

L2 SV CORRIGE du SUJET « REVISIONS »

On étudie quelques propriétés de *Streptococcus salivarius*.

Se remémorer les caractéristiques vues en cours sur cette bactérie (*Streptococcus salivarius*) : coque à Gram positif, groupement en chaînette, aérobic-anaérobic facultatif, immobile, forme des petites colonies translucides sur gélose Trypticase soja, bactérie dite non groupable, appartient au groupe *viridans* (hémolyse α càd verdâtre), flore humaine, non pathogène le + souvent (peut donner des endocardites).

1) Où trouve-t-on principalement ces bactéries ?

On trouve ces bactéries dans la cavité buccale.

2) On place ces bactéries dans 10 mL d'une solution renfermant 5 g de sucre alimentaire.

a) Quelles structures particulières *Streptococcus salivarius* pourra-t-il alors synthétiser ?

b) Quel est le rôle de ces bactéries et de ces structures particulières ?

c) Représentez l'aspect microscopique de ces bactéries à l'état frais.

Sucre alimentaire = saccharose

a. Elles peuvent synthétiser une pseudo-capsule ou zooglé ou glycocalix grâce à des enzymes qu'elles sécrètent. Il y a hydrolyse du saccharose et polymérisation du fructose (= levane). Plus il y a de saccharose, plus il se forme une zooglé.

b. Ces bactéries adhèrent entre elles et sur les dents. Elles forment un biofilm dans lequel se mettent des aliments = plaque dentaire. S'il y a calcification, il y a formation du tartre et à terme il y a formation de caries et risque de gingivite.

La zooglé favorise l'adhésion des bactéries entre elles et aux surfaces des cellules. Elle favorise la colonisation des tissus et la virulence des bactéries. Elle diminue la sensibilité aux phages, aux désinfectants, aux antibiotiques, à la dessiccation. Elle peut servir de réserve d'énergie.

c. A l'état frais, on devine la zooglé (réfringence). Dans la zooglé, les bactéries sont en chaînette et on compte jusqu'à environ 50 bactéries/zooglé.

3) Afin de mettre en évidence le polyoside C pariétal, on soumet ensuite ces bactéries à l'action du lysozyme.

a) Représentez le mode d'action du lysozyme.

b) Donnez les résultats de la coloration de Gram avant et après action du lysozyme.

Commentez ces résultats.

c) Quel est l'intérêt de la mise en évidence du polyoside C dans l'étude de ces bactéries ?

Polyoside C = antigène présent au niveau du peptidoglycane des streptocoques. Il peut être identifié par des Ac.

a. Voir TD1.

b. C^+ devient un C^- (voir TD1).

c. Permet de typer (= grouper) les streptocoques grâce à un test utilisant des Ac reconnaissant spécifiquement un type de polyoside C (streptocoque de groupe A, B, D, G, ...). Ce système d'identification est le système de Lancefield. Cette classification sert à différencier les streptocoques pathogènes (ex : streptocoque A), les commensaux (ex : streptocoque B qui peut être très pathogène chez le nouveau-né ; divers streptocoques non groupables de la cavité buccale) et les streptocoques utiles (streptocoques lactiques non groupables). *S. salivarius* est dit non groupable.

4) On ensemence une colonie de *S. salivarius* dans 5 mL de bouillon nutritif. On évalue le nombre de bactéries par 2 méthodes :

▪ par observation microscopique de 0,2 μ L, on dénombre 120 bactéries,

▪ par le dénombrement des bactéries viables : on ensemence 0,1 mL d'une dilution au millième sur gélose nutritive ; après incubation, on dénombre 15 colonies.

a) Calculez avec chacune des 2 méthodes le nombre de bactéries présentes dans le bouillon. Comparez et commentez ces résultats.

Microscope. 0,2 µl -----> 120 bactéries
5000µl (5ml) -----> ?
d'où ? = $5000 \times 120 / 0,2 = 3.10^6$ bactéries/5ml

Isolement sur gélose (dénombrement par la technique de la viabilité cellulaire).

0,1 ml au 1/1000 donne 15 colonies ==>
nbre de bactéries/5ml = 15 x inverse de la dilution x 5 ml / 0,1 ml
= 15 x 1000 x 5 / 0,1
= $7,5.10^5$ bactéries/5ml

Comparaison des chiffres.

3.10^6 divisé par $7,5.10^5 = 4$ ==> il y a 4 fois moins de bactéries dénombrées sur la gélose que sous le microscope.

Explications.

- Erreur de dilution
- Erreur d'échantillonnage (tube non homogénéisé lors du prélèvement de 0,1 ml au 1/1000)
- Erreur d'étalement
- 75% des bactéries sont mortes (4 fois moins <=> il reste 25% de bactéries vivantes) - peu probable - culture fraîche
- Les bactéries s'associent 4 par 4 (chaînette) ==> 1 UFC (unité formant colonie) contient 4 bactéries mais après culture ne donne qu'une colonie. Explication +++ vu le groupement des streptocoques. ⇒ Pour les streptocoques, on évite le dénombrement par la technique de la viabilité cellulaire sur gélose.

b) Citez une autre méthode d'évaluation du nombre de bactéries.

Turbidimètre, spectrophotomètre, compteur électronique

c) On incube 1 mL du bouillon nutritif à 37°C (tube a) et 1 mL à 42°C (tube b). Après 2 heures d'incubation, on obtient les résultats suivants par dénombrement microscopique des bactéries :

- tube a : 240 bactéries dans 0,1 µL
- tube b : 480 bactéries dans 0,05µL
 - Calculez le temps de génération à 37°C et 42°C.

A t=0 h, on compte dans 0,2 µl 120 bactéries (méth microscopique) càd 0,1 µl donne 60 bact.

A 37°C, on a 240 bactéries dans 0,1 µl au bout de 2h soit 120 min.

On peut calculer n selon la formule $N = 2^n.N_0$ vue lors du TD2 en ramenant N et N_0 à un nombre de bactérie par même unité de volume.

On peut tout ramener à 0,1 µl et multiplier par 2 (<=> 1 génération)

t = 0 min, 0,1 µl donne 60 bactéries

t = 120 min, 0,1 µl donne 240 bactéries ==> $60 \times 2 = 1$ génération = 120

$120 \times 2 = 1$ génération = 240 **d'où $T_G = 120 \text{ min} / 2 \text{ générations} = 60 \text{ min}$**

A 42°C, on a 480 bactéries dans 0,05 µl càd 960 bactéries pour 0,1 µl après 2h soit 120 min.

On peut calculer n selon la formule $N = 2^n.N_0$ vue lors du TD2 en ramenant N et N_0 à un nombre de bactérie par même unité de volume.

On peut tout ramener à 0,1 µl et multiplier par 2 (<=> 1 génération)

t = 0 min, 0,1 µl donne 60 bactéries

t = 120 min, 0,1 µl donne 960 bactéries ==> $60 \times 2 = 1$ génération = 120

$120 \times 2 = 1$ génération = 240

$240 \times 2 = 1$ génération = 480

$480 \times 2 = 1$ génération = 960 **d'où $t_G = 120 \text{ min} / 4 \text{ générations} = 30 \text{ min}$**

- D'après ces résultats, comment qualifie-t-on ces bactéries ?
Les bactéries sont thermophiles.