

### Exercice N° 01 : Etude de la Voie de dégradation de glucose «MEVAG»

Afin de connaître le type du métabolisme du glucose, oxydatif ou fermentatif, de certaines bactéries, des tubes contenant un milieu spécifique ont été préparés. Après régénération du milieu, le sucre en question qui est le glucose a été additionné à une concentration de 1 %, ensuite les deux tubes ont été ensemencés par les bactéries à tester et un de ces tubes a été additionné d'une couche de vaseline.

1. Quel est le nom de ce milieu et pourquoi est-il utilisé ?

Trois types de bactéries ont été ensemencés chacune dans deux tubes avec et sans vaseline, après incubation à 30°C les résultats sont :

Bactérie A : virage au jaune du tube avec vaseline

Bactérie B : virage au jaune du tube sans vaseline

Bactérie C : virage au jaune des tubes avec et sans vaseline.

2. Quel est le métabolisme de chaque type de bactérie ?

3. Sachant que ce milieu contient un indicateur colore qui est le bleu de bromothymol, quel est l'origine du virage de l'indicateur colore au jaune ?

### Exercice N° 02 : Milieux TSI et Kligler

Afin d'identifier des espèces appartenant au groupe des entérobactéries, un microbiologiste utilise le milieu TSI. Pour cela il a ensemencé trois souches différentes A, B et C. Après incubation à 37°C pendant 24 h, le manipulateur a obtenu les résultats suivants :

Tableau 01 : Résultats d'ensemencement du milieu TSI avec les souches A, B et C

Souche	Résultat
A	Pente rouge et culot jaune avec des bulles d'air
B	Pente jaune et culot jaune
C	Pente rouge et culot rouge avec un noircissement

1. Donnez une définition du milieu TSI, et qu'elle est la différence entre ce milieu et le milieu de Kligler ?
2. Expliquer les résultats obtenus avec les souches A, B et C.
3. Pourquoi le jaunissement du culot signifie une fermentation du glucose ?

### Exercice N° 03 : Milieu Kligler

Le tableau 02 donne quelques caractères biochimiques de cinq espèces bactériennes observés après ensemencement sur milieu Kligler.

Especies	Lactose	Glucose	Gaz	H <sub>2</sub> S
<i>Salmonella typhi</i>				
<i>Shigella flexneri</i>	-	+	-	+
<i>Proteus mirabilis</i>	-	+	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	+	+	+
<i>Enterobacter cloacae</i>	+	+	+	-

1. Montrez la méthode d'ensemencement du milieu Kligler
2. Pour chaque espèce, donnez les résultats sur tubes de milieu Kligler après 24h d'incubation.
3. Est-il possible d'avoir comme résultat un culot rouge et une pente jaune ? et pourquoi ?
4. Pour l'espèce *Salmonella typhi* et après six heures d'incubation, il y a eu un jaunissement de la pente ensuite elle s'est transformée en couleur rouge après 24 h d'incubation, expliquez ces observations.
5. Est-ce qu'un résultat de type pente rouge et culot rouge après 24 h d'incubation signifie que la bactérie n'utilise jamais le glucose ?

Extrait de viande de bœuf	3g
Extrait de levure	3g
Peptone (riche en lysine)	20g
NaCl	5g
Citrate ferrique	0,3g
Thiosulfate de sodium	0,3g
Lactose	10g
Glucose	1g
Rouge de phénol (solution à 1%)	5mL
Agar	12g
Eau distillée (q.s.p)	1L

#### Exercice N° 04 : $\beta$ -galactosidase ou <<test ONPG >>

Lors d'une identification en bactériologie, nous avons effectué le test ONPG. Ce test permet la recherche d'une enzyme spécifique. Trois souches ont été ensemencées A, B et C sur une gélose Kligler, ensuite les souches ont subi un test ONPG. Les résultats obtenus sont dans le tableau suivant :

Tableau 04 : Résultats du test ONPG des souches A, B et C

Souche	Résultat sur Kligler	Résultat du Test ONPG
A	Lactose (+)	(+)
B	Lactose (-)	(+)
C	Lactose (-)	(-)

1. Donnez la définition de l'enzyme recherchée.
2. Donnez la définition de l'ONPG ainsi que la réaction catalysée.
3. Expliquez les résultats obtenus.
4. En détaillant votre réponse, pourquoi la souche B est Lactose (-) alors qu'elle est ONPG (+) ?

#### Exercice N° 05 : IMVIC(Indole/Méthyle rouge/ Voges Proskauer/Citrate)

Dans une analyse de l'eau et pour le but de rechercher des coliformes, spécifiquement *Escherichia coli*, des laborantins ont utilisé la technique IMVIC (Indole/ Méthyle rouge/ Voges Proskauer/Citrate).

1. Définir le groupe des coliformes et pourquoi sont-ils recherchés dans l'eau ?
2. Comment peut-on rechercher la production de l'indole ? et sur quel milieu ?
3. Quel est le substrat permettant aux bactéries de produire l'indole ?
4. Ecrivez la réaction en précisant l'enzyme.
5. Dans une étape des tests IMVIC, les laborantins ont utilisé le milieu Clark et Lubs. Quel est le but de l'utilisation de ce milieu ?

Après ensemencement de quatre tubes du milieu Clark et Lubs par deux souches différentes A et B, et incubation pendant 18h puis l'ajout des réactifs, les laborantins ont eu les résultats suivants :

Souche	Réactif	Résultat
A	RM	+
	VP 1/VP2	-
B	RM	-
	VP 1/VP2	+

1. De quoi sont-ils composés les réactifs VP1 et VP2 ?
2. Quel est le but du test VP (Voges-Proskauer) ? Ecrivez la réaction de l'interaction du produit résultant de la dégradation du glucose qui interagit avec les réactifs VP1 et VP2.
3. Quel est l'intérêt du test RM et sur quoi est-il basé ? Existe-il des souches VP+ et RM+ au même temps ?
4. Une gélose inclinée de citrate de Simmons a été ensemencée pour la mise en évidence de l'utilisation de citrate. Quel est l'indicateur colore présent dans ce milieu ? et comment change-t-il de couleur ?
5. Donnez les étapes de dégradation du citrate jusqu'au changement de couleur du milieu.

#### Exercice N° 06 : Test d'oxydase, de catalase et identification API

Afin d'identifier une bactérie, un microbiologiste a réalisé deux tests. Le premier est basé sur la mise en contact de la bactérie avec un dérivé méthyle du paraphénylène diamine qui est incolore. Après 30 secondes ce composé a donné une autre forme oxydée semi-quinonique de couleur rose violace. Tandis que le deuxième test est basé sur la mise en contact d'une colonie bactérienne avec l'eau oxygénée  $H_2O_2$ .

1. Comment appelle-t-on le premier test ? Et quelle est l'enzyme recherchée ?
2. Donnez la réaction catalysée par cette enzyme.
3. Donnez la procédure expérimentale de ce test au laboratoire.
4. Certains résultats sont faussement positifs ou faussement négatifs, pourquoi ?
5. Comment appelle-t-on le deuxième test, quelle est l'enzyme recherchée ?
6. Quel est le rôle de cette enzyme pour la vitalité de la bactérie ? Donnez la réaction.