

# Andrew Tolonen  
# 22 avril 2013

## Revue de la Microbiologie L2

### **TD01:** Histoire de la microbiologie et classification des microbes

1 Un grand oeuvre de Louis Pasteur est le traitement du lait par "la pasteurisation". Quelle est la différence entre la pasteurisation et la stérilisation? Pourquoi est-ce qu'on ne stérilise pas le lait (sauf le UHT)?

Pour pasteuriser le lait, il est mis à 145 degrés pendant 30 minutes. On ne stérilise pas le lait parce que les hautes températures dégradent les protéines et détruisent le goût.

2 Il y a deux types d'antibiotiques, les antibiotiques bactéricide et les bactériostatiques. Quelle est la différence entre ces 2 types?

Antibiotiques bactéricides tuent la cellule. antibiotiques bactériostatiques empêchent la croissance, mais ne tuent pas la cellule.

### **TD02** Observation des cellules

1 Bien que le miel se compose de sucre, on ne voit jamais les cultures bactériennes qui poussent sur le miel. Pourquoi?

Les bactéries ne poussent pas sur la surface de miel parce que la concentration en sucre est très élevée et il y a si peu d'eau. Le miel est un environnement hypertonique qui assèche la cellule.

2 Un millimètre est l'équivalent de combien de nanomètres? Un teragram est l'équivalent de combien de kilograms?

$$1 \text{ mm} = 10^{-3} \text{ m}$$

$$1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$$

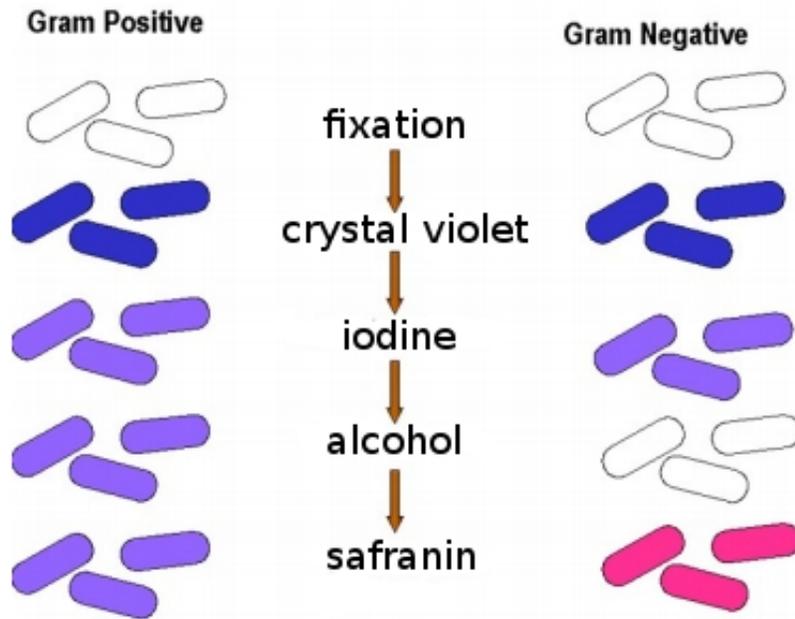
$$1 \text{ mm} = 10^6 \text{ nm}$$

$$1 \text{ kg} = 10^3 \text{ grams}$$

$$1 \text{ teragram} = 10^{12} \text{ g}$$

$$1 \text{ teragram} = 10^9 \text{ kg}$$

3 Décrivez ce qu'il se passe à chaque étape de la coloration de Gram. Que fait chaque réactif?



**Fixation:** accrochement de la cellule sur la lame

**Crystal violet:** coloration de la cellule

**iodine:** formation des complexes de CV-I qui ne sortent pas de la cellule

**alcool:** décoloration des cellules, dégradation de membrane, fuite des complexes CV-I des cellules gram-négatives

**safranin (contre-coloration):** coloration de la paroi pour mieux visualiser les cellules à gram négatif

### TD03 La paroi bactérienne

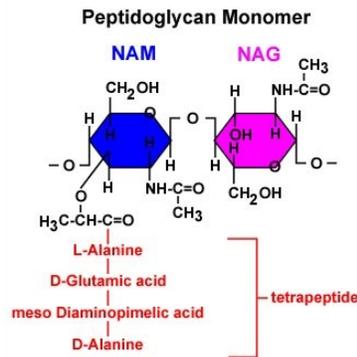
1 Vous suivez un protocole d'extraction d'ADN chez E.coli dans votre labo. La première étape du protocole est d'ajouter le lysozyme et incuber les cellules pendant 30 minutes à 37 ° C. Quel est le but de cette étape? Que fait le lysozyme?:

Le but de cette étape est la lyse cellulaire. Le lysozyme est une enzyme qui hydrolyse l'épine dorsale du sucre du peptidoglycane.

2 Quelle est la principale différence entre l'endospore bactérien et la spore d'un mycète?:

Endospores bactériennes sont une adaptation de persister dans un état inactif pour résister à des conditions extrêmes. Les spores des mycètes font partie de leur reproduction sexuelle.

3 Une différence principale entre les bactéries à gram positif et négatif est la présence d'une couche épaisse de peptidoglycane autour des cellules gram positif. Décrivez la composition de peptidoglycane:



#### TD04 La transformation génétique des bactéries

1 Décrivez quatre méthodes pour insérer l'ADN dans une cellule bactérienne. Quelles sont les différences entre ces méthodes?:

- 1 électroporation: perméabiliser la membrane par un choc électrique.
- 2 transformation: le transport de l'ADN environnemental
- 3 transduction: transfert de l'ADN bactérien par un phage
- 4 conjugaison: transfert de l'ADN entre des cellules bactériennes par un pilus sexuel

3 Comment s'appelle la protéine qui assure que le l'opéron lac n'est pas exprimé en absence de lactose? Comment est-ce que cette protéine est inactivée en présence de lactose?

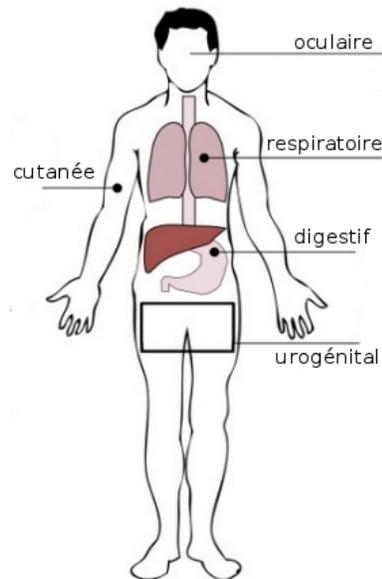
Le répresseur lac s'accroche à l'ADN en amont du gène lacZ pour empêcher sa transcription en l'absence de lactose. Le lactose se lie au répresseur lac pour l'empêcher son accrochement à l'ADN.

4 Déterminez si l'opéron lac est exprimée dans chacune des conditions indiquées dans le tableau ci-dessous:.

		glucose	
		-	+
lactose	-	-	-
	repression et activation	repression et pas d'activation	
+	+	-	
pas de repression et activation	pas de repression pas d'activation		

## TD05 Les pathogènes

1 Donner un exemple d'un pathogène qui infecte le corps humain par chacun de ces voies:



oculaire: *Chlamydia trachomatis*

respiratoire: *Mycobacterium tuberculosis*

digestif: *Helicobacter pylori*

urogénital: HIV

cutanée: *Staphylococcus aureus*

2 Comparez les endotoxines et des exotoxines et donnez un exemple de chaque toxine.

Endotoxine: lipopolysaccharide (paroi cellulaire)

Exotoxine: molécule sécrétée (toxine botulinique)

3 Un ver parasitique peut atteindre plusieurs centimètres de longueur. En revanche, un virus est quelques centaines de nanomètres (un millionde fois plus petites). Comment les différences de taille influencent les stratégies de ces pathogènes dans le corps human?

les helminthes (vers parasitiques) détournent les nutriments à leur avantage et bloquent des vaisseaux.

Les virus (pathogènes intracellulaire) arret la division cellulaire et lyse les cellules.

4 Les toxines sont souvent classifiée par leur DL50. Définissez ce terme. Si une toxine a un DL50 de 1 ng et une autre a un DL50 de 1 mg, laquelle de ces toxines est la plus puissante?

Le DL50 s'agit de la quantité de toxine nécessaire pour tuer 50% des sujets. La toxine avec un DL50 de 1 ng est plus puissante.

## TD06 Nutrition et croissance

1 Les microbes peuvent être classifiés par leur modes de nutrition: source de carbone, source d'énergie, et source des électrons. Quels sont les deux possibilités pour chacun de ces modes de vie? Comment classeriez-vous un microbe qui pousse en présence de la lumière et du dioxyde de carbone et qui nécessite le sulfure d'hydrogène pour ces électrons?

### La source de carbone

autotrophe: la capacité de certains organismes vivants à produire de la matière organique en procédant à la réduction de matière inorganique, par exemple le carbone (sous forme de CO<sub>2</sub>).

hétérotrophe: a nécessité pour un organisme vivant de se nourrir de constituants organiques préexistants.

### La source des électrons

organotrophe=source organique

lithotrophe source inorganique (ie l'eau)

### La source d'énergie pour récupérer les électrons (oxydation)

la lumière=phototrophe

les chimies=chimiotrophe

le microbe et un photo-auto-lithotrophe.

2 Vous étudiez une bactérie qui pousse sur le milieu suivant. Quel est le rôle chacun des composants du milieu par rapport à la bactérie?

Chlorure d'ammonium source de chlore et de l'azote

Phosphate monopotassique source de phosphore et de potassium

Sulfate de magnésium source de soufre et de magnésium

Glucose source de carbone

Extrait de Levure source des acides aminés et vitamines

Mélange des oligoéléments sources des métaux: Fe, Co, Ni, etc.

3 Vous inoculez 1 ml de milieu LB avec 10<sup>3</sup> cellules d'*E. coli* en phase exponentielle. Le temps de génération d'*E. coli* est 20 minutes. Si les cellules restent en phase exponentielle, combien de cellules est-ce qu'il y aura après 24h?

$$N_t = 1000 \cdot 2^{\frac{24 \cdot 60}{20}} = 4.2 \cdot 10^{24}$$

A Après 24h, vous observez qu'il y a 10<sup>9</sup> cellules dans la culture. Pourquoi est-ce qu'il y a beaucoup moins de cellules que prévu?

Tous les nutriments ont été consommés et les cellules sont entrées en phase stationnaire.

## TD07 Métabolisme microbien

1 Glycolyse décrit le catabolisme du glucose. Quels sont les produits de la glycolyse?

Pyruvate, ATP, NADH

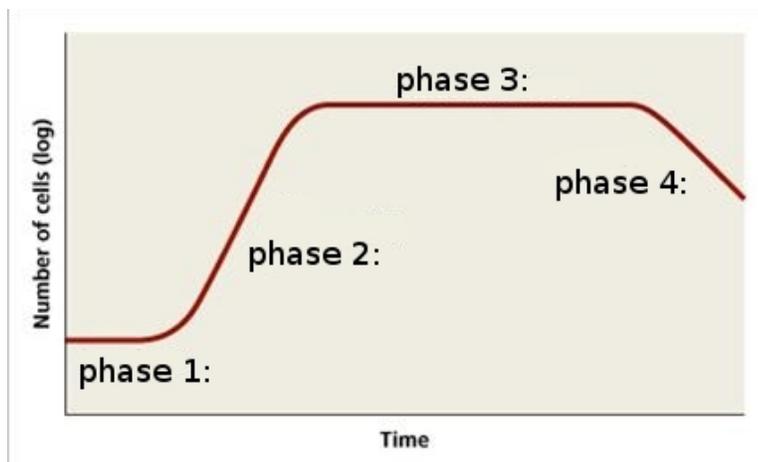
2 Du point de vue d'un bilan énergétique cellulaire, ce sont les deux objectifs de la fermentation?

Production d'un faible quantité d'ATP et l'oxydation du NADH produit à partir de la glycolyse.

3 Quel est le rôle de l'oxygène dans la chaîne de transport d'électrons utilisé pour la respiration?:

L'oxygène est l'accepteur d'électrons terminal de la chaîne respiratoire.

4 Nommez les quatre phases de cette courbe de croissance microbienne:



- 1 phase de latence
- 2 phase exponentielle
- 3 phase stationnaire
- 4 phase de déclin

### TD08 Les méthodes de la microbiologie moléculaire

1 Un programme de PCR se compose d'environ 30 cycles et chaque cycle a 3 phases: dénaturation, hybridation et élongation. Qu'est-ce qui se passe en chacune de ces trois phases?

Dénaturation: separation des 2 brins d'ADN

Hybridation: hybridation des amorces à l'extérieur de la séquence d'intérêt

Elongation: formation d'un second brin par le polymérase

2 Quand vous lancez le PCR, il y a 100 copies du gène dans le tube. Combien des copies du gène est-ce qu'il y aura après 20 cycles de PCR?

$$N_t = 100 \cdot 2^{20} = 104857600 \text{ copies}$$

3 Vous résolvez deux échantillons d'ADN (A et B) par électrophorèse (ci-dessous). Un échantillon contient une molécule d'ADN linéaire de 1000 pb et l'autre est de 50 pb. Quel échantillon contient quelle molécule?



Voie A = 1000 pb  
Voie B = 50 pb