

TD

Frédéric JORAND
jorand@pharma.uhp-nancy.fr
Faculté de Pharmacie, Nancy.
Tél. 852 48.

LCPME UMR 7564 CNRS-UHP, Nancy 1, Faculté de Pharmacie
405, rue de Vandœuvre
54600 VILLERS-LES-NANCY

Question 1.

Une suspension bactérienne d'*E. coli* après culture en milieu nutritif est prélevée en phase stationnaire de croissance, lavée (double centrifugation + NaCl 7‰ dans l'eau stérile) subit un traitement à différentes concentrations d'hypochlorite de sodium (eau de Javel). Après chaque traitement, l'excès de chlore est neutralisé par du thiosulfate de sodium puis la suspension cellulaire est répartie en deux fractions égales afin de procéder au dénombrement du nombre d'UFC par culture sur gélose nutritive TLY en présence ou en absence de désoxycholate (sel biliaire). Les résultats sont indiqués dans la figure 1.

Commentez ces résultats.

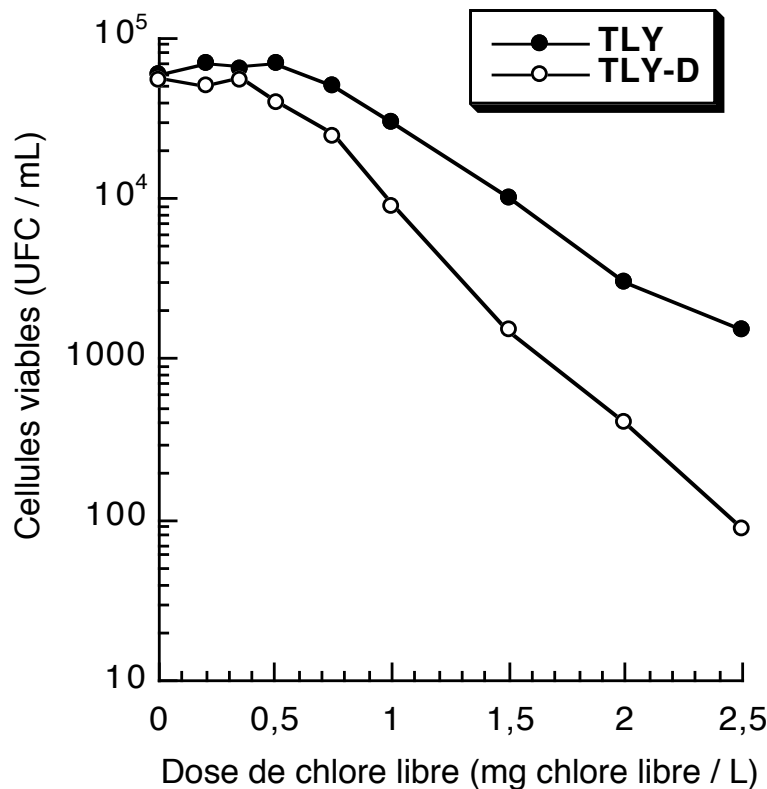


Figure 1 : Nombre de cellules cultivables (*E. coli*) après exposition au chlore (de 0 à 2,5 mg/L) puis culture sur milieu non sélectif (TLY) ou sélectif (TLY-D, désoxycholate).
(Extrait de : LeChevallier et McFeters, 1985, *JAWWA*, 77 :81).

Question 2

Exercice tirée de l'article Caccavo *et al.* (1994) Appl. Environ. Microbiol., vol. 60 :3752-3759.

Une souche bactérienne a été isolée de sédiments de surface d'un site contaminé par des hydrocarbures, la souche est dénommée *CIP* dans le texte qui suit.

Les milieux de culture ont été bouillis et refroidis sous N_2/CO_2 (80/20%) et répartis dans des tubes sous la même atmosphère puis stérilisés (121°C, 20 min). Les prélèvements de sédiments ont

Le milieu de base contenait du bicarbonate de sodium, du chlorure d'ammonium, du dihydrogénophosphate de potassium, et du KCl de 0,1 à 2,5 g L⁻¹, des vitamines et des éléments en traces. A ce milieu sont ajoutés 4 à 10 mM (concentration finale) d'acétate de sodium et 10 à 30 mM (equiv. Fe^{III}, concentration finale) de citrate ferrique (FeC₆H₅O₇), de phosphate ferrique (Fe₄O₂₁P₆) ou d'oxyde ferrique peu cristallisé (Fe₂O₃). L'inoculum contenant la souche pure de *Geobacter* a été ajouté à ce milieu (>10% V/V) en conditions stériles par utilisation de seringues et d'aiguille stériles. Les incubations ont été réalisées sous 35°C.

La croissance bactérienne est suivie par mesure de A540, la concentration en Fe^{II} et en acétate est suivie au cours du temps.

Aucune croissance n'est observée si le citrate ferrique est remplacé par du citrate de sodium (Na₃C₆H₅O₇).

Les résultats en présence de phosphate ferrique et d'oxyde ferrique sont représentés dans la figure 2.

Commentez ces résultats. Indiquez parmi les différents constituants la source de carbone et la source d'électrons, ainsi que l'accepteur final d'électrons probable.

En présence de Fe^{III} citrate $6,8 \pm 0,4$ (n = 5) moles de Fe^{II} sont produites par mole d'acétate consommé.

Suggérez l'équation chimique de la réaction entre Fe^{III} et l'acétate et proposez la quantité de biomasse susceptible d'avoir été produite lors de la réaction.

Même question en présence de di-hydrogène H₂ (90/10%, H₂/CO₂) où $1,9 \pm 0,2$ (n = 5) moles de H₂ sont consommées par mole de Fe^{II} produite.

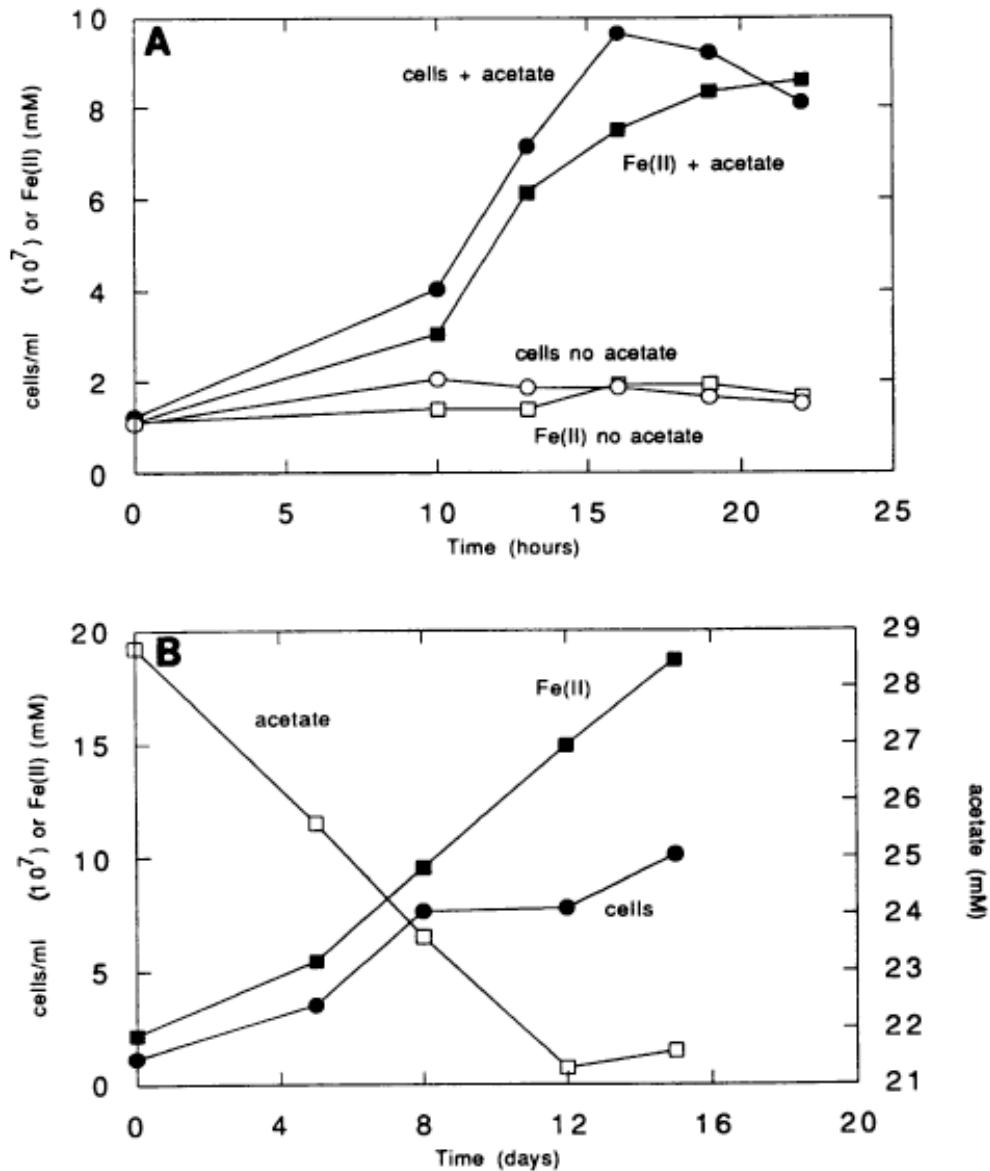


FIG. 2. Growth of PCA in basal medium with acetate as an electron donor and ferric PP_i (A) or poorly crystalline ferric oxide (B) as an electron acceptor.

Question 3 :

Commentez l'article de Pak et Bartha (1998) AEM, 64 :1987-19990)

Question 4 :

Indiquez les activités microbiennes pouvant être à la base de la stratification observée figure 1, et à l'aide du tableau 1, indiquez en quoi l'activité microbienne peut-être responsable d'une telle stratification.

Tableau 1 : Potentiels redox de divers composés utilisés par la souche bactérienne *Shewanella oneidensis* MR1 en tant qu'accepteur d'électrons ainsi que les sulfate et le CO₂ respectivement utilisés comme accepteurs final d'électrons par les bactéries sulfato-réductrices (SRB) et les bactéries méthanogènes (extrait de Nealson & Myers, 1992, AEM, 58 :439).

TABLE 1. Energetics of various compounds used and not used by MR-1 as electron acceptors^a

Electron acceptor	Reduction half reaction	E ₀ ' (mV)
Compounds used by MR-1		
Oxygen	O ₂ /H ₂ O	+820
Fe(III) (soluble)	Fe ³⁺ /Fe ²⁺	+770
Nitrate	NO ₃ ⁻ /NO ₂ ⁻	+430
Mn(IV)	MnO ₂ /Mn ²⁺	+380
Nitrite	NO ₂ ⁻ /NO	+350
DMSO	DMSO/DMS	+160
TMAO	TMAO/TMA	+130
Fumarate	Fumarate/succinate	+33
Tetrathionate	S ₄ O ₆ ²⁻ /S ₂ O ₃ ²⁻	+24
Sulfite	HSO ₃ ²⁻ /HS ⁻	-110
Compounds not used by MR-1		
Sulfate	SO ₄ ²⁻ /HS ⁻	-230
Carbon dioxide	CO ₂ /CH ₄	-240

^a Data are from reference 51. Abbreviations: DMSO, dimethyl sulfoxide; DMS, dimethyl sulfide; TMAO, trimethylamine N-oxide; TMA, trimethylamine.

