

**UNIVERSITE DE TOURS**  
**FACULTE DES SCIENCES et TECHNIQUES**  
**Année Universitaire 2009 - 2010 - 1<sup>o</sup> session (Mai 2010)**  
**LICENCE Sciences du Vivant 3<sup>o</sup> année (L3 SV)**

**UE 6-3e MICROBIOLOGIE APPLIQUEE ET IMMUNOLOGIE (MAI)**

Durée = 2 heures - sans document -

**2 sujets obligatoires à traiter sur des copies séparées.**

<b>SUJET 1 de Mme Rosenau</b>	<b>MICROBIOLOGIE</b>	<b>(25 points)</b>
-------------------------------	----------------------	--------------------

**A]** Donnez le nom d'une **molécule d'antibiotique A active uniquement sur les staphylocoques**, puis

- 1) Précisez sa famille et sa sous famille.
- 2) Représentez sa structure chimique.
- 3) Donnez son mécanisme d'action.
- 4) Donnez tous les caractères d'identification des bactéries sensibles à cet antibiotique, en précisant leur famille. Représentez les résultats de la coloration de Gram. Citez 2 espèces bactériennes dans cette famille de bactéries.

**B]** Mêmes questions pour une **molécule d'antibiotique B active uniquement sur les entérobactéries**.

(NB : pour la question 4, donnez les caractères d'identification de la famille et non pas ceux de toutes les bactéries de cette famille).

NB : si vous ne connaissez pas les molécules antibiotiques demandées aux questions A et B, traitez de 2 autres molécules antibiotiques de votre choix (dans ce cas, ce choix ne vous apportera qu'une partie des points de l'examen).

**C]** On réalise un **antibiogramme par diffusion en gélose** (méthode des disques) en testant les antibiotiques A et B sur une souche bactérienne.

Les valeurs critiques sont les suivantes :

Antibiotique A : d = D = 20 mm ; c = C = 2 mg/L.

Antibiotique B : d = 15 mm ; D = 20 mm ; c = 8 mg/L ; C = 16 mg/L.

On obtient les diamètres d'inhibition suivants : 25 mm pour A et 12 mm pour B.

- 1) Représentez l'aspect de la boîte de Petri et donnez le nom du milieu de culture utilisé.
- 2) Précisez l'ordre de grandeur de la CMI pour chacun des antibiotiques après avoir défini ce terme.
- 3) Précisez si la souche est sensible, intermédiaire ou résistante à chacun des antibiotiques.
- 4) La souche bactérienne est-elle un staphylocoque ou une entérobactérie ?

**A] Les cellules dendritiques sont dites « cellules présentatrices d'antigène professionnelles ».** Définissez ce qu'est une cellule présentatrice d'antigène et expliquez en quoi ces cellules dendritiques sont particulières.

**B] D'après l'article de Rosada *et al.* 2008, BMC Immunology 9 :38-50.**

**Les auteurs cherchent à mettre au point un vaccin contre *Mycobacterium tuberculosis*** par voie intranasale, dans un modèle souris, en utilisant comme moyen d'immunisation un plasmide codant la protéine Hsp65 délivré à l'aide de liposomes cationiques. L'objectif est d'améliorer le vaccin actuel (BCG) contre la tuberculose.

**Expérience 1 :** Six lots de souris Balb/c ont reçu **par voie intramusculaire** 4 doses 1) de tampon, 2) de plasmide vide, ne codant pas Hsp65 (Plasmide), 3) de plasmide codant Hsp65 (Plasm-hsp65), 4) de liposomes vides, dépourvus de plasmide (Liposm), 5) de liposomes complexés avec du plasmide vide (Lipos-plasm) **ou** 6) de liposomes complexés avec du plasmide codant Hsp65 (Lipos-hsp65). Le niveau d'anticorps (IgG1 et IgG2a) est déterminé par ELISA, sur les sera, 30 jours après la dernière immunisation (**Figures 1A et 1B**).

**Q1 :** Que démontre la figure 1 ?

**Q2 :** Pourquoi s'intéresser aux sous-types d'anticorps ?

**Q3 :** Faites un schéma simple du test ELISA utilisé pour mettre en évidence les IgG1 ou IgG2a dans le sérum des souris.

**Expérience 2 :** Des souris Balb/c ont reçu, par **voie intramusculaire ou intranasale, une ou plusieurs doses** 1) de tampon, 2) de liposomes vides, dépourvus de plasmide (Liposm), 3) de liposomes complexés avec du plasmide vide (Lipos-plasm), 4) de liposomes complexés avec du plasmide codant Hsp65 (Lipos-hsp65), 5) de plasmide codant Hsp65 (Plasm-hsp65), 6) de BCG, puis trente jours après la dernière immunisation, une infection d'épreuve par administration intra-trachéale de *Mycobacterium tuberculosis* H37RV. **Après 30 jours, le nombre de mycobactéries infectieuses (Unités formant des colonies = CFU) par gramme de poumon a été déterminé** pour chaque condition expérimentale (n= 6 souris/condition) (**Figure 2**).

**Q4 :** Pourquoi différentes voies d'immunisation « intramusculaire ou intranasale » ont-elles été utilisées ?

**Q5 :** Que montre la figure 2 ?

**Q6 :** Que pensez-vous des différentes voies d'immunisation utilisées ?

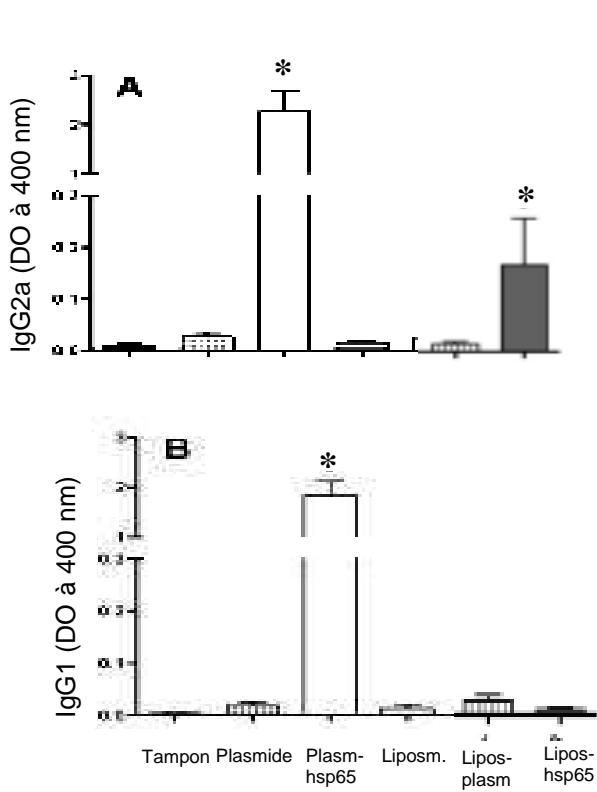
**Expérience 3 :** Des souris Balb/c ont reçu **par voie intramusculaire du plasmide codant Hsp65** (Plasm-hsp65, 400µg) **ou par voie intranasale des liposomes complexés avec du plasmide codant Hsp65** (Lipos-hsp65). Deux témoins sont effectués : un témoin où les souris ne sont pas infectées et un témoin où les souris reçoivent du tampon comme immunisation. Trente jours plus tard, les souris sont infectées par *Mycobacterium tuberculosis* par voie intra-trachéale. **La production d'IFNγ, d'IL-12 et d'IL-10 est déterminée 30 jours après infection par ELISA.** (**Figures 3A 3B 3C**).

**Q7 :** Pourquoi les auteurs analysent-ils les cytokines produites lors de la réponse immunitaire développée après immunisation et infection ?

**Q8 :** Que pensez-vous de la réponse immunitaire obtenue avec le plasmide hsp65 ?

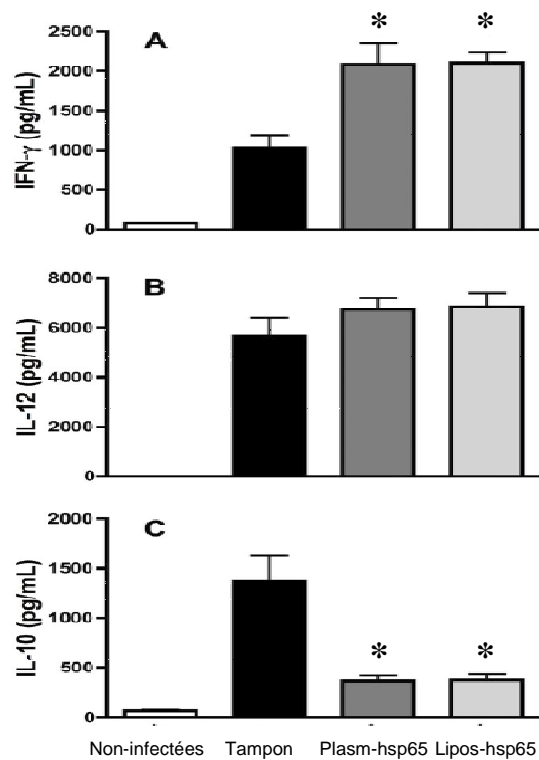
**Q9 :** Que pensez-vous de l'immunité obtenue en considérant l'infection due à *Mycobacterium tuberculosis* ?

**Faites des réponses courtes et simples.**



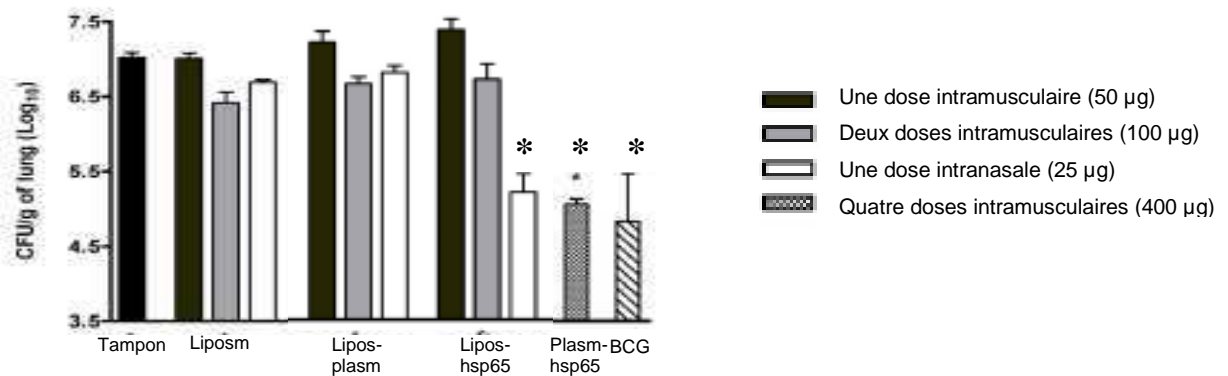
**Figure 1:** Analyse des sous-types d'anticorps produits par des souris immunisées.

\* : la différence est considérée significative par rapport au groupe d'animaux ayant reçu du tampon.



**Figure 3 :** Production de cytokines dans le poumon des souris immunisées.

\* : la différence est considérée significative par rapport au groupe d'animaux ayant reçu du tampon.



**Figure 2 :** Détermination du nombre de bactéries *Mycobacterium tuberculosis* dans les poumons des souris (en log<sub>10</sub> CFU/g de poumon).

\* : la différence est considérée significative par rapport au groupe d'animaux ayant reçu du tampon.

- Une dose intramusculaire (50 µg)
- Deux doses intramusculaires (100 µg)
- Une dose intranasale (25 µg)
- Quatre doses intramusculaires (400 µg)