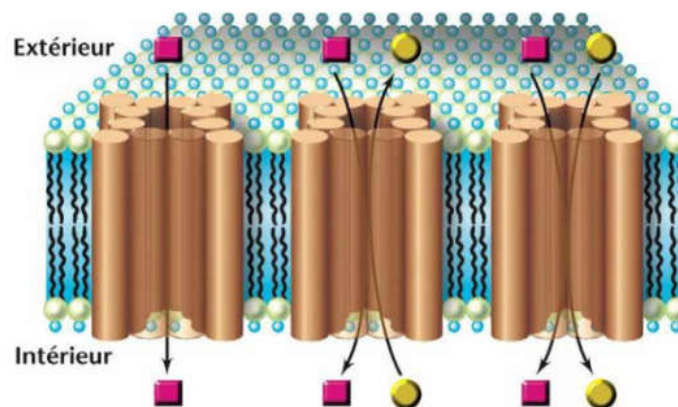
Exercice N°2

A) La paroi

Pour mettre en évidence les fonctions de la paroi, on peut utiliser lepour détruire (par hydrolyse au niveau des liaisons β 1-4 entre et). On obtient par ce traitement des avec des bactéries à Gram positif, et des avec des bactéries à Gram négatif lorsque les cellules sont placées dans des conditions

B) Membrane plasmique

1. Donnez la principale différence entre une membrane des procaryotes et des eucaryotes.
2. Quels sont les types de transport membranaire représenté dans la figure ci-dessus ?



Exercice N°3 : Une expérience a été réalisée avec *Bacillus megaterium* (bacille à Gram positif) et *Escherichia coli* (coccobacille à Gram négatif), comme suit :

- Tube 1: *B. megaterium* + saccharose à 2 mol/L + lysozyme
- Tube 2: *B. megaterium* + eau distillée + lysozyme
- Tube 3: *E. coli* + saccharose à 2 mol/L + lysozyme
- Tube 4: *E. coli* + eau distillée + lysozyme

Ces tubes sont mis en incubation 2 minutes à 37°C.

1. Interpréter les résultats obtenus dans chaque tube en justifiant vos réponses.
2. Par la suite, ces 4 suspensions ont été transférées sur 4 boîtes de gélose nutritive puis incubées.
 - 2.1. Interpréter les résultats obtenus en justifiant vos réponses.

2.2. Quel est l'intérêt de cette expérience ?

3. Les mycoplasmes ne sont pas sensibles au lysozyme. Pourquoi ?

Exercice N°4:

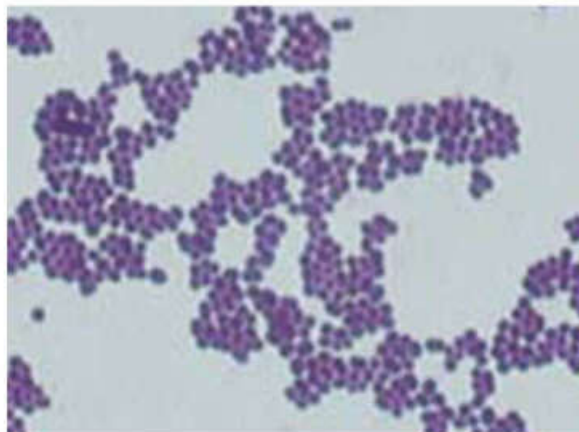
1. Quel est le but de la fixation préalable lors de la coloration de Gram ?

2. Donner dans l'ordre les différentes étapes de la coloration de Gram en citant le nom des réactifs utilisés.

3. De quelle couleur apparaît une bactérie à Gram positif et Gram négatif après coloration de Gram ? Justifier.

4. Peut-on appliquer la coloration de Gram à la bactérie *Mycobacterium tuberculosis* ? Justifier votre réponse. Proposer une autre coloration pour cette bactérie.

Exercice N°5: L'observation de l'échantillon d'un patient X sous le microscope à fond noir a fourni au technicien des indices sur l'identité du microbe à l'origine de son infection. Cependant, plus d'informations sont nécessaires pour un diagnostic concluant. Le technicien décide de faire une coloration de Gram de l'échantillon. Cette technique est couramment utilisée comme première étape dans l'identification des bactéries pathogènes. Après avoir terminé la procédure de coloration de Gram, le technicien regarde la lame sous le microscope à fond clair et obtient les résultats montrés dans la figure ci-dessous.



1. Indiquer l'intérêt de la coloration de Gram

2. Décrire les caractéristiques de cette bactérie.

3. Ces bactéries sont-elles Gram-positif ou Gram-négatif (Justifier votre réponse) ?

4. Qu'est-ce que cela révèle sur leur paroi cellulaire ?

5. A l'aide d'un tableau, comparer entre la paroi des bactéries à Gram positif et celle des bactéries à Gram négatif ?

6. Dessiner et donner le nom de six différentes formes et associations bactériennes qu'on peut observer après coloration de Gram.

Exercice N°6 :

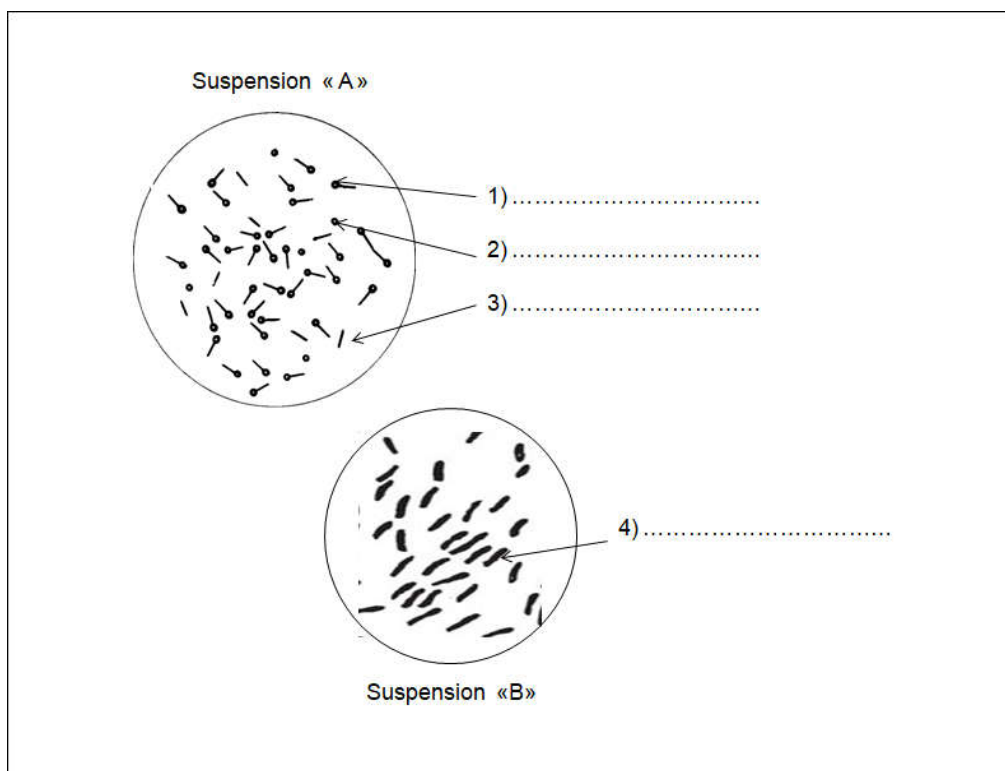
Lactobacillus bulgaricus est un bacille de grande taille à Gram positif.

1. Schématiser la structure de la paroi de ce bacille.
2. Action du lysozyme sur cette paroi.
 - 2.1. Donner une définition du lysozyme en précisant son site d'action au niveau de la paroi.
 - 2.2. Qu'advient-il des bactéries traitées au lysozyme placées dans de l'eau distillée ? Justifier.
 - 2.3. Qu'advient-il des bactéries traitées au lysozyme placées dans de l'eau de mer? Justifier.
 - 2.4. Dégager de ces deux expériences les rôles de la paroi.

Exercice N°7 : Une suspension de *Clostridium tetani* est laissée 15 jours à température de laboratoire : on l'appelle suspension A. Une suspension B est préparée à partir d'une culture jeune de 24 heures.

1. On effectue une coloration de Gram respectivement sur les suspensions A et B. On obtient les résultats de la figure ci-dessous.

1.1. Annoter les schémas de la figure.



1.2. Quel phénomène biologique a eu lieu dans la suspension A ? Citer les différentes étapes.

2. On chauffe à 80°C pendant 10 minutes les suspensions A et B. On ensemence ensuite 0,1mL de chaque suspension chauffée sur un milieu d'isolement approprié. Après incubation, on observe de très nombreuses colonies sur l'isolement fait à partir de suspension A et une colonie sur l'isolement fait à partir de la suspension B.

2.1. D'après ces résultats, que pouvez-vous déduire comme priorité des formes bactériennes apparues dans la suspension A? A quelles caractéristiques est liée cette propriété ?

2.2. Quel phénomène s'est-il produit lorsque la suspension A et B ont été ensemencées ?

Exercice N°8 : La virulence d'une souche sauvage de *Bacillus anthracis* est due à la présence d'une capsule et à la production d'exotoxines.

1. La souche sauvage de *B. anthracis* cultivée sur deux milieux différents donne les résultats suivants :

Milieu de culture	Observation microscopique
Milieu minimum	Bactérie non capsulée
Gélose au sang	Bactérie capsulée

1.1. L'observation microscopique de *B. anthracis* prélevées de sang humain montre des bactéries capsulées. Quelle explication peut-on donner ?

1.2. La capsule augmente le pouvoir pathogène de *B. anthracis*. Expliquer pourquoi.

1.3. Donner la composition de cette capsule ? En quoi est-elle différente des autres capsules bactériennes ?

2. Le traitement d'une infection due à *B. anthracis* repose sur une antibiothérapie à base de pénicilline. Donner la cible bactérienne de la pénicilline.

3. *B. anthracis* survie dans l'environnement sous forme de spores.

3.1. Donner un schéma légendé d'une spore bactérienne.

3.2. Citer 3 rôles majeurs d'une spore bactérienne.

Exercice N°9 : Certaines bactéries se différencient vers une forme de résistance métaboliquement inactive, appelée spore.

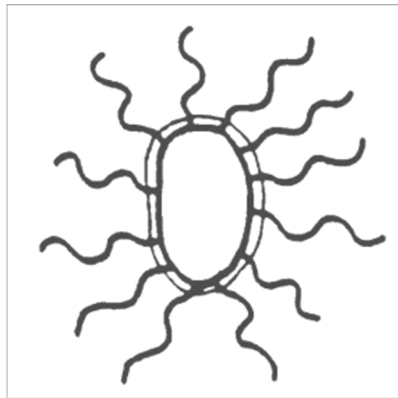
1. Donner les différents types de spores bactériens
2. Citer au moins trois conditions pour qu'une bactérie sporule
3. Indiquer si toutes les bactéries peuvent sporuler. Donner un exemple d'une bactérie sporulée.

Exercice N°10 : *Haemophilus influenzae*, petit bacille à Gram négatif, et *Streptococcus pneumoniae*, diplocoque à Gram positif, présentent quelques analogies et différences de structure. Ces deux espèces possèdent fréquemment une capsule.

1. En donner la définition de la capsule et la situer dans la cellule bactérienne. Préciser la nature chimique de la capsule de *S. pneumoniae*.
2. Pour chacune des deux espèces on peut définir plusieurs sérotypes. Pourquoi?
3. Donner deux rôles des capsules.
4. Les bactéries capsulées sont très virulentes. Pourquoi ?

Exercice N°11 :

1. Mise en évidence des flagelles : la figure ci-dessous est un dessin d'une bactérie observée en microscopie optique, après coloration spéciale. A quel artifice technique a-t-on eu recours pour visualiser les flagelles, justifié ?



2. Quelle est la ciliature montrée sur cette figure ? Donner un exemple de bactéries possédant cette ciliature.
3. Quelles autres ciliatures peut-on rencontrer chez les bactéries ? Répondre sous forme de schémas commentés en donnant un exemple de bactérie pour chaque type de ciliature.
4. Préciser la relation existant entre la ciliature d'une bactérie mobile et son type de mouvement sur un état frais.
5. Donner la différence entre fimbriae et flagelles.

Exercice N°12 : On cherche à déterminer le sérotype d'une espèce bactérienne. Quels sont les trois antigènes que l'on peut utiliser ? Donner leur localisation dans la cellule.

Exercice N°13 : Un chromosome est une structure constituée d'ADN et de protéines. Chez les bactéries, la grande molécule d'ADN circulaire qui baigne dans le cytoplasme est appelée chromosome bactérien. Donner les principales différences entre le chromosome bactérien et celui des eucaryotes.

Exercice N°14 : Les éléments génétiques mobiles, tel que les plasmides, sont fréquemment retrouvés chez les bactéries.

1. Donner la définition des plasmides.
2. Quelles sont les différentes propriétés des plasmides ?
3. Les plasmides ont la propriété de se déplacer d'une cellule à une autre. Comment ?

I.2. QCM

1. La paroi bactérienne :

- a) Est constituée de cinq couches différentes
- b) Est la cible de plusieurs antibiotiques
- c) Assure la mobilité de la bactérie
- d) N'est constituée que de protéines
- e) Est le site d'action du lysozyme

2. Parmi les structures suivantes, laquelle est présente chez toutes les bactéries ?

- a) Pili communs
- b) Paroi
- c) Membrane nucléaire
- d) Membrane cytoplasmique
- e) Capsule

3. Parmi les procédures utilisées pour mettre en évidence la présence de bactéries, laquelle (lesquelles) est (sont) la (les) plus utilisée (s) en pratique médicale ?

- a) Culture bactérienne
- b) Microscopie électronique
- c) Examen à l'état frais
- d) Examen après coloration

4. Lequel des caractères suivants permettent à certaines bactéries pathogènes pour l'homme de survivre dans un environnement hostile ?

- a) Epaisseur du peptidoglycane
- b) Caractère acido-alcool-résistant
- c) Caractère sporulé
- d) Caractère anaérobie strict
- e) Réticulation de la membrane externe

5. Laquelle (lesquelles) de ces propositions sur la spore bactérienne est (sont) inexacte (s) ?

- a) Présente un certain degré de thermorésistance
- b) Résiste aux antibiotiques et à certains antiseptiques
- c) Est caractéristique des bactéries à Gram négatif
- d) Se caractérise par un métabolisme énergétique élevé

6. La capsule :

- a) Est un facteur de virulence
- b) Peut être acquise par transformation
- c) N'est retrouvée que chez les bactéries à Gram positif
- d) Est de nature lipidique

7. Laquelle des propriétés suivantes des flagelles bactériens est exacte ?

- a) Sont constitués de polysides
- b) Peuvent intervenir dans l'adhérence de la bactérie aux cellules de l'organisme
- c) Ont des propriétés antigéniques, parfois utiles en diagnostic sérologique
- d) Constituée de flagéline

8. La paroi de la bactérie est :

- a) Un élément constant de la bactérie
- b) Peut représenter un facteur de virulence
- c) Est un élément extracellulaire
- d) Correspond à l'antigène O

9. Les éléments constitutifs obligatoires de la bactérie sont :

- a) La paroi
- b) Les flagelles
- c) La capsule
- d) La membrane cytoplasmique

e) L'ADN bactérien

10. La différence de couleur entre bactéries à Gram négatif et bactéries à Gram positif :

- a) Une différence de structure de la membrane cytoplasmique
- b) Une différence de structure de la paroi
- c) La présence d'une capsule
- d) Une différence au niveau de la forme bactérienne

11. Le peptidoglycane est un constituant qu'on retrouve chez :

- a) Toutes les bactéries
- b) Une majorité de bactéries
- c) Les protoplastes
- d) Les sphéropastes
- e) Les bactéries à Gram positif et à Gram négatif

12. La spore bactérienne :

- a) A un métabolisme accéléré
- b) A une plus grande thermorésistance
- c) A une survie de 30 min dans les sols hostiles
- d) Reverse à la forme végétative quand les conditions se normalisent

13. Le transport actif :

- a) Ne dépend pas d'un gradient de concentration
- b) Ne nécessite pas de l'énergie
- c) Nécessite un gradient de proton
- e) Peut être des pompes Na^+/K^+

14. Le transport actif secondaire antiport :

- a) Fonctionne comme un transport uniport
- b) Nécessite des perméases
- c) Se fait dans le même sens du gradient ionique
- d) Permet de concentrer le substrat à l'intérieur de la bactérie jusqu'à 100 fois

15. L'information génétique chez les bactéries :

- a) Est identique dans toutes les de la même espèce
- b) Est présente dans le cytoplasme sous forme de chromosome uniquement
- c) N'est pas héréditaire
- d) Peut se modifier au cours de la multiplication des cellules

16. Les chromosomes bactériens

- a) Sont toujours circulaires
- b) Peuvent être linaires
- c) Sont sous la forme condensée dans le cytoplasme
- d) Une bactérie en contient toujours un seul chromosome

17. Les ribosomes bactériens

- a) Sont composés de deux sous-unités 30S et 40S
- b) Sont composés de deux sous-unités dont l'ensemble fait 70S
- c) Sont composés d'ARNr 16S uniquement
- d) Sont composés d'ARNr et de protéines ribosomales

I. 3. Compléter les vides

1. Les cellules procaryotes en forme de bâtonnet sont appelées _____.
2. Les plasmides sont généralement transférés entre les membres d'une communauté bactérienne par _____.
3. Le terme _____ désigne les bactéries de forme sphérique.
4. La _____ est constituée d'un polymère, le _____, encore appelé _____.
5. Les _____ représentent les protéines majeures de la _____ de la paroi des bactéries à Gram négatif.
6. Autre constituants de la paroi des bactéries à Gram négatif, le LPS ou _____ est également appelé _____ car après lyse cellulaire, il est libéré et constitue un mode d'expression de la _____.
7. Le chromosome bactérien sous forme _____ se distingue de la forme _____ par une structure plus compacte et un encombrement plus réduit. Ce phénomène est dû à la présence d'enzymes, les _____.

I. 4. Répondre par Vrai ou Faux (donner la bonne réponse)

1. Les divers arrangements bactériens (chaînettes, grappes, tétrades...) sont les résultats de l'association de cellules entre elles grâce à des pontages inter-membranaires.
2. Les acides teichoïques sont les composants caractéristiques de la paroi des bactéries à Gram positif.
3. La composition et la structure différentes de la paroi des bactéries à Gram positif et des

bactéries à Gram négatif font que ces dernières laissent pénétrer très difficilement l'alcool par rapport aux autres lors de la coloration de Gram.

4. Le lysozyme a pour spécificité de rompre les liaisons β 1-6 du peptidoglycane.
5. Le terme « uniport » désigne un type de transport actif dans une seule direction.
6. Le terme « spore bactérien » désigne un composé impliqué dans la reproduction.
7. Les mitochondries dans les cellules eucaryotes contiennent des ribosomes qui sont structurellement similaires à ceux trouvés dans les cellules procaryotes.
8. La paire de bases AT a plus de liaisons hydrogène que la paire de bases CG.

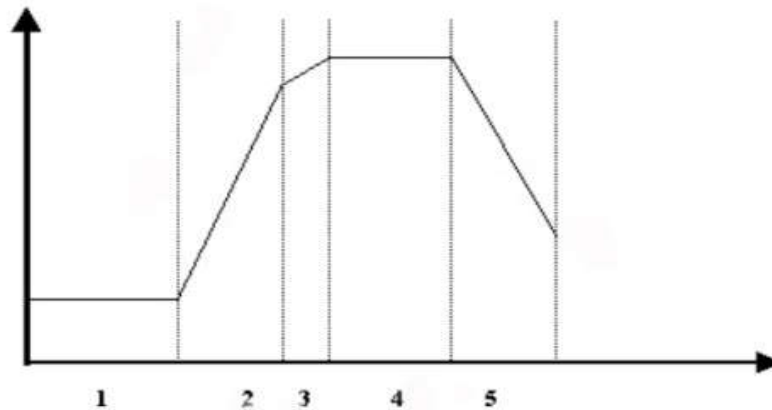
I. 5. Questions de réflexion

1. Comment les flagelles bactériens réagissent-ils à un gradient chimique d'un attractif pour se déplacer vers une concentration plus élevée du produit chimique ?
2. Quelles sont les différences de structures génomiques entre les procaryotes et les eucaryotes?
3. Quel est le rôle des plasmides ?
4. Indiquer la nature chimique et les rôles des principales macromolécules constitutives de la paroi bactérienne ?
5. Citer les conditions favorables à la germination des spores et les conditions inhibant ?
6. Décrire les techniques de mise en évidence des capsules ?
7. Expliquer l'architecture de la membrane cytoplasmique à partir des propriétés des phospholipides.

II. Nutrition et croissance

II.1. Exercices

Exercice N°1



1. Nommez les 5 phases de croissance, en commentant l'allure générale de cette courbe.
2. Sur quelle partie détermine-t-on le temps de génération ?
3. Comment est-il exprimé ?

Exercice N°2 :

Une souche bactérienne X estensemencée dans un milieu non renouvelé. La cinétique de croissance de cette bactérie est suivie pendant une durée de temps. Cette bactérie se développe à une température optimale de 37°C et un pH=7,0.

1. Tracer la courbe de croissance résultante, délimiter et nommer les différentes phases.
2. Interpréter les différentes phases de croissance en fonction du temps de génération, taux de croissance et biomasse..
3. Classifier cette bactérie en fonction de sa température et son pH optimal de croissance.

Exercice N°3 :

1. Une culture continue (système ouvert) d'une bactérie photo-litho-autotrophe est réalisée. La cinétique de croissance de cette bactérie est suivie pendant une durée de 24 heures. Cette bactérie se développe à une température optimale de 10°C, un pH \approx 2, une concentration élevée de NaCl (1.5 M), mais sans préférence pour l'oxygène.

- 1.1. Tracer la courbe de croissance résultante, délimiter et nommer les différentes phases.
- 1.2. Quel est la source d'énergie, la source du carbone et la source du pouvoir réducteur de cette bactérie?

1.3. Classifier cette bactérie en fonction des paramètres physiologiques suivants: température, pH, NaCl, et oxygène.

2. Sachant que le temps de génération de cette bactérie est $g=50$ mn. Quel serait le nombre de bactéries après 15 heures de culture si la population de départ est de 120 bactéries ?

3. Dans le but d'étudier le comportement d'*Escherichia coli* à l'amoxicilline, un dénombrement avant (A) et après (P) l'ajout de l'antibiotique a été effectué. Les résultats sont reportés dans le tableau ci-dessous:

Souche		Dilution							
		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}
<i>E. coli</i> (A) UFC/ml	Boîte 1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	240	28
	Boîte 2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	256	24
<i>E. coli</i> (P) UFC/ml	Boîte 1	ND	140	17	2	0	0	0	0
	Boîte 2	ND	171	13	1	0	0	0	0

ND : Non Dénombrables, A (ante): Avant l'ajout de l'amoxicilline, P (post): Après l'ajout de l'amoxicilline.

3.1. Calculer les valeurs de dénombrement avant et après traitement à l'amoxicilline exprimées en UFC/mL. Quelle est la formule à appliquer ?

- *E. coli* (A) : UFC/mL.

- *E. coli* (P) UFC/mL.

3.2. Calculer le pourcentage (%) de survie d'*E. coli* à l'amoxicilline.

- *E. coli* (A) : 100 %.

- *E. coli* (P) :%.

3.3. Selon les résultats obtenus, l'antibiotique amoxicilline est-il bactéricide ou bactériostatique pour *E. coli* ? Justifier.

Exercice N°4: Pour aider à l'identification d'une bactérie, on réalise un isolement sur milieu Drigalski dont la composition est donnée ci-dessous.

FORMULE - TYPE

(pouvant être ajustée de façon à obtenir des performances optimales)

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone	15,0 g
- Extrait de viande	3,0 g
- Extrait autolytique de levure	3,0 g
- Désoxycholate de sodium	1,0 g
- Thiosulfate de sodium	1,0 g
- Lactose	15,0 g
- Cristal violet	5,0 mg
- Bleu de bromothymol	80,0 mg
- Agar agar bactériologique	11,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,4 ± 0,2.

1. Ce milieu est-il synthétique ou empirique ? Justifier.
2. Donner les rôles des constituants suivants: agar, cristal violet, bleu de bromothymol, désoxycholate de sodium, extrait de levure.
3. Ce milieu est-il sélectif, à lecture de caractère biochimique ? Justifier.

Exercice N°5 :

Afin d'étudier les besoins nutritionnels de trois souches, A, B et C. On lesensemence sur les trois milieux suivants :

- Milieu 1 = milieu de base :

Composants	Quantités
K ₂ HPO ₄	1 g
NO ₃ K	0,5 g
MgSO ₄ , 7H ₂ O	0,2 g
CaCl ₂	0,1 g
NaCl	0,1 g
FeCl ₃	0,01 g
Eau distillée	1 litre

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

- Milieu 2 = milieu 1 + 4 g d'hydrolysate de caséine.
- Milieu 3 = milieu 1 + 4 g d'hydrolysate de caséine + 2 g d'extrait de levure.

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

1. Indiquer le rôle des constituants des milieux 1, 2 et 3.
2. Dédurre des résultats les besoins nutritionnels des souches A, B et C.
3. Dans certains cas, une vitamine peut être dosée par son effet sur la croissance d'une bactérie.
 - 3.1. Quelle caractéristique doit posséder la bactérie utilisée ?
 - 3.2. Donner le principe du dosage.
 - 3.3. Quel est l'intérêt d'un tel dosage ?

Exercice N°6 : Vous avez prélevé du lait de vache et vous avez ensemencé des bouillons nutritifs selon la méthodologie suivante :

- A) Bouillon nutritif + lait de vache + *E. coli*
- B) Bouillon nutritif + lait de vache + *Bacillus subtilis*
- C) Bouillon nutritif + lait de vache + *Bacillus subtilis* + penicillinase

Après incubation de 24 heures, les résultats suivants ont été obtenus :

- A) Croissance
- B) Absence de croissance
- C) Croissance

- Interpréter les résultats de cette expérience.

Exercice N°7 : La bactérie *Staphylococcus aureus* a un temps de génération de 35 minutes. Vous avez réalisé un ensemencement d'un bouillon nutritif à partir d'un inoculum de 5×10^6 . Sachant que la phase exponentielle démarre après 2 heures d'incubation et dure 12 heures.

- A. Tracer la courbe de croissance de cette bactérie et repérer les autres phases de croissance.
- B. Calculer le taux de croissance.
- C. Combien de cellules allez-vous avoir après 10 heures d'incubation ?

Exercice N°8: Vous avez isolé une nouvelle bactérie à Gram négatif autotrophe et vous voulez étudier ces paramètres de croissance.

1. Proposer une expérience au laboratoire pour déterminer sa température optimale de croissance, son pH optimal de croissance et son type respiratoire.

2. Après étude au laboratoire, il s'avère que cette bactérie possède une T° de 35°C , $\text{pH}=7.4$ et nécessite obligatoirement la présence de l'oxygène. Classifier cette bactérie selon les paramètres étudiés.

3. Proposer la composition d'un milieu de culture pour isoler cette bactérie. Justifier votre réponse.

Exercice N°9: La bactérie *Escherichia coli*, une bactérie hétérotrophe, a été cultivée sur le milieu de culture dont la composition est donnée ci-dessous :

Milieu M : Glucose + K_2HPO_4 + KH_2PO_4 + $(NH_4)_2SO_4$ + $MgCl_2$ + $CaCl_2$ + Citrate de fer + Agar + Eau distillée

1. Selon la composition de ce milieu, de quel type de milieu de culture s'agit-il ?
2. Quel est le rôle de chacun des composés de ce milieu ?
3. Si on change l'eau distillée par l'eau pure, est ce que la bactérie *Escherichia coli* va-t-elle croître ou non ? Justifier.
4. La bactérie de *Proteus vulgaris* est incapable de croître sur ce milieu. Pourquoi ?
5. En ajoutant de l'extrait de levure à ce milieu, pensez-vous que la bactérie *Proteus vulgaris* pourra croître ou non ? Justifier.

Exercice N°10: On ensemence une colonie de d'*Enterococcus faecalis* dans 5 mL de bouillon nutritif. On évalue le nombre de bactéries par 2 méthodes :

- Par observation microscopique de $0,2 \mu\text{L}$, on dénombre 120 bactéries.
- Par le dénombrement des bactéries viables : on ensemence $0,1 \text{ mL}$ d'une dilution au millième sur gélose nutritive, après incubation, on dénombre 15 colonies.

1. Calculez avec chacune des 2 méthodes le nombre de bactéries présentes dans le bouillon. Comparez et commentez ces résultats.
2. Citez une autre méthode d'évaluation du nombre de bactéries.

II.2. QCM

1. Lequel des éléments suivants est un organisme qui obtient son énergie issue du transfert d'électrons provenant de composés chimiques et son carbone provenant d'une source inorganique?

- a) Chimio-autotrophe
- b) Chimio-hétérotrophe
- c) Photo-hétérotrophe
- d) Photo-autotrophe

2. Laquelle des molécules suivantes sont réduites ?

- a) NAD +
- b) Glucose
- c) O₂
- d) NADPH

3. Quel est l'emplacement des systèmes de transport d'électrons chez les procaryotes?

- a) La membrane mitochondriale externe
- b) Le cytoplasme
- c) La membrane mitochondriale interne
- d) La membrane cytoplasmique

4. Quelle est la source d'énergie utilisée pour fabriquer l'ATP par phosphorylation oxydative?

- a) Oxygène
- b) liaisons phosphate à haute énergie
- c) la force motrice du proton
- d) Pi

5. Laquelle des méthodes suivantes seraient utilisées pour mesurer la concentration de contamination bactérienne ?

- a) mesure de la turbidité
- b) nombre total de colonies
- c) mesure du poids sec
- d) comptage direct des bactéries sur une lame calibrée sous le microscope

6. Dans quelle phase pensez-vous observer la plupart des endospores dans une culture de cellules de Bacillus?

- a) Phase stationnaire
- b) Phase de latence
- c) Phase exponentielle
- d) Phase de déclin.

7. Au cours de quelle phase la pénicilline, un antibiotique qui inhibe la synthèse de la paroi cellulaire, serait-elle le plus efficace?

- a) Phase stationnaire
- b) Phase de latence
- c) Phase exponentielle
- d) Phase de déclin

8. Lequel des énoncés suivants est la meilleure définition du temps de génération d'une bactérie?

- a) Le temps nécessaire pour atteindre la phase exponentielle
- b) Le temps nécessaire pour qu'une population de cellules à doubler
- c) Le temps qu'il faut pour atteindre la phase stationnaire
- d) La durée de la phase exponentielle

9. Si une culture commence avec 50 cellules, combien de cellules peut-on atteindre après cinq générations sans mort cellulaire?

- a) 200
- b) 400
- c) 1600
- d) 3200

10. Dans un tube de culture, on obtient une croissance dense à la surface du tube. Quelle est votre conclusion?

- a) Les organismes meurent en présence d'oxygène
- b) Les organismes sont des anaérobies facultatifs.
- c) Les organismes doivent être cultivés dans un environnement anaérobie
- d) Les organismes sont des aérobies obligatoires.

11. *Pseudomonas aeruginosa* est un pathogène courant qui ne pousse pas en l'absence d'oxygène. La bactérie est probablement?

- a) Anaérobie aérotolérante
- b) Aérobie obligatoire.
- c) Anaérobie obligatoire.
- d) Anaérobie facultatif

12. *Streptococcus mutans* n'a pas de catalase et peut être cultivé en présence d'oxygène. La bactérie est probablement :

- a) Anaérobie facultatif.
- b) Un aérobie obligatoire.
- c) Anaérobie obligatoire.
- d) Un anaérobie aérotolérant

13. Pourquoi les instructions pour la croissance des *Neisseria gonorrhoeae* recommandent-elles une atmosphère enrichie en CO₂?

- a) Elle utilise le CO₂ comme accepteur final d'électrons lors de la respiration
- b) C'est un anaérobie obligatoire.
- c) C'est un capnophile.
- d) Elle fixe le CO₂ par photosynthèse.

14. Les bactéries qui poussent dans le drainage minier ayant un pH de 1 à 2 sont probablement?

- a) Alcalophiles
- b) Acidophiles
- c) Neutrophiles
- d) Des anaérobies

15. Les bactéries isolées du lac Natron, où le pH de l'eau est proche de 10, sont des :

- a) Alcalophiles
- b) Anaérobies facultative
- c) Neutrophiles
- d) Acidophiles

16. Dans quel environnement êtes-vous le plus susceptible de rencontrer un acidophile?

- a) Sang humain à pH 7,2
- b) Un Geysier chaud à pH 1,5

- c) Intestin humain à pH 8,5
- d) Jus d'orange à pH 5,5

17. Un récipient à soupe a été oublié dans le réfrigérateur et montre une contamination.

Les contaminants sont probablement lesquels des éléments suivants?

- a) Thermophiles
- b) Acidophiles
- c) Mésophiles
- d) Psychrotrophes

18. Les bactéries isolées dans une eau à 39 °C sont probablement des :

- a) Thermophiles
- b) Psychrotrophes
- c) Mésophiles
- d) Hyperthermophiles

19. Dans quel environnement êtes-vous le plus susceptible de rencontrer un hyperthermophile?

- a) Pétrole
- b) Eau chaude de Hammam
- c) Event hydrothermal au fond de l'océan.
- d) Corps humain

20. Lequel des environnements suivants hébergeraient des psychrophiles?

- a) Lac de montagne avec une température de l'eau de 12°C
- b) Iceberg
- c) Fond des océans
- d) Etang avec une température journalière de 34°C

21. Laquelle des raisons suivantes est la raison pour laquelle les viandes séchées ne nécessitent souvent pas de réfrigération pour éviter la détérioration ?

- a) Faible pH
- b) Produit chimique alcalin toxiques
- c) Antibiotiques naturels
- d) Faible activité de l'eau

22. Les bactéries vivant dans l'eau de mer sont :

- a) Acidophiles
- b) Barophiles
- c) Halotolérant
- d) Thermophiles

23. *Haemophilus influenzae* doit être cultivée sur de la gélose au chocolat, qui est de la gélose au sang traitée avec de la chaleur pour libérer des facteurs de croissance dans le milieu. *H. influenzae* est décrit comme :

- a) Un autotrophe
- b) Un anaérobie obligatoire.
- c) Une bactérie exigeante
- d) Un auxotrophe

24. Lesquels de ces éléments sont requis en très faibles quantités pour la croissance des bactéries ?

- a) Carbone
- b) Azote
- c) Cuivre
- d) Facteurs de croissance
- e) H₂O

25. Le dénombrement des bactéries par la microscopie :

- a) Est considérée comme une technique de référence
- b) Permet de dénombrer uniquement les bactéries viables
- c) Est une technique relativement rapide
- d) Nécessite une homogénéisation préalable de l'échantillon
- e) Nécessite une cellule de comptage

26. Les bactéries tirent leur énergie :

- a) A partir des réactions chimiques pour celles qui sont chimiotrophes
- b) En incorporant du carbone
- c) En respirant les nitrates
- d) Qui servira pour la pénétration des aliments
- e) En synthétisant les macromolécules

27. Les milieux sélectifs :

- a) Sont de consistance liquide
- b) Peuvent être utilisés pour déterminer la sensibilité aux antibiotiques
- c) Peuvent être des enrichissements
- d) Peuvent contenir des antibiotiques
- e) Sont destinés à rechercher une espèce bactérienne dans un prélèvement plurimicrobien

II.3. Partie compléter les vides

1. Le comptage direct du nombre total de cellules peut être effectué en utilisant un _____ ou un _____.
2. La méthode _____ permet le comptage direct des cellules totales qui poussent sur un milieu solide.
3. Une estimation statistique du nombre de cellules vivantes dans un liquide est généralement effectuée par _____.
4. Pour cette méthode indirecte d'estimation de la croissance d'une culture, vous mesurez _____ à l'aide d'un spectrophotomètre.
5. Une bactérie qui prospère dans un lac salé où le pH moyen est de 10,5 peut être classée comme un _____.
6. *Lactobacillus acidophilus* pousse mieux à pH 4,5. Il est considéré comme un _____.
7. Une bactérie qui se développe dans un lac salé mais pas dans l'eau douce est probablement une _____.
8. Les bactéries isolées du fond de l'océan ont besoin de pressions atmosphériques élevées pour survivre. Elles sont des _____.
9. *Staphylococcus aureus* peut être cultivé sur un milieu de croissance polyvalent ou sur de la gélose Chapman contenant 7,5% de NaCl. La bactérie est dite _____.
10. La gélose au sang contient de nombreux nutriments non spécifiés, favorise la croissance d'un grand nombre de bactéries et permet la différenciation des bactéries en fonction de l'hémolyse (dégradation du sang). Le milieu est _____ et _____.

II. 4. Répondre par Vrai ou Faux et donner la bonne réponse

1. Le terme d'auxotrophe désigne les microorganismes capables de se développer avec du CO₂ comme seule source de carbone.
2. Le terme « facteur de croissance » désigne une substance qui doit entrer impérativement dans la composition d'un milieu de culture destiné à étudier la croissance des microorganismes.
3. La détermination du nombre de cellules par la technique de culture sur milieu solide utilisant la méthode des dilutions ne dénombre que les germes viables à l'exclusion des cellules mortes.
4. Un milieu d'enrichissement est un milieu liquide destiné à favoriser la croissance d'un microorganisme au détriment de celle des autres, en agissant sur la vitesse spécifique de croissance.
5. Lorsque un microorganisme est capable, lors de sa croissance, d'utiliser deux substrats carbonés en même temps, on parle de phénomène de diauxie.
6. L'avantage d'une culture en continu réside dans le fait que l'on peut assurer une croissance indéfinie simplement en éliminant régulièrement une fraction de la biomasse afin de ne jamais atteindre la phase stationnaire.

II.5 Questions de réflexion

1. Pourquoi certains anaérobies obligatoires sont-ils capables de se développer dans des tissus qui ne sont pas complètement exempts d'oxygène?
2. Pourquoi *Haemophilus influenzae* devrait-il être cultivé dans une Jare contenant une bougie ?
3. En termes de besoins en oxygène, quel type d'organisme serait le plus susceptible d'être responsable d'une maladie d'origine alimentaire associée aux aliments en conserve ?
4. Quelle macromolécule de la cellule est la plus sensible aux changements de pH?
5. Quelle est la différence majeure entre une culture d'enrichissement et une culture sélective?
6. Quel est le but de la pasteurisation ? Élimine-t-elle complètement tous les germes ?
7. Citer certains facteurs qui altèrent l'efficacité d'un désinfectant?
8. Quel est l'avantage du traitement UHT?
9. Comment l'ajout de sel ou de sucre aide-t-il à conserver les aliments?

III. Agents antimicrobiens

III.1. Exercices

Exercice N°1 :

1. En 1928, un scientifique a observé une boîte de Petri de *Staphylococcus* semblable à celle-ci. Qu'est-ce qu'il a observé sur cette boîte ? Qu'est-ce qu'il a découvert ? Qui était-il ?

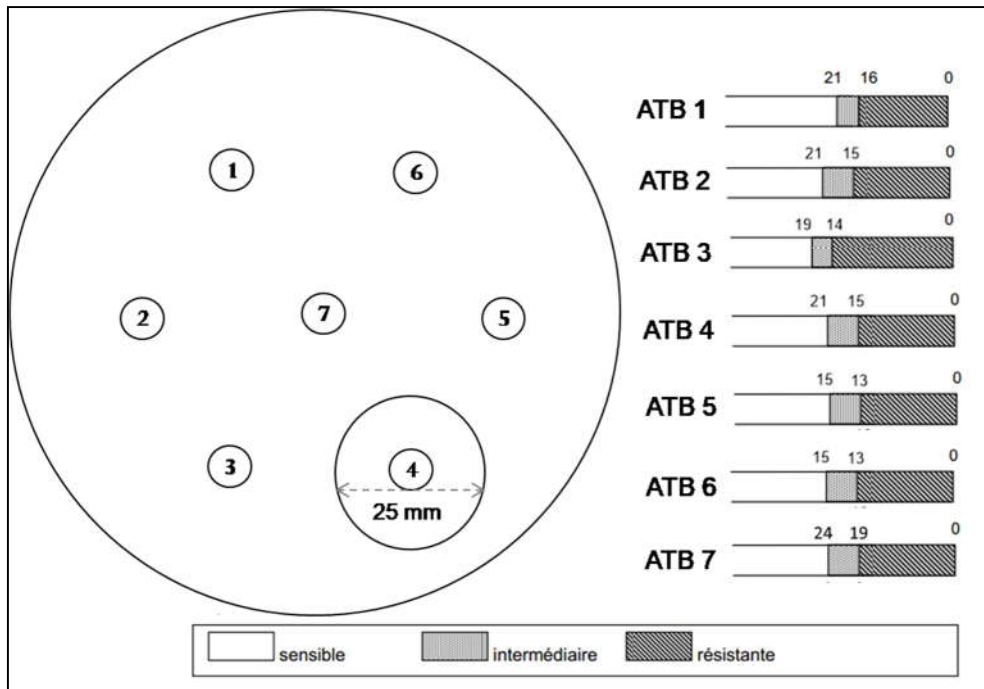


2. Quel est la définition d'un antibiotique ?
3. Est-ce-que tous les antibiotiques découverts sont utilisables en thérapeutique ? Justifier.
4. Quel est la différence entre un antibiotique bactéricide et bactériostatique ?

Exercice N°2 :

On réalise un antibiogramme standard sur une souche bactérienne d'*Escherichia coli* isolée d'un patient atteint d'une infection urinaire.

1. Quel milieu utilise-t-on ?
2. Quelle quantité doit présenter la suspension bactérienne de l'inoculum ?
3. Après 18 heures de culture, on obtient l'image représentée sur la figure ci-dessous. A l'aide des échelles de lecture fournies par le fabricant, donner un résultat qualitatif de cet antibiogramme.

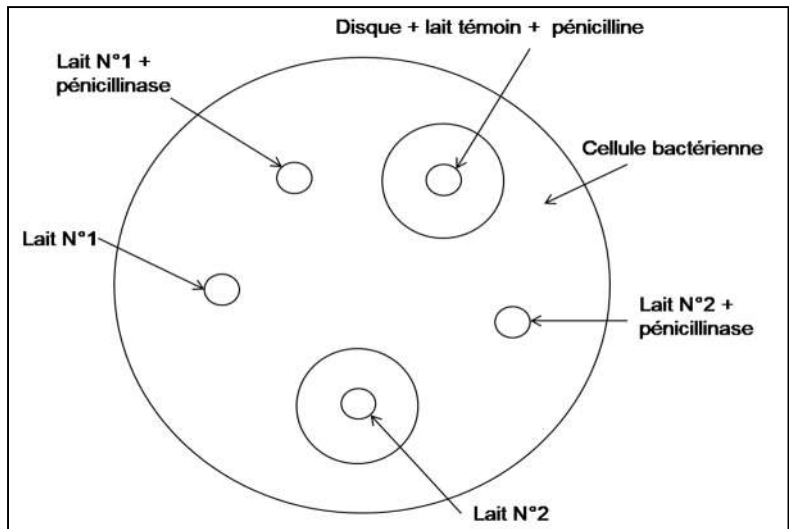


- 3.1. Quelle est la signification des termes « sensible » et « résistant » ?
- 3.2. Quel est le bon antibiotique qui pourrait être prescrit au patient ? Justifier.

Exercice N°3:

Pour rechercher la présence d'un antibiotique (la pénicilline) dans des laits destinés à l'alimentation humaine, on utilise la méthode des disques (diffusion en gélose).

1. Pourquoi doit-on rechercher la présence d'antibiotiques dans un lait ?
2. Donner le principe de la méthode utilisée.
3. Une souche bactérienne, sensible à la pénicilline, est introduite dans un milieu gélosé glucosé et coulé en boîte de Pétri. Des disques de papier sont imprégnés d'un lait témoin additionné de pénicilline et des laits N°1 et N°2 à analyser, puis disposés sur la gélose. Après 2h30 d'incubation à 37°C, on obtient les résultats présentés sur la figure ci-dessous.



3.1. Quel est l'intérêt du disque témoin ?

3.2. Quel est le rôle de la pénicilline ?

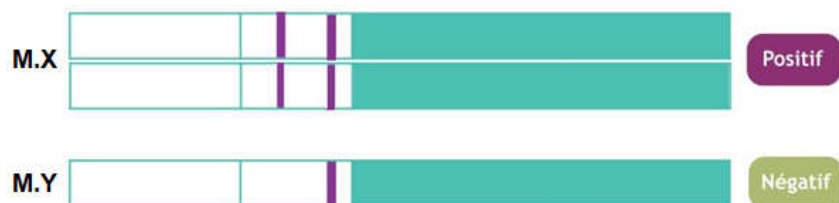
Exercice N°4 : Les traitements de conservation appliqués aux aliments visent à préserver leur comestibilité et leurs propriétés gustatives et nutritives en empêchant le développement des bactéries, champignons et microorganismes qu'ils renferment et qui peuvent dans certains cas entraîner une intoxication alimentaire.

1. Quel est le traitement le plus utilisé pour la conservation des aliments ? Justifier.
2. Quelle est la différence entre la pasteurisation et la stérilisation ?
3. Dans le cas des produits laitiers, quelle est la différence entre le lait UHT et le lait pasteurisé ?

Exercice N°5 : M. X et M. Y consultent leur médecin traitant pour des maux de gorge. Après auscultation, les deux médecins concluent à une angine et réalisent un test à angine. Le médecin de M. Y lui conseille du repos tandis que celui de M. X rédige une ordonnance.

1. A l'aide des deux documents fournis, vous expliquez à M. X et M. Y pourquoi ils n'ont pas le même traitement.
2. Vous expliquez également pour quelle raison cet antibiotique là est indiqué pour M. X.

Document 1 : Les tests à l'angine de Monsieur X et de Monsieur Y



Positif= angine d'origine bactérienne, Négatif= angine d'origine non bactérienne (virale)

Document 2 : L'antibiogramme de Monsieur X



Exercice N°6 :

1. Indiquez une méthode permettant de stériliser chaque élément cité ci-dessous :

- A) 100 mL de NaCl 0,9%
- B) Une éprouvette en verre
- C) Des boîtes de Pétri en plastique
- D) Une solution d'antibiotique
- E) Un milieu de culture contenant de l'agar
- F) Une pipette pasteur en verre

2. Il existe différentes méthodes pour éviter que des microorganismes n'entrent ou ne se développent dans le corps humain : faire cuire des aliments, désinfecter une plaie et se laver les mains avant de manger. Lesquelles sont de l'asepsie ? De l'antisepsie ?

3. Quelle est la différence entre l'action de la congélation et le traitement à la chaleur (sèche ou humide) d'un aliment?

III.2. QCM

1. Quelle (s) est (sont) la (les) proposition (s) exacte (s) concernant l'antibiogramme par diffusion (méthode des disques) ?

- a) L'antibiogramme est une méthode permettant de déterminer les concentrations minimales bactéricides
- b) Il n'est pas nécessaire de standardiser l'inoculum bactérien
- c) L'existence d'une zone d'inhibition ne signifie pas obligatoirement que la souche bactérienne soit sensible à l'antibiotique considéré
- d) L'absence de zone d'inhibition signifie que la souche est résistante à l'antibiotique
- e) Le milieu de référence utilisé est le milieu de Mueller-Hinton

2. Un antibiotique est dit bactéricide :

- a) Si sa CMB est très proche de sa CMI
- b) Si sa CMB est éloignée de sa CMI
- c) S'il entraîne des effets toxiques
- d) S'il a une activité synergique
- e) S'il tue plus de 90% des bactéries par rapport à l'inoculum initial

3. La désinfection a pour but :

- a) De détruire des bactéries à pouvoir pathogène faible
- b) De détruire des bactéries à pouvoir pathogène occasionnel
- c) D'empêcher la multiplication bactérienne
- d) D'inactiver les microorganismes indésirables
- e) De ralentir la multiplication des bactéries

4. La stérilisation par autoclavage :

- a) Fait appel aux rayons gamma
- b) Permet d'éliminer les endospores (ou spores) bactériennes
- c) Est un procédé de stérilisation par la chaleur sèche
- d) Permet de stériliser à des températures plus basses que celles utilisées au four Pasteur
- e) S'applique aux substances solides thermolabiles

5. Lequel des types d'articles médicaux suivants nécessite une stérilisation?

- a) Aiguilles
- b) Draps

- c) Masques respiratoires
- d) Brassards de pression artérielle

6. Lequel des éléments suivants convient à une utilisation sur les tissus pour le contrôle microbien pour prévenir l'infection?

- a) Désinfectant
- b) Antiseptique
- c) Stérilisant
- d) L'eau

7. Lequel des énoncés suivants décrivent le mieux un protocole de contrôle microbien qui inhibe la croissance des moisissures et levures ?

- a) Bactériostatique
- b) Fongicide
- c) Bactéricide
- d) Fongistatique

8. Le temps de réduction décimal se réfère au temps nécessaire pour :

- a) Réduire une population microbienne de 10%
- b) Réduire une population microbienne de 0,1%
- c) Réduire une population microbienne de 90%
- d) Eliminer complètement une population microbienne

9. Lequel des termes suivants est utilisé pour décrire le temps nécessaire pour tuer tous les microbes dans un échantillon à une température donnée?

- a) Valeur D
- b) Point de mort thermique
- c) Temps de mort thermique
- d) Temps de réduction décimal

10. Laquelle des méthodes suivantes ne tue pas les microbes ni n'empêche leur croissance, mais au lieu de cela les supprime physiquement des échantillons?

- a) Filtration
- b) Dessiccation
- c) Lyophilisation
- d) Rayonnement non ionisant

11. L'eau de Javel est un exemple de groupe de produits chimiques utilisé pour la désinfection :

- a) Métaux lourds
- b) Halogènes
- c) Chlorés
- d) Bis-biguanides

12. Lequel des énoncés suivants fait référence à un germicide qui peut tuer les cellules végétatives et certains virus enveloppés, mais pas les endospores?

- a) Un bactéricide
- b) Un sporocide.
- c) Un stérilisant
- d) Un germicide

13. Lequel des médicaments antimicrobiens suivants est synthétique?

- a) Sulfanilamide
- b) Pénicilline
- c) Actinomycine
- d) Néomycine

14. Lequel des éléments suivants n'est pas de la famille des β -lactamines ?

- a) Pénicillines
- b) Glycopeptides
- c) Céphalosporines
- d) Gentamicin

15. Lequel des énoncés suivants ne lie pas la sous-unité ribosomale 50S?

- a) Tétracyclines
- b) Lincosamides
- c) Macrolides
- d) Chloramphénicol

16. Laquelle des techniques suivantes ne peut pas être utilisée pour déterminer la concentration minimale inhibitrice d'un antimicrobien?

- a) Bandelettes E-test
- b) Test de micro-dilution en bouillon
- c) Test de diffusion sur gélose
- d) d) Test de macro-dilution

III.3. Compléter les vides

1. Dans un autoclave, l'application de la pression à _____ est augmentée pour permettre à la vapeur d'atteindre des températures supérieures au point d'ébullition de l'eau.
2. S'ils sont utilisés pendant de longues périodes de temps, _____ germicides peuvent entraîner la stérilité.
3. Dans le test de diffusion des disques, une grande zone d'inhibition autour d'un disque sur lequel un désinfectant chimique a été appliqué indique _____ du microbe d'essai au désinfectant chimique.
4. Le groupe de bactéries du sol connues pour leur capacité à produire une grande variété d'antimicrobiens est appelé _____.
5. Les antimicrobiens à toxicité sélective sont plus faciles à développer contre les bactéries car ce sont des cellules _____, alors que les cellules humaines sont eucaryotes.
La méthode permettant de déterminer les CMI de plusieurs médicaments antimicrobiens contre une souche bactérienne à l'aide d'une seule gélose est appelée _____.
6. La _____ est l'opération qui a pour objet de tuer tous les _____.
7. Un milieu est dit _____ lorsqu'il contient des microorganismes.
8. Une substance est _____ ou _____ lorsqu'elle possède la propriété d'inhiber momentanément la _____ des bactéries ou des champignons.
9. On peut grouper les antibiotiques en fonction de leur _____.
10. Les pénicillines et les _____ sont caractérisées par un cycle _____ qui inhibent la synthèse de la _____.

III. 4. Répondre par Vrai ou Faux et donner la bonne réponse

1. La désinfection laisse un objet exempt de microbes.
2. Les rayonnements ionisants peuvent pénétrer les surfaces, mais pas les rayonnements non ionisants.
3. Les protocoles de stérilisation à la chaleur humide nécessitent l'utilisation de températures plus élevées pendant des périodes plus longues que les protocoles de stérilisation à la chaleur sèche.
4. Les savons sont classés comme désinfectants.
5. Les composés à base de mercure sont tombés en disgrâce pour une utilisation comme conservateurs et antiseptiques.
6. Les antimicrobiens à spectre étroit sont couramment utilisés pour la prophylaxie après une chirurgie.
7. Les β -lactamases peuvent dégrader la vancomycine.
8. Si le médicament A produit une zone d'inhibition plus grande que le médicament B sur le test de diffusion sur disque, le médicament A doit toujours être prescrite.
9. Le taux de découverte de médicaments antimicrobiens a considérablement diminué au cours des dernières décennies.

II.5 Questions de réflexion

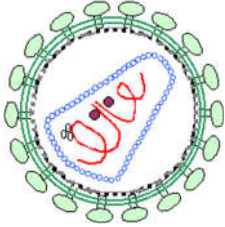
1. Quel est le plus efficace pour tuer les bactéries : l'autoclave ou la congélation? Expliquer.
2. Quelle solution d'alcool éthylique est la plus efficace pour inhiber la croissance microbienne: une solution à 70% ou une solution à 100%? Pourquoi?
3. Quand un traitement au gaz peut-il être utilisé pour contrôler la croissance microbienne au lieu de l'autoclavage? Donner quelques exemples?
4. Lors du tracé des courbes de mort microbienne, en quoi pourraient-elles être différentes pour les traitements bactéricides par rapport aux traitements bactériostatiques?
5. Pourquoi l'utilisation de composés désinfectants pour la peau est-elle nécessaire pour le lavage chirurgical et non pour le lavage quotidien des mains?
6. D'où proviennent naturellement les antimicrobiens ?
7. Si les cellules humaines et les cellules bactériennes effectuent la transcription, comment les rifamycines sont-elles spécifiques des infections bactériennes?
8. Quelle cible structurelle bactérienne rendrait un médicament antibactérien sélectif pour les bactéries à Gram négatif?

9. Comment les informations d'un test de diffusion sur disque sont-elles utilisées pour la recommandation de l'utilisation clinique d'un médicament antimicrobien?
10. Quelle est la différence entre CMI et CMB?

IV. Virologie

IV.1. Exercices

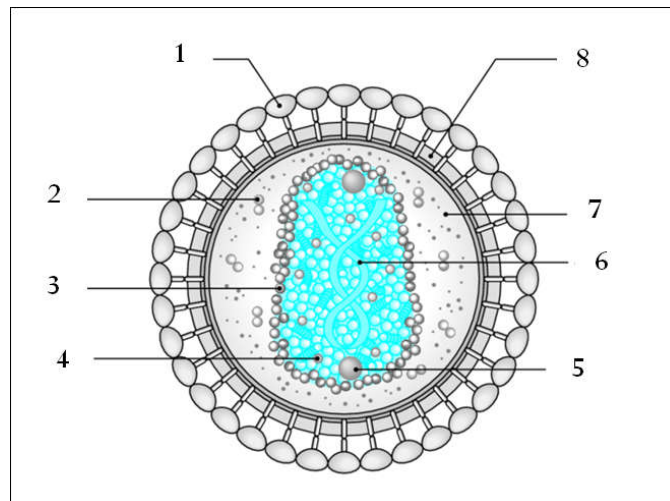
Exercice N°1 : Le schéma suivant représente un microbe particulier.



1. Comment appelle-t-on un tel microbe ?
2. Définir ce microbe.
3. En donner ses principales caractéristiques.
4. Comment est-t-il classé ?
5. Comment se soigner de ce microbe ?

Exercice N°2 :

1. Légender le schéma ci-dessous (virus VIH):



2. Quelles sont les étapes de la multiplication des virus ?

IV.2. QCM

1. Lequel des composants suivants manque-t-il à un virus ?

- a) Ribosomes
- b) Processus métaboliques
- c) Acide nucléique
- d) Glycoprotéine

2. L'enveloppe d'un virus est dérivée de l'hôte à partir de :

- a) Acides nucléiques
- b) Structures membranaires
- c) Cytoplasme
- d) Génome

3. Lors de la dénomination des virus, le nom de famille se termine par

- a) viridae
- b) virus
- c) virion
- d) virineae

4. Quel est l'autre nom donné pour un virus non enveloppé?

- a) Virus à enveloppe
- b) Provirus
- c) Virus nu
- d) Virus latent

5. Lequel des éléments suivants conduit à la destruction des cellules hôtes?

- a) Cycle lysogène
- b) Cycle lytique
- c) Prophage
- d) Phage tempéré

6. Un virus obtient son enveloppe pendant laquelle des phases suivantes ?

- a) Attachement
- b) Pénétration
- c) Assemblage
- d) Libération

7. Un virus à ARN à brin positif :

- a) Doit d'abord être converti en ARNm avant de pouvoir être traduit.
- b) Peut être utilisé directement pour traduire des protéines virales.
- c) Sera dégradé par les enzymes de l'hôte.
- d) N'est pas reconnu par les ribosomes hôtes.

8. Quel est le nom du transfert d'informations génétiques d'une bactérie à une autre bactérie par un phage?

- a) Transduction
- b) Pénétration
- c) Excision
- d) Traduction

IV. 3. Compléter les vides

1. Un virus qui infecte une bactérie est appelé un _____.
2. Le virus nommé _____ possède les caractéristiques d'un virus polyédrique et hélicoïdal.
3. Un virus contenant uniquement un acide nucléique et une capsid est appelé un virus _____ ou un virus _____.
4. La présence de _____ sur le bactériophage permet de se lier à la cellule bactérienne.
5. Une enzyme du VIH qui peut faire une copie de l'ADN à partir de l'ARN est appelée _____.
6. Les virus peuvent être diagnostiqués et observés à l'aide d'un microscope _____.

IV. 4. Questions de réflexion

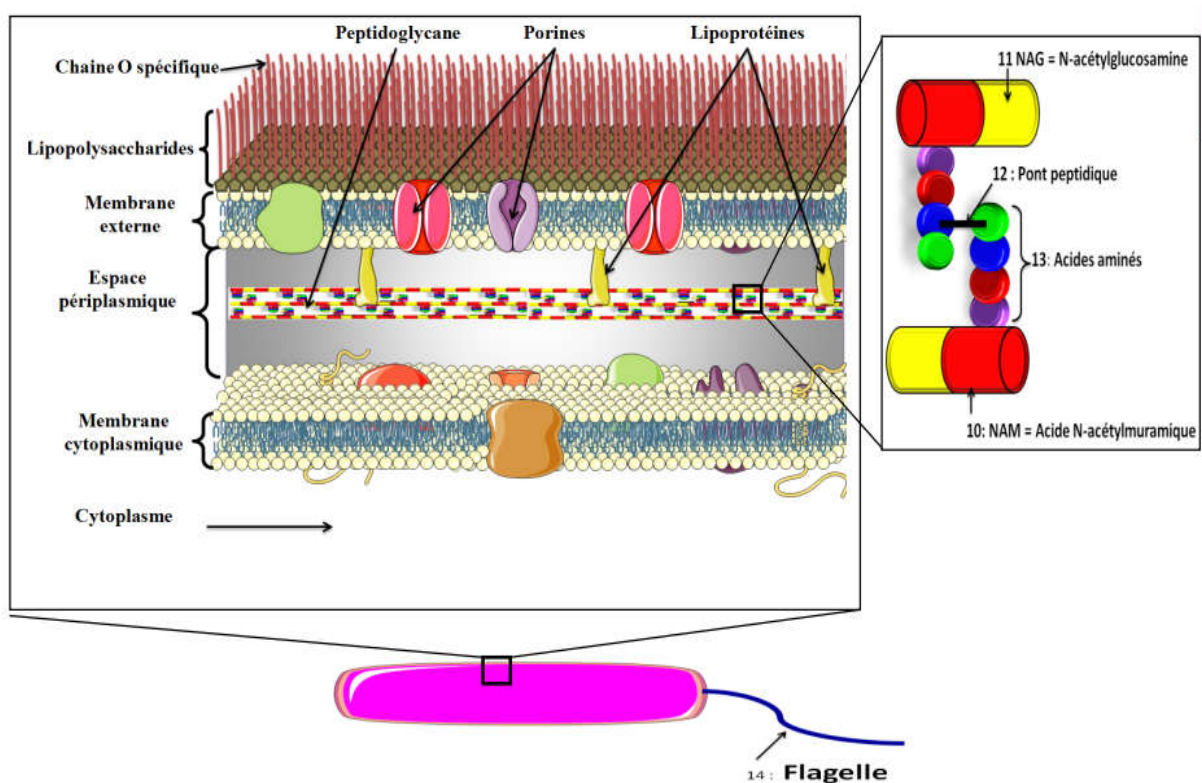
1. Discutez des différences géométriques entre les virus hélicoïdaux, polyédriques et complexes.
2. Discutez de la différence entre la transduction généralisée et spécialisée.
3. Faites la différence entre les cycles lytique et lysogène.

Partie 2 : Corrigés

Structure Bactérienne

Exercice N°1 :

1. Les chiffres de 1 à 4 correspondent (figure ci-dessous) :



2. - La forme : Bacille ou bâtonnet

- Type de ciliature : Monotriche

- Résultat expérimentale de la coloration de Gram : Bacilles ou bâtonnets colorés en rose :
Gram négatif (le type de Gram est déduit de la structure de la paroi bactérienne)

3. - Uniport: le transport d'une molécule/ions dans un seul sens *via* un transporteur membranaire

- Symport: le transport de deux molécules/ions dans un seul sens *via* un transporteur membranaire.

- Antiport: le transport de deux molécules/ions dans deux sens paradoxes de la membrane cytoplasmique *via* un transporteur membranaire.

4. Complétez: L'élément 14 (sur la figure) est de nature **protéique** Il joue un rôle principal dans la **mobilité** et également un rôle dans le **chimiotactisme**. Ce dernier se traduit par un changement de rotation du **flagelle** en présence d'un milieu attractif ou répulsif.

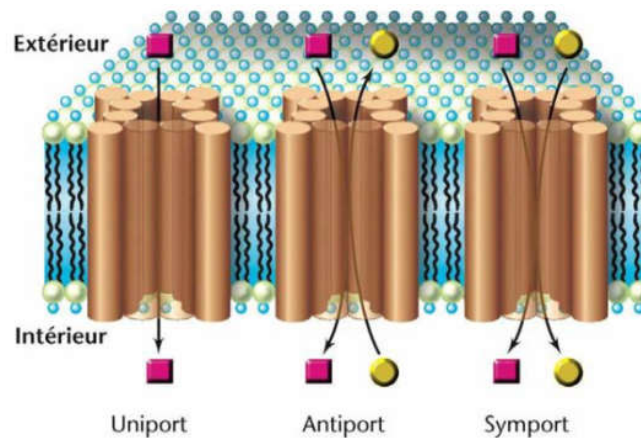
Exercice N°2:

A) La paroi

Pour mettre en évidence les fonctions de la paroi, on peut utiliser le **lysozyme** pour détruire le **peptidoglycane** (par hydrolyse au niveau des liaisons β 1-4 entre **N-Acetyl Muramique** et **N-Acetyl Glucosamine**). On obtient par ce traitement des **protoplastes** avec des bactéries à Gram positif, des **sphéroplastes** avec des bactéries à Gram négatif lorsque les cellules sont placées dans des conditions **isotoniques**.

B) Membrane plasmique

1. Absence de cholestérol
2. Les types de transport membranaire sont représentés dans la figure ci-dessous



Exercice N°3 :

1. - Tube 1 : le lysozyme hydrolyse le peptidoglycane. En milieu isotonique, les bactéries Gram+ forment des protoplastes.
 - Tube 2 : le lysozyme hydrolyse le peptidoglycane. Dans un milieu hypotonique, les bactéries Gram+ lysent.
 - Tube 3 : le lysozyme hydrolyse le peptidoglycane. En milieu isotonique, les bactéries Gram- forment des sphéroplastes.
 - Tube 4 : le lysozyme hydrolyse le peptidoglycane. Dans un milieu hypotonique, les bactéries Gram- lysent.
- 2.1. - Boite 1 : pas de croissance. Les protoplastes perdent leur capacité à se diviser.
 - Boite 2 : pas de croissance. Les bactéries sont lysées.
 - Boite 3 : il ya croissance et développement. Les sphéroplastes sont capable de se diviser.
 - Boite 4 : pas de croissance. Les bactéries sont lysées.

2.2. L'intérêt de cette expérience est de mettre en évidence les rôles de la paroi bactérienne.

2.3. Les mycoplasmes sont des bactéries dépourvues de paroi. Par conséquent, elles ne sont pas affectées par le lysozyme qui cible le peptidoglycane (constituant de la paroi).

Exercice N°4:

1. La fixation préalable, permet de tuer les microorganismes et de les faire adhérer au support qui est la lame (afin qu'ils ne se décollent pas au cours des étapes de coloration).

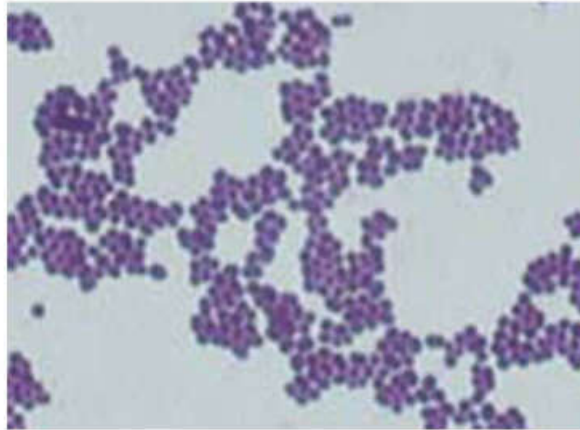
2. Les étapes de la coloration de Gram sont :

- Préparation du frottis bactérien (fixation (chaleur)),
- Coloration avec le violet de gentiane ou cristal violet (1min),
- Rinçage à l'eau déminéralisée,
- Coloration avec le lugol (1min),
- Décoloration avec de l'alcool,
- Rinçage à l'eau déminéralisée pour stopper l'action de l'alcool,
- Coloration avec la fuchsine (30s).

3. Une bactérie Gram + apparaît de couleur violette, Gram – de couleur rose. Les deux types ayant fixé les colorants violet de gentiane et le lugol apparaissent donc au départ violettes mais la faible épaisseur du peptidoglycane des Gram -, fait qu'elles sont plus facilement décolorées par l'alcool, puis recolorées par la fuschine (donc roses). Les Gram + restent violettes.

4. *M. tuberculosis* n'est pas perméable à la coloration Gram à cause d'une couche cireuse externe. Il est généralement coloré au Ziehl Neelsen.

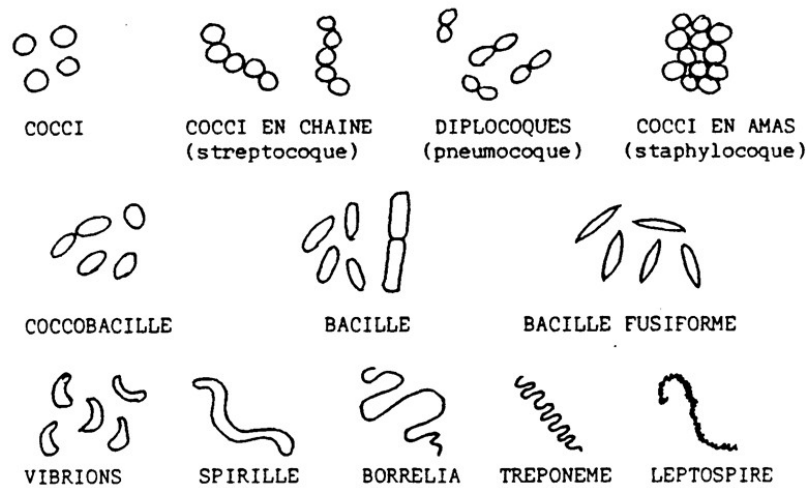
Exercice N°5: L'observation de l'échantillon d'un patient X sous le microscope à fond noir a fourni au technicien des indices sur l'identité du microbe à l'origine de son infection. Cependant, plus d'informations sont nécessaires pour un diagnostic concluant. Le technicien décide de faire une coloration de Gram de l'échantillon. Cette technique est couramment utilisée comme première étape dans l'identification des bactéries pathogènes. Après avoir terminé la procédure de coloration de Gram, le technicien regarde la lame sous le microscope à fond clair et obtient les résultats montrés dans la figure ci-dessous.



1. L'intérêt de la coloration de Gram permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne, et d'utiliser ces propriétés pour distinguer et classer les bactéries. Les étapes de la coloration de Gram sont citées ci-dessus, [en page ?](#).
2. Les caractéristiques de cette bactérie sont : couleur violette, forme cocci regroupée en grappe de raisin.
3. Ces bactéries sont à Gram positif car elles restent violettes.
4. Chez les bactéries à Gram positif, la paroi cellulaire bloque l'extraction du violet de gentiane et de l'iodure par l'alcool alors qu'elle ne bloque pas cette extraction chez les bactéries à Gram négatif.
5. Comparer entre la paroi des bactéries à Gram positif et celle des bactéries à Gram négatif :

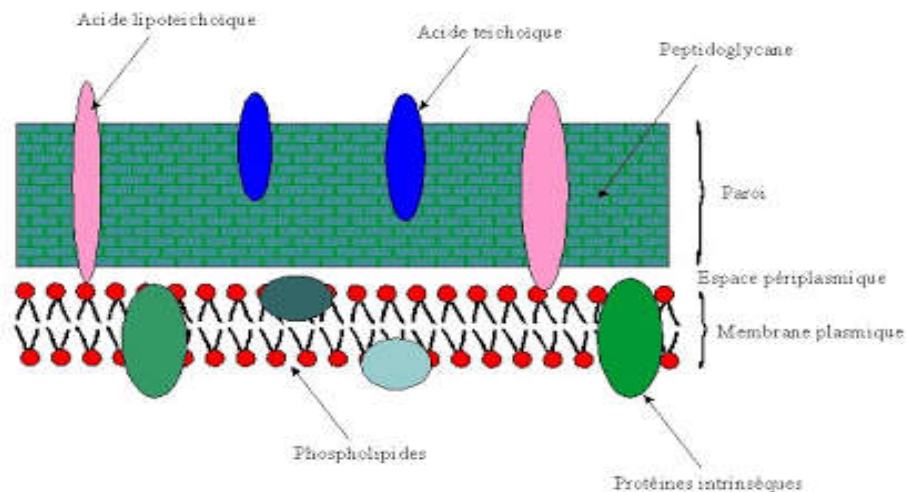
	Paroi Gram+	Paroi Gram-
Epaisseur	20 à 80 nm	10 à 15 nm
Aspect en microscope électronique	Une couche épaisse	Deux couches séparées par un espace clair
Membrane externe	-	+
Espace périplasmique	-	+
Acides teicoïques	+	-
Lipides	1 à 2,5%	10 à 22%

6. Différentes formes et associations bactériennes :



Exercice N°6 :

1. Structure de la paroi de *Lactobacillus bulgaricus* :



2.1. Lysozyme : enzyme, osidase rompant les liaisons β 1-4 des chaînes polysidiques du peptidoglycane.

2.2. En eau distillée, milieu hypotonique, les bactéries traitées au lysozyme, privées de leur paroi, éclatent. Par osmose, l'eau pénètre dans le milieu intracellulaire, plus concentré.

2.3. En milieu isotonique, il ya équilibre osmotique, l'eau ne pénètre pas le milieu intracellulaire et, malgré la disparition de la paroi, les cellules n'éclatent pas, mais elles perdent leur forme de bacille et deviennent sphériques. On les appelle des sphéroplastes.

2.4. Rôle de résistance à la pression osmotique. Rôle dans la forme de la cellule.

Exercice N°7 :

1.1. Suspension « A » : 1) spore terminale, 2) spore libre, 3) cellule végétative = bactérie non sporulée. Suspension « B » : 4) bactérie non sporulée.

1.2. Sporulation : division asymétrique par un septum transversal, séparation « préspore-sporange ». Synthèse de diverses enveloppes (paroi sporale, cortex, tunique interne et externe, exosporium).

2. On chauffe à 80°C pendant 10 minutes les suspensions A et B. On ensemence ensuite 0,1mL de chaque suspension chauffée sur un milieu d'isolement approprié. Après incubation, on observe de très nombreuses colonies sur l'isolement fait à partir de A et une colonie sur l'isolement fait à partir de B.

2.1. Spores à propriété de thermorésistance, due à la structure multimembranaire, à la déshydratation et à la présence de dipicolinate de calcium.

2.2. Phénomène de germination. La spore retrouve des conditions normales de croissance, une forme végétative réapparaît dans laquelle elle reprend son cycle de division et donne une colonie après incubation.

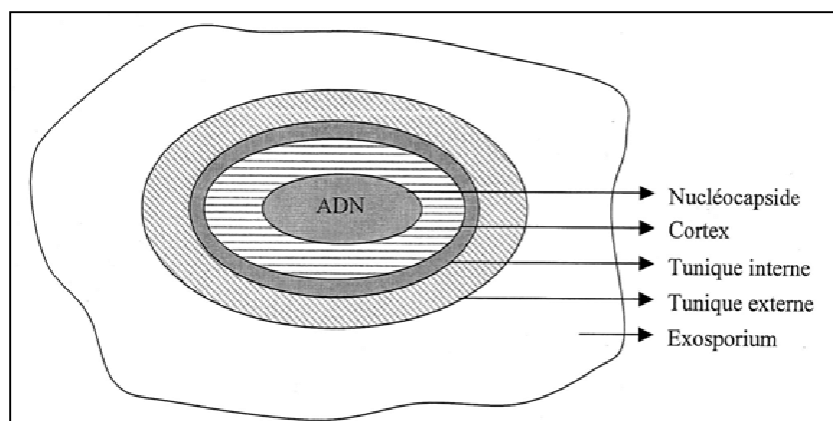
Exercice N°8 :

1.1. Le sang humain constitue un milieu riche favorisant ainsi la formation de la capsule bactérienne.

1.2. Elle s'oppose à la phagocytose en diminuant l'adhésion des bactéries aux macrophages. Virulence (empêche la pénétration des antibiotiques).

2. Les protéines liant la pénicilline impliquées dans la synthèse du peptidoglycane de la paroi bactérienne.

3.1. Schéma légendé d'une spore bactérienne :



3.2. Rôles majeurs d'une spore bactérienne :

- Résistance à la température, aux radiations (UV, rayons X), aux désinfectants, aux antiseptiques, aux antibiotiques, aux températures basses, déshydratation, pression, carence en éléments nutritifs, vieillissement.
- Maintient la vie cellulaire.
- Capacité de reprendre la forme végétative.

Exercice N°9 :

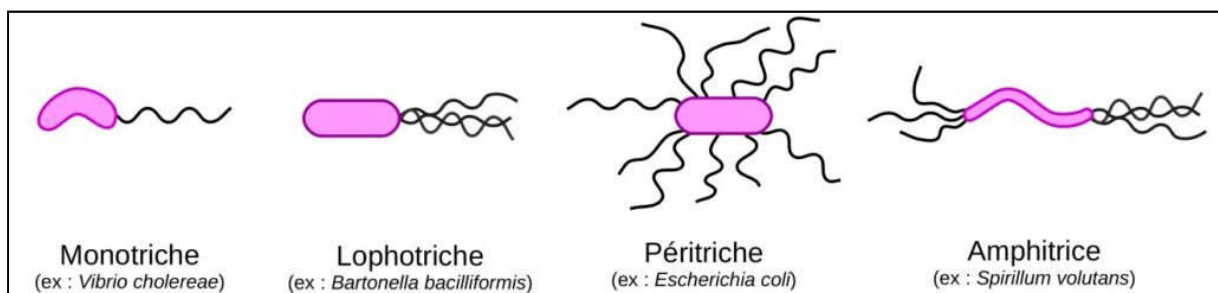
1. Le schéma d'une spore bactérienne est représenté dans la figure ci-dessus, en page ?.
2. Lorsque les conditions du milieu extérieur (environnant) deviennent défavorables (manque d'eau, de nourriture, température trop élevée, pH trop acide ou basique, manque d'oxygène...).
3. Pas toutes les bactéries qui peuvent sporuler. Les bactéries sporulantes : *Bacillus* et *Clostridium*.

Exercice N°10 : *Haemophilus influenzae*, petit bacille à Gram-, et *Streptococcus pneumoniae*, diplocoque à Gram+, présentent quelques analogies et différences de structure. Ces deux espèces possèdent fréquemment une capsule.

1. Capsule : couche externe gélatino-muqueuse. Nature polyholosidique.
2. Parce que cette capsule possède des spécificités antigéniques différentes selon la nature des constituants.
3. Rôles des capsules : attachement à des surfaces-biofilm, protection contre les composés toxiques, dessiccation, protection contre le système immunitaire.
4. La capsule permet de résister à la phagocytose.

Exercice N°11 :

1. On épaisse les flagelles pour les rendre visibles au microscope. Imprégnation argentique (coloration de Rhodes et Fontana-Tribondeau).
2. Ciliature péritriche (*Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*).
3. Autres ciliatures :



4. Déplacement en long trajets rectilignes (monotriche) ou en courts trajets avec changements fréquents de direction (péritriche).

5. Fimbriae : court appendices protéiques fins et plus minces que les flagelles. Ils ne sont pas impliqués dans les mouvements. Flagelles : appendices locomoteurs de nature protéique (flagelline) avec une structure hélicoïdale qui s'étendent à l'extérieur de la membrane plasmique et de la paroi cellulaire.

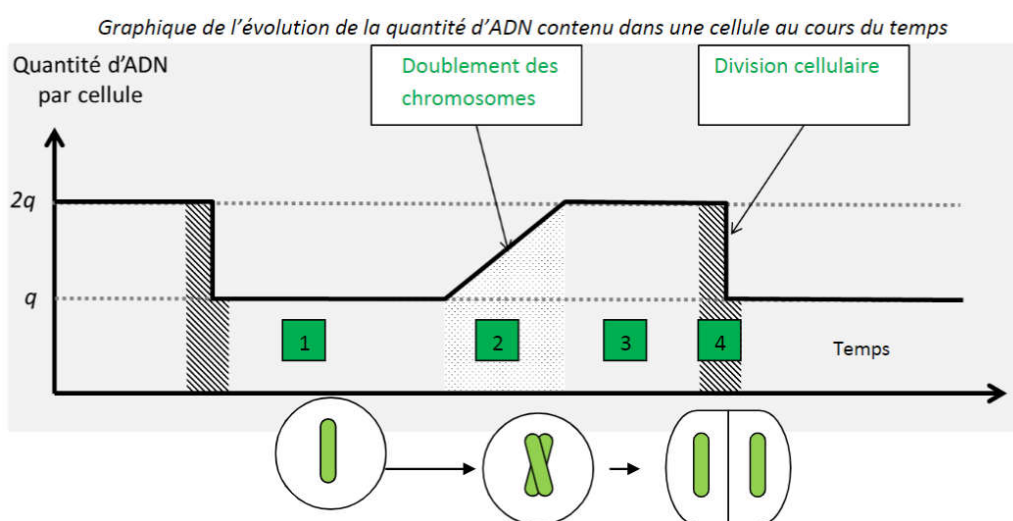
Exercice N°12 :

Les 4 antigènes que l'on peut utiliser sont :

- Ag de paroi (Ag O) : LPS de paroi chez entérobactéries ; polyside C des streptocoques
- Ag de flagelles (Ag H)
- Ag de capsule ou microcapsule (Ag Vi Salmonella, Ag K etc.)
- Ag de pili

Exercice N°13 :

1. les chromosomes sont d'abord simples (un bras) puis double (deux bras) avant de revenir à un bras.
2. La quantité d'ADN double lorsque le chromosome pas de un à deux bras.
3. La quantité d'ADN est alors divisée par deux.
4. Lors de la première partie, la quantité d'ADN est stable à $1q$. Deuxième partie, la quantité d'ADN augmente progressivement et double de q à $2q$. Troisième partie, la quantité d'ADN est stable à $2q$. Quatrième partie, la quantité d'ADN diminue brutalement de $2q$ à q .

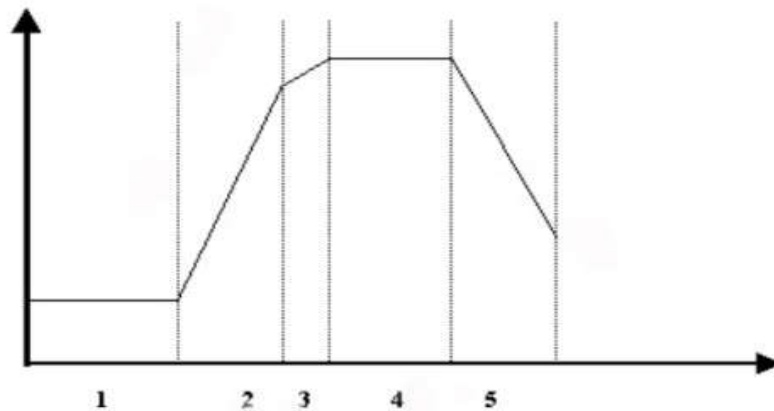


Exercice N°14 :

1. Les plasmides sont des petits fragments d'ADN circulaire présents dans la cellule bactérienne et indépendants du génome bactérien.
2. Les plasmides peuvent coder pour la synthèse de protéines qui confèrent des propriétés biologiques diverses : résistance aux antibiotiques, résistance aux antiseptiques mercuriels, aux métaux lourds, résistance aux bactériophages, virulence bactérienne...etc.
3. Par conjugaison.

Nutrition et croissance

Exercice N°1:



1. Les 5 phases de croissance sont :

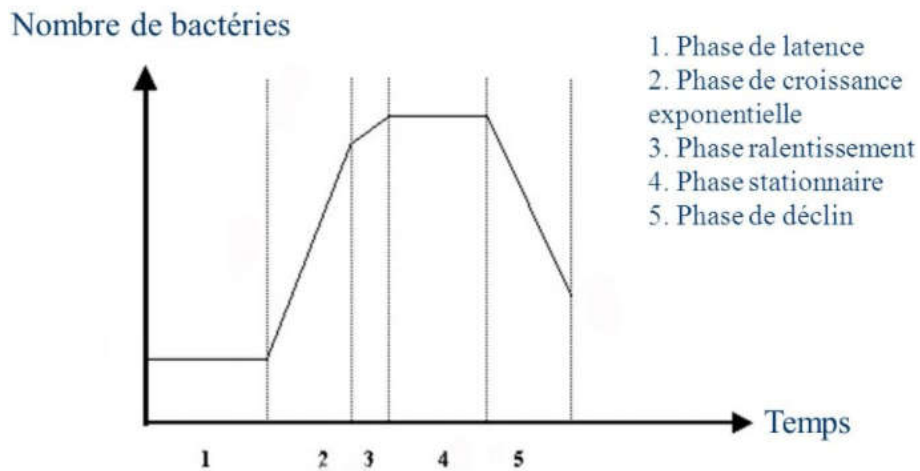
- **Phase 1 : Phase de latence :**
 - Adaptation au nouveau milieu. Préparation de la machinerie enzymatique nécessaire à la dégradation des nouveaux substrats.
 - Pas de division bactérienne ($\mu = \text{zéro}$).
- **Phase 2 : Phase d'accélération :**
 - Phase intermédiaire entre la phase de latence et la phase exponentielle.
 - Il y a accélération du rythme de division bactérienne (μ passe de zéro et tend vers μ_{max}).
- **Phase 3 : Phase exponentielle :**
 - Les bactéries sont dans leur état physiologique et métabolique optimum. D'où un maximum de synthèses surtout d'ADN et par conséquent un maximum de divisions bactérienne. Le taux de croissance est maximum (μ_{max}).
- **Phase 4 : Phase stationnaire :**
 - Arrêt de croissance. Arrêt de divisions bactérienne ($\mu = \text{zéro}$).
 - Les conditions de culture commencent à devenir défavorables.
- **Phase 5 : Phase de déclin :**
 - Les conditions de culture sérieusement défavorables.
 - Il y a mort des bactéries ($\mu < \text{zéro}$).
 - Existence possible de formes de résistance (spores) pour les souches qui sporulent.

2. Phase de croissance exponentielle.

3. $G = t/n$

Exercice N°2 :

1. Courbe de croissance :

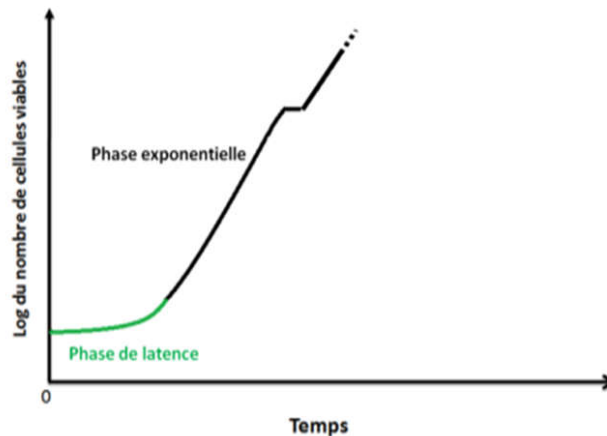


2. L'interprétation des différentes phases de croissance est citée ci-dessus, en page ?.

3. Bactérie mésophile.

Exercice N°3 :

1.1. Courbe de croissance résultante :



1.2. – Source d'énergie : lumière (photo)

- Source de carbone : CO_2 (autotrophe)

- Source du pouvoir réducteur : composé inorganique (litho)

1.3. - Température : Psychrophile (10°C)

- pH : Acidophile ($\text{pH} \approx 2$)

- NaCl : Halophile modéré

- Oxygène : Aéro-anaérobie facultatif

2. $N_n = N_0 \cdot 2^n$ ou N_0 : population initiale, N_n : population après n générations. Donc:
 $N_n = 120 \cdot 2^{18}$ (15 heures = 900 mn. $g = 50$ mn donc $900/50 = 18$ divisions)
 $N_n = 31457280$ bactérie/ml.

3.1. Formule à appliquer :

$$N = \frac{\sum c}{V \times [n1 + (0,1 \times n2)] \times d}$$

N : nombre de microorganismes / ml de suspension
 $\sum c$ = est la somme des colonies comptées sur toutes les boîtes retenues de 2 dilutions successives (les boîtes retenues doivent avoir entre 15 et 300 CFU,
 V = est le volume de l'inoculum ensemencé en ml. (généralement 1 ml)
 $n1$ = est le nombre de boîtes retenues à la première dilution
 $n2$ = est le nombre de boîtes retenues à la deuxième dilution
 d = est la dilution correspondant à la première dilution retenue

- *E. coli* (A) : $2.49 \cdot 10^9$ UFC/mL
- *E. coli* (P) : $1.56 \cdot 10^4$ UFC/mL.

3.2. Le pourcentage (%) de survie d'*E. coli* à l'amoxicilline :

- *E. coli* (A) : 100 %.
- *E. coli* (P) : 0.00062 % ou ($6.2 \cdot 10^{-4}$ %).

3.3. L'antibiotique amoxicilline est bactéricide pour *E. coli* car la survie après 24 heures est de 0.00062% (soit < 0.01). On dit qu'un antibiotique est bactéricide lorsque celui-ci tue plus de 99.99% de bactéries, soit 0.01% de survie.

Exercice N°4: Pour aider à l'identification d'une bactérie, on réalise un isolement sur milieu Drigalski dont la composition est donnée ci-dessous.

FORMULE - TYPE

(pouvant être ajustée de façon à obtenir des performances optimales)

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone 15,0 g
- Extrait de viande 3,0 g
- Extrait autolytique de levure 3,0 g
- Désoxycholate de sodium 1,0 g
- Thiosulfate de sodium 1,0 g
- Lactose 15,0 g
- Cristal violet 5,0 mg
- Bleu de bromothymol 80,0 mg
- Agar agar bactériologique 11,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : $7,4 \pm 0,2$.

1. Milieu empirique car certains constituants ont une composition qualitative et quantitative mal définie (présence d'extrait de viande, de levure).

2. Rôles des constituants suivants :

- Agar agar : gélification du milieu car $>10\text{g/L}$.
- Cristal violet : agent sélectif, inhibant le développement des Gram+.
- Bleu de bromothymol : indicateur coloré de pH (voir acidification due à l'utilisation du lactose).
- Désoxycholate de sodium : agent sélectif, inhibant le développement des Gram+ extrait de levure : source de facteurs de croissance, vitamines, N, C et énergie.

3. Milieu sélectif car il contient deux agents inhibiteurs : cristal violet et désoxycholate de sodium (permet le développement de bacilles Gram-). Milieu à lecture de caractère biochimique car il contient du lactose et un indicateur coloré de pH, permettant de voir si la bactérie se développant, utilise le lactose.

Exercice N°5 :

1. Rôle des constituants des milieux suivants :

- Milieu 1 : milieu minimum (éléments minéraux apportant les oligoéléments et éléments de base) + source de carbone organique (glucose).
- Milieu 2 : en plus de l'hydrolysate de caséine apportant les acides aminés, les peptides sont comme source de carbone et d'azote organique.
- Milieu 3 : l'extrait de levure apporte les acides aminés et vitamines.

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

- Souche A : prototrophe vis-à-vis des minéraux et hétérotrophe vis-à-vis du glucose.
- Souche B : *idem* en plus auxotrophe vis-à-vis d'acides aminés.
- Souche C : même chose mais auxotrophe vis-à-vis des vitamines apportées par l'extrait de levure.

3.1. La bactérie doit être auxotrophe pour cette vitamine.

3.2. La bactérie est mise en présence de différentes concentrations de la vitamine et on détermine la biomasse obtenue en phase stationnaire de manière à conduire la courbe $N_f=f$ ([vitamine]).

3.3. Recherche des vitamines dans les produits alimentaires.

Exercice N°10:

1. Microscope : $500 \times 120 / 0,2 = 3 \cdot 10^6$ bactéries/ 5mL. Isolement sur gélose : $15 \times 1000 \times 5 / 0,1 = 7,5 \cdot 10^5$ bactéries/ 5mL. Comparaison des chiffres : $3 \cdot 10^6$ divisé par $7,5 \cdot 10^5 = 4 \rightarrow$ Il ya 4 fois

moins de bactéries dénombrées sur la gélose que sous le microscope. Explication : erreur de dilution, erreur d'échantillonnage, erreur d'étalement...etc

2. Turbidimètre, spectrophotomètre, compteur électronique.

Agents antimicrobiens

Exercice N°1 :

1. Sa boîte de Pétri de *Staphylococcus* a été contaminée par un champignon, *Penicillium*. En 1928, Alexander Fleming a observé que le champignon sécrétait une molécule qui inhibe la bactérie. Cette molécule est la pénicilline, le premier antibiotique.
2. Un antibiotique est une substance naturelle ou synthétique qui détruit ou bloque la croissance des bactéries.
3. Faux : beaucoup sont trop toxiques ou ont des effets secondaires indésirables pour l'organisme.
4. Les antibiotiques bactériostatiques inhibent la croissance et la reproduction des bactéries, mais ne les tuent pas, alors que les antibiotiques bactéricides tuent les bactéries.

Exercice N°2 :

1. Gélose Mueller-Hinton.
2. Il faut une souche pure, jeune (environ 18 heures de culture), de densité cellulaire correcte (0,5 MF).
 - 3.1. Sensible : souche pouvant être atteinte par le traitement aux doses supportables par l'organisme. Résistante : souche ne pouvant pas être atteinte par le traitement à doses supportables par l'organisme.
 - 3.2. Le bon antibiotique qui pourrait être prescrit au patient est l'antibiotique 4 car la bactérie présente une sensibilité à ce dernier (25mm de diamètre).

Exercice N°3:

1. Dans le cas d'un contrôle de qualité du lait de vache. Par suite d'un traitement de la vache, l'antibiotique utilisé peut passer dans le lait ou sa présence peut entraîner des troubles graves en cas d'ingestion.
2. Le disque imbibé de lait va inhiber la culture bactérienne s'il y a présence d'un antibiotique auquel la souche test est sensible.
 - 3.1. Le disque témoin permet de vérifier la sensibilité de la souche à la pénicilline.
 - 3.2. La pénicillinase va détruire la pénicilline en rompant le cycle β -lactame. Par conséquent, la pénicilline n'aura pas d'effet sur la souche.

Exercice N°4 : Les traitements de conservation appliqués aux aliments visent à préserver leur comestibilité et leurs propriétés gustatives et nutritives en empêchant le développement des

bactéries, champignons et microorganismes qu'ils renferment et qui peuvent dans certains cas entraîner une intoxication alimentaire.

1. Traitement thermique pour la conservation de longue durée.
2. La pasteurisation : c'est un traitement par lequel on détruit une partie de la flore microbienne (principalement les germes pathogènes). La stérilisation : c'est un traitement thermique qui conduit à la destruction de tous les germes (la destruction des spores).
3. Le lait pasteurisé est brièvement chauffé par rapport au lait UHT. Le lait UHT peut ainsi être conservé plus longtemps que le lait pasteurisé. À la suite du chauffage important pendant une longue durée, le lait présente un goût différent.

Exercice N°5 :

1. Les tests à angine montrent que M. X est infecté par des bactéries et M. Y par des virus. En présence d'antibiotiques, le nombre de bactéries diminue alors qu'il augmente sans antibiotique.

Le nombre de virus augmente toujours avec et sans antibiotique. On conclut que les antibiotiques ne sont efficaces que sur les bactéries et pas sur les virus. C'est pourquoi M. Y n'a pas eu de prescription d'antibiotiques.

2. L'antibiogramme montre que l'antibiotique 3 détruit plus de bactéries que l'antibiotique 6 et 7. C'est pourquoi le médecin de M. X lui a prescrit cet antibiotique.

Exercice N°6 :

1. A) Autoclave, B) Autoclave ou four Pasteur, C) Rayons Gamma ou gaz ionisants, D) Filtration (possible rayons Gamma), E) Autoclave, F) Autoclave ou four Pasteur.

2. Faire cuire les aliments et se laver les mains avant de manger sont des actions qui permettent de détruire les microorganismes avant qu'ils entrent dans l'organisme : c'est de l'asepsie. Désinfecter une plaie permet de détruire les microorganismes après qu'ils soient entrés dans l'organisme : c'est de l'antisepsie.

3. La congélation permet un ralentissement de la croissance bactérienne. Le traitement à la chaleur permet la destruction des bactéries.

Virologie

Exercice N°1 :

1. Virus.
2. Un virus est un agent infectieux nécessitant un hôte, souvent une cellule, dont il utilise le métabolisme et les constituants pour se répliquer.
3. Les virus possèdent un acide nucléique et des protéines. Les virus ne sont pas des êtres vivants mais de simples associations de molécules biologiques, le fruit d'une auto-organisation de molécules organiques.
4. La nature de l'acide nucléique (ADN ou ARN), la structure de l'acide nucléique (mono- ou bi-caténaire, linéaire, circulaire, segmenté ou non), les données morphologiques (absence ou présence d'enveloppe, symétrie de la capsid), nature de l'hôte.
5. Vaccin.

Exercice N°2 :

1. 1) Protéine d'enveloppe, 2) Protéase, 3) Capside, 4) Intégrase, 5) Transcriptase inverse, 6) Acide nucléique ARN, 7) Matrice, 8) Membrane.
2. Attachement, pénétration, décapsidation, réplication, assemblage et maturation, libération des virus.

