

Mises en garde :

ces corrections ne sont pas toutes rédigées correctement, souvent en style télégraphique.

le cours actuel de microbiologie ne couvre pas toutes les questions posées dans ces précédents sujets d'examens.

Correction examen de BG05 et BO05 ~Juin 2004~

EXERCICE I

1- sur MM + Pro : toutes les cellules viables peuvent former des colonies, les auxotrophes (pro-) et les prototrophes (pro+), donc les transformées et les non transformées
sur MM : uniquement les pro+ peuvent former des colonies, elles correspondent aux cellules transformées et/ou aux mutants spontanés (cas des colonies obtenues sur MM pour le témoin négatif).

2 points

2-

Nombre de cellules théoriques :

$$DO = 0,3 \quad \rightarrow \quad 1,5 \cdot 10^8 \text{ cell/mL}$$

$$50 \text{ mL de culture} \quad \rightarrow \quad 7,5 \cdot 10^9 \text{ cellules}$$

$$\text{culot repris dans 1 mL de CaCl}_2 \rightarrow 7,5 \cdot 10^9 \text{ cell/mL}$$

$$\text{dans } 50\mu\text{L} \quad 3,75 \cdot 10^8 \text{ cell}$$

$$(+ 950\mu\text{L milieu}) \quad \rightarrow \mathbf{3,75 \cdot 10^8 \text{ cell/mL}}$$

Nombre de cellules viables :

$$2,43 \text{ colonies (100}\mu\text{L de -4)} \quad \rightarrow \mathbf{2,43 \cdot 10^7 \text{ cell/mL}}$$

Taux de mortalité = Nb de cell mortes/Nb de cellules totales

$$= (3,75 \cdot 10^8 - 2,43 \cdot 10^7) / 3,75 \cdot 10^8 = \mathbf{0,936 = 93,6 \%}$$

2,5 points

3-

$$\text{Nombre de cellules transformées} = 54 \times 10^2 \times 10$$

$$\text{Nombre de cellules viables} = 233 \times 10^4 \times 10$$

$$\text{Fréquence de transformation} = 54 \cdot 10^3 / 233 \cdot 10^5 = \mathbf{0,0023 = 0,23 \%}$$

1,5 points

EXERCICE II

1- P.aeruginosa cause nécroses sur le basilic (comparaison exp 1 et 2) \Rightarrow pathogène pour le basilic.

Acide rosmarinique (Ar) est produit par la plante en réponse à l'infection bactérienne

(exp 1 niveau de base constant, tandis que dans l'exp 2 le niveau d'Ar produit augmente rapidement et constamment suite à l'infection)

Cependant ceci n'est pas suffisant pour « sauver » la plante

2,5 points

2-

$$\text{Préculture à } DO = 3,5 \quad 7 \cdot 10^8 \text{ cell/mL}$$

On souhaite avoir 2 mL de culture à $2 \cdot 10^5 \text{ cell/mL}$, donc $4 \cdot 10^5 \text{ cellules}$

$$\text{Il faut rajouter } 4 \cdot 10^5 / 7 \cdot 10^8 = 5,7 \cdot 10^{-4} \text{ mL} = \mathbf{0,57 \mu\text{L}}$$

$$\text{Dans ces conditions DO attendue} = 2 \cdot 10^5 / 2 \cdot 10^8 = \mathbf{0,001}$$

2 points

3- cmi = 3 $\mu\text{g/mL}$ en effet la DO de la culture n'augmente après 16 heures d'incubation en présence de 3 $\mu\text{g/mL}$ d'acide rosmarinique

0,5 point

4- Ar à des concentrations supérieures à 6 µg/mL inhibe la formation de biofilms (quantité de biofilms formé est moindre quand on rajoute 6µg/mL d'Ar dès le début de l'incubation ; si on rajoute 12 µg/mL plus du tout de biofilm formé)

Mais Ar n'a aucun effet (du moins aux concentrations testées) sur des biofilms déjà formés, ne peut donc pas détruire des biofilms. (aucune différences entre les quantités de biofilms formés sans ou avec 12µg/mL d'Ar)

2,5 points

5- Cf cours.

4 points

6- Mutant *lasI*- : plus virulent que la souche sauvage

Mutant *rhlI*- : cette souche ne cause plus de nécroses, donc moins virulent

Quantités de bactéries retrouvées sur les racines pour la souche *rhlI* sont 10 000 fois plus faibles que celles retrouvées pour la souche sauvage ou le mutant *lasI*.

Donc bactéries éliminées ou « dormantes » (et oui on regarde les CFU !)

Ca explique le fait que cette souche ne cause pas de pathologies sur le basilic.

On retrouve dans tous les cas d'infections une quantité équivalente d'Ar, on peut émettre l'hypothèse que la souche *rhlI* a été éliminé par l'Ar, peut être car elle est incapable de former des biofilms.

Le système de quorum-sensing LasI/R ne semble pas impliqué dans la formation de biofilm puisque le mutant *lasI*- forme des biofilms semblables à ceux formés par une souche sauvage.

2,5 points

BG05 et BO05 MICROBIOLOGIE
Session du 13 Septembre 2004
Durée de l'épreuve : 2 heures

II-

Après broyage d'un gramme de yaourt dans neuf millilitres d'eau stérile, il effectue une galerie de dilutions au dixième, ensemence des boîtes de Petri avec 0.2 ml de chaque dilution et obtient les résultats suivants :

dilution	-1, -2, -3	-4	-5	-6
Nombre de colonies par boîte	Non comptable	770	85	8
	Non comptable	1140	120	9
	Non comptable	1080	95	11

- A l'aide de ces résultats, calculez la concentration cellulaire du yaourt (en Cell. / g).

On ne considère que les valeurs comprises entre 30 et 300 colonies, qui correspondent aux comptages des boîtes inoculées par 0.2 ml de la solution dans le tube "-5"

Moyenne du nombre de colonies : 100 colonies

Concentration cellulaire dans la solution "-5" : $100 / 0.2 = \underline{500 \text{ Cell. / ml}}$

Concentration cellulaire dans l'échantillon "direct" : $500 \times 10^5 = \underline{5 \cdot 10^7 \text{ Cell. / ml}}$

L'échantillon "direct" est constitué d'un gramme de yaourt et de 9 ml d'eau.

L'échantillon "direct" a donc pour volume $9 + 1 = 10$ ml et le yaourt est donc dilué 10 fois dans l'échantillon direct.

La concentration cellulaire dans le yaourt est donc : $5 \cdot 10^8 \text{ Cell. / ml}$, soit $5 \cdot 10^8 \text{ Cell. / g}$

Par comptage à la cellule de Thoma sur le tube -2, le chercheur obtient en moyenne une valeur de 8 cellules par ensemble de 16 petits carrés.

- A l'aide de ce résultat, calculez la concentration cellulaire du yaourt.

Le côté d'un petit carré fait 0.05 mm et la profondeur de la cellule de Thoma est de 0.1 mm

Volume dans lequel les 8 cellules ont été comptées :

$$16 \times (0.05 \times 0.05 \times 0.1) = \underline{0.004 \text{ mm}^3}$$

Concentration cellulaire dans la solution du tube "-2" :

$$8 / 0.004 = 2000 \text{ Cell. / mm}^3, \text{ soit } \underline{2 \cdot 10^6 \text{ Cell. / ml}}$$

Concentration cellulaire dans l'échantillon "direct" :

$$2 \cdot 10^6 \times 10^2 = \underline{2 \cdot 10^8 \text{ Cell. / ml}}$$

Concentration cellulaire dans le yaourt (même raisonnement que précédemment) :

$$\underline{2 \cdot 10^9 \text{ Cell. / g}}$$

- Que suggère la comparaison des résultats obtenus par les deux méthodes de dénombrement? Décrivez quantitativement la structure de la population microbienne dans ce produit.

Lorsque la méthode de comptage direct est utilisée, on obtient une concentration cellulaire supérieure à celle obtenue par la méthode des boîtes.

La méthode des boîtes ne permet de comptabiliser que les cellules vivantes, les cellules mortes ne pouvant donner naissance à des colonies. En revanche, le comptage direct prend en compte les cellules vivantes et les cellules mortes.

Il y avait donc $(2 \cdot 10^9 - 5 \cdot 10^8) / 2 \cdot 10^9 = 75 \%$ de cellules mortes dans le yaourt

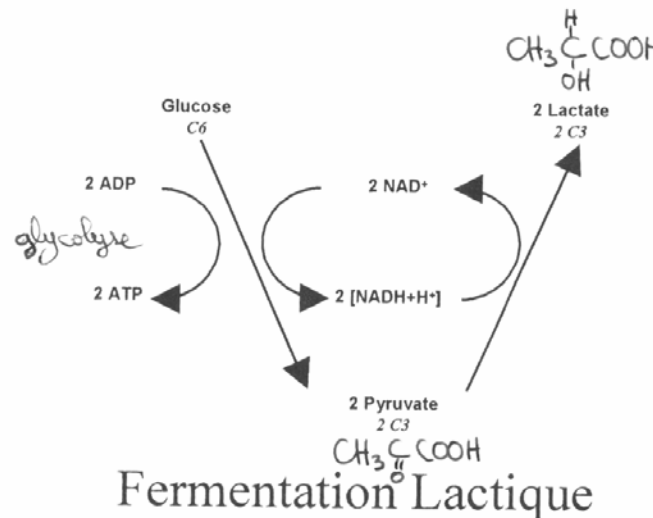
III- La fabrication du yaourt repose sur l'action de bactéries produisant de l'acide lactique à partir du lactose du lait, ce qui acidifie le lait et favorise la précipitation des protéines et le caillage du lait.

Décrivez l'utilisation du lactose par les bactéries, le métabolisme énergétique impliqué et les conséquences biologiques du rejet d'acide lactique.

Le lactose est le glucide majeur du lait, utilisé comme source de C et d'énergie par des microchimiohétérotrophes (--> bonus)

Par la β -galactosidase, le lactose est clivé en galactose et glucose (1 point), sucres utilisés comme source de C pour la constitution du NAG/NAM du peptidoglycane par exemple (réactions non décrites en cours) (1/2 point)
source d'énergie par fermentation lactique : métabolisme décrit en cours (1/2 point)

Schéma : 3 points



Glucose et galactose, par l'intermédiaire du glucose-6-P en lequel ils sont convertis tous deux, sont oxydés en pyruvate par la glycolyse : ceci permet la formation d'ATP mais génère des intermédiaires réduits qui s'accumulent (1/2 point)

Le pyruvate est alors réduit ce qui permet la régénération (réoxydation) des intermédiaires (cofacteurs NADH,H⁺) pour l'oxydation de nouvelles molécules de glucose/galactose (1/2 point)

Ce métabolisme permet donc la génération d'ATP en quantités suffisantes pour soutenir la croissance de la population microbienne (1/2 point) jusqu'à ce que le milieu devienne défavorable, trop acide à cause de l'accumulation du déchet acide lactique (1/2 point). La croissance et les transformations du produit par les micro s'arrêtent alors (la population atteint la phase stationnaire de croissance)(1/2 point). Le produit se conserve un certain temps (sans altération microbiologique), car il est devenu défavorable à la vie (1/2 point)

CORRECTION

Examen terminal de BG05 MICROBIOLOGIE
30 mai 2005

Durée : 1 h 30

Toute réponse non argumentée ne sera pas prise en considération.

Proposé à partir des articles suivants : Science (2004) 306, 1025-1028 ; Appl. Environ. Microbiol. (2000) 66, 2620-2626 ; J. Bact. (1999) 181, 666-669.

Milieux de culture.

- 1- Rappelez les différentes classes de milieux de culture utilisés en microbiologie selon leurs compositions et leurs domaines d'application. **(1.5 points)**

Synthétique : milieu préparé exclusivement avec des produits chimiques purs (cher, long et souvent préparé). Composition chimique parfaitement connue (cas particulier : milieu minimum, le plus simple possible). Pour l'étude des besoins nutritifs, des transformations du milieu par les mo.

Complexe : milieu chimiquement mal défini, basé sur des produits naturels ou contenant des extraits de viande, levure, farine de soja.... (économique, facile à préparer mais aléatoire). Pour les cultures en routine.

- 2- Commentez ces 2 figures. Quelles sont les exigences nutritives de cette bactérie ? **(1.5 points)**

Figure 1 : on suit la croissance par mesure de la DO600 en utilisant différents milieux de croissance. En milieu synthétique DMM, la source de C permettant la croissance optimale est le fructose. Dans ces conditions la courbe de croissance a une allure classique (phase exponentielle, phase stationnaire). Le glucose est une source de C utilisable par cette bactérie mais donne lieu à une vitesse de croissance inférieure (ou un temps de génération plus long). Le malate n'est pas utilisable par cette bactérie comme source de carbone (mal-).

Figure 2 : la croissance est dépendante de la concentration en manganèse. Afin d'avoir une croissance optimale il faut 100nM de Mn, pas d'effet négatif pour les fortes concentrations (5µM).

Comportement vis à vis des radiations.

- 3- Présentez sous forme de schéma commenté les enveloppes des bactéries à Gram + et Gram -. **(3 points)**

- 4- Interprétez les résultats présentés sur la figure 3. **(1.5 points)**

E. coli est incapable de croître en présence de radiations, elle perd sa capacité à former des colonies très rapidement (elle meurt ?). *D. radiodurans* présente une croissance non affectée par la présence de radiations, sa capacité à former des colonies n'est pas affectée.

- 5- *D. radiodurans* dans ces conditions se trouve groupé en diplocoques ou tétracoques tandis qu'*E. coli* est isolée. Quelles peuvent être les conséquences de cette différence de comportements sur la signification des résultats présentés sur la figure 3.

(2 points)

Dans le cas où 1 cellule est une CFC (*coli*) si la cellule est détruite, il n'y aura pas de colonies. Dans le cas où le mo se groupe en diplo ou tétra, si une cellule est détruite éventuellement cela n'aura aucun impact sur la capacité à former des colonies. Donc même dans le cas où les radiations « détruiraient » 50% des cellules, cela n'aurait aucun impact sur la capacité à former des colonies. Si on calculait

directement le % de survie à partir des résultats présentés figure 3, on risquerait de surestimer la résistance de *D. radiodurans*.

- 6- Les précultures en milieu complexe de *D. radiodurans* utilisées pour ces expériences (figure 5) présentent une $DO_{600} = 0,9$. Quels étalements feriez vous pour mesurer les survies aux doses 0 et 20 kGy, afin d'avoir un nombre correct de colonies sur boîte ?
(1 u DO_{600} correspond à 10^8 cell./mL)

(2.5 points)

$DO = 0.9$ correspond à $0.9 \cdot 10^8 \text{ cell/mL} = 90 \cdot 10^6 \text{ cell/mL}$

On a le choix: 100µL d'une dilution à -5 , 1 mL d'une dilution -6 .

20kGy : on a perdu 3 Log de survie, ce qui signifie qu'on a $0.9 \cdot 10^6 \text{ cell/mL}$. On devrait étaler 100µL d'une dilution -3 .

- 7- Commentez et interprétez les résultats des figures 4 et 5.

(2 points)

Figure 4 : la résistance aux radiations de radiodurans est fonction du milieu de récupération suite aux radiations. Il faut que dans ce milieu on trouve une forte concentration de Mn.

Figure 5 : influence du milieu de préculture sur la survie aux radiations ; en effet on observe une meilleure survie si la préculture a été effectuée en milieu complexe riche.

Les 2 autres bactéries sont extrêmement sensibles aux radiations.

- 8- Rappeler brièvement les rôles de la catalase et de la super oxyde dismutase, ainsi que leur importance dans le comportement des bactéries vis à vis de l'oxygène.

(2 points)

L'oxygène et ses dérivés sont des oxydants qui peuvent altérer les constituants cellulaires

$2O_2 + 2e^- \rightarrow 2O_2^-$ anion superoxyde instable, réactif

$2O_2^- + 2H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2$ eau oxygénée, réactive (SOD, SuperOxyde Dismutase)

$H_2O_2 \rightarrow H_2O + \frac{1}{2} O_2$ (CAT, catalase)

SOD et CAT permettent de "détoxifier" l' O_2

Comportement vis à vis de l' O_2 :

SOD+ Cat+ aérobie strict ou anaérobie facultatif

SOD+ Cat- anaérobie aérotoleérant

SOD- Cat- anaérobie strict

- 9- A partir des résultats présentés sur la figure 6 et de vos connaissances, proposez un modèle expliquant la résistance de *D. radiodurans* aux fortes irradiations.

(4 points)

Figure 6 : Mutants *sodA* et *katA* résistent moins bien aux radiations que la souche wt (10 fois moins bien), le mutant *pol* 10 000 fois moins bien.

Sod et kat servent à détoxifier les dérivés d'oxygène. Les radiations produisent des dérivés oxydants d'O qui vont pouvoir endommager les constituants cellulaires (protéines, ADN)

EXAMEN TERMINAL DE MICROBIOLOGIE BO05

22 juin 2006

SUJET I (10 POINTS)

I- *Etablissez un compte-rendu précis sur la population microbienne de cet échantillon (composition de la population d'un point de vue qualitatif et quantitatif). Est-ce que tous les microorganismes ont formé des colonies ? Quelles explications pouvez-vous proposer ?*

Dénombrement direct :

Volume des 30 carrés = $30 \times (1/20 \times 1/20 \times 0.1) = 0.0075 \text{ mm}^3 = 7.5 \cdot 10^{-6} \text{ mL}$

1 point

26 cellules dans 30 carrés, [] = $3.46 \cdot 10^6 \text{ cell./mL}$

0.5 point

Dénombrement indirect :

à 15°C 66 colo (-2) ; 66 CFC dans 0.2 mL (-2) ; [] = $3.3 \cdot 10^4 \text{ CFC/mL}$

1 point

à 37°C 70 colo (d) ; [] = 350 CFC/mL

(-0.5 par

+ Tétracycline

calcul faux)

à 15°C 88 colo (d) ; [] = 440 CFC/mL

à 37°C 42 colo (d) ; [] = 210 CFC/mL

Milieu riche, présence de pimarcine donc **pas de champignons.**

0.5 point

Dans ces conditions (15°C), **1% des cellules ont formé des colonies.**

0.5 point

Comptage des cellules viables, non viables, mortes, cellules procaryotes et eucaryotes

On peut imaginer que les cellules ne donnant pas de colonies sont : **non viables, mortes, ou ne peuvent pas se développer sur ce milieu et/ou en condition aérobie....**

0.5 point

Ce sont des **mésophiles** mais la grande majorité des cellules n'ont pas formé des colonies à 37°C (pas la bonne **température optimale de croissance**)

0.5 point

Dans la population se développant à 37°C, une grande proportion est **résistante** à la tétracycline ; on ne sait pas si parmi les tetR se développant à 15°C on trouve les mêmes qu'à 37°C ;

0.5 point

II- *Comment montreriez vous la présence d'archées et/ou de champignons dans cet échantillon (méthodes biochimiques, microbiologiques...)? Donnez les éléments caractéristiques de chaque type de cellule (bactéries, archées, champignons).*

Méthode biochimique : présence d'éther de glycérol et de chitine dans l'eau

Méthode microbio : utiliser un milieu complexe pour culture champ, ne pas mettre d'antifongique et incuber à 20°C.

0.5 point

Bactéries + archées = procaryotes, **pas de noyau**, pas de mitose, brassage partiel des gènes, reproduction asexuée

Bact : **PG**

Archées : **di ou tétra-éthers de glycérol** dans les membranes, pas de PG

1 point

Eucaryotes champignons = **noyau**, mitose, brassage total des gènes lors de la reproduction sexuée, présence de stérols (**ergostérols** pour champ), **chitine** dans la paroi

0.5 point

III- *Quelle est la cible de la tétracycline ? Décrivez les divers mécanismes de résistance aux antibiotiques chez les bactéries.*

Cible : ribosome, inhibition de la **traduction**

0.5 point

Antibiotiques = substances d'origine microbienne qui, à faibles doses empêche la croissance d'autres micro organismes ou les détruits.

Voir illustration « résistance aux antibiotique ». **page12**

Lorsque un antibio est sans effet sur un mo on dit que ce dernier est **résistant**

Catégories de résistance :

- Absence de la cible

Les bactéries peuvent devenir résistantes :

- Réduction de la concentration en drogue qui atteint la cible :

absence de pénétration (modif par mutation d'une perméase responsable de la pénétration de l'antibio)

augmentation du nombre de pompes d'efflux, ce qui permet de diminuer la concentration en drogue dans le cytoplasme = **Efflux actif**.

- **Détoxification** par soit inactivation directe de la molécule par hydrolyse de la molécule ou modification chimique, soit séquestration de l'antibio

- **Modification de la cible**, par exemple une enzyme, assure toujours sa fonction nécessaire, mais le site de liaison pour l'antibiotique est muté ou protection de la cible

- **Augmentation du métabolisme de la cible** ou expression d'une voie alternative de biosynthèse non touchée par l'antibio

2 points

Acquisition de ces résistances :

- **Mutation** du gène codant pour la cible (les mutants apparaissent spontanément et sont ensuite sélectionnés. Les mutants ne sont pas créés directement par une exposition à un antibiotique)
- **Acquisition d'un nouveau gène** provenant d'un microorganisme naturellement résistant (grâce à un plasmide, un transposon), permettant

* un efflux hors de la cellule

* une inactivation de l'antibiotique (détoxification) : par ex., le gène *bla* codant une β -lactamase, enzyme qui inactive la pénicilline en ouvrant son cycle β -lactame.

0.5 point

SUJET II (10 POINTS)

1- Quelles dilutions doit on étaler après dessiccation pour obtenir des résultats d'étalements significatifs ?

essayer d'avoir entre 30 et 300 colos par boîte
pour Sa04 : 0,1 mL direct on attend 0 colonie
pour Sa73 : 0,1 mL direct on attend 15 colo
pour Sa11 : 0,1 mL (-4) on attend 280 colo
pour Sa12 : 0,1 mL (-3) on attend 89 colo

1.5 points

2- Calculez les pourcentages de survie après dessiccation pour les différentes souches.

% survie = (CFU/mL après dessic)/(CFU/mL dans S) *100

Sa04 : $< 1.88 \cdot 10^{-6}\%$

Sa73 : $3.947 \cdot 10^{-5}$

Sa11 : 5%

Sa12 : 0,24%

2 points (id)

3- Interprétez l'ensemble de ces résultats (tableau 1 ; données ci-dessus).

2.5 points

-Souches de labo et souches naturelles ont des **comportements différents**

-toutes les souches se comportent de la même façon quand on effectue la dessiccation dans l'eau, survie correcte. Donc la dessiccation ne semble pas être l'élément « stressant » induisant l'absence de formation de colonies.

- Souches de laboratoires sont **sensibles** à la dessiccation en solution saline (on ne peut pas dire si elles sont sensibles ou non au sel)

- Souches naturelles sont **résistantes** (moins sensibles que souches de labo) à la dessiccation

4- Calculez les pourcentages de survie pour chaque souche à partir des résultats d'étalements.

Au départ : $6.6 \cdot 10^9$ cellules dans 5 mL $[\] = 1.32 \cdot 10^9$ cell/mL

0.5 point

Sa11 : 41 colo (-6)

41 CFC dans 0.1 mL (-6)

410 CFC/mL (-6) $[\] = 4.1 \cdot 10^8$ cell/mL

% survie = $(4.1 \cdot 10^8 / 1.32 \cdot 10^9) * 100 = 31 \%$

1 point

0.5 point

Sa04 : 0 colo au direct

Donc $[\] < 10$ CFC/mL

%survie $< 10/1.32 \cdot 10^9 * 100 < 7.5 \cdot 10^{-7}\%$

0.5 point

5- Comment peut-on expliquer les résultats différents obtenus par la méthode d'étalements et la méthode de coloration ?

cellules **viables** et **non cultivables** dans les conditions d'expérience

1.5 points

EXAMEN TERMINAL DE MICROBIOLOGIE BG05 &BO05

31 mai 2007

Exercice I (7 points)

1- Quelle est la concentration dans la culture *L* ?

141 CFC dans 0,2 mL (-6)

705 CFC/mL (-6) Donc $7,05 \cdot 10^8$ CFC/mL

1.5 points

2- Quel est le temps de génération de la levure dans ces conditions ?

G= 50 min environ

2 points

3- Sachant que la fréquence de mutants dans ces conditions est de 10^{-3} , proposez un protocole expérimental (milieux utilisés, étalements effectués et résultats attendus) permettant de les isoler.

$3,17 \cdot 10^8$ CFC/mL de survie, $3,17 \cdot 10^5$ CFC/mL de mutant.

On réalise un crible indirect.

1^{ère} étape : étaler 100mL d'une dilution -5 (on attend environ 317 colonies par boîte) sur milieu complexe ou milieu minimum + tryptophane (milieu non sélectif pour les mutants recherchés). Incuber à 28°C pendant 48 heures. Il faut faire au minimum 4 boîtes pour espérer avoir 1 mutant auxotrophe (1 pour 1000 colonies !)

2^{ème} étape : Repiquer ou plus simplement faire une réplique sur velours sur des boîtes contenant un milieu sélectif pour la mutation recherchée, donc milieu minimum. Incuber à 28°C pendant 48 heures. Les colonies ne se développant pas sur ce milieu sont a priori des auxotrophes. Vérifier éventuellement que ce sont bien uniquement des auxotrophes pour le tryptophane (les colonies doivent se développer sur milieu minimum + tryptophane).

3,5 points 1.5 points pour le calcul du nombre de mutant, 1 point les milieux utilisés, 1 point pour l'étalement effectué et la cohérence.

Exercice II (13 points)

proposé à partir de l'article : Peterson S. N. *et al.* (2006) Appl. and Environ. Microbiol. 72 : 5421-5427.

Question préliminaire :

Donnez sous forme de schéma la structure des parois des bactéries à Gram + et à Gram -, en faisant ressortir les particularités de chacune des catégories. Donnez la structure détaillée du peptidoglycane.

1- Interprétez ces résultats.

Dans ces expériences, la croissance de *Pseudomonas* et de *F. johnsoniae* est évaluée dans différentes conditions (l'évaluation se fait par comparaison des concentrations, en CFC/mL entre le jour 0 et le jour 5).

Après 5 jours, la concentration de *F.j.* est multipliée par 10 si cette bactérie est cultivée en présence de *B. cereus*, ce n'est pas le cas pour *Pseudomonas* (témoin négatif). De plus, le même phénomène est observé si *F.j.* et *B. cereus* sont séparées par une membrane empêchant tout contact direct entre les 2 bactéries (l'expérience similaire entre *Pseudomonas* et *B. cereus* n'a pas été réalisée).

Donc *B. cereus* favorise la croissance de *F. johnsoniae* même sans contact (hypothèse d'une molécule diffusible de taille inférieure à 0,2 μ M).

2 points

2- Que pouvez-vous conclure de toutes ces données des relations entre *F. johnsoniae* et *B. cereus*. Quel est le rôle du peptidoglycane dans ces expériences ?

Dans la figure 2-A, on observe la croissance de *F.j.* en milieu complexe additionné ou non de peptidoglycane de *B.c.* L'ajout de peptidoglycane permet d'augmenter significativement, pour 0,1 et 1 mg/mL de peptidoglycane, la croissance de *F.j.* à des niveaux similaires à ceux observés précédemment.

Dans la figure 2-B, on s'intéresse à la croissance de *F.j.* en milieu synthétique en présence ou non de peptidoglycane comme unique source de carbone. On s'aperçoit que sans source de carbone il n'y a pas de croissance pour *F.j.* ; par contre, l'ajout de peptidoglycane purifié permet à cette bactérie de se multiplier (la concentration en CFC/mL augmente régulièrement).

Donc, le peptidoglycane de *B.c.* favorise la croissance de *F. j.* de plus, *F. j* est capable d'utiliser le PG comme source de Carbone (elle doit avoir la capacité de le dégrader sans contact direct, possibilité d'une enzyme diffusible ?)

2 points

3- À quoi sert l'étape de filtration dans ce protocole expérimental ? Que vous indiquent ces résultats (figure 3-A et 3-B) ?

Sur la figure 3-A, on observe des colonies de *Pseudomonas* et de *F.j.* sur un milieu complexe additionné de peptidoglycane. Les 2 bactéries sont capables de se développer et de former des colonies sur ce milieu (« taches blanchâtres » sur la photo). Mais autour de la colonie de *F.j.* on observe un halo plus clair, dû à la dégradation du peptidoglycane par ces bactéries. Rien de tel n'est observé autour de la colonie de *Pseudomonas*.

Donc, *F.j.* utilise le peptidoglycane grâce à une enzyme extracellulaire qui est capable de diffuser dans la gélose.

Sur la figure 3-B, on observe l'évolution de la DO à 600nm de préparation de peptidoglycane mis en présence de filtrat de cultures de *Pseudomonas* ou de *F.j.* (dans cette expérience il n'y a pas de cellules entières : les cultures bactériennes ont été centrifugées, on récupère le surnageant dépourvu en théorie de cellules qui, elles, se retrouvent dans le culot ; pour plus de sûreté on filtre ce surnageant afin de ne récupérer aucune cellule mais uniquement le milieu additionné éventuellement des enzymes produites par les bactéries). Une diminution de DO traduit le fait que le peptidoglycane est dégradé. Cette expérience permet de redémontrer de façon différente que ***F.j.* produit une enzyme extracellulaire, capable de traverser une membrane de porosité 0,2µM, dégradant le peptidoglycane de *B. cereus*.** Les témoins négatifs, milieu de culture seul ou *Pseudomonas*, ne sont pas capables de faire chuter la DO des préparations de peptidoglycane donc ne sont pas capables de le dégrader.

2 points

4- Quel type de relation symbiotique unit ces deux organismes ?

D'une part, *F.j.* voit sa croissance avantagée par la présence de *B. cereus* (bénéfice) et d'autre part *B. cereus* n'est pas affecté par la présence de *F.j.* (neutre pour cette bactérie). Une telle symbiose est appelée **commensalisme**.

1 point