TD N°1 et 2 de Microbiologie :

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	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	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				
+ Gulucose	5			

Après ensemencement et incubation, on obtient les résultats suivants :

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

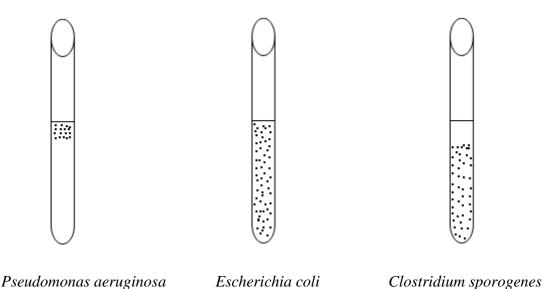
- 1. Comment qualifier le milieu A?
- 2. Certaines bactéries pourraient se développer dans le milieu A à la condition de les incuber en atmosphère enrichie en CO₂. Expliquer pourquoi et donner leur type trophique vis-à-vis du carbone ?
- 3. 1. Quel est le type trophique « vis-à-vis du carbone et des 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:

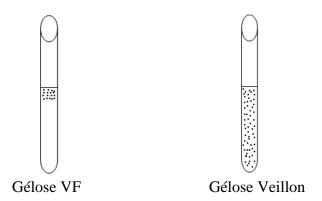
I: Pour rechercher le type respiratoire de trois bactéries, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Clostridium sporogenes*, on les ensemence en gélose profonde viande-foie dont la composition est comme suit :

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

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



- 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.

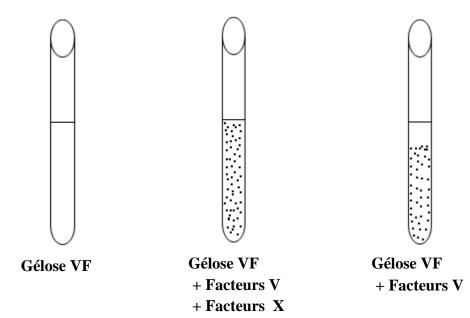


1. Expliquer le résultat observé en gélose de Veillon sachant que la composition de ce milieu est la suivante.

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 :



- 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 ?