

Andrew Tolonen (atolonen@gmail.com)
13 février 2013

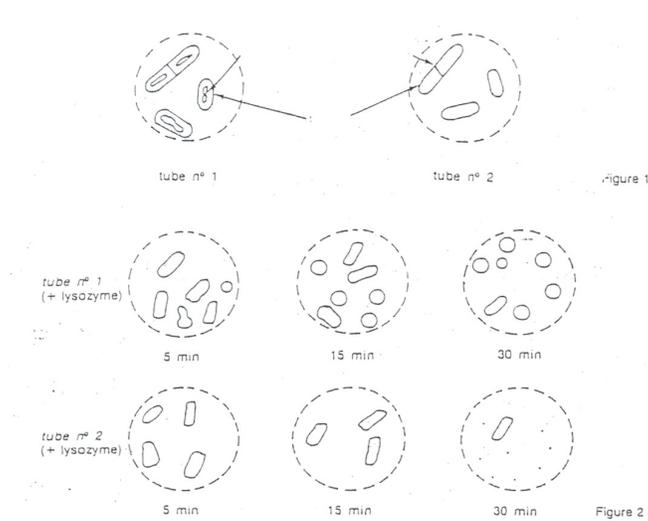
L2 Microbiologie TD3

Exercice 1

On centrifuge 25-ml d'une culture de *Bacillus megaterium* prélevée en fin de phase exponentielle de croissance. Le culot de centrifugation est remis en suspension dans 20 ml de tampon phosphate 0,04 M (mol l⁻¹) pH 7,2 de façon à laver les cellules bactériennes. Après avoir de nouveau centrifugé, décanté et recommencé deux fois le lavage, on remet le culot de cellules bactériennes en suspension dans 2,5 ml de tampon phosphate pH 7,2. Après avoir lavé les cellulose, on impose un choc osmotique:

- A 1 ml de la suspension cellulaire, on ajoute 1 ml de solution de 2M saccharose (1 M concentration finale) à tube n° 1.

- A 1 ml de la suspension cellulaire, on ajoute 1 ml d'eau distillée à tube n° 2.
Après homogénéisation, les deux tubes sont mis à incuber pendant 2mn à 37°C. Les états frais réalisés sur les deux tubes sont schématisés sur la figure 1.



a- Comparer les résultats des deux observations microscopiques.

b- Les justifier par les conditions expérimentales.

On ajoute dans les deux suspensions précédentes (tubes n° 1 et 2) 0,2ml de lysozyme. On examine au microscope optique avec l'objectif à immersion les deux suspensions après 5, 15 et 30 mn d'incubation à 37°C.

Les observations microscopiques sont schématisées dans la Figure 2

a- Que deviennent les cellules bactériennes dans les tubes n° 1 et n° 2

b- Préciser le rôle du lysozyme:

c- Les mycoplasmes ne sont pas sensibles au lysozyme. Pourquoi ?

Exercice 2

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. La capsule

a- En donner la définition et la situer dans la cellule bactérienne. Préciser la nature chimique de la capsule de *Streptococcus pneumoniae*

b- Pour chacune des deux espèces on peut définir plusieurs sérotypes. Pourquoi?

c- Les bactéries capsulées sont très virulentes. Pourquoi ?

d- Les capsules sont visualisées par :

e- Coloration de Gram

f- Coloration de Ziehl-Neelsen

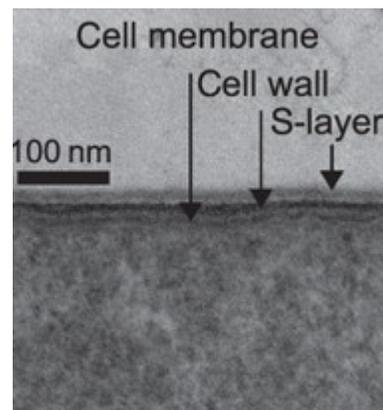
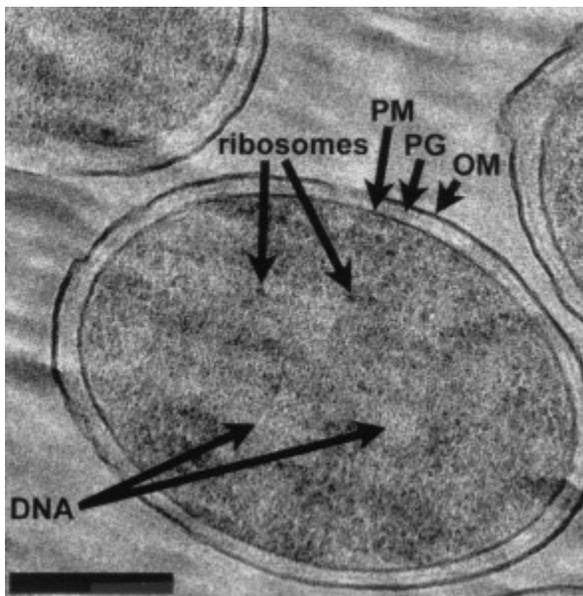
g- Bleu de Méthylène

h- Coloration négative

2. La paroi

a- La couche S: Diverses bactéries (gram positif et gram négatif) sont couverts par une couche S, composé d'une seule type de protéine. La couche S est la zone d'interaction avec leur environnement extérieur et elle stabilise la cellule. Une cellule sphérique d'une diamètre de 1 micromètre pourrait être couverte d'une couche S de 100 nm de diamètre. Dans cet exemple, quel est le pourcentage du volume de la cellule occupée par la couche S?

b- Les photos de la paroi de chacune de ces bactéries prises au microscope électronique sont reproduites.



1. A quelles bactéries (gram négatif ou gram positif) attribuer ces deux photos ?

Exercice 3

Lequel des énoncés suivants est vrai concernant la paroi des bactéries à Gram-négatif

- a- Ce type de bactéries est moins sensible à la pénicilline
- b- Elle contient des acides teichoïques
- c- Elle contient une épaisse couche de peptidoglycane
- d- Toutes ces réponses

Exercice 4

Nommez quatre inclusions intra-cytoplasmiques retrouvées chez les procaryotes. Expliquez dans quelles conditions elles sont formées ? (A moins qu'ils aient un caractère permanent) sous quelle forme on les retrouve, et le rôle qu'elles semblent jouer dans la cellule.

Exercice 5

Décrivez les différentes étapes à suivre pour isoler les ARN à partir d'une culture fraîche de *E. coli*?

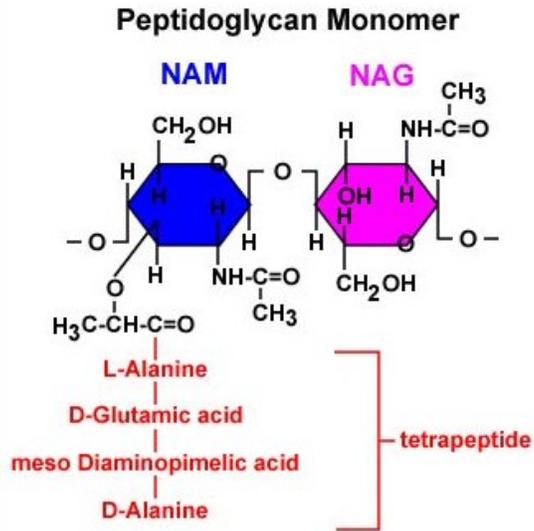
Exercice 6

Quelle est la principale différence entre l'endospore d'une bactérie et la spore d'un mycète?

#####

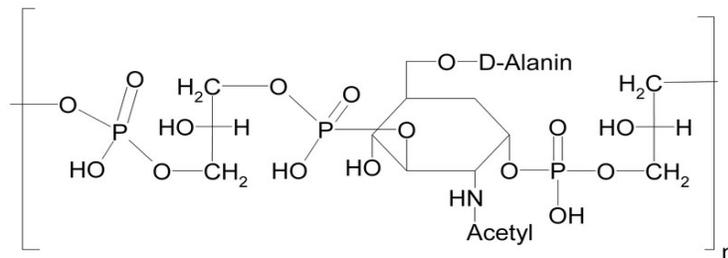
Les Informations Générales

La structure de la peptidoglycane: La paroi bactérienne se compose de la peptidoglycane, un polymère des chaînes de N-acétylglucosamine (NAG) et l'acide N-acétylmuramique (NAM) avec les courtes sous-chaînes d'acides aminés qui relient les chaînes dans une lattice.

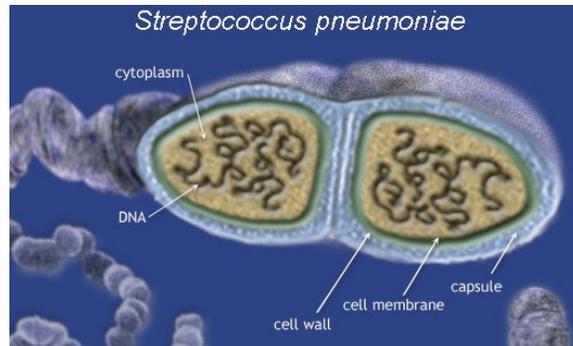


Le lysozyme: une enzyme qui hydrolyse les peptidoglycane constituant la paroi des bactéries. En effet, le lysozyme hydrolyse les liaisons covalentes ($\beta 1 \rightarrow 4$ glucosidique) entre l'acide N-acétyl-muramique (NAM) et le N-acétyl-glucosamine (NAG).

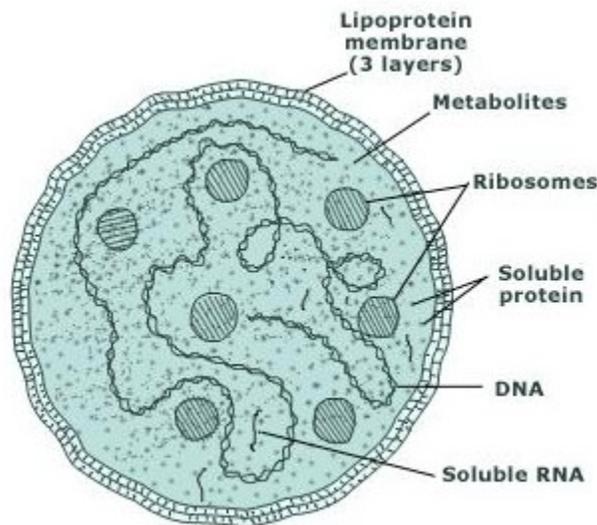
Les acides teichoïques: Un composé de phosphate de glycérol et un sucre pentose avec une liaison phosphodiester. Acides téchoïques se trouvent à l'intérieur de la paroi cellulaire des bactéries gram-positives. La fonction principale des acides téchoïques est de donner de la rigidité à la paroi cellulaire, en attirant des cations tels que le magnésium et le sodium.



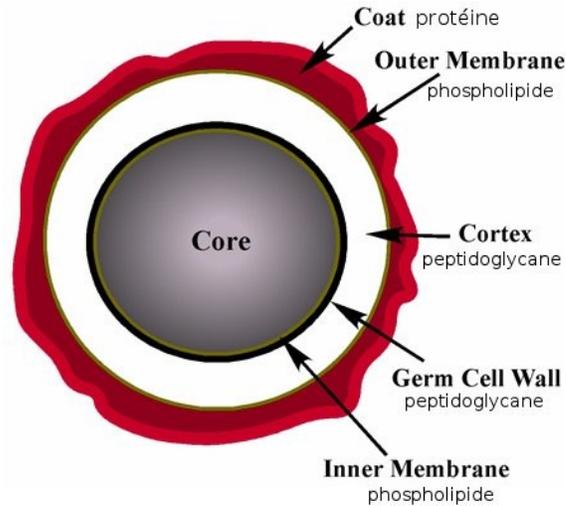
La capsule bactérienne: une couche de polysaccharide à l'extérieur de la cellule. La capsule protège la cellule de l'engloutissement par les macrophages et de la dessiccation. La capsule exclut également les virus bactériens et les plus hydrophobes des matériaux toxiques tels que les détergents.



Mycoplasma: la plus petite cellule connue (0,1 micron), elle manque un paroi de peptidoglycane



Les endospores bactériennes: une structure qui se forme lorsque les conditions environnementales sont défavorables. Ils survivent sans nutriments et sont résistants aux rayons ultraviolets, la dessiccation, à haute température, et désinfectants chimiques.



micro.cornell.edu

Cycle de vie de la levure: La levure (*Saccharomyces cerevisiae*) existe dans 2 formes: haploïd et diploïd. Les cellules haploïdes divisent par la mitose. Les cellules diploïdes divisent aussi par la mitose, mais dans les conditions de stress peuvent sporuler, entrer la méiose, et produire 4 spores haploïdes, qui peuvent se reproduire sexuellement. Cela crée la diversité génétique par la recombinaison.

