

TD N°3:

1/2

Croissance bactérienne et dénombrement

Exercice n°1:

On étudie la croissance d'une souche d'*Acetobacter*.

- 1: Décrire une technique qui permette d'étudier l'évolution de la population bactérienne en fonction du temps.
- 2: Tracer la courbe $\ln N = f(t)$ en justifiant le choix de l'ordonnée $\ln N$ plutôt que N (échelle 1,5 cm = 1h en abscisse).

t (heures)	N	t (heures)	N	t (heures)	N	t (heures)	N
0	10^5	5	$2,51 \cdot 10^5$	10	$1,51 \cdot 10^7$	15	$5,01 \cdot 10^7$
1	10^5	6	$5,75 \cdot 10^5$	11	$2,51 \cdot 10^7$	16	$5,25 \cdot 10^7$
2	10^5	7	$1,32 \cdot 10^6$	12	$3,63 \cdot 10^7$	17	$5,25 \cdot 10^7$
3	10^5	8	$3,02 \cdot 10^6$	13	$1,17 \cdot 10^7$		
4	$1,38 \cdot 10^5$	9	$6,92 \cdot 10^6$	14	$4,57 \cdot 10^7$		

- 3: Indiquer sur cette courbe les différentes phases de la croissance.

- 4: Ecrire la relation existant entre $\ln N_t$ (logarithme de N au temps t) et $\ln N_{t+G}$ (logarithme de N au temps $t + G$), G étant le temps de génération, t et $t + G$ étant pris en phase exponentielle de croissance.

- 5: Déterminer directement sur la courbe tracée le temps de génération (on prendra $\ln 2 = 0,7$). *Kan nakdel pen exp 6 B phase expa yak nakdel ln N de dyal 11 + ln 2 m3sa mara temp*

- 6: Calculer le taux de croissance μ_{expo} . *$G = \frac{t_{N_2} - t_{N_1}}{\ln N_2 - \ln N_1}$*

- 7: Vérifier la concordance des réponses aux questions 4 et 5. *+ on vérifie graphiquement avec calculatrice de $\mu = \frac{1}{G}$ et conclure.*

Exercice n°2:

On détermine le taux de croissance d'une souche de *Salmonella typhimurium* dans un milieu de culture additionné d'un hydrolysate protéique.

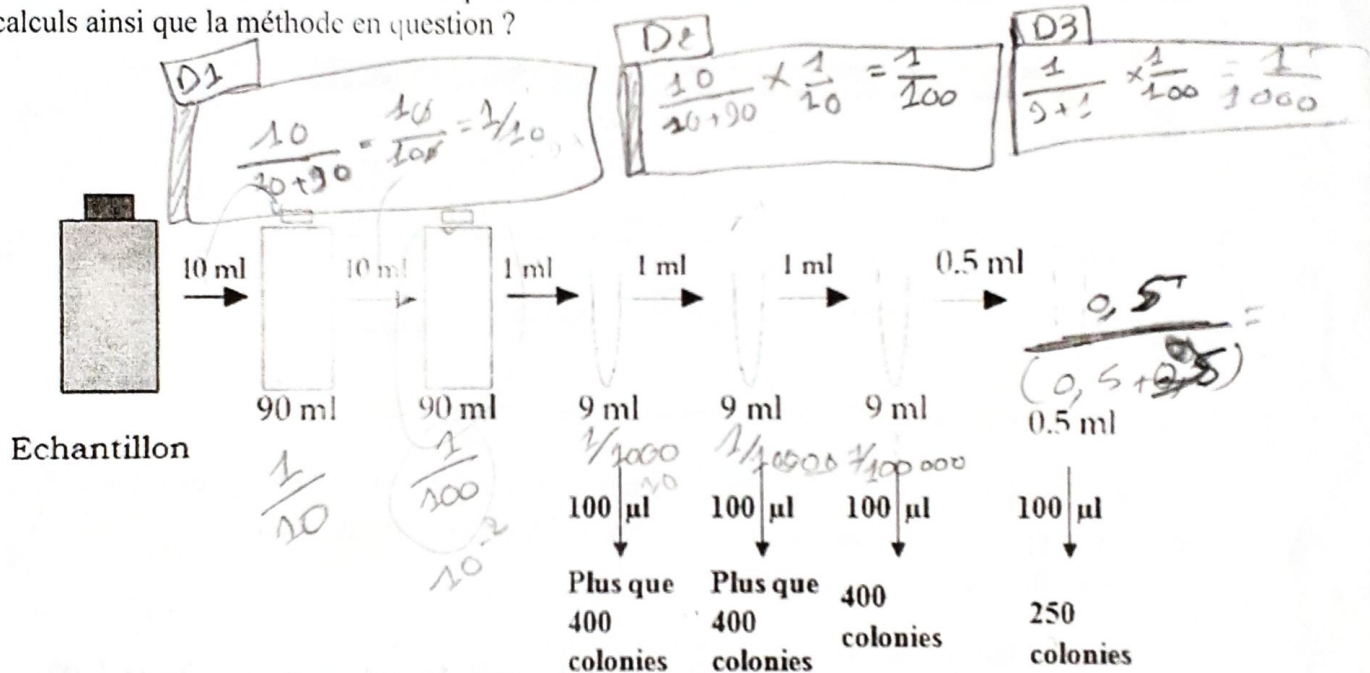
En phase exponentielle de croissance on dénombre:

- au temps 6h: $6,31 \cdot 10^6$ bactéries par cm^3 .
- au temps 8h: $8,47 \cdot 10^7$ bactéries par cm^3 .

1- Calculer le taux de croissance et le temps de génération de la souche après avoir défini ces paramètres (on prendra $\ln 2 = 0.7$).

Question 3:

Déterminez à partir du nombre de colonies dénombrées et du schéma de dilution ci-dessous, le nombre de cellules bactériennes présentes dans 500 ml de l'échantillon. Détaillez vos calculs ainsi que la méthode en question ?



Nombre de bactéries = $\frac{\text{E de colonies}}{V \times d}$

$$= \frac{250}{100 \mu\text{l} \times \frac{1}{2} \times \frac{1}{100000}}$$

$$= \frac{250}{0,1} \times 10^{-5}$$

Calcul de la dilution totale:

$$D_T = \frac{1}{0,5 + 0,5} \times \frac{1}{100000} = \frac{1}{100000}$$

Calcul du nombre de bactéries:

$$= 250 \times 10^6 \text{ UFC/ml}$$

TD N°1 et 2 de Microbiologie :

1/4

Nutrition et métabolisme bactérien

Exercice 1 :

B. subtilis est une bactérie hétérotrophe. On désire cultiver une souche d'un mutant auxotrophe pour le tryptophane (notée Trp-) de *B. subtilis*. On se dispose de 2 milieux minima dont les compositions sont données dans le tableau ci- dessous.

Milieu 1		Milieu 2	
Chlorure d'ammonium	1,00 g	Chlorure d'ammonium	1,00 g
Monohydrogénophosphate de potassium	1,00 g	Monohydrogénophosphate de potassium	1,00 g
Sulfate de Magnésium	0,20 g	Sulfate de Magnésium	0,20 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	1,00 L	Glucose	5,00 g
Dioxyde de Carbone CO_2	En quantité suffisante	Eau distillée	1,00 L

1. Définir un milieu minimum ?
2. Lequel des deux milieux convient à cette souche et sous quelle condition pourra-t-elle cultiver ? Justifier les réponses en définissant les termes hétérotrophes et auxotrophes ?
3. Nommer et définir le type trophique de micro-organisme qui pourrait cultiver sur l'autre milieu ?
4. Justifier la présence dans ces milieux de chlorure d'ammonium et de sulfate de magnésium ?

Exercice 2 :

Analyse des types trophiques des souches I et II à l'aide des milieux de culture A, B et C (La composition des milieux est donnée en g/L)

Milieu A	
Phosphate d'ammonium	0,2
Phosphate monopotassique	1
Sulfate de magnésium	0,2
Chlorure de calcium	0,1
Chlorure de Sodium	5

Milieu B	
Milieu A + Citrate trisodique: <i>Sourcé de carbone</i>	2
Milieu C	
Milieu A + les additifs suivants :	
Biotine	10^{-6}
Histidine	10^{-5}
Méthionine	2.10^{-5}
Thiamine	10^{-6}
Pyridoxine	10^{-6}
Acide Nicotinique	10^{-6}
Tryptophane	2.10^{-5}
Pantothénate de calcium	10^{-5}
+ Oligoéléments	
+ Glucose	5

Après ensemencement et incubation, on obtient les résultats suivants :

Souche pure	Milieu A	Milieu B	Milieu C
I	-	+	+
II	-	-	+

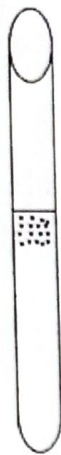
1. Comment qualifier le milieu A ?
2. Certaines bactéries pourraient se développer dans le milieu A à la condition de les incuber en atmosphère enrichie en CO_2 . Expliquer pourquoi et donner leur type trophique vis-à-vis du carbone ?
3. 1. Quel est le type trophique « vis-à-vis du carbone et des besoins nutritionnels spécifiques » de la souche I ?
- 3.2. Quelle est sa source d'azote ?
4. 1. Qu'apporte le glucose dans le milieu C ?
- 4.2. Quel est le type trophique vis-à-vis du carbone et par rapport au métabolisme énergétique ?
- 4.3. Définir et expliquer la présence d'oligoéléments ?
- 4.4. Les composants additifs du milieu C appartiennent à deux groupes chimiques distincts. Lesquels ?
- 4.5. A quelle catégorie appartiennent ces composants ? Donner une définition.

Exercice 3:

I : Pour rechercher le type respiratoire de trois bactéries, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Clostridium sporogenes*, on les ensemence en gélose profonde viande-foie dont la composition est comme suit :

Base viande-foie	30 g
Glucose	2g
Agar	6g
Eau distillée	1L

Après 24h d'incubation, on obtient les résultats suivants (Figure A) :



Pseudomonas aeruginosa

Aerobes



Escherichia coli

Bac



Clostridium sporogenes

ana

1. Quel est le type respiratoire de chacune de ces bactéries ?
2. Indiquer succinctement, pour chacun de ces trois cas, la voie de dégradation du glucose et préciser la nature de l'accepteur final d'électron ?
3. Justifier l'absence de culture de *Clostridium sporogenes* dans la partie supérieure du tube et le développement de *Pseudomonas aeruginosa* et de *E-coli* dans cette zone ?

II. La figure ci-dessous (Fig. B) montre la différence de comportement de *Pseudomonas aeruginosa* ensemencé en gélose profonde viande-foie et en gélose de Veillon.



Gélose VF



Gélose Veillon

1. Expliquer le résultat observé en gélose de Veillon sachant que la composition du milieu est la suivante.

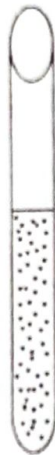
Macération de viande de bœuf	50 ml
Eau	500 ml
Peptone	20g
Gélose	8g
Glucose	10g
Nitrate de potassium	1g

2. Comment désigne-t-on le processus métabolique mis en œuvre ?
3. Quel est l'accepteur final d'électron ?
4. Quelle enzyme caractéristique peut-on mettre en évidence ?

III . *Haemophilus influenzae* ne se développe en gélose viande-foie que lorsque ce milieu est enrichi en facteurs V et X. La figure ci-dessous (Fig. C) donne les résultats obtenus pour ce germe :



Gélose VF



Gélose VF
+ Facteurs V
+ Facteurs X



**Gélose VF
+ Facteurs V**

1. Comment désigne-t-on des germes qui ont un tel comportement ?
2. Sachant que le facteur X est un précurseur des cytochromes et que le facteur V est un précurseur du NAD, interpréter les résultats obtenus ?

Tronc commun science "S3"
Session normale-Janvier 2012

جامعة الزيتونة
FACULTE POLYDISCIPLINAIRE TAPRO

Epreuve : Microbiologie

Durée : 2 heures

Nom : <u>Abile</u>	Prénom :	Groupe :
Amphi :	Place N°	

Exercice 1 :

L'examen microbiologique à partir d'un prélèvement d'un patient a permis de mettre évidence des bactéries colorées en vert et d'autres en orange.

1 : Quel est le type d'examen utilisé ? Donner son principe, son intérêt et son avantage ?

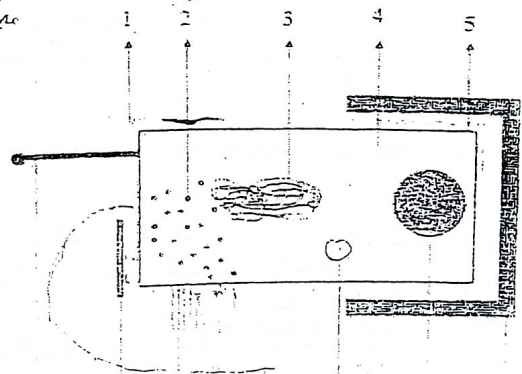
2 : Quelle est la différence entre les deux types de bactéries observées ?

Exercice 2

1 : Titrer et annoter le schéma ci-dessous

Titre :

Eléments : Structure obligatoire



Eléments : Structure facultative

1. Flagelle
2. Pili
3. Spore
4. Capsule
5. Vacuole
6. Granule
7. Lipide
8. Glycogène
9. Polyphosphate
10. Lipide
11. Spore
12. Capsule

2. Quelles sont les facteurs induisant la formation des éléments 11 et 12 ?

3. Citer deux rôles de chacun de ces deux éléments ?

1. 2. protection... la synthèse de la hémoglobine... la synthèse de la myoglobine...

4. Quelle est la technique qui permet la destruction de l'élément 11 ? Donner son principe en précisant son mode d'action ?

l'irradiation

Exercice 3 :

Question 1 :

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

Milieu 1
(CaCl ₂), (FeCl ₃), (MgSO ₄ · 7H ₂ O), (NH ₄ Cl), (K ₂ HPO ₄), (Zn), (Mn), (Cu), (Mo); (Co), du Glucose et Eau,
Milieu 2
Milieu 1 + hémine + acide folique,
Milieu 3
Milieu 1 (exempt de NH ₄ Cl) + extrait de levure

Les résultats obtenus après incubation sont les suivants :

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