

COURS DE MICROBIOLOGIE GÉNÉRALE

Préparé par : Pr. Aicha AIT ALLA



<https://www.facebook.com/groups/213048712078935/>

Plan du Cours

I. LE MONDE MICROBIEN.

II. MORPHOLOGIE ET STRUCTURE DE LA CELLULE BACTERIENNE.

III. NUTRITION BACTERIENNE.

IV. CROISSANCE BACTERIENNE..

Chapitre I. LE MONDE MICROBIEN

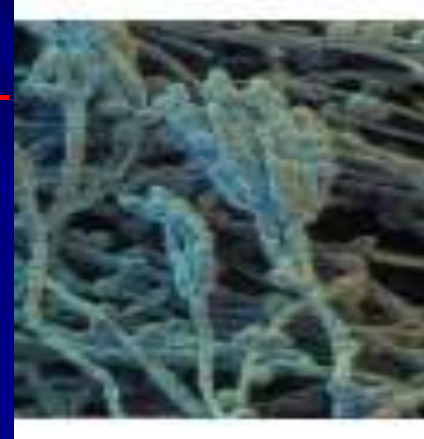
A. Définition de la microbiologie

* Microbiologie = Science qui étudie **les micro-organismes** .

• Les micro-organismes = organismes microscopiques (de petite taille).

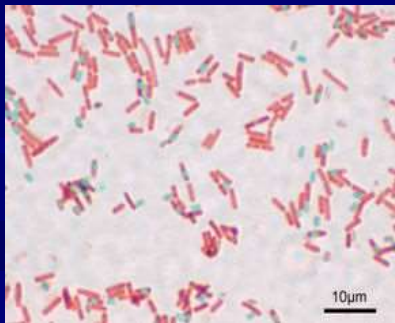
• Groupe très diversifié,

• Existents à l'état de cellule isolée ou en groupe..



Champignons

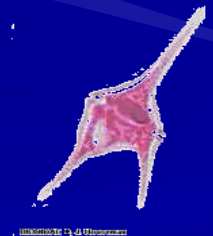
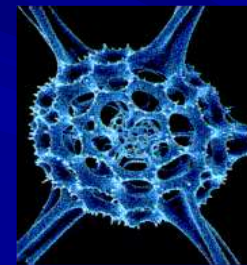
Virus



Bactéries



Algues unicellulaires



Protozoaires

B. Historique du monde microbien

Exposé

B. Techniques microbiologiques et domaines d'application

Exposé

C. Place des micro-organismes dans le monde vivant.

Avant la découverte des microorganismes, les organismes vivants étaient classés en deux règnes



Règne Animal

- * Organismes multicellulaires
- * Pas de paroi cellulaire.
- * Hétérotrophes par ingestion
- * Pas de chloroplastes
- * Capables de se déplacer
- * Toutes les espèces se reproduisent sexuellement.

Règne végétal

- * Organismes multicellulaires
- * ayant une paroi squelettique.
- * autotrophes (photosynthèse)
- * Cellules avec chloroplastes (chlorophyle)
- * Incapables de se déplacer

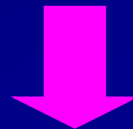
Après la découverte des microorganismes, les scientifiques ont essayé de les classer parmi les deux règnes.

- Ceux ayant des caractères proches des végétaux (photosynthétiques, immobiles...) ———→ règne végétal
- Ceux ayant des caractères proches des animaux (non photosynthétiques, mobiles....) ———→ règne animal

Mais, certains microorganismes ne ressemblaient ni aux animaux, ni aux végétaux



**Euglène = protozoaire
Ayant de la chlorophylle**



**Nécessité de créer un nouveau système de classification
comprenant les microorganismes**

Classification des microorganismes

Définition :

Classification des microorganismes = attribution de chaque microorganisme à Une catégorie d'êtres vivants déjà existants.

1) Classification de Haeckel

En 1866, Haeckel proposa la création d'un troisième règne qui comprendrait les microorganismes c'est le **règne des Protistes**



3 règnes



Règne des animaux	Règne des végétaux	Règne des Protistes (Bactéries, Cyanobactéries, algues, protozoaires, champignons)

NB : les virus ne rentrent pas dans ce cadre, ce sont des organismes non cellulaires

L'observation de l'ultrastructure des protistes a montré l'existence de certaines différences au sein de ce règne, ce qui a engendré l'appellation suivante :



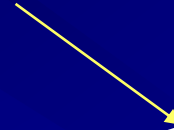
Règne des protistes



Protistes inférieurs

=

**Bactéries +
Cyanobactéries**



Protistes supérieurs

=

Algues + mycètes + protozoaires

* Absence de membrane autour
du matériel nucléaire



Procaryotes

* Possèdent un véritable noyau
bien délimité par une membrane

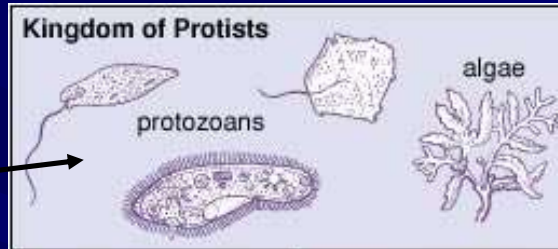


Eucaryotes

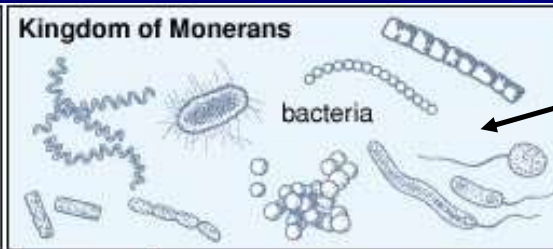
2) Classification de Whittaker

En 1969, Whittaker a proposé une classification selon 5 règnes

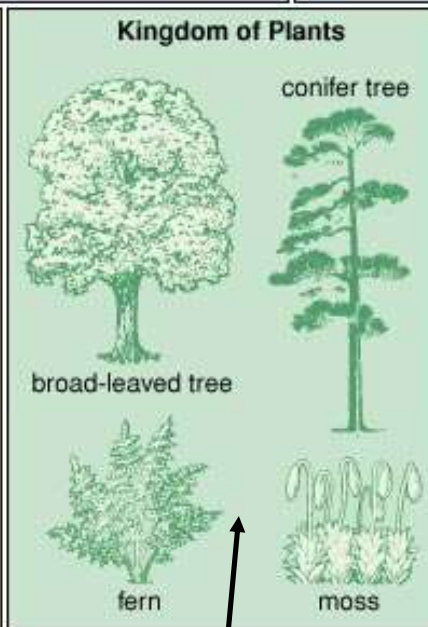
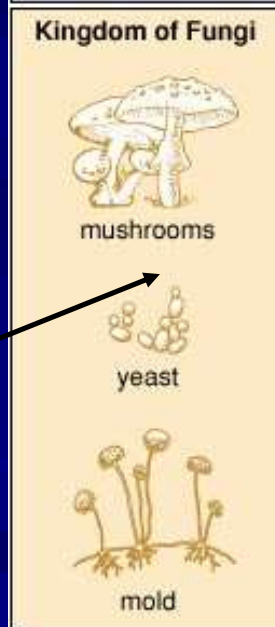
**Règne des
protistes**



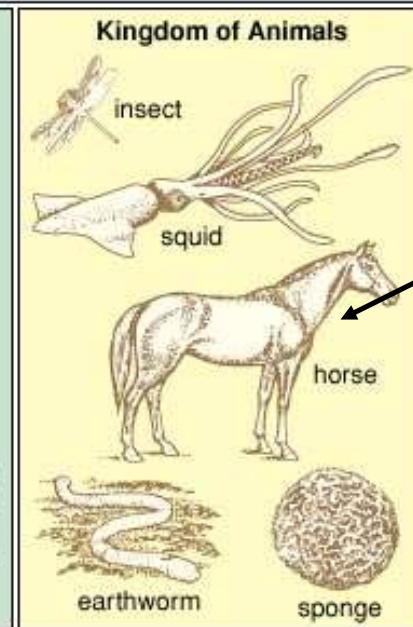
**Règne des
Monères**



**Règne des
mycètes**



Règne animal



Règne végétal

© 2006 Encyclopædia Britannica, Inc.

Les principaux règnes et les trois domaines du monde vivant

Tableau avec d'autres classifications

Haeckel (1894) Trois règnes	Whittaker (1969) Cinq règnes	Woese (1977) Six règnes	Cavalier - Smith (1981) 8 règnes	Consensus ?	Woese (1990) Trois domaines
Protiste	Monera	Eubacterie	Eubactérie	Bactérie	Bactérie (<i>Bacteria</i>)
		Archéobactérie	Archéobactérie	Archée	Archées (<i>Archaea</i>)
	Protiste	Protiste	Archéozoaire	Protozoaire	Eucaryote (<i>Eucarya</i>)
			Protozoaire	Chromiste	
			Chromiste	Champignon	
			Champignon		
Végétal	Champignon	Champignon			
	Végétal	Végétal	Plante	Plante	
Animal	Animal	Animal	Animal	Animal	

Procaryotes

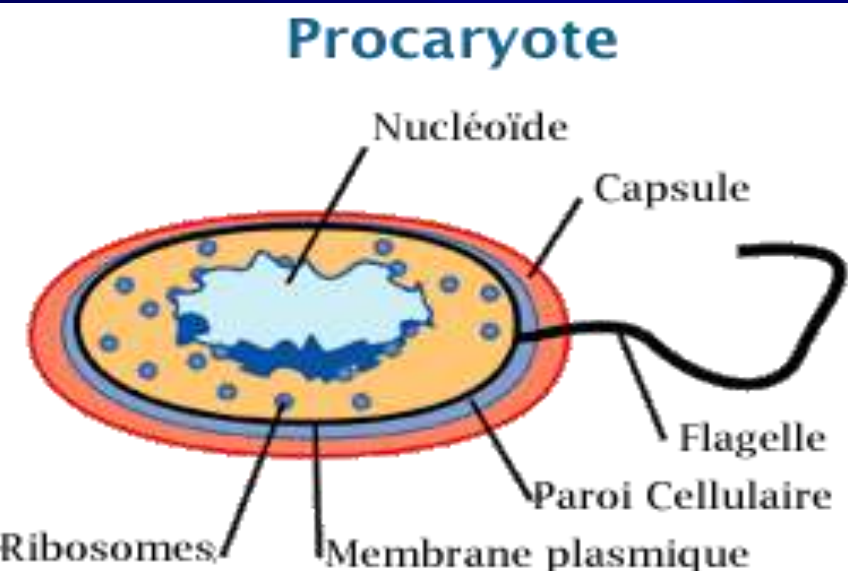
Eucaryotes

**Règnes pouvant contenir
des microorganismes**

Les systèmes actuels classent les microorganismes en deux grands groupes

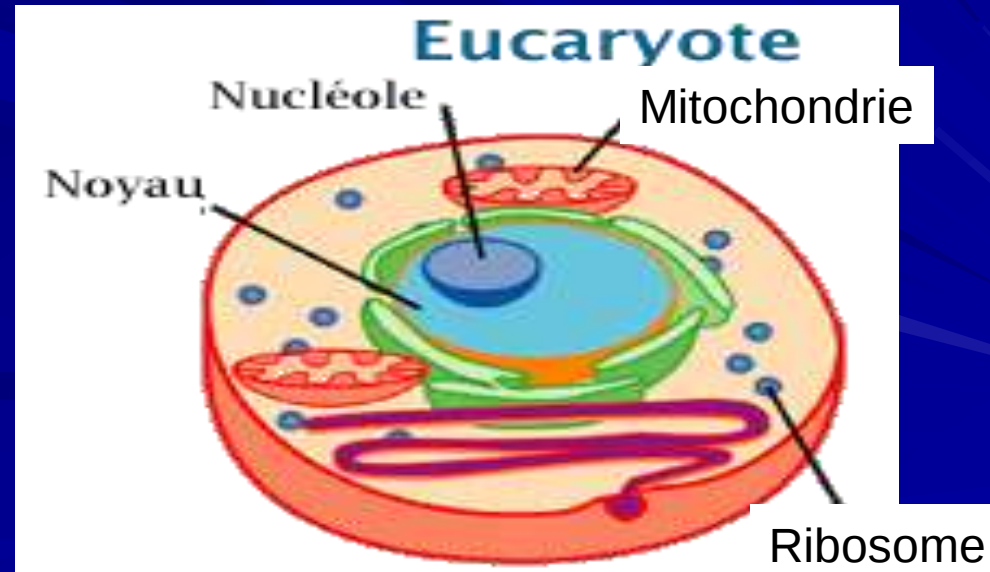
Les protistes procaryotes
=
Bactéries + Archées

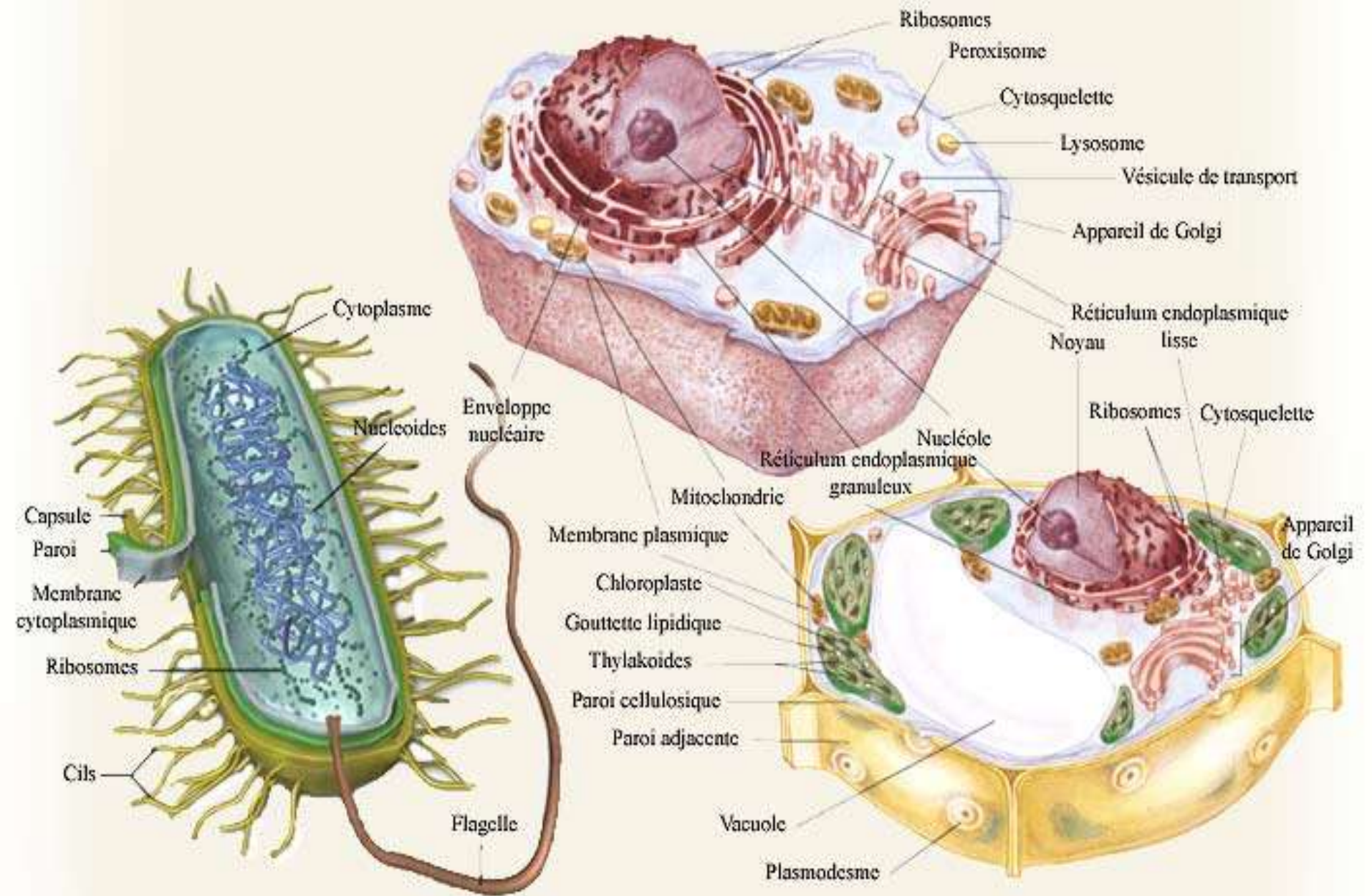
Structure cellulaire simple



Les protistes eucaryotes
=
Algues + champignons + protozoaires

Structure cellulaire complexe





Procaryote - bactérie

Eucaryote - cellule animale

Eucaryote - cellule végétale

Définitions

Procaryote

« pro » = primitif, avant
« karyote » = noyau

Ces organismes n'ont pas de véritable noyau, leur matériel génétique est organisé sous la forme d'un nucléoïde. Ils se divisent par fission binaire.

Les procaryotes comprennent deux règnes :

- les **archées** : bactéries vivant dans des conditions extrêmes
- les **bactéries *sensu stricto*** : la majorité des bactéries qui se trouvent dans notre environnement

Eucaryote

« eu » = vrai, « karyote » = noyau

Ces organismes possèdent un vrai noyau, c'est-à-dire que leur matériel génétique est organisé au sein d'un organite intracellulaire délimité par deux membranes. Ils se divisent par mitose et souvent aussi par méiose.

Les eucaryotes comprennent les protozoaires, les algues (les champignons, les animaux et les végétaux).

Organisation des cellules eucaryotes et procaryotes

	Procaryote	Eucaryote
Taille	0,2µm (mycoplasmes)-10 µm – voire plus chez certaines bactéries géantes (<i>Epulopiscium fishelsoni</i> : 10 à 500 µm selon la phase de croissance ; <i>Thiomargarita namibiensis</i> de 0,1 à 1 mm)	1 µm (<i>Nanochlorum eukaryotum</i>) - 5 µm (levure) – 100 µm (voire de l'ordre du mètre si on pense aux neurones)
Organisation	Le plus souvent unicellulaire – différenciation rudimentaire	Uni ou multicellulaire – différenciation sophistiquée en tissus et organes chez les eucaryotes supérieurs
Noyau avec membrane	Absent (sauf très rare exception)	Présent
Matériel génétique	1 nucléoïde (parfois plusieurs) et parfois des plasmides Matériel génétique dans cytosol	Plusieurs chromosomes Matériel génétique dans noyau et certains organites
Cytosquelette	Pas à proprement parlé (néanmoins protéine FtsZ)	Présent (microtubules, filaments d'actine)
Division	Fission binaire	Mitose (réplication de la cellule) et souvent méiose (formation de gamètes)
Processus d'endocytose	Absent	Présent
Ribosomes	70S : 50S (ARN 23S et 5S) + 30S (ARN16S)	80S (sauf mitochondrie et chloroplaste) : 60S (ARN 25S et 5,8 S et 5S) + 40S (ARN 18S)
Membranes internes	Très rare (cf. certaines bactéries photosynthétiques, les méthanotrophes, les bactéries nitrifiantes...)	Présentes
Compartiments internes (= organites)	Absents	Présents : compartimentation de la production d'énergie (mitochondrie, chloroplaste), des réactions enzymatiques (péroxyosome, lysosome, cytosol), de la synthèse protéique et sécrétion (réticulum endoplasmique, appareil de Golgi) – Quelques eucaryotes « primitifs » tels que <i>Giardia lamblia</i> n'ont pas de mitochondries ou de réticulum endoplasmique.

Tableau comparatif (suite) :

Procaryotes

Eucaryotes

Appareil photosynthétique	Présent chez les phototrophes	Présent chez les algues et les plantes au sein d'organites spécialisés : les chloroplastes
Vacuole à gaz	Parfois présente	Absente
Endospore	Parfois présente	Absente
Flagelles, cils	Présent (selon espèces) – Flagelles constitués de flagelline et non entouré d'une membrane (le plus souvent)	Présent (selon espèces) – Flagelles et cils faits de tubuline, entourés d'une membrane
Paroi	Peptidoglycane présent chez la plupart des bactéries – Paroi absente chez quelques procaryotes (mycoplasmes, thermoplasmales) - Paroi différente présent chez certaines archées–	Paroi de cellulose chez les plantes, de chitine chez les champignons
Stérols dans les membranes	Très rare (exception : mycoplasme, méthanotrophe...)	Fréquente
Lipides liés par des liaisons ester	Présent chez les bactéries (mais pas les archées)	Présent
Lipides liés par des liaisons éthers	Présent chez les archées (mais pas les bactéries)	Absent

Caractéristiques des principaux groupes de microorganismes

Les Virus

- Taille : 0,015 à 0,2 μm
- Parasites obligatoires
- Visibles seulement au microscope électronique
- Caused maladies chez l'homme, plantes, animaux et infectent d'autres microorganismes

Les bactéries

- procaryotes unicellulaires (diamètre = 0,5 à 1,5 μm)
- Structure simple
- peuplent tous les milieux
- ont un fort pouvoir de génération : en moyenne, une bactérie peut se diviser toutes les 20 minutes.
- Certaines sont pathogènes, d'autres utiles

Les cyanobactéries

- Taille : 5,0 à 15 μm
- Procaryotes unicellulaires
- Structure comme les bactéries
- contiennent de la chlorophylle
- utilisées comme nourriture d'animaux aquatiques
- contribuent à la formation du sol

Les mycètes



```
graph TD; A[Les mycètes] --> B[Les levures]; A --> C[Les moisissures]
```

Les levures

- Eucaryotes unicellulaires (5 à 10 μm)
- Culture en laboratoire comme les bactéries
- Production de boissons alcooliques
- supplément nutritif
- certaines sont pathogènes

Les moisissures

- Eucaryotes pluricellulaires (2 à 10 μm de diamètre)
- Culture en laboratoire
- décomposent la matière
- utiles en fabrications industrielles (pénicilline)
- Pathogènes des hommes, animaux et plantes

Les protozoaires

- Taille : 2 à 200 μm
- Eucaryotes unicellulaires
- culture en laboratoire ou parasites intracellulaires
- sources de nourriture pour les animaux aquatiques
- certains sont pathogènes

Les algues

- Taille : 1 μm à plusieurs mètres
- Eucaryotes unicellulaires et multicellulaires
- la plupart sont aquatiques
- photosynthétiques (chlorophylle)
- source de nourriture dans les milieux aquatiques
- suppléments alimentaires
- source de gélose pour la microbiologie
- certaines produisent des toxines

Exemple d'abondance des microorganismes dans le sol

	taille	concentration	régime alimentaire
Nématodes	0,1 à 5 mm	10^6 à $10^8/\text{m}^2$	Champignons, bactéries, cellules de végétaux
Lombrics	3 à 30 cm	10 à $10^3/\text{m}^2$	Résidus de végétaux, champignons, bactéries
Arthropodes	> 1 mm		Carnivores ou phytophages
Micro arthropodes	< 1 mm	10^3 à $10^4/\text{m}^2$	Résidus de végétaux, algues, champignons, bactéries
Protozoaires	0,2 mm	10^3 à $10^5/\text{g de sol}$	Algues, champignons, bactéries, débris organiques
Algues cellulaires	0,2 mm	10^2 à $10^4/\text{g de sol}$	Arthropodes
Bactéries	0,01 à 0,05 mm	10^8 à $10^9/\text{g de sol}$	Matière organique
Champignons		50 à 250 hyphes/g de sol	Parasite ou symbiote endo et ecto mycorhizes

D'après Chaussod,
1996.

D. Taxonomie et nomenclature des microorganismes

Taxonomie = science de classification des organismes dans des groupes appelés **Taxons**.

= Arrangement ordonné d'unités dans des groupes plus grands.

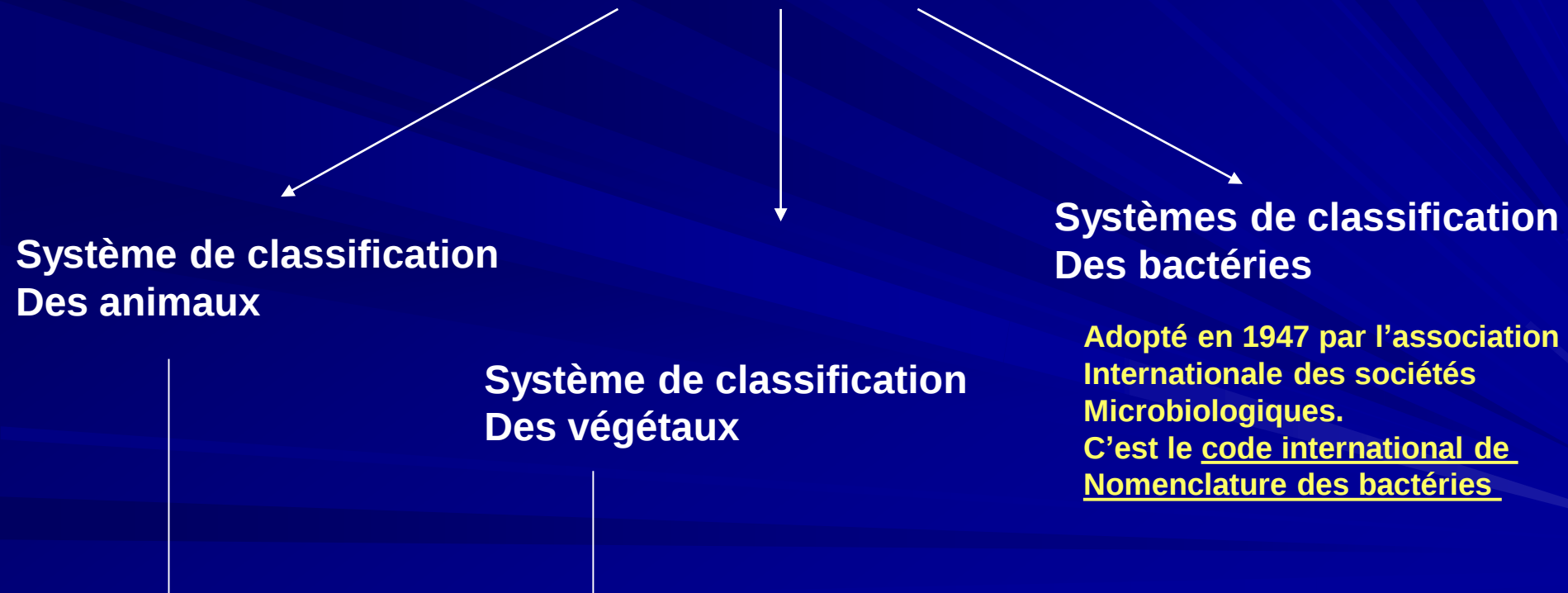
Mais, avant leur arrangement systématique, il faut nommer et Identifier les microorganismes

Nomenclature : C'est l'ensemble des règles qui président à l'attribution d'un nom à chaque taxon .

Les nomenclatures scientifiques sont des noms latins ou latinisés

Identification = donner une identité à un microorganisme inconnu en le comparant aux microorganismes connus

Il existe différents systèmes de classification



Les premiers modèles de classification ont été créés par Linné en 1750

* Chaque système de classification présente une unité de base = Espèce

Définition de L'espèce biologique

=

C'est l'unité de base de tout système de classification

=

C'est un groupe d'organismes très apparentés, différents des autres groupes d'organismes et capables de se croiser entre eux.

Cette définition n'est pas applicable aux procaryotes (bactéries).



En bactériologie, une **espèce** est constituée par **sa souche type** et par l'ensemble des souches considérées comme suffisamment proches de la souche type pour être incluses au sein de la même espèce .

Cette dernière définition repose sur un ensemble de caractères

- caractères morphologiques**
- Aspects tinctoriaux**
- Types trophiques**
- métabolisme**
- Critères immunologiques**
- Critères pathologiques**

* Un système de classification biologique est aussi basé sur une **hiérarchie taxonomique**

Les échelons hiérarchiques sont :

Espèce = groupe de microorganismes présentant en commun le plus grand nombre de caractéristiques semblables.

Genre = un groupe d'espèces semblables

Famille = un groupe de genres semblables

Ordre = un groupe de familles semblables

Classe = un groupe d'ordres semblables

Embranchement = un groupe de classes semblables

Règne = tous les organismes de cette hiérarchie

Exemple de structure hiérarchique des taxons

Rang	Exemple
Règne	<i>Bacteria</i>
Embranchement	<i>Proteobacteria</i>
Classe	γ -Proteobactéries
Ordre	Enterobactériaes
Famille	<i>Enterobacteriaceae</i>
Genre	<i>Escherichia</i>
Espèce	<i>Escherichia coli</i>

- Parfois on trouve d'autres subdivisions (**Sous-classe** , **Sous-ordre** , **Sous-famille** , **Sous-genre** , **Sous-espèce**)

Pseudomonas syringae pathovar
Savastanoi

Corynebacterium afermentans
sous-espèce *lipophilum*

Domaine ou empire	" <i>Bacteria</i> "	" <i>Bacteria</i> "
Phylum ou division	" <i>Proteobacteria</i> "	" <i>Actinobacteria</i> "
Classe	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Actinobacteria</i>
Sous-classe	aucune	<i>Actinobacteridae</i>
Ordre	<i>Pseudomonadales</i>	<i>Actinomycetales</i>
Sous-ordre	<i>Pseudomonadineae</i>	<i>Corynebacterineae</i>
Famille	<i>Pseudomonadaceae</i>	<i>Corynebacteriaceae</i>
Sous-famille	aucune	aucune
Genre	<i>Pseudomonas</i>	<i>Corynebacterium</i>
Sous-genre	aucun	aucun
Espèce	<i>Pseudomonas syringae</i>	<i>Corynebacterium afermentans</i>
Sous-espèce	aucune	<i>Corynebacterium afermentans</i> subsp . <i>lipophilum</i>
Rang hiérarchique inférieur à la sous-espèce	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. Savastanoi	aucun

Nomenclature binomiale

* Les microorganismes sont nommés selon les règles du **système binomial de Linné (1750)**.

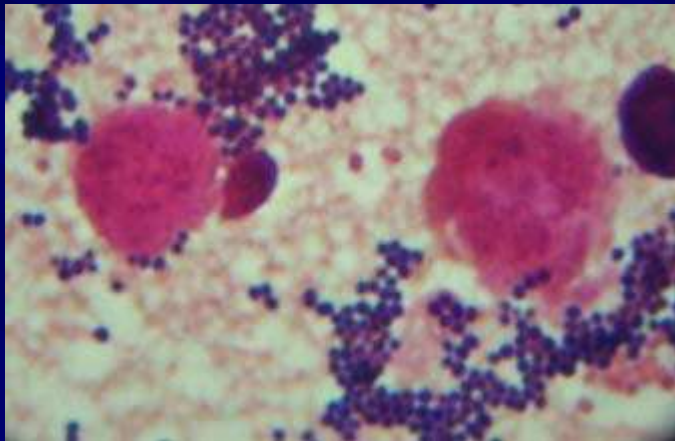
* Le nom de chaque microorganismes est formé par **deux fragments** :

- le premier = **le nom du genre**,
sa première lettre en **majuscule**

- le second = **qualificatif** = nom descriptif,
première lettre en **minuscule**

- * Les deux termes sont **en latin**
- * Ils forment le **nom scientifique de l'espèce**
- * Ils s'écrivent toujours en *italique*

Exemple : *Escherichia coli*



Staphylococcus aureus

- * Quand on nomme et on classe un microorganisme, il constitue une référence
- * Il existe des collections de microorganismes classés (Bergey's manual...)
- * La taxonomie microbienne est un domaine dynamique et non statique

Les bactéries

Chapitre II. MORPHOLOGIE ET STRUCTURE DE LA CELLULE BACTERIENNE

1- Morphologie générale.

a) Définition d'une bactérie :

* Etre unicellulaire de petite taille (microorganisme, micron) de morphologie différente qui présente des caractéristiques propres (Procaryote).

cellule bactérienne

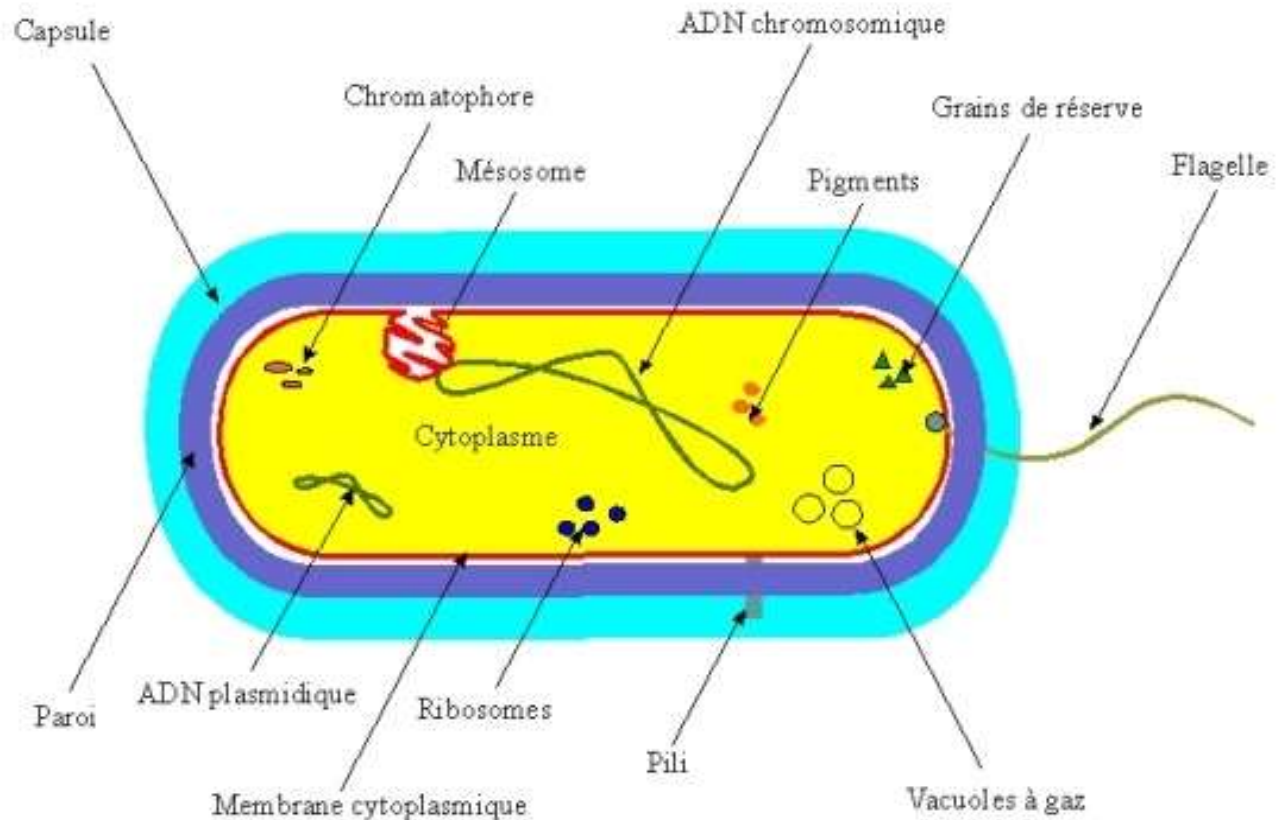


Schéma de la structure bactérienne

b) Dimensions

- l'unité de mesure en microbiologie = le micromètre (μm)
- Les dimensions des bactéries sont variables

- Diamètre habituel $\approx$ 0,5 à 1 μm

- Longueur $\approx$ 2 à 5 μm

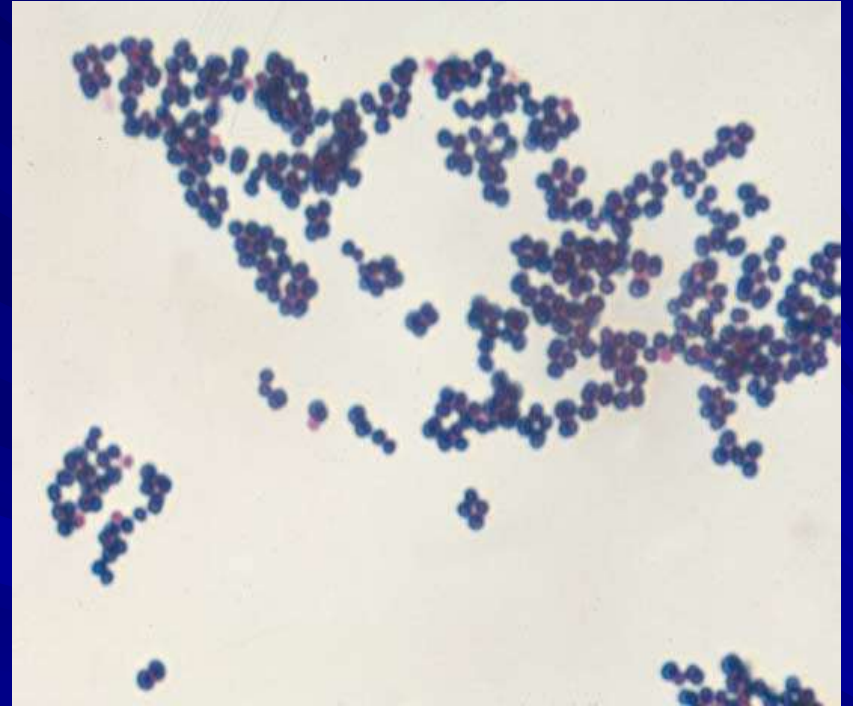
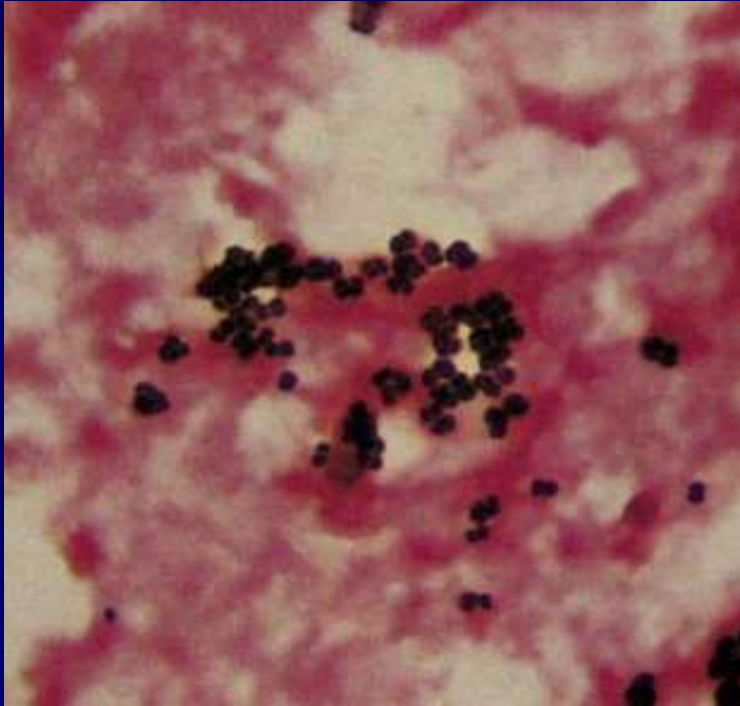
- Certaines bactéries sont très longues :
(longueur = 100 μm , diamètre = 1 à 2 μm)

Les plus petites bactéries = mycoplasmes (0,1 à 0,3 μm)

c- Forme des bactéries

- * La forme des bactéries est un critère permettant de les classer.**
- * Les bactéries présentent des formes variables :**

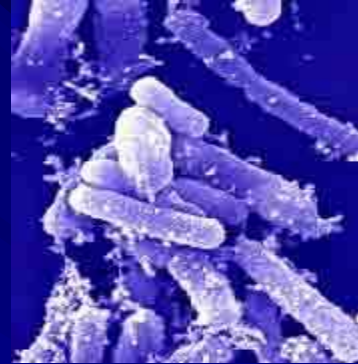
- **Forme sphérique ou ovoïdes = coques ou cocci**



- Forme allongée droite ou cylindrique = *Bacilles*



E. coli



Bacille de Koch

- Forme spiralée = *Spirilles* (rigides ou relachées)

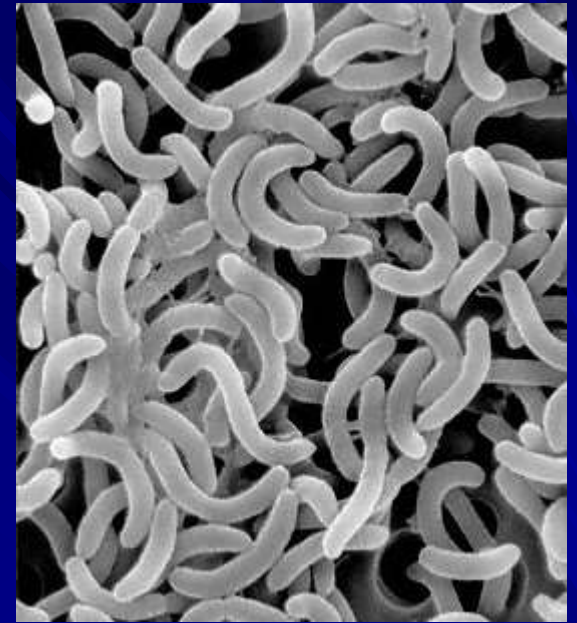


Spiroplasma melliferum



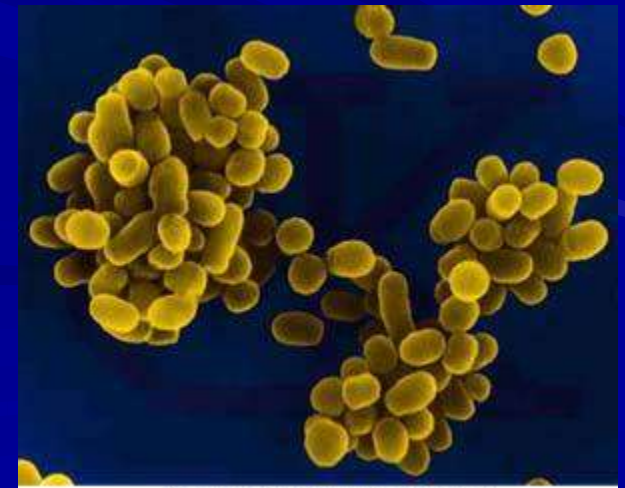
- **Forme incurvée (en virgule) = *Vibrions***

Vibrio cholerae



- **forme ovale (intermédiaire entre coque et bacille) = Coccobacille**

Exemple : le genre *Brucella*



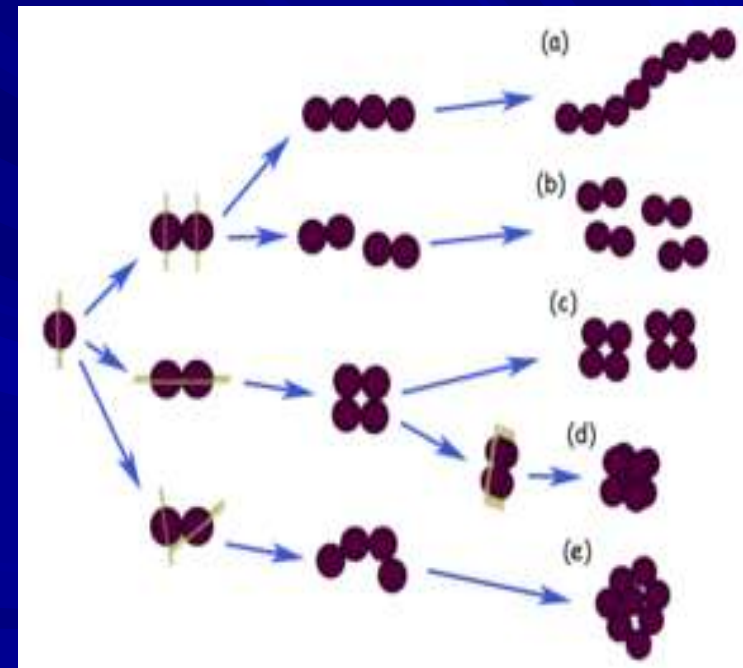
Copyright Dennis Kunkel

d- Groupement

- Certaines espèces bactériennes présentent des modes de groupement cellulaires caractéristiques de l'espèce.

* Pour les **cocci**, on trouve :

- **Streptocoques**, cocci en chaînettes ,**(a)** division selon un même plan;
- **diplocoques**, cocci regroupés deux à deux **(b)**
- **en Tétrades (c)** division selon deux plans régulièrement
- **Sarcines (d)** division selon trois plans régulièrement
- **Staphylocoques**, cocci en amas. **(e)**, division selon plusieurs plans, irrégulièrement



* Pour les **Bacilles**, on trouve :

- en chaîne : ex, ***Lactobacillus***



- en palissade : ex, ***Corynebacterium***



- en Y : ex, ***Bifidobacterium***

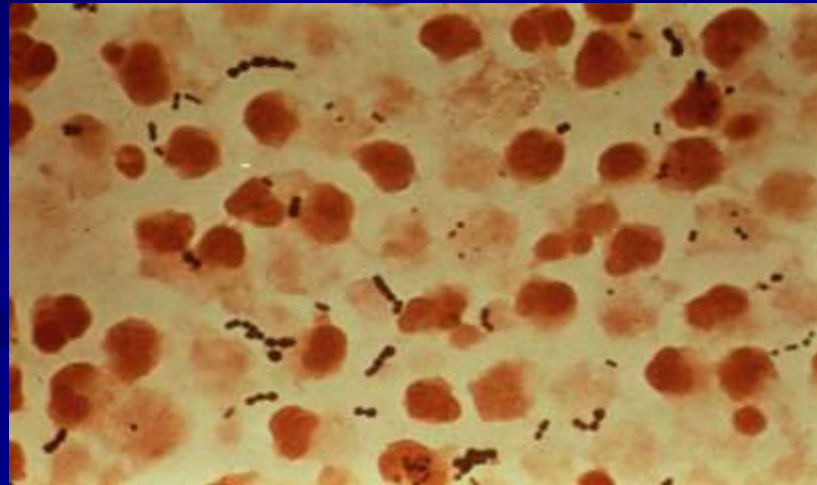


Remarque :

Ces groupements peuvent varier selon les circonstances



Sur un frottis de Streptocoques, on peut trouver des amas de deux, quatre, huit, des grappes et la forme en chaîne caractéristique

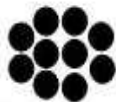


MORPHOLOGIE BACTERIENNE

Formes sphériques : coques

- ★ Forme ronde :  Ex. : *Staphylococcus*
- ★ Forme ovale (ovoïde) :  Ex. : *Streptococcus*

★ Mode de groupement :

- isolé 
- par deux (diplocoques) 
- En flamme de bougie  ex. : *Streptococcus pneumoniae*
- En grain de café  ex. : *Neisseria*
- Par quatre : tétrade  ex. : *Micrococcus*
- En amas 
- En chaînette 

Formes allongées

★ Formes droites :

- court  Long 
- épais  fin 
- Bouts ronds  bouts carrés 
- Coccobaccille  Fusiforme 

★ Formes particulières

- Forme incurvée  ex : *Vibrio*
- Forme spiralée  ex : *Treponema*

★ Modes de groupement :

- isolés 
- diplobacille 
- En amas 
- En chaînette 
- En palissade 

e- Ultrastructure de la cellule bactérienne

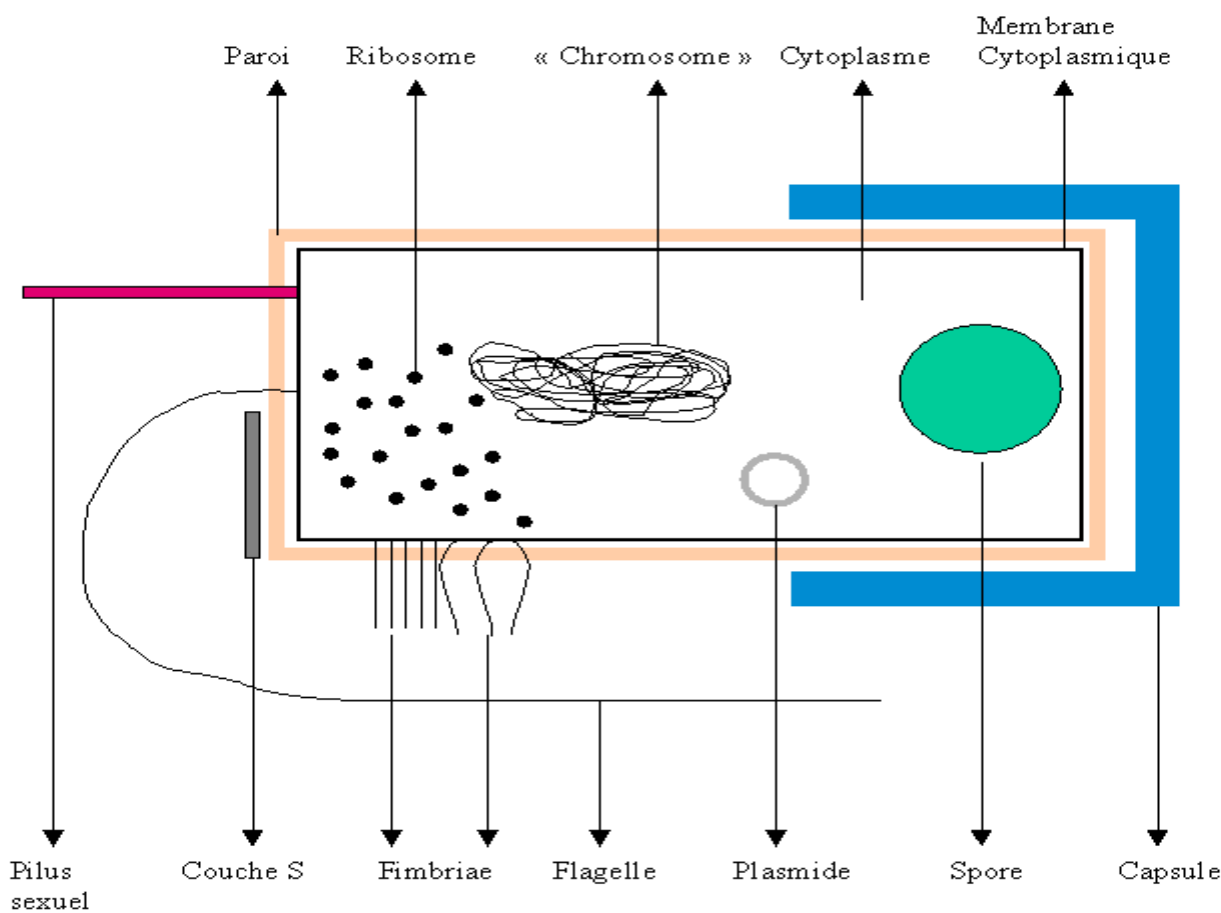
L'examen de la cellule bactérienne à l'aide des techniques microscopiques modernes révèle l'existence de deux types de Structures.

- Structures extérieurs à la paroi cellulaire** (flagelles, pili, capsule...)
- Structures à l'intérieur de la paroi** (membrane cytoplasmique, mésosome, cytoplasme et structures intracytoplasmiques...)

Les bactéries sont formées par des éléments

- obligatoires (présents chez toutes les bactéries)
- facultatifs (présents uniquement chez quelques espèces)

Eléments
obligatoires



Eléments
facultatifs

@ Éléments obligatoires

* La Paroi bactérienne :

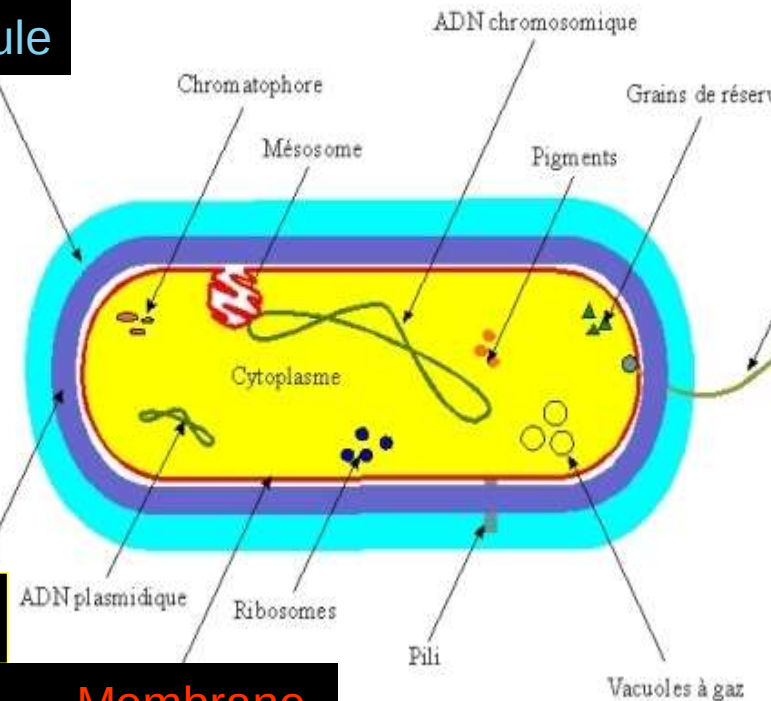
- * La paroi se trouve au dessus de la membrane cytoplasmique et au dessous de Capsule.
- * enveloppe rigide caractéristique de la cellule procaryote « exosquelette »
- * A part les mycoplasmes, toutes les bactéries possèdent une paroi cellulaire
- * Son épaisseur varie entre 10 et 35 nm chez la plupart des bactéries

cellule bactérienne

Capsule

Paroi

Membrane
cytoplasmique



a) Rôles de la paroi bactérienne

* Résistance

- Confère à la bactérie **sa forme** (si on enlève la paroi, on obtient des cellules sphériques = protoplastes).
- Confère à la cellule **sa rigidité** et **sa résistance** aux pressions (pression osmotique interne des bactéries 5 à 20 atm)
- Assure la protection de la membrane cytoplasmique (membrane interne)
- Elle est constituée d'un composé spécifiquement bactérien, **le Peptidoglycane.**

*** Echanges**

- Contrôle la diffusion des molécules en fonction de leur taille, degré d'hydrophobicité... : rôle de membrane semi-perméable
- Assure le captage des nutriments importants : récepteurs et transporteurs membranaires spécifiques
- Effectue le rejet des composés nocifs dans le milieu extérieur : pompes d'efflux

*** Adaptation**

- Se modifie pour permettre la croissance et la division cellulaire

*** Classification**

- Elle est colorable par la méthode de Gram (1884).

Coloration de Gram

- * C'est la coloration de base en bactériologie .
- * Cette coloration permet de différencier les bactéries selon deux critères :
 - leur forme ,
 - leur affinité pour les colorants .

**Pour réaliser cette coloration, on doit d'abord préparer
ce qu'on appelle un frottis fixé**

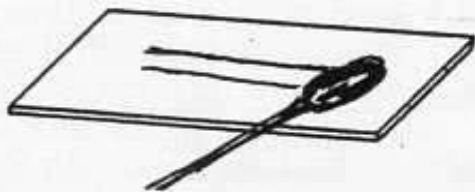


Figure n° 1. Étalement à l'écouvillon.

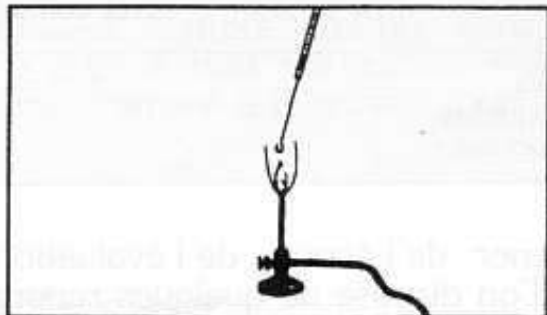
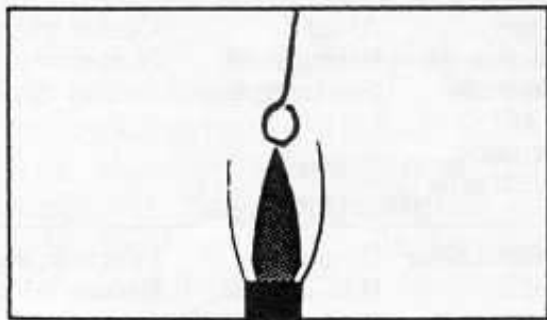


Figure n° 2. Chauffage de l'anse de platine : le fil de l'anse de platine doit être chauffé au rouge sur la flamme, puis refroidi.

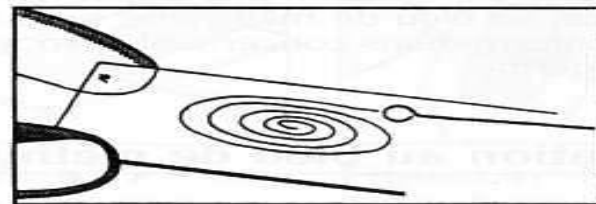


Figure n° 3. Étalement à l'anse de platine.



Figure n° 4. Étalement à la pipette Pasteur.

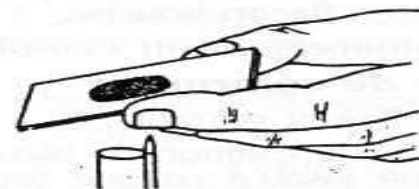


Figure n° 5. Séchage des frottis.

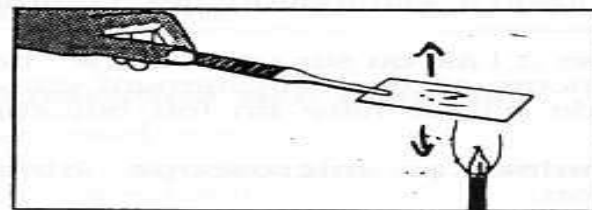
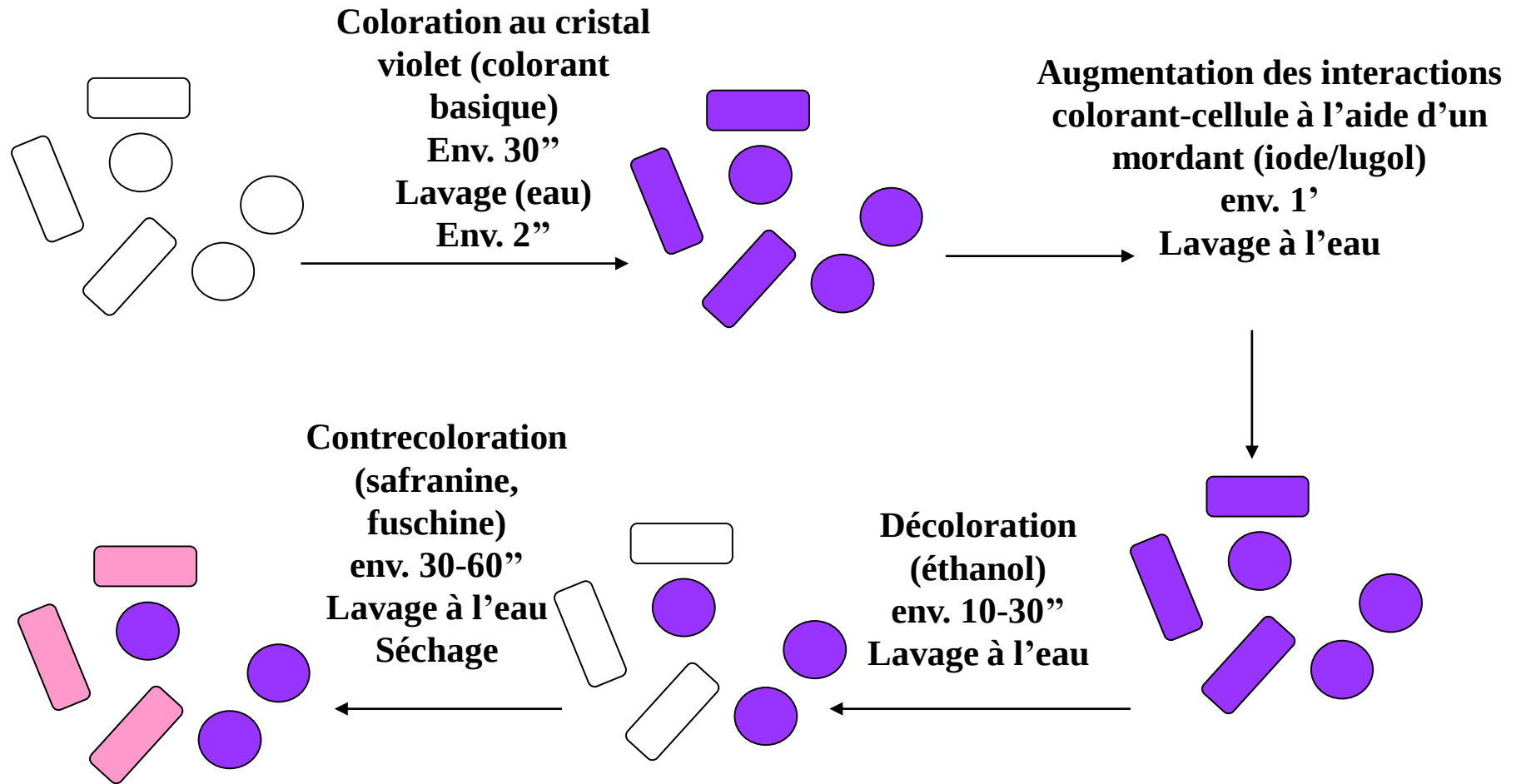


Figure n° 6. Fixation par la chaleur.

Étapes de préparation d'un frottis fixé

Technique et principe de Coloration de Gram

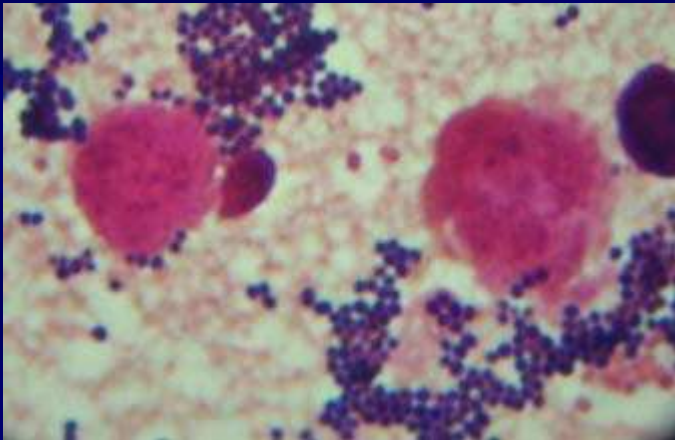
Développée par le médecin danois Christian Gram en 1884



Coloration de Gram

Cette coloration permet de diviser les bactéries en deux grands groupes

bactérie à Gram positif



Staphylococcus aureus

bactérie à Gram négatif

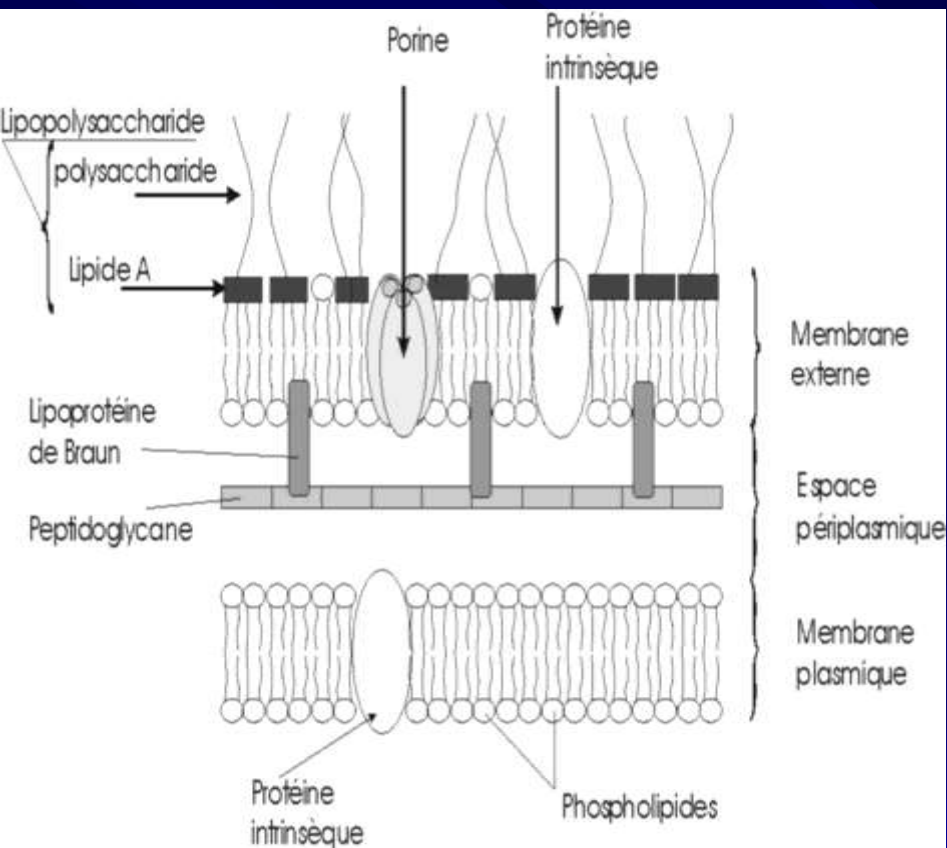


Escherichia coli

La distinction entre bactéries à gram positif et bactéries à gram négatif repose
Sur une différence de composition chimique pariétale.

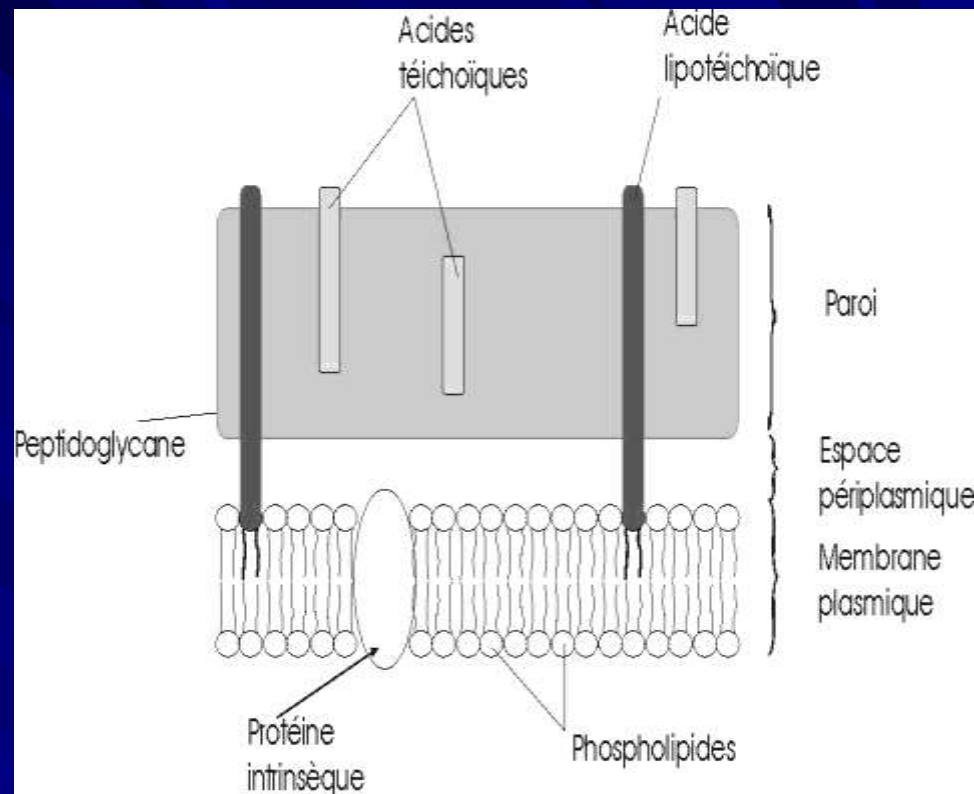
b) Composition chimique de la paroi bactérienne

	Bactéries Gram +	Bactéries Gram -
Osamines	+++	+
Acides aminés	24 à 35 %	50 %
Acides teichoïques	+++	-
Oses	20-60 %	20-60 %
Lipides	1-2,5 %	10-22 %



Paroi d'une bactérie Gram négatif.

R.Moreda Lycée Lacroix Nabonne



Paroi d'une bactérie Gram positif.

R.Moreda Lycée Lacroix Nabonne

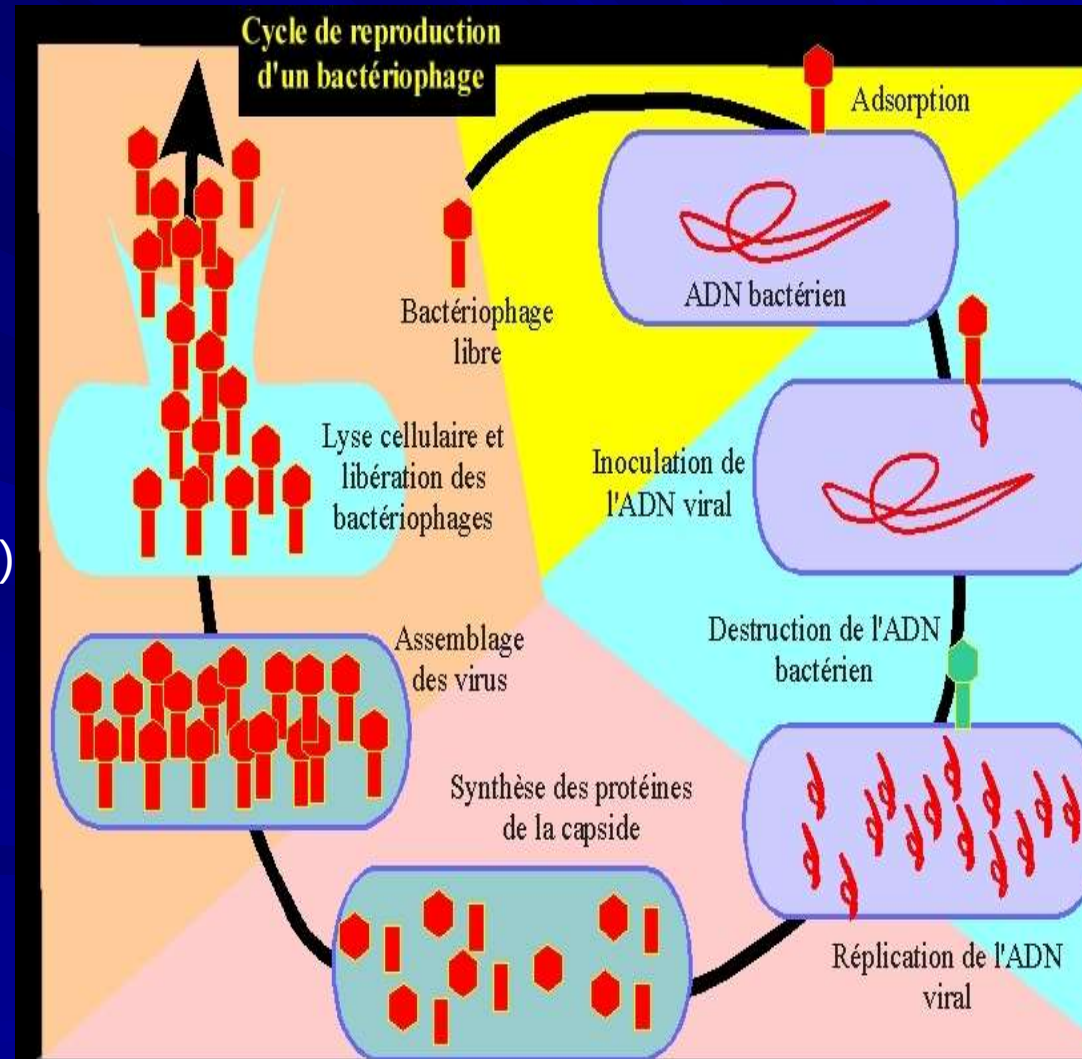
**Les deux parois sont différentes mais comportent un polymère commun,
partie la plus interne :**

PEPTIDOGLYCANE = MUREINE = MUCOPEPTIDE = MUCOCOMPLEXE

Autres rôles de la paroi

- Fixation des bactériophages

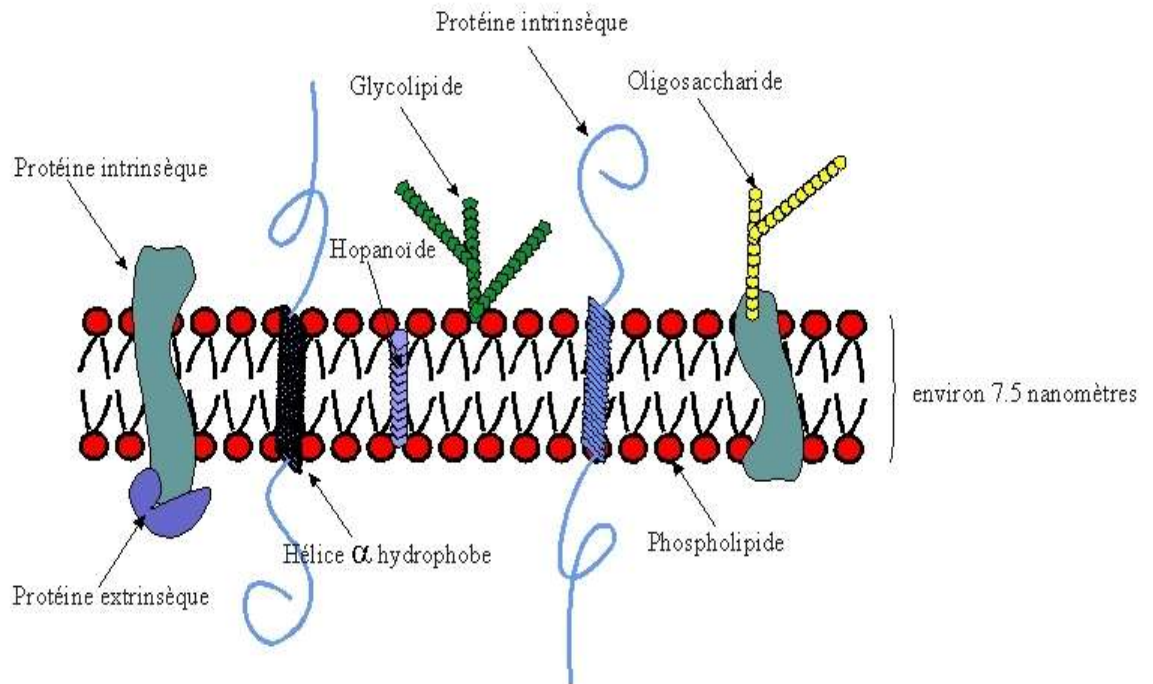
- Certains constituants de la paroi sont des sites privilégiés de fixation des bactériophages (ex : acides teichoïques des bactéries Gram positif)



* La membrane cytoplasmique

- Membrane ayant un aspect trilamellaire
- Située sous la paroi, interface entre cytoplasme et structures externes

Structure de la membrane cytoplasmique



• Composition

- Lipides (30 à 40 %)
- protéines (60 à 70 %)
- Glucides (constituants mineurs, glucose, glucosamine)

**Absence de cholestérol =
différence avec la cellule
eucaryote**

• **Fonctions de la membrane cytoplasmique**

- **Respiration (fabrication d'énergie)**
- **Transfert de substances :**
 - **diffusion simple**
 - **transport actif (perméases)**
- **Synthèse des lipides membranaires et lipopolysaccharides**
- **Synthèse du peptidoglycane**
- **Assemblage et excrétion des protéines extracytoplasmiques**
- **Perception des caractéristiques physiques de l'environnement (température, pH, aw...)**

*** Cytoplasme et structures intracytoplasmiques**

*** Hydrogel colloïdal comprenant :**

- une phase dispersante (sels minéraux et composés solubles de nature lipoprotéique)
- une phase dispersée formée de nucléoprotéines et de lipides .

*** Son pH est compris entre 7 et 7.2.**

*** Le cytoplasme contient**

- des ARN et ribosomes,
- des substances de réserves
- Chromatophores
- Vacuoles à gaz
- Chromosome,
- quelques organites spécialisés.

@ Ribosomes

- Nombreux : ~ 15 000 / bactérie

- **Constitution :**

comportent 2 sous unités (50S et 30S)

constituées de protéines + ARN (23S et 16S)

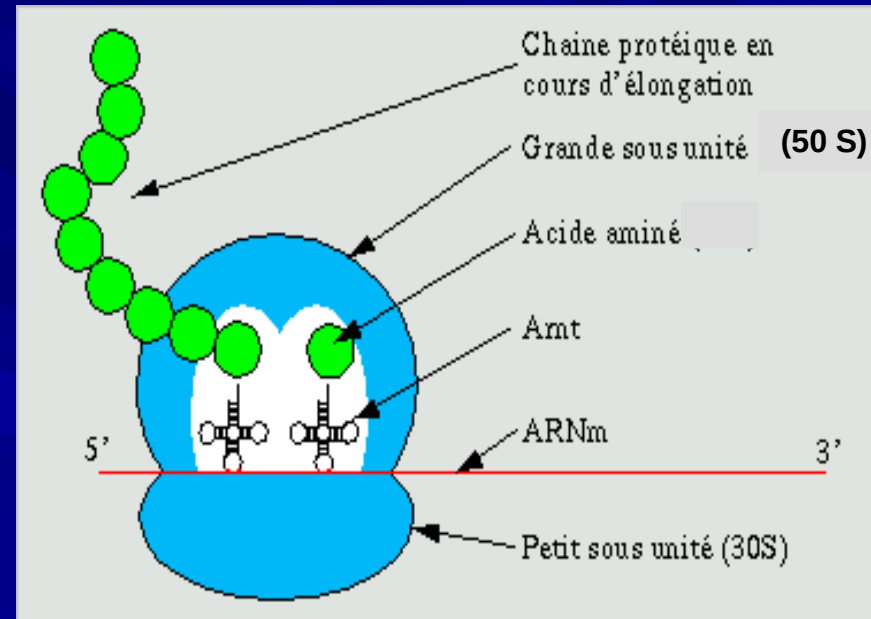
- **siège de la synthèse protéique :**

2 sites essentiels

- Site aminoacyl : accueille l'acyl-tARN

- Site peptidyl : accueille la chaîne d'acides

en cours de constitution



@ les substances de réserves

Les substances accumulées par les bactéries peuvent être organiques
Ou inorganiques :

- amidon
- Glycogène le plus souvent ,
- l'acide hydroxybutirique (*Pseudomonas, Vibrio, Micrococcus...*)
- des polyphosphates organiques (chez des bactéries pathogènes comme *Corynebacterium diphtheriae*)
- des inclusions de soufre, de fer (Gl *Beggiatoa* et Gl *Thiothrix*)

*** chromatophores :**

- existent chez les bactéries photosynthétiques,
- jouent le rôle des chloroplastes
- Contiennent des pigments appelés bactériochlorophylle

• Vacuoles à gaz :

- vésicules remplies de gaz présentes chez les bactéries photosynthétiques (bactéries pourpres et bactéries vertes)
- permettent aux bactéries de flotter à la surface de l'eau

@ Chromosome

- Pas de membrane nucléaire
- Filament unique d'ADN
 - Bicaténaire
 - circulaire
 - surenroulé
- 1000 fois plus long que la bactérie (masse ~ 2000MDa)
- Double brin disposé en boucles
- Protéines fixées dessus:
 - ADN et ARN polymérases
 - topoisomérases

ADN 80%, ARN 10%, protéines 10%

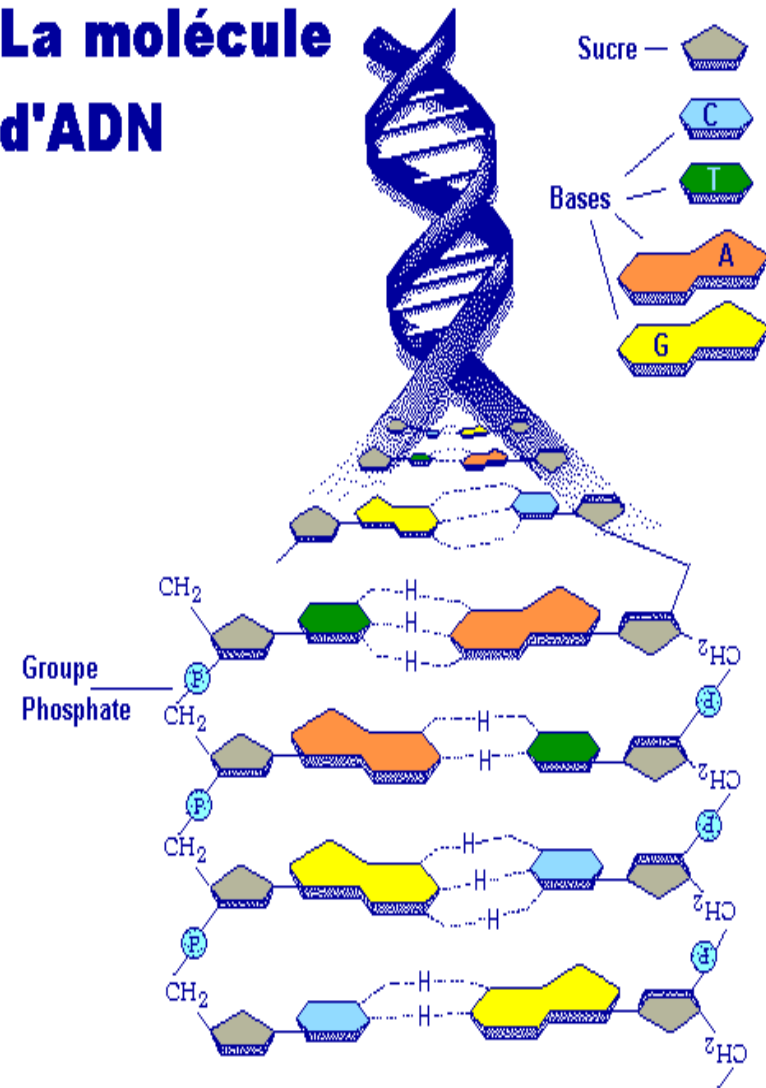
ADN bactérien

@ Composition chimique et structure

- Un brin d'ADN est une succession de nucléotides.
- Un nucléotide est formé d'une base azotée, d'un sucre (le désoxyribose) et d'un phosphate.
- Les bases azotées sont
 - * la guanine (G), l'adénine (A) = bases puriques
 - * la thymine (T), la cytosine (C) = bases pyrimidiques.

l'adénine se lie toujours avec la thymine et la guanine avec la cytosine par des liaisons faibles . ➡ **A = T** et **C = G**

La molécule d'ADN



- Coefficient de Chargaff

- C'est le rapport **A+T / G+C** (s'exprime aussi en GC%)
 - Varie selon les espèces bactériennes
 - le même dans toutes les souches d'une même espèce
 - 50 % ***E. coli*** , 30 à 40 % ***Proteus*** , 60 à 70 % ***Pseudomonas***
-
- **GC% = rôle taxonomique**

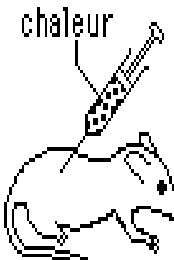
@ Rôle de l'ADN bactérien

1) support de l'information génétique

* *Pneumocoques S* (Smooth = lisse) , colonies lisses, Virulents, Capsulés

* *Pneumocoques R* (Rough = rugueux) , colonies rugueuses, non virulents, non capsulés

Expérience de Griffith(1928)

Bactéries S  1	Bactéries R  2	Bactéries S tuées par la chaleur  3	Bactéries R + bactéries S tuées  4
 Mort	 Survie	 Survie	 Mort
Bactéries S dans le sang de la souris	Pas de bactéries dans le sang	Pas de bactéries dans le sang	Bactéries S vivantes dans le sang

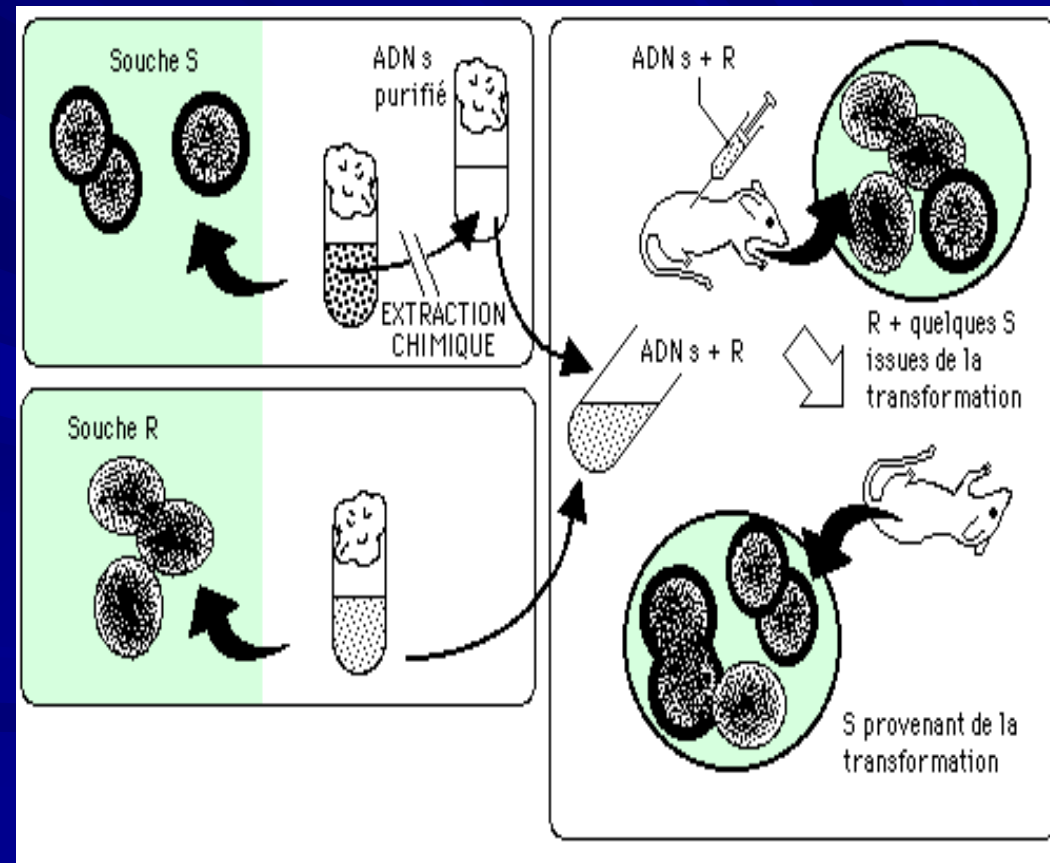
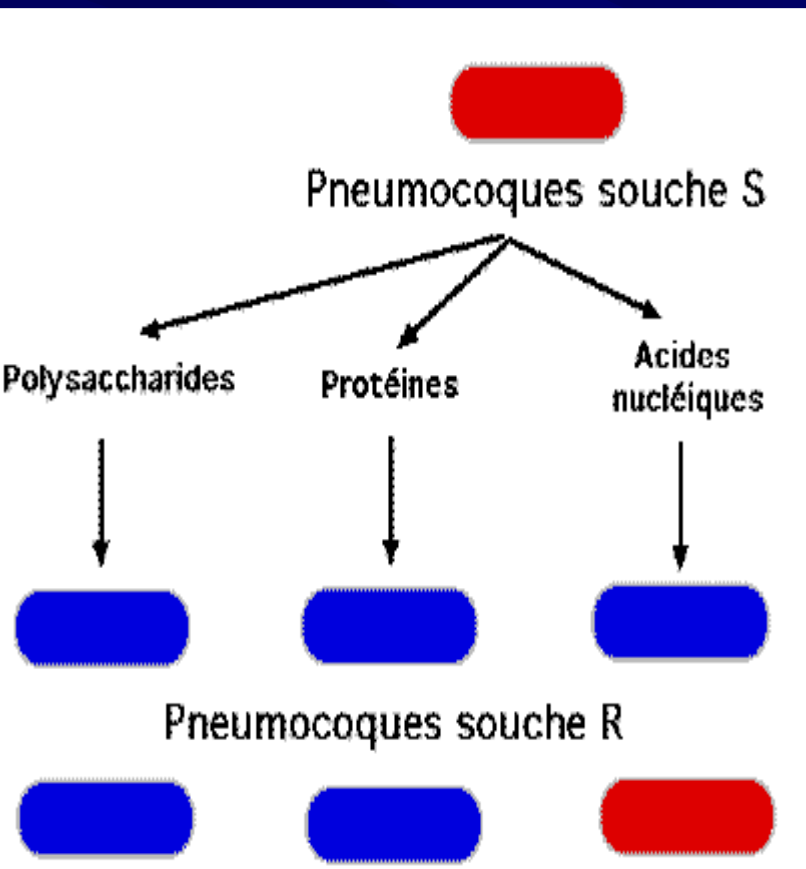
Lots 1 et 2 : la présence de la capsule détermine la virulence.

Lot 3 : la chaleur détruit la capsule et supprime la virulence, sans dénaturer le contenu de la bactérie.

Lot 4 : l'apparition de bactéries S ne peut s'expliquer que par une transformation des bactéries R par une substance issue du contenu des bactéries S tuées, qui ont libéré un "**principe transformant**."

En 1944, Avery, MacLeod et McCarty découvrent le principe transformant de Griffith

Expérience d'Avery, MacLeod et McCarty (1944)



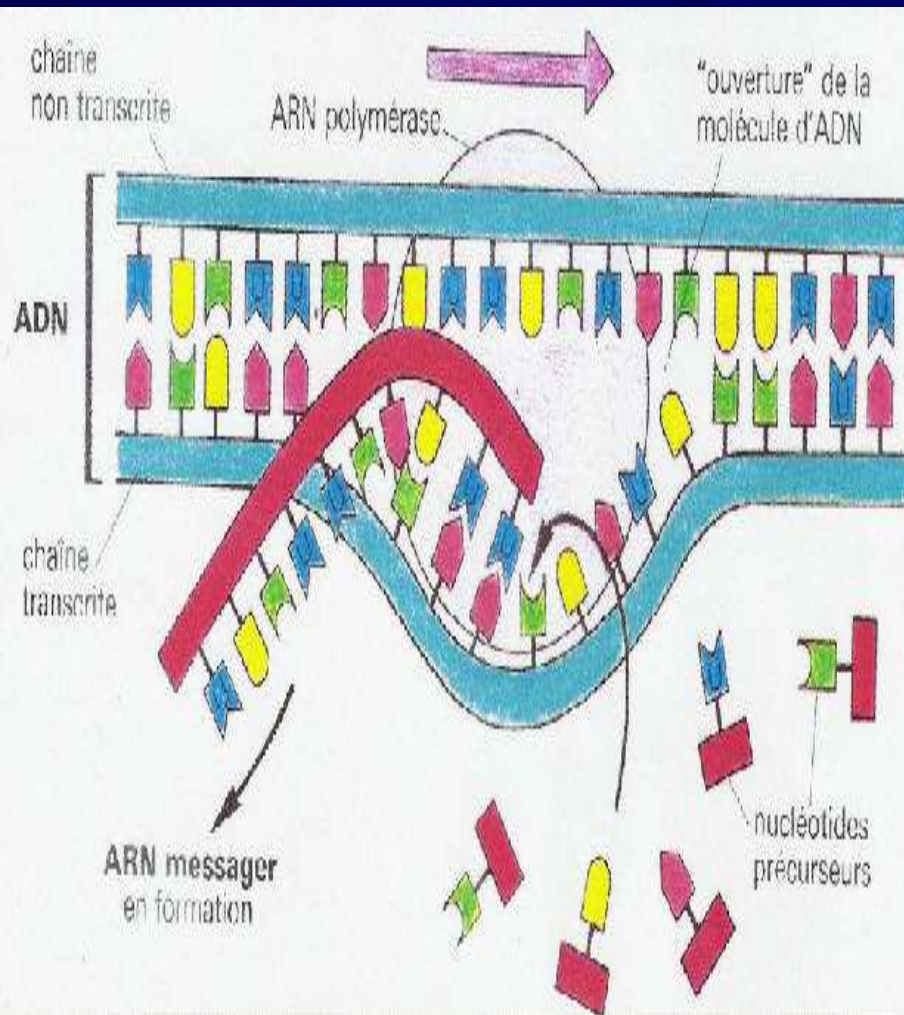
* Ces expériences démontrent que le pouvoir transformant est détenu par l'ADN des bactéries: c'est la substance du contenu des bactéries S qui n'a pas été détruite par la chaleur dans l'expérience de Griffith.

* Il programme la synthèse des polysaccharides de la capsule.

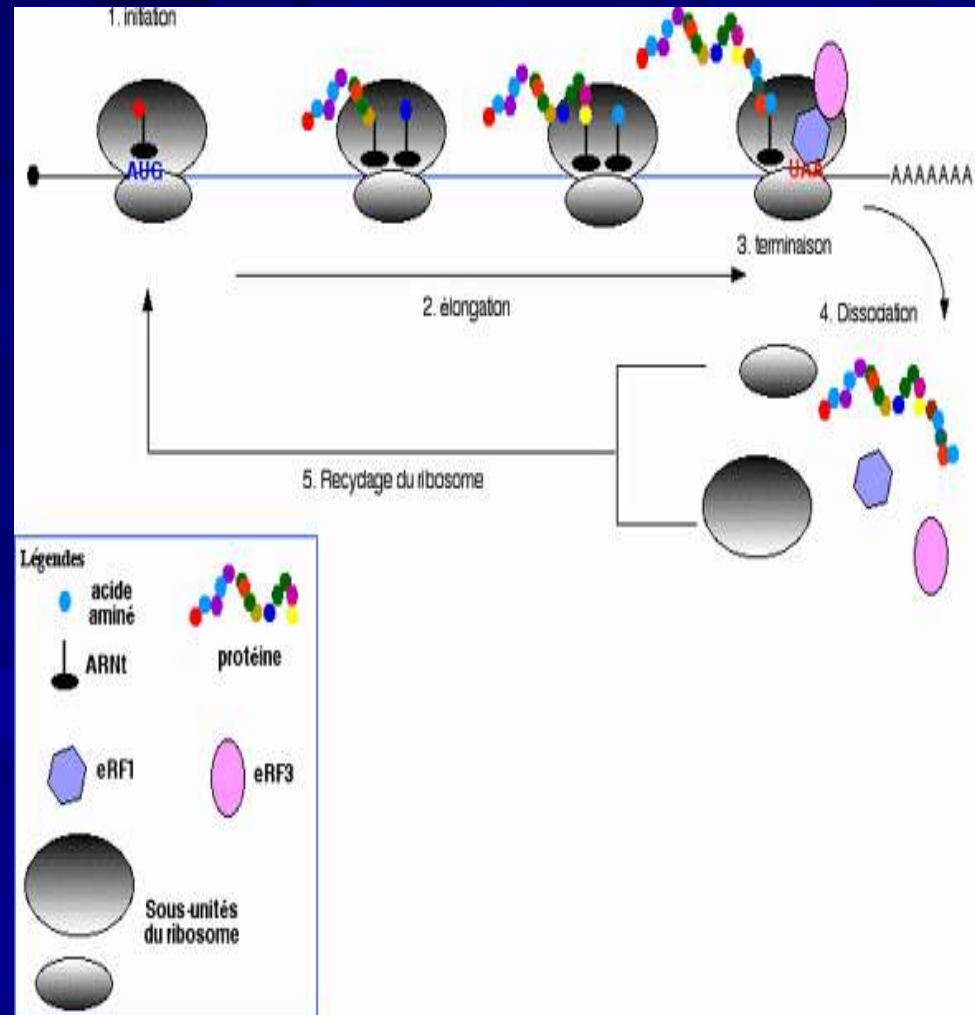
* Les descendantes des cellules R transformées en S sont de type S donc l'ADN contrôle la multiplication à l'identique.

* une bactérie peut acquérir de nouveaux caractères phénotypiques, de nouvelles fonctions métaboliques (sécrétion de polysaccharides, virulence) par l'intermédiaire d'ADN provenant d'une autre .

2) L'ADN intervient également dans le processus de synthèse des protéines .



Transcription



Traduction

Chez les bactéries les deux phénomènes se produisent au niveau du cytoplasme.

@ Éléments facultatifs

* Les plasmides

* en microbiologie un plasmide = molécule d'ADN circulaire en double brin, indépendante de l'ADN chromosomique, capable de réplication autonome.

* Le terme plasmide fut introduit par le biologiste moléculaire américain Joshua Lederberg en 1952.

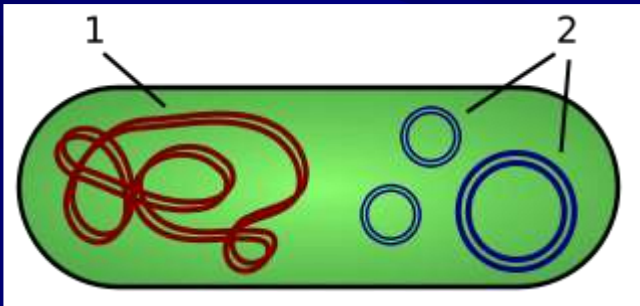
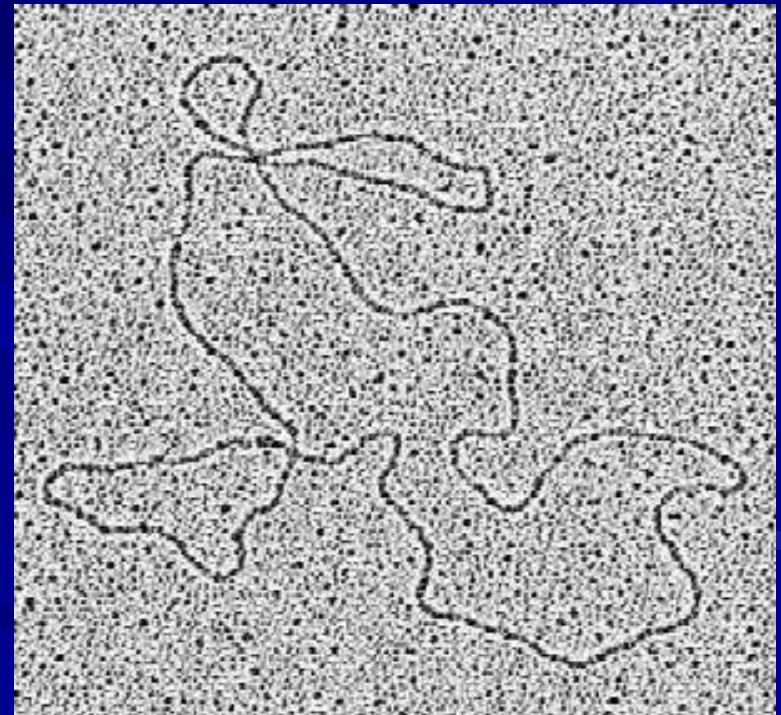


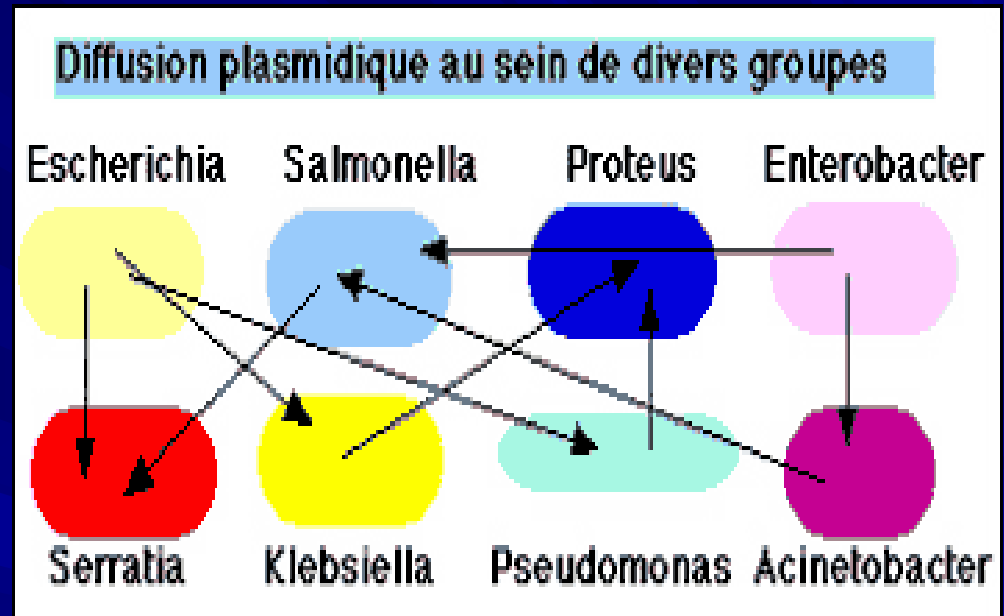
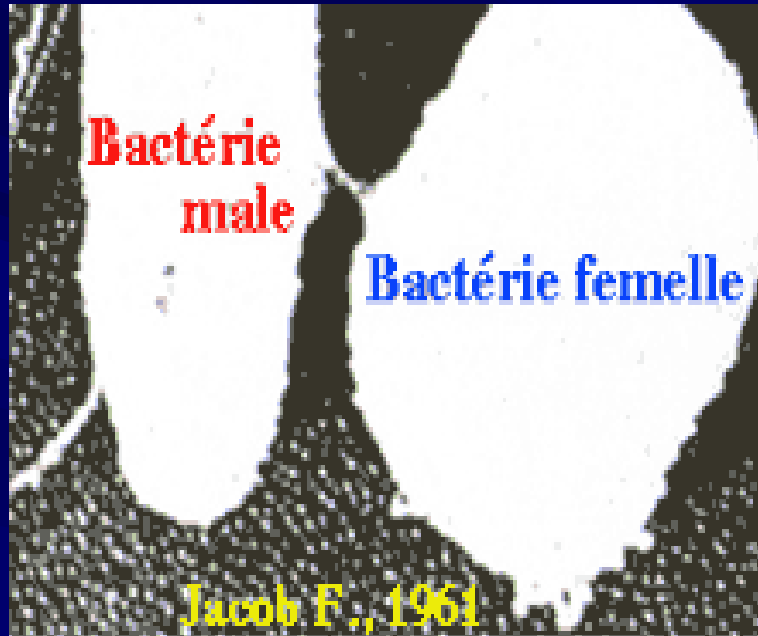
Schéma représentant une bactérie contenant des plasmides.

- 1) ADN chromosomique (bactérien)
- 2) Plasmides .



Plasmide vu au microscope électronique

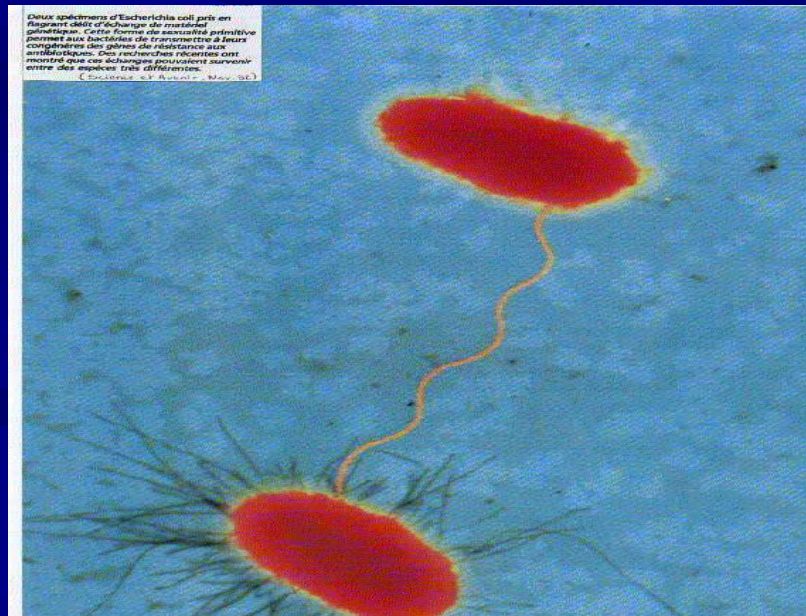
* Leur transmission d'une cellule à l'autre s'effectue habituellement par conjugaison (codent pour des pilis sexuels), ou encore **transduction** ou **transformation**, mais souvent sans spécificité d'hôte.



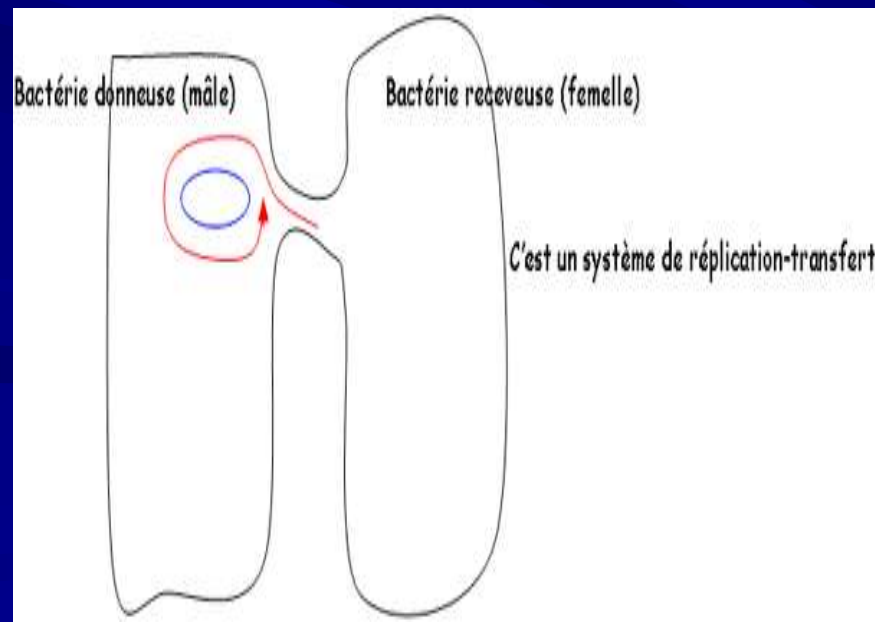
* Ils sont médiateurs de nombreuses propriétés permettant une meilleure adaptation des bactéries (**exemple : résistance aux antibiotiques, antiseptiques, métaux toxiques, irradiation**)

Transfert des plasmides

- * Le transfert de certains plasmides se fait par conjugaison (plasmides conjugatifs)
- * La conjugaison bactérienne = mécanisme sexuel primitif découvert par Lederberg et Tatum chez *E. coli* en 1946.
- * c'est un transfert unidirectionnel de matériel génétique d'une bactérie à une autre
- * Ce transfert a lieu après un contact physique entre les deux bactéries.



- La bactérie **donneuse** est dite **mâle** et la bactérie **réceptrice** est dite **femelle**
- Les bactéries peuvent contenir des plasmides conjugatifs (tels que **le plasmide F chez *E.coli***)
- La bactérie **donatrice** possède un morceau d'ADN particulier appelé **facteur F (fertilité)**, elle est **génétiquement F^+**
- La bactérie **réceptrice** ne contient pas de facteur F, elle est dite **F^-**

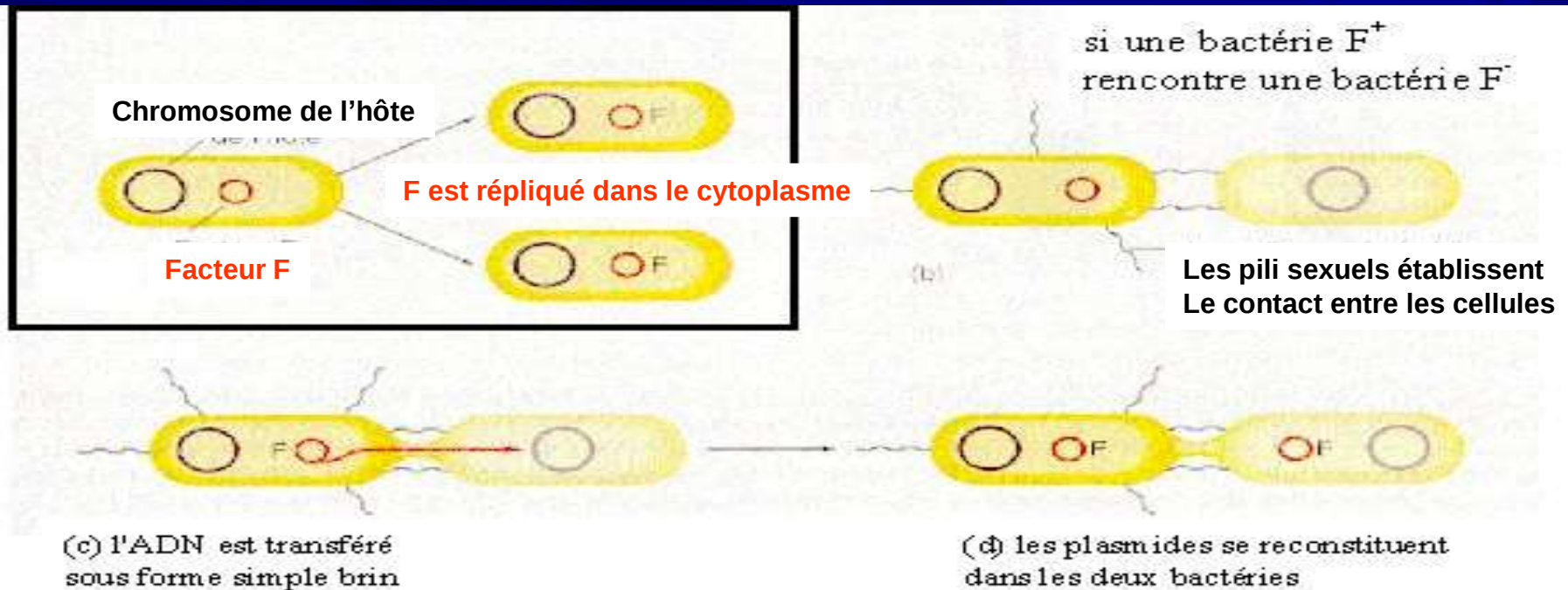


-L'épisome F : Le plasmide F est circulaire double brin, fait 94,5 kb (1 copie par cellule).

- il code pour de nombreux gènes impliqués dans la formation de contacts entre cellules et du transfert du plasmide pendant la "conjugaison".

- Les souches F⁺ ont de long "poils" sexuels qui permettent d'établir des ponts cytoplasmiques avec des souches F⁻. Après établissement du contact entre une cellule F⁺ et une cellule F⁻.

- le plasmide F est transféré unidirectionnellement de la souche F⁺ vers la souche F⁻ aboutissant à sa transformation en souche F⁺.



* Les spores bactériennes

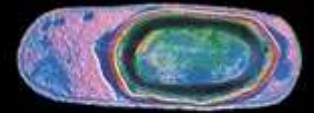
- * Une spore = petite unité sphérique douée d'une extraordinaire résistance.
- * les spores bactériennes sont des **endospores**,
- * Les spores se forment au sein de trois genres bactériens principaux :
 - * *Bacillus*,
 - * *Clostridium*
 - * *Sporosarcina* .
- * Conditions de formation des spores :
 - Milieu pauvre en éléments nutritifs
 - Conditions physico-chimiques défavorables

* Les spores se caractérisent par :

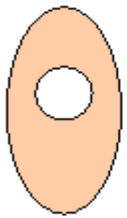
- **leur faible teneur en eau** (15 %) contre 80 % chez les cellules bactériennes végétatives.
- **leur thermorésistance** (les spores de *Plectridium caloritolerans* résistent plus de 8 heures à 100° C et 5 minutes à 120°C .
- **résistent aux attaques** des acides, des bases, des antiseptiques, des rayons UV ou X, des antibiotiques, etc .

@ Morphologie et structure des spores

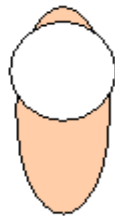
- Chez la bactérie vivante, la spore apparaît comme un espace clair, réfringent, ovoïde, limité par un contour régulier
- La spore peut déformer ou non le corps microbien
- Sa position joue un rôle taxonomique



Bacillus subtilis en phase de sporulation. La structure ovale, au centre, correspond à la spore, forme résistante de la bactérie.



Spore centrale ou subterminale non déformante.
Exemple : *Bacillus* sp.



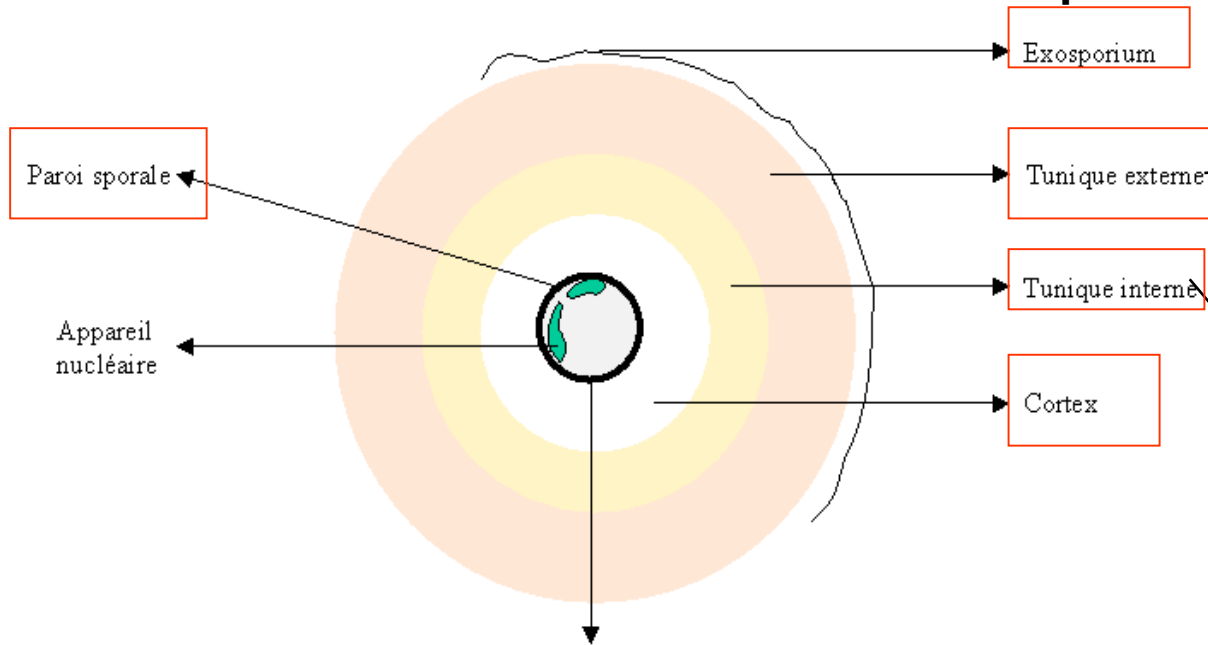
Spore sub-terminale déformante.
Exemple : *Clostridium* sp.



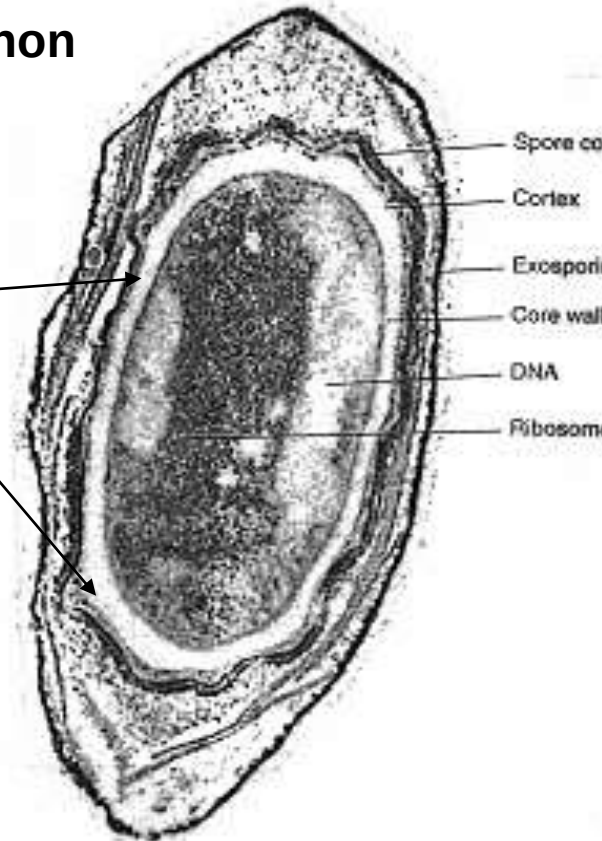
Spore terminale déformante.
Exemple : *Clostridium tetani*

- La spore bactérienne présente une **structure complexe**

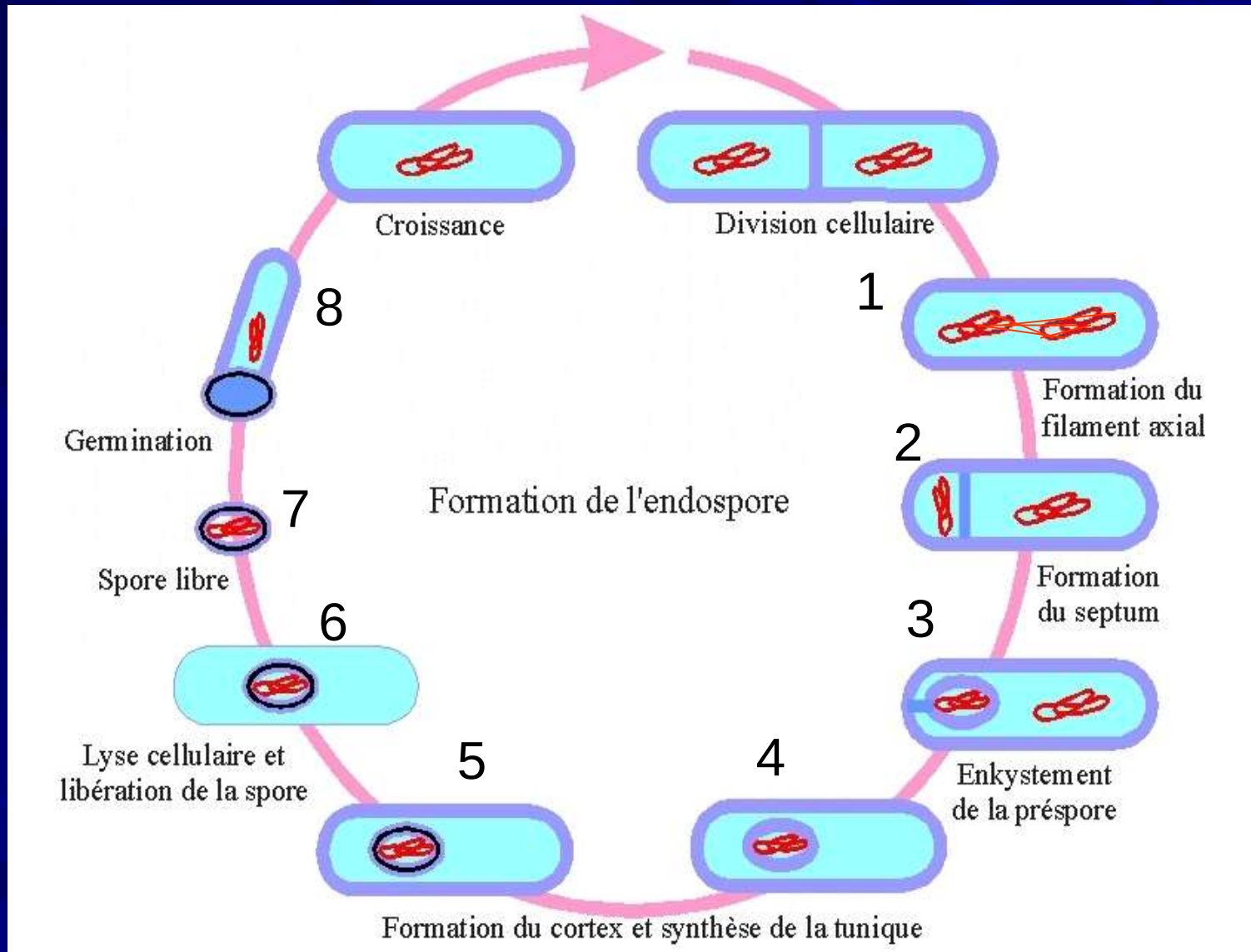
- **La paroi sporale** (peptidoglycane) donnera la paroi de la cellule végétative
- **Le cortex** : couche épaisse (peptidoglycane), sensible Au lysozyme
- **Tuniques (interne et externe)** : composées de protéine (kératine), imperméables, résistantes aux agents chimiques
- **Exosporium** : couche plus externe (lipoprotéique), non essentiel à la survie de la spore



Cytoplasme entouré de la membrane cytoplasmique + ribosomes



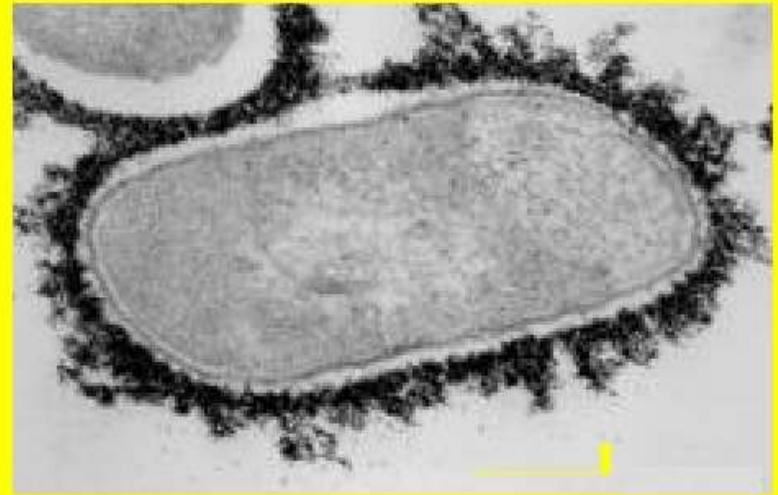
La sporulation



Principales étapes de la sporulation

*** La capsule**

- Elle est formée par des substances organiques visqueuses élaborées par la bactérie
- couche plus ou moins compacte qui entoure la paroi.
- Toutes les bactéries ne produisent pas de capsule.
- Au sein d'une espèce, certaines souches en produisent, d'autres non.
- L'élaboration de la capsule est influencée par certaines conditions du milieu. Les glucides jouent un rôle important dans la présence ou non de la capsule .



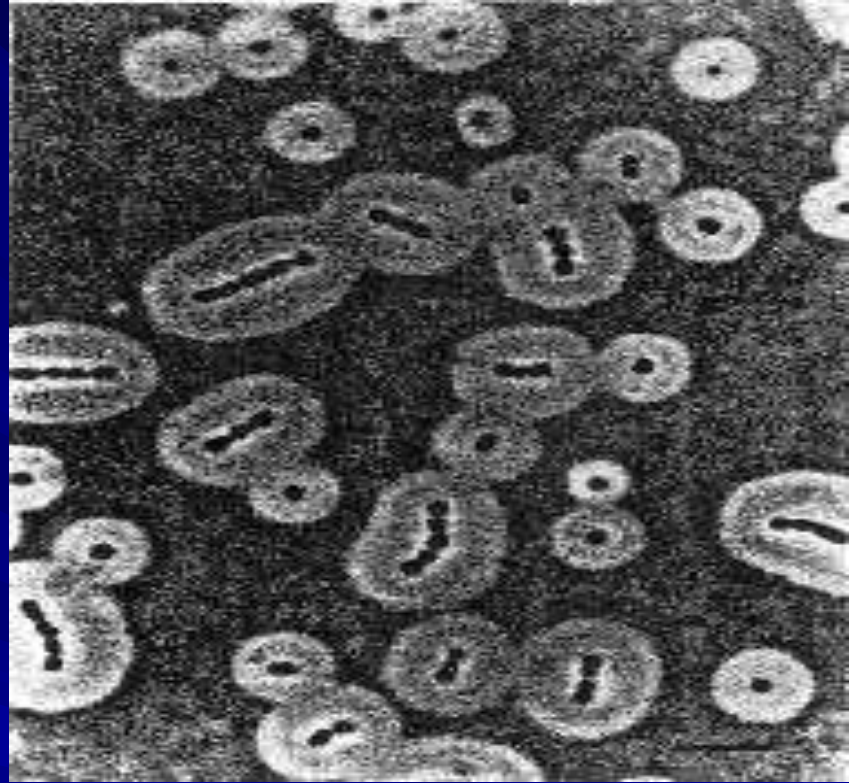
Une bactérie encapsulée



La même espèce mutante, sans capsule

Aspect des cellules d'*Acinetobacter* sp.

La coloration à l'encre de chine révèle la capsule très épaisse qui entoure ces bactéries, ici sous forme de cocci isolés ou en chaîne .



- Rôles de la capsule

- rôle important dans la **défense** des bactéries contre :
 - * la dessiccation,
 - * les prédateurs (protozoaires)
 - * les parasites (les bactériophages sont incapables de se fixer sur une bactérie capsulée).
- **Support de pouvoir infectueux** : empêche la phagocytose des bactéries dans l'organisme,
- **Support de propriétés physiopathologiques et immunologiques**. Ainsi, les pneumocoques capsulés se révèlent pathogènes, alors que les pneumocoques non capsulés ne le sont pas .



Pneumocoque ou

Streptococcus pneumoniae

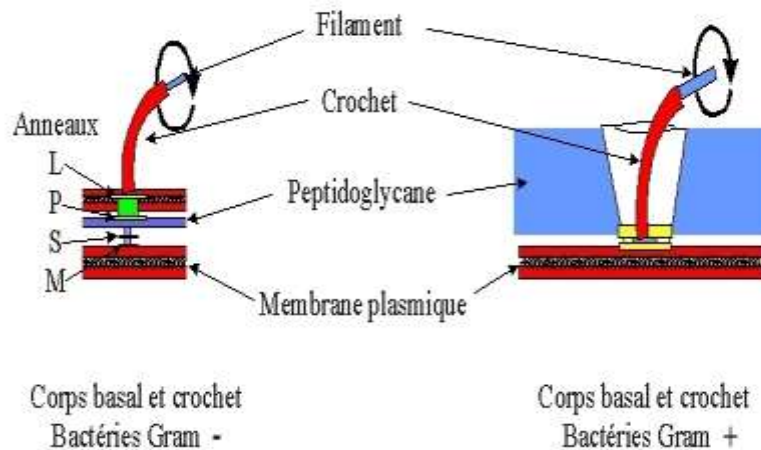
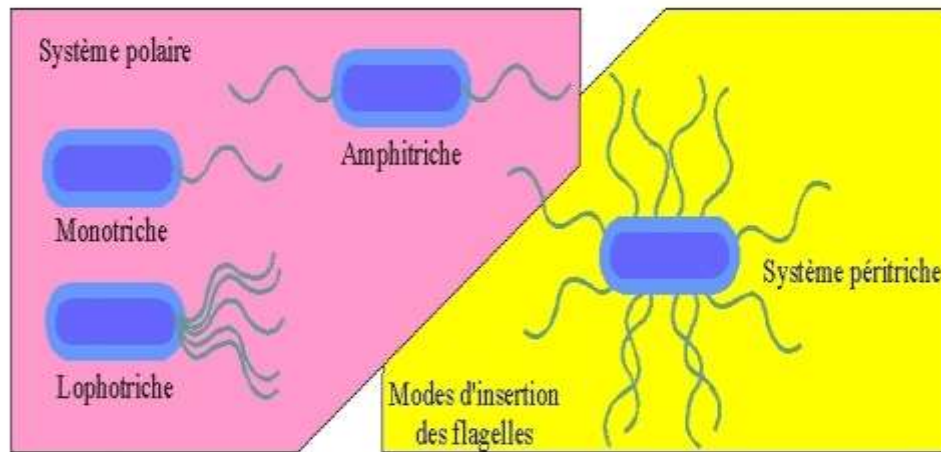
*** Cils et flagelles**

- Les bactéries mobiles se déplacent soit par
 - glissement (cyanobactéries),
 - rotation autour d'un axe central (spirochètes),
 - au moyen de cils ou de flagelles .

*** Les cils et les flagelles sont des filaments extrêmement ténus, invisibles au microscope optique sur les bactéries vivantes et plus longs que la bactérie elle-même.**

*** Le point d'insertion des cils et des flagelles se situe dans le cytoplasme, au contact de la membrane plasmique.**

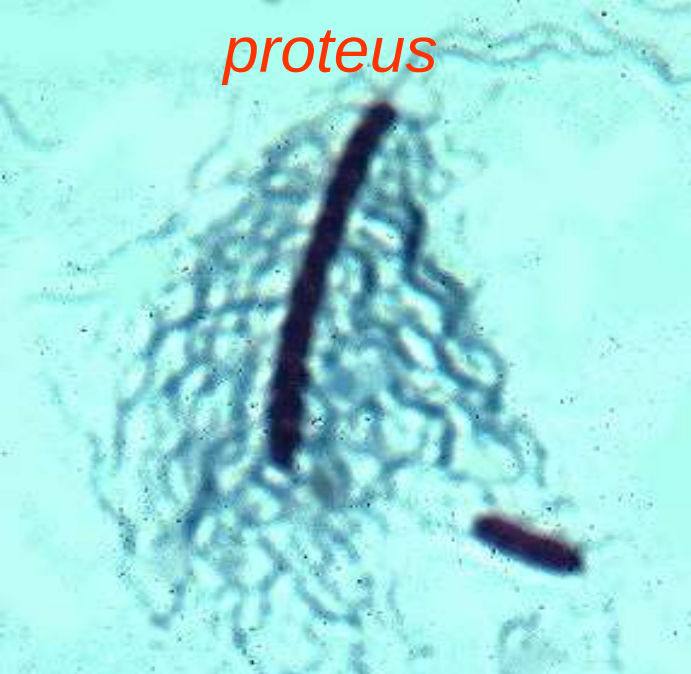
Chez les bactéries mobiles, il existe différents types flagellaires induisant des déplacements variables qu'on appellera ciliature :



- * un seul flagelle polaire = ciliature monotriche
- * plusieurs flagelles polaires = ciliature lophotriche
- * un flagelle à chaque pôle = ciliature amphitriche
- * des flagelles entourant la bactérie = ciliature péritriche

Le type de ciliature peut être utilisé dans un but taxonomique

proteus

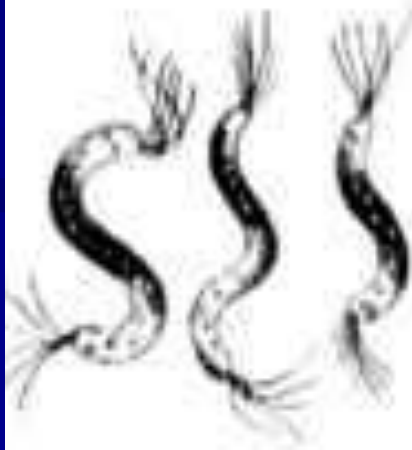


Electron micrograph of *Helicobacter pylori*

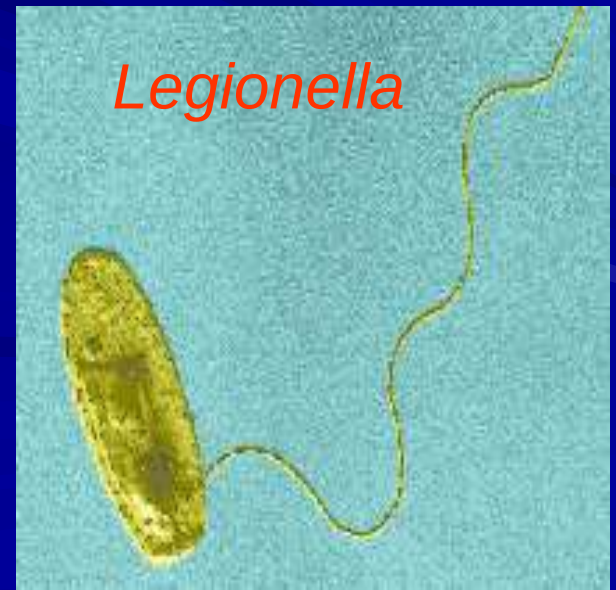


vibrio cholerae

Spirillum undula



Legionella



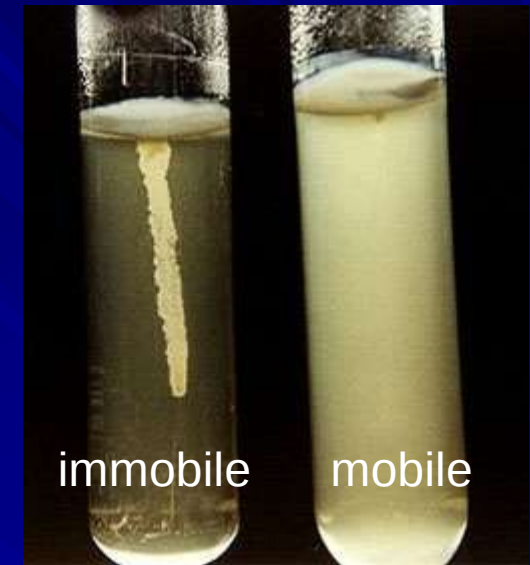
* Rôle des cils et flagelles

1- Mobilité

* Les cils et les flagelles confèrent une certaine mobilité aux bactéries qui peuvent se déplacer dans les milieux liquides ou à la surface des géloses.

* Certaines espèces peuvent même envahir les milieux de culture, masquant les autres colonies. C'est le cas des *Proteus* ou des *Pseudomonas*.

Milieu semi-solide



2- Chimiotactisme

* Certaines bactéries capables de se mouvoir, sont attirées par les nutriments (sucres, acides aminés) et repoussées par des substances toxiques ou nuisibles.

3- propriétés antigéniques

* Les flagelles confèrent à la bactérie de nouvelles propriétés antigéniques

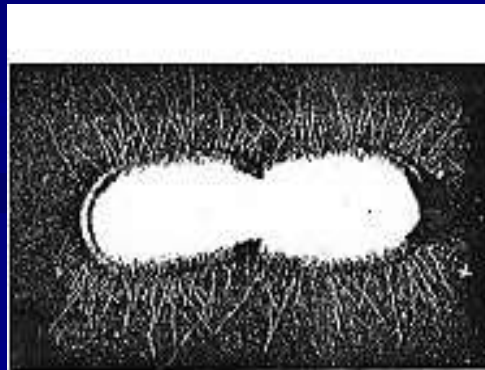
Pili ou fimbriae

Les pili (poils) sont des formations qu'on ne peut observer qu'au microscope électronique. Surtout présent chez les Gram-

- * **pili communs** ou fimbriae sont courts et cassants. Ils sont utiles pour **l'adhésion des bactéries aux interfaces et aux muqueuses** et sont donc des facteurs de virulence . Ils ont une structure protéique : la piline

- * **pili sexuels** ,plus longs, relient deux bactéries et sont **voies d'échanges de matériel génétique** entre les bactéries. Les bactéries capables de produire des pili sexuels sont dénommées bactéries "mâles" à l'opposé des autres qui sont dites "femelles."

Shigella



Salmonella



Flagelles plus longs
Que les pili

Chapitre III. NUTRITION BACTERIENNE.

NUTRITION BACTERIENNE.

Définition

Les bactéries se nourrissent :

- * de substances organiques simples (acides aminés, glucides, acides gras, vitamines, hydrocarbures, ect.) et**
- * de certaines substances inorganiques (phosphates, soufre, nitrates, ect.).**
- * Plusieurs types de bactéries sécrètent des enzymes digestives qui leurs permettent d'absorber certains constituants alimentaires plus ou moins complexes .**

Besoins nutritifs des bactéries

- Les bactéries se nourrissent à partir des aliments présents dans les milieux de culture et dans des conditions physico-chimiques bien précises
- les besoins nutritifs des bactéries sont de deux types :

* Besoins élémentaires

- eau,
- une source d'énergie,
- une source de carbone,
- une source d'azote et
- éléments minéraux .

**Besoins communs à toutes
les bactéries**

* Besoins spécifiques

- facteurs de croissance

**Besoins essentiels pour certains
types de bactéries**

A. Besoins élémentaires

Selon la nature des besoins nutritifs, on définit différentes catégories de bactéries : ce sont **les types trophiques**

1) Source d'énergie

- lumière

Phototrophes

photolithotrophes

photoorganotrophes

donneur d'électrons
= Composé Minéral

donneur d'électrons
= composé organique

Ex : bactéries
sulfureuses,
Pourpres et vertes

Ex : bactéries pourpres
Non sulfureuses

- Oxydation d'un
Composé chimique

Chimiotrophes

chimolithotrophes

chimioorganotrophes

donneur d'électrons
= Composé Minéral

donneur d'électrons
= composé organique

Ex : bactéries
nitrifiantes

Ex : bactéries sulfo-
oxydantes

2) Source de carbone

Le carbone est l'élément constitutif le plus abondant chez les bactéries .

Selon la source de carbone on distingue :

Autotrophes

Se développent en milieu inorganique
CO₂ = seule source de carbone

hétérotrophes

Exigent des composés organiques
Pour se reproduire

Diversité de types trophiques

Source d'énergie



lumineuse

chimique



phototrophe



chimiotrophe

Source d'électrons



inorganique

organique



lithotrophe



organotrophe

Source de carbone



inorganique

organique



autotrophe



hétérotrophe

Types majoritaires : photolithoautotrophe, photoorganohétérotrophe, chimiolithoautotrophe, chimioorganohétérotrophe

Types minoritaires (mixotrophes) : photolithohétérotrophe, photoorganoaototrophe, chimiolithohétérotrophe, chimioorganoaototrophe

2) Source d'azote

- La synthèse des protéines nécessite des substances azotées .
- La source d'azote peut être :

* L'azote moléculaire :

- bactéries vivant en symbiose avec des légumineuses (*Rhizobium*)
- bactéries jouant un rôle dans la fertilisation des sols. (*Azotobacter*)



nodules de *Rhizobium*
sur des racines



Azotobacter

* **composés inorganiques** (ammoniac, sels d'ammonium, nitrites, nitrates)

* **sources organiques** (groupements amines des composés organiques)

Chez la majorité des bactéries

3) Éléments minéraux

- Le soufre et le phosphore sont particulièrement importants .

- * **Le soufre** est présent dans certains acides aminés (groupement thiol) et il est incorporé sous forme de sulfate ou de composés soufrés organiques.

- * **Le phosphore** fait partie des acides nucléiques, de nombreuses coenzymes et de l'ATP. il est incorporé sous forme de phosphate inorganique .

- **Le sodium, le potassium, le magnésium et le chlore** jouent un rôle dans l'équilibre physico-chimique de la cellule

- **le fer, le manganèse, le molybdène, le calcium, le vanadium ou le cobalt** sont des oligoéléments nécessaires à des concentrations très faibles .

Carbone	• Constituant de toute molécule organique • Synthèse des glucides pour les autotrophes • Métabolisme énergétique (respiration ou fermentation) pour les hétérotrophes
Hydrogène	• Constituant de toute molécule organique • Agent de diverses réactions de réduction
Oxygène	• Produit terminal des réactions photosynthétiques pour les autotrophes • Accepteur d'électrons des réactions du métabolisme énergétique chez les hétérotrophes aérobies
Phosphore	• Synthèse des acides nucléiques • Cenzyme des transporteurs d'hydrogène • Composés énergétiques de transfert (ATP (
Azote	• Synthèse des acides nucléiques • Synthèse des protéines • Oxydé sous forme de nitrates au cours de la nitrification avant d'être assimilable
Soufre	• Source d'énergie SH_2 pour quelques chimiotrophes • Accepteur d'électrons dans les chaînes respiratoires anaérobies • Biosynthèse des acides aminés soufrés
Magnésium	• Métabolisme de l'ATP • Élément capital de la molécule de chlorophylle
Fer	• Transporteur d'électrons dans les cytochromes de la chaîne respiratoire aérobie
Calcium	• Associé à l'acide dipicolinique, constituant majeur de l'enveloppe des endospores

Rôles de certains éléments chimiques chez la cellule bactérienne

B. Besoins spécifiques = facteurs de croissance

- les bactéries capables de croître en présence d'eau, d'une source d'énergie, d'une source de carbone, d'une source d'azote et d'éléments minéraux sont qualifiées de **prototrophes**.
- Les bactéries nécessitant, en plus, un ou plusieurs facteurs de croissance qu'elles sont incapables de synthétiser sont dites **auxotrophes**

Définition

Un facteur de croissance est un élément indispensable à la croissance de la bactérie (auxotrophe pour ce facteur). Il doit être présent dans l'environnement car la bactérie est incapable de le synthétiser .

Nature des facteurs de croissance

Les facteurs de croissance

Besoins quantitatifs

• des bases puriques ou pyrimidiques,	10 µg/ml
• des acides gras,	10 µg/ml
• des acides aminés,	10 µg/ml
• des vitamines (coenzymes, précurseurs de coenzymes, groupements prosthétiques de diverses enzymes)	1 µg/ml

* Si une bactérie a besoin d'un facteur de croissance, ce dernier doit être introduit dans le milieu de culture

* Quelques fois les besoins en facteur de croissance d'une espèce bactérienne peuvent être satisfaits par la présence dans le milieu d'une autre espèce capable de synthétiser ce facteur : **c'est le phénomène de Syntrophie**

Exemple : la culture sur la même boîte de :

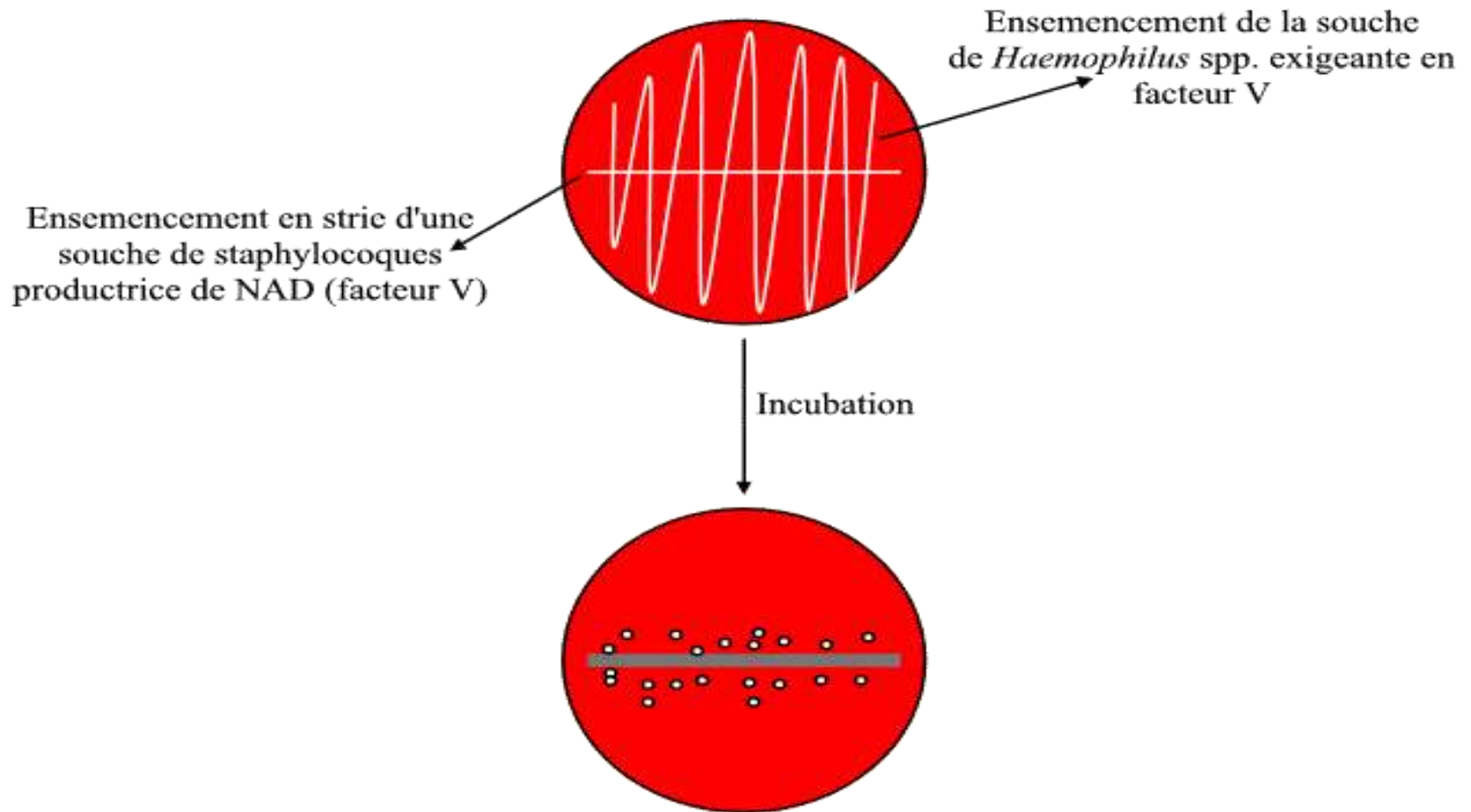
* ***Haemophilus spp*** = bactérie auxotrophe au facteur V (NAD)

* ***Staphylococque*** = bactérie productrice de NAD

Donne une culture en satellite de ***Haemophilus spp***

Un exemple de syntrophie

Croissance d'une souche de *Haemophilus* spp. exigeante en facteur V



Après incubation, la culture de la souche de *Haemophilus* spp. n'est observée qu'à proximité de la culture de la souche de staphylocoques

C. facteurs physiques

- On appelle facteurs physiques les facteurs qui relèvent de l'environnement

- * ces facteurs peuvent favoriser, empêcher ou inhiber la nutrition et la croissance bactérienne

- Eau
- température
- pH
- oxygène
- pression osmotique

a) Eau :

- * représente 80 % des constituants cellulaires,
- * indispensable au développement
- * solvant des nutriments et agent des réactions d'hydrolyse

b) Température

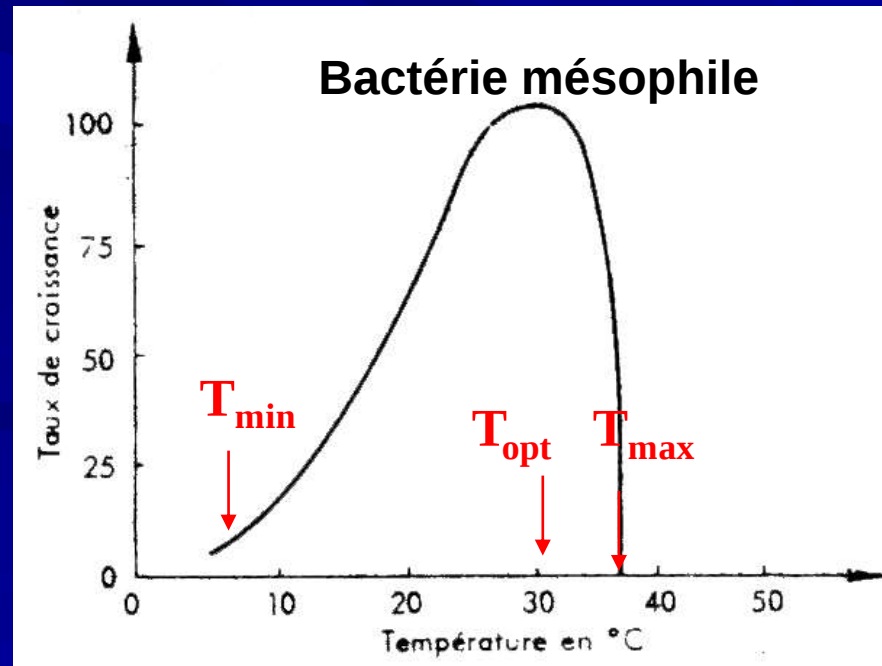
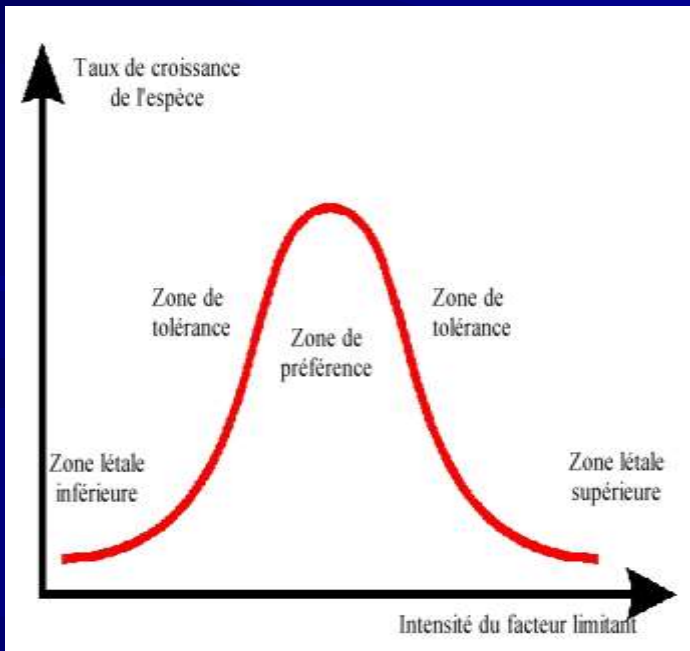
- Elle influence aussi bien la multiplication que le métabolisme bactérien

- * Les différentes espèces ont une température

- * **minimale** : à laquelle ils peuvent se développer

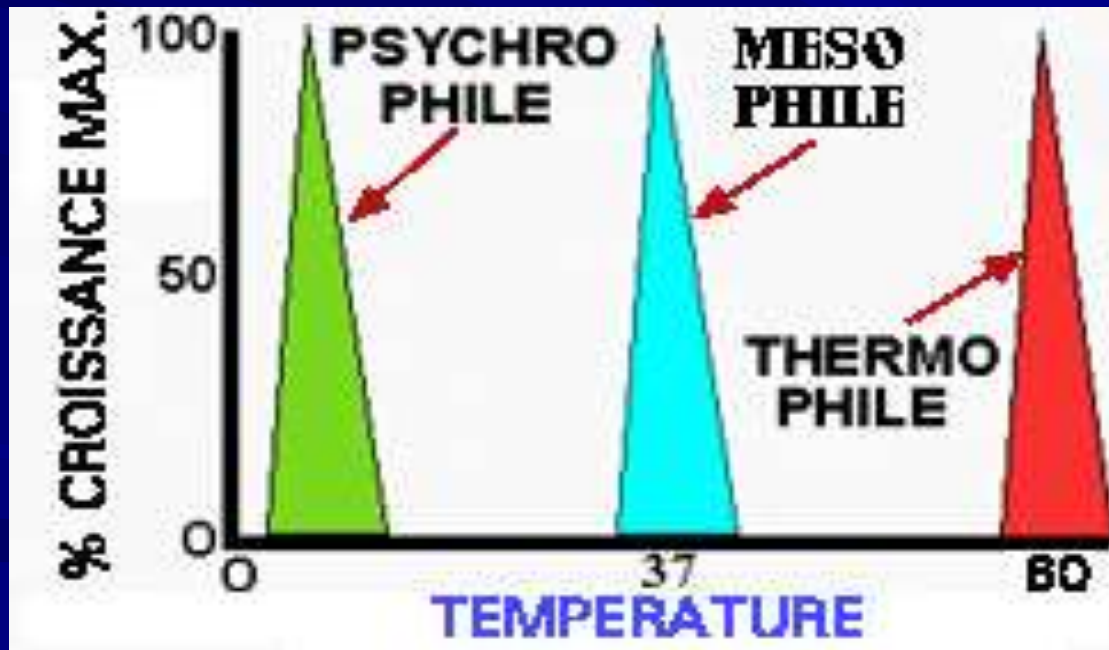
- * **optimale** : c'est la meilleure à laquelle ils peuvent se développer

- * **maximale** : au-delà de laquelle ils ne peuvent développer



Selon leur température optimale, les microorganismes sont dits

- * **psychrophiles** : entre 0 et 15° , (optimum = 10°C) (*Pseudomonas*, *Aeromonas*,)
- * **mésophiles** : entre 20 et 40 ° (majorité des bactéries) (optimum : 30-37°C)
- * **thermophiles**: entre 45 et 55 ° , *Bacillus* et *Clostridium*
- * **thermophiles extrêmes** : optimum situé vers 70°C



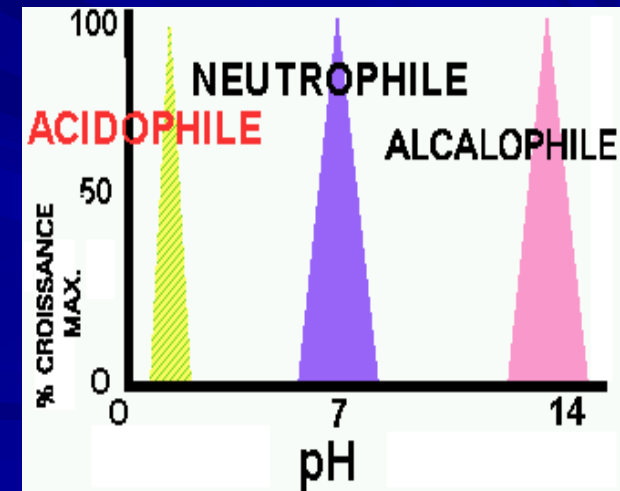
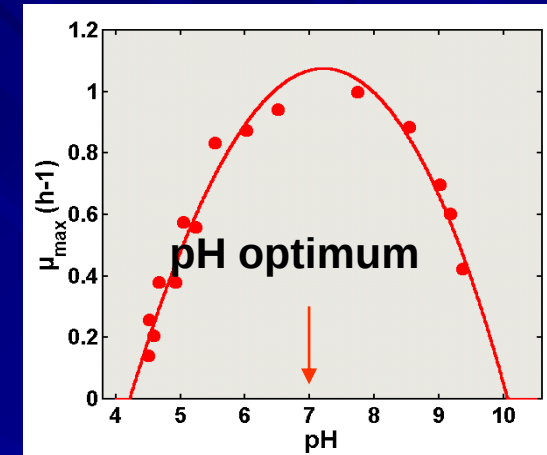
c) Le pH

* Il influence l'équilibre ionique du milieu, les réactions métaboliques
Et l'activité enzymatique

* Les milieux de culture doivent avoir un pH favorable à la croissance de l'espèce recherchée. C'est la raison pour laquelle ces derniers contiennent
Généralement des tampons (ex : K_2HPO_4 , KH_2PO_4)

* Selon leur pH optimale de croissance on distingue des bactéries :

- Acidophiles (1– 4)
- Neutrophiles (5,5 – 8,5)
- Basophiles (alcalophiles) (8,5 à 11,5)

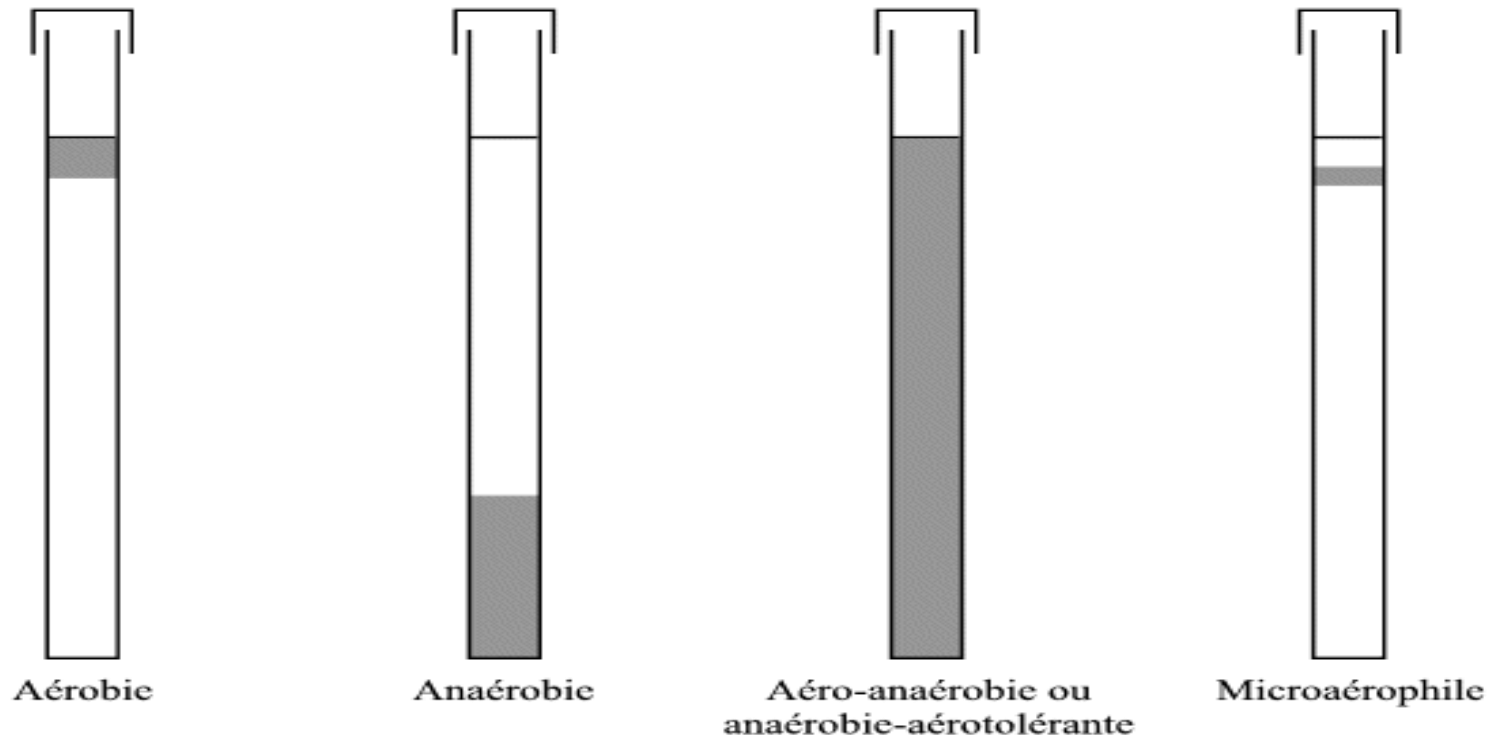


d) oxygène

* En fonction de leur exigence en oxygène, on distingue **4 types respiratoires** de bactéries :

- **Aérobies stricts** : exigent l'oxygène libre pour leur croissance
- **Aéro-anaérobies (anaérobies facultatives)** : capables de croître avec
ou sans oxygène libre.
- **Anaérobies stricts** : ne peuvent pas se multiplier en présence
d'oxygène libre
- **Microaérophiles** : ne se multiplient qu'en présence d'une faible
tension d'oxygène

* Mise en évidence du type respiratoire des bactéries



Les milieux utilisés doivent contenir du glucose et ne pas contenir de nitrates qui pourraient servir d'accepteurs et permettre le développement en anaérobiose de certaines bactéries aérobies comme les *Pseudomonas* spp.

Le milieu le plus utilisé est la gélose viande-foie. Ce milieu est coulé dans des tubes longs et étroits. Avant ensemencement, les tubes sont régénérés dans un bain-marie bouillant durant 20 minutes, capsule dévissée, afin de chasser l'oxygène contenu dans le milieu. Les milieux sont ensemencés sur toute la hauteur des tubes (pipette Pasteur boutonnée) lorsque leur température est d'environ 45 °C.

La lecture est effectuée après incubation d'au moins 18 heures à une température compatible avec la multiplication de la bactérie à étudier.

e) La pression osmotique

* La plupart des bactéries sont insensibles à la pression osmotique

(protégée par la paroi rigide)

* Seules les bactéries marines adaptées à une concentration de 35 g/l de NaCl sont sensibles aux variations de ce paramètre.

• Selon cette sensibilité on distingue

- les **non-halophiles** : ($\text{NaCl} < 0,2 \text{ M}$) (entérobactéries)

- les **halophiles** : $0,2 < \text{NaCl} < 5,2 \text{ M}$ (*Ps. Marina*, *Halobacterium salinarium*)

- Les **halotolérants** : NaCl élevée (*Staphylococcus*)

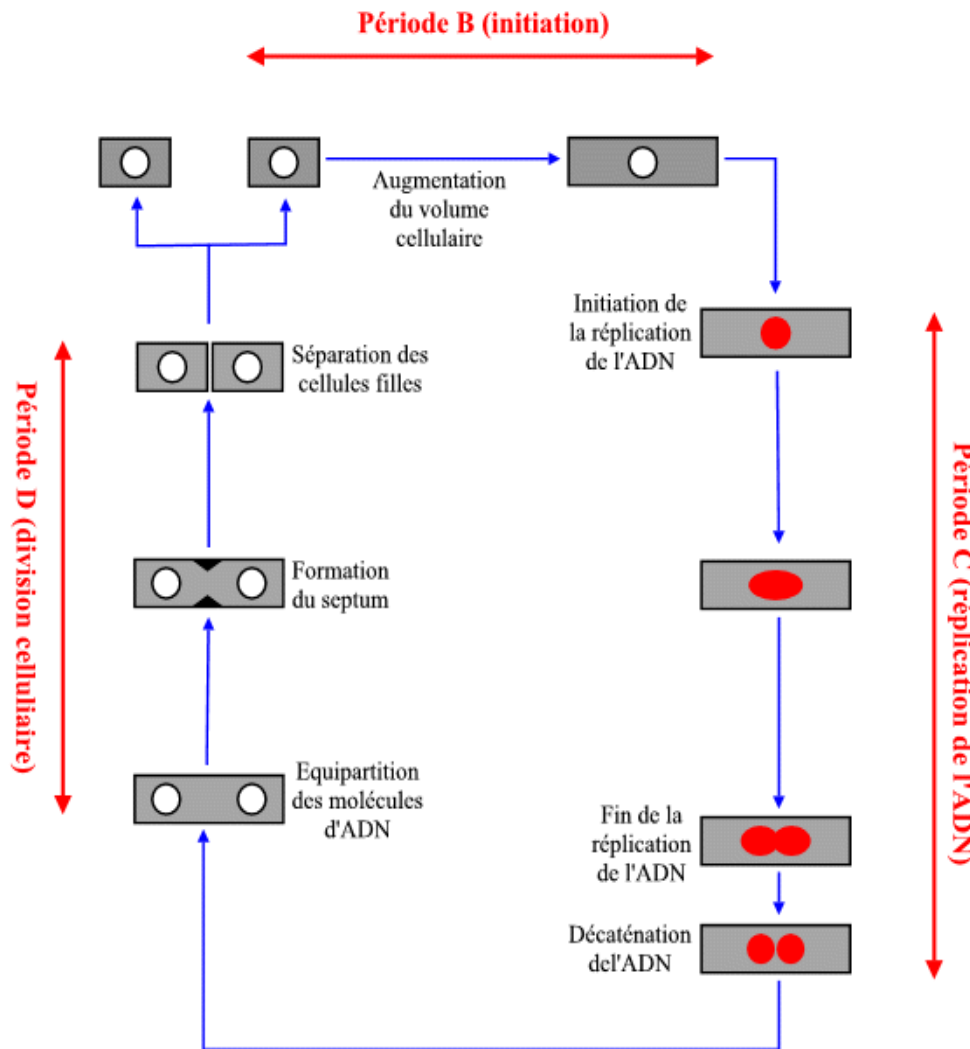
Chapitre IV. CROISSANCE BACTERIENNE

1) Définition

- * **La croissance** = développement ordonné des composants d'un organisme (accroissement de taille et de volume.)
- * **Chez les bactéries, la croissance** se traduit par une **augmentation du nombre d'individus**. L'accroissement est donc synonyme de **multiplication cellulaire**.
- * cet accroissement s'accompagne par :
 - une diminution de la quantité de matières nutritives disponibles
 - une augmentation des déchets dans le milieu
 - modification de certains paramètres du milieu (le pH, le potentiel d'oxydo-réduction, la conductivité, la pression osmotique,

**Donc pour se multiplier, une bactérie doit être cultivée sur
Des Milieux de culture (voir TD : milieux de culture)**

Cycle cellulaire bactérien



Les molécules d'ADN sont représentées sous la forme de cercles.
L'ADN en cours de réplication est représenté en rouge.

Un cycle cellulaire bactérien se décompose en trois étapes :

- l'initiation (**B**),
- la réplication de l'ADN chromosomique (**C**)
- la division cellulaire (**D**)

C ne débute qu'à la fin de la période **B** et **D** ne débute que lorsque la réplication de l'ADN chromosomique est terminée .

Chez *Escherichia coli* ,

* **C** dure environ 40 min

* **D** dure environ 20 min.

* **B** a une durée variable selon les conditions de culture

2) Méthodes de mesure de la croissance.

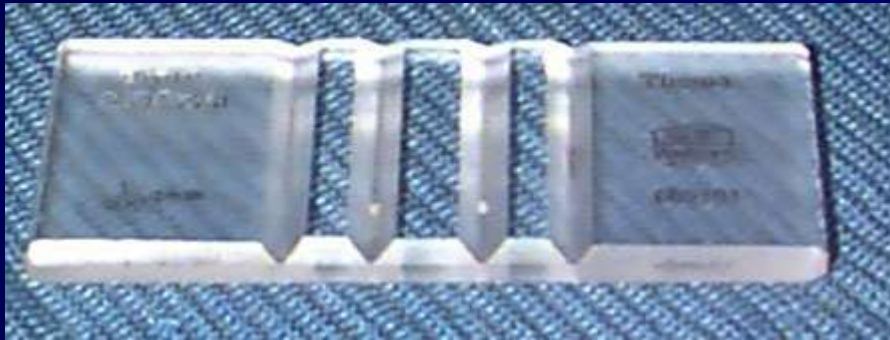
- * Les techniques permettant l'étude de la croissance sont nombreuses ce qui montre qu'aucune n'est parfaite .
- * **Sur un milieu solide**, l'étude de la croissance est rendue difficile en raison de l'agrégation des cellules les unes aux autres .
- * **En milieu liquide**, les cellules sont dispersées ce qui permet des prises faciles d'échantillons. La croissance peut alors être appréciée en se basant sur le **nombre de cellules** ou sur la **biomasse bactérienne** .

A. Mesure du nombre de bactéries

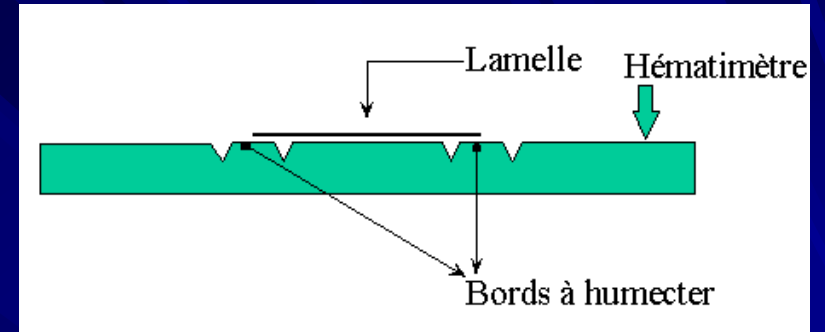
1) Lecture au microscope (dénombrement direct)

- Le microscope permet une numération totale des cellules
- Elle ne permet pas de distinguer facilement les cellules vivantes des cellules mortes.
- Le comptage des cellules se fait en utilisant un hématimètre (cellules de Thoma, de Malassez...)

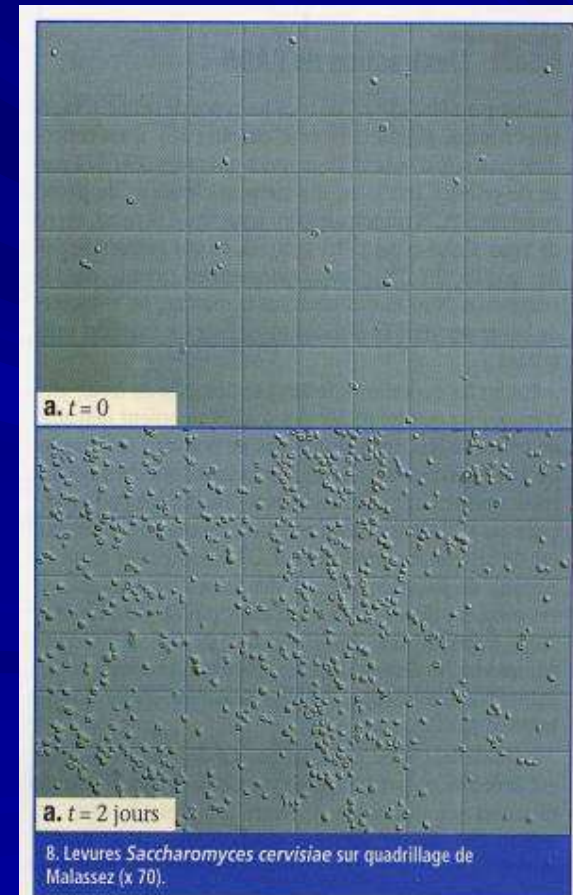
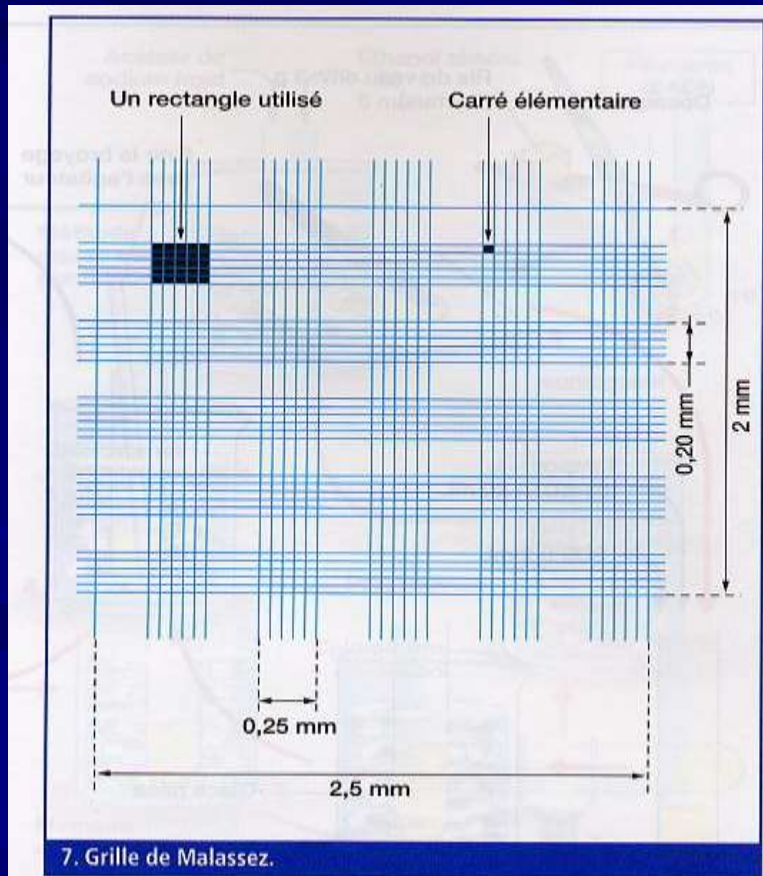
Cellule de Malassez



Vue de face



Vue de profil



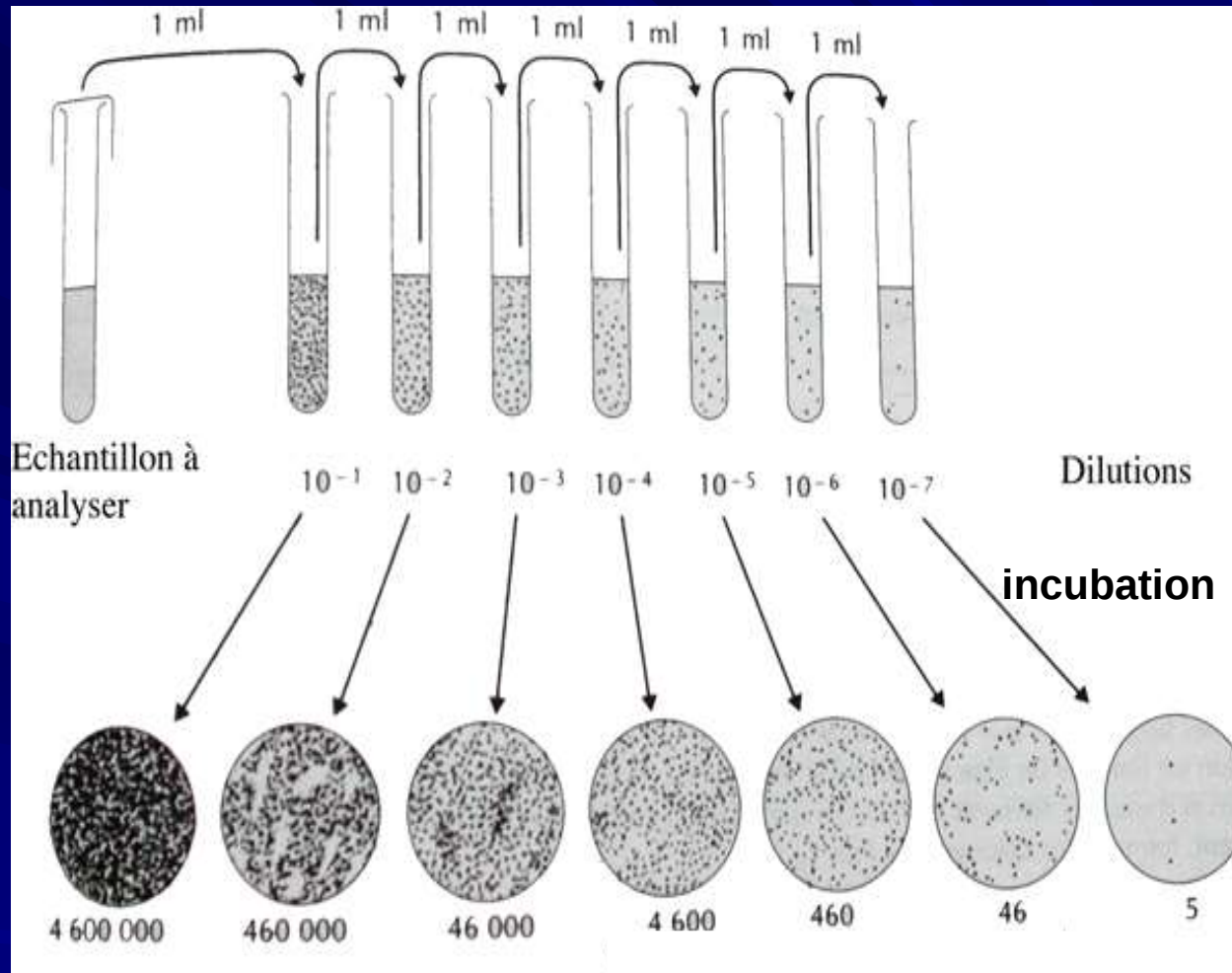
2) Dénombrement après culture (dénombrement indirect)

- Il permet de compter les bactéries viables et cultivables

* c'est la méthode la plus utilisée, elle se fait de différentes façons

- Culture en boîte de Pétri
- Méthode du nombre le plus probable (NPP)
- Méthode de filtration sur membrane

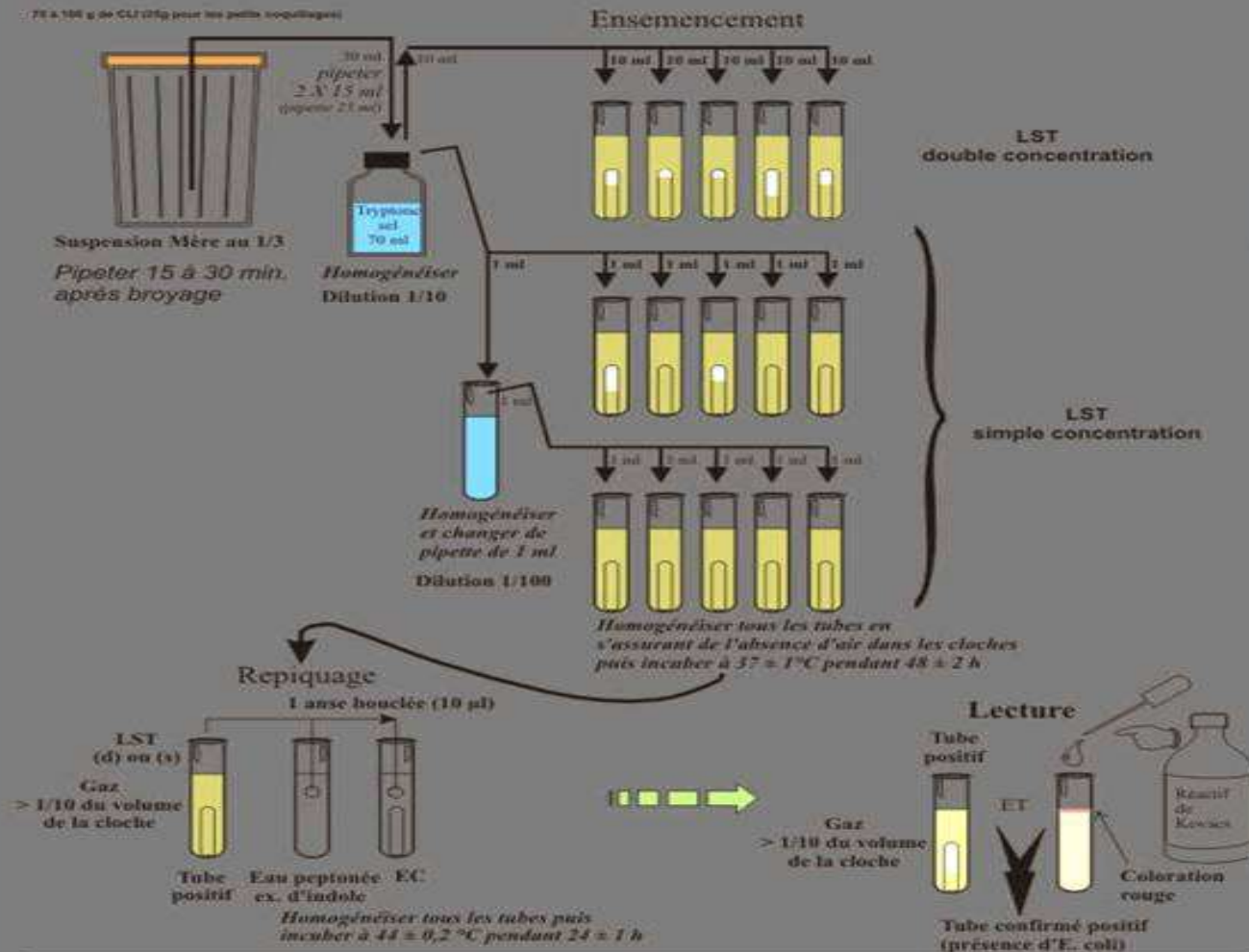
a) La Numération sur Gélose en boîte de Pétri



Après incubation on compte le nombre des colonies (choisir les boîtes contenant entre 30 et 300 colonies). Comme une colonie provient d'une seule cellule ou d'un amas de cellules, on exprime le résultat en UFC/ volume de l'échantillon. (ne pas oublier le facteur de dilution) .

b) La Numération par la méthode du nombre le plus probable (NPP)

- * Ce dénombrement se fait en milieu liquide**
- Le calcul du nombre le plus probable utilise des dilutions de l'échantillon et pour l'interprétation fait appel à des calculs de probabilité**
- * La précision de cette méthode est nettement inférieure à la précédente**



Choix des dilutions

Noter le nombre de tubes positifs par dilution. Il faudra retenir 3 dilutions consécutives.

Cas 1 : Au moins une dilution révèle 5 tubes positifs.

- Choisir la dilution la plus élevée révélant 5 tubes positifs et les 2 dilutions suivantes.
- Si toutes les dilutions révèlent 5 tubes positifs, choisir les 3 dilutions les plus élevées.

Cas 2 : Aucune dilution ne révèle 5 tubes positifs.

- Choisir les 3 dilutions les plus élevées de la série.

Cas particulier : plusieurs dilutions choisies ne révèlent pas de tube positif.

- Retenir la dilution la moins élevée ne contenant pas de tubes positifs ainsi que les 2 dilutions précédentes.

Détermination du coefficient NPP

Lire sur la table NPP correspondant au volume de l'inoculum. Seuls les résultats de catégorie 1 et 2 seront acceptés.

Calcul du NPP

NPP = coefficient NPP x 1/ première dilution choisie

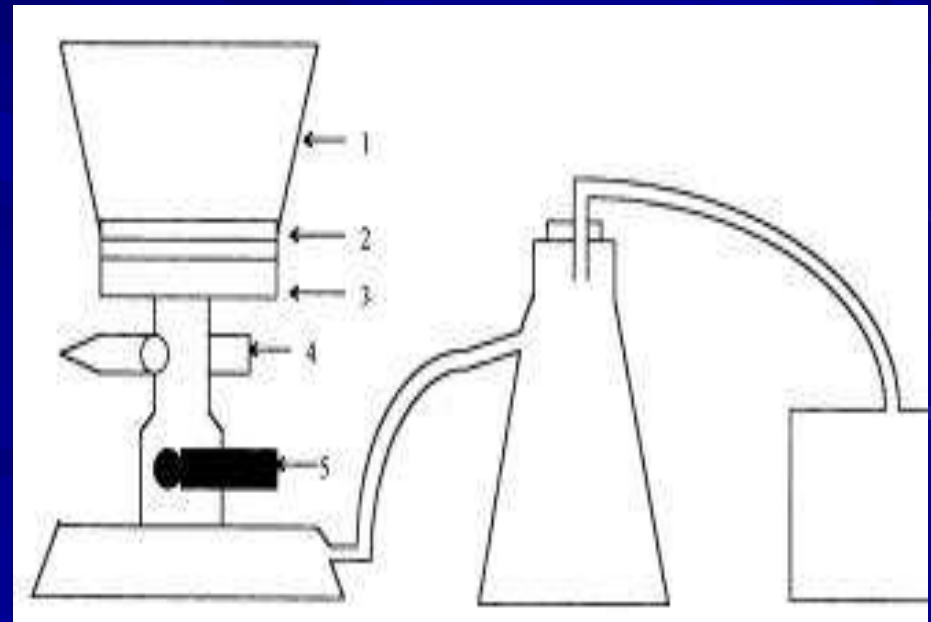
Si tous les tubes sont négatifs le résultat est : < 18 E. coli / 100 g de CLT

Les résultats > 1000 sont arrondis à la dizaine inférieure si l'unité < 5 et à la dizaine supérieure si l'unité > ou = 5.

c) Méthode de filtration sur membrane

- Méthode classique de dénombrement
- Elle consiste à filtrer un volume déterminé d'une suspension sur une membrane filtrante de cellulose qui est ensuite déposée sur un Milieu de culture solide.

- 1 : entonnoir stérile (250 ml)
- 2 : membrane (0,45gm de porosité)
- 3 : support en acier
- 4 : levier (pour casser le vide)
- 5 : vanne à vide



Appareil de filtration



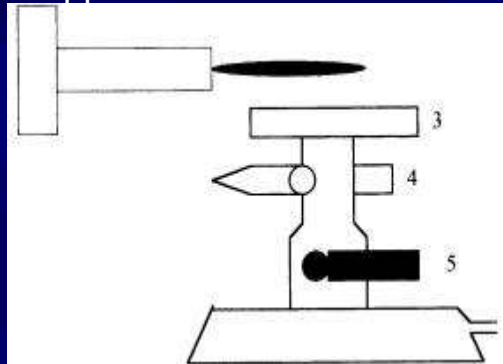
**Membrane de
filtration**



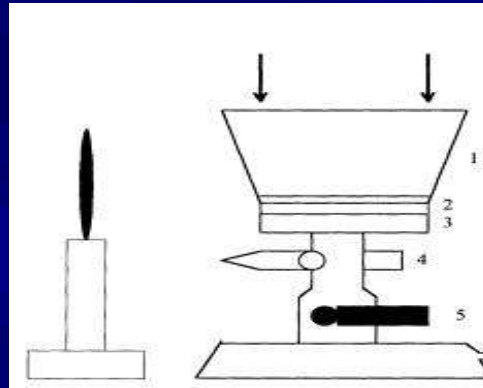
Appareil de filtration



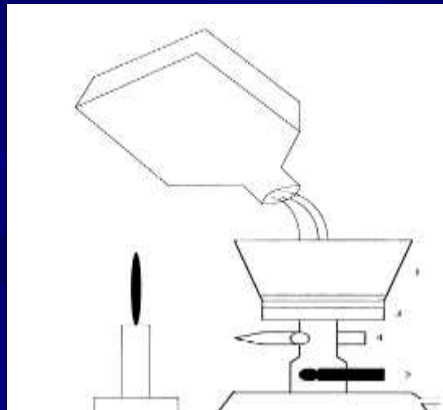
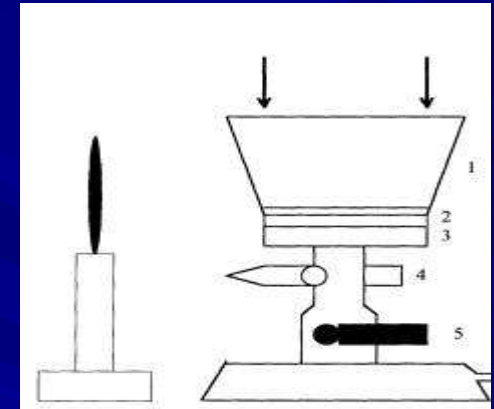
**Stérilisation de la surface de
l'appareil de filtration**



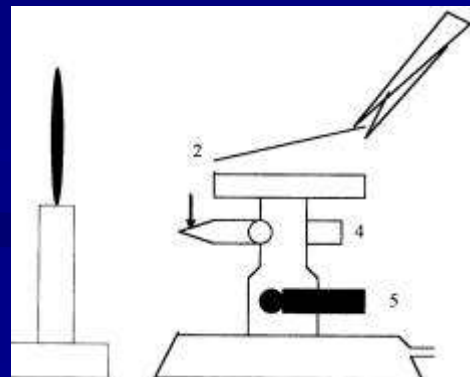
**Dépôt de la membrane
filtrante sur le support
en acier de l'appareil de
filtration**



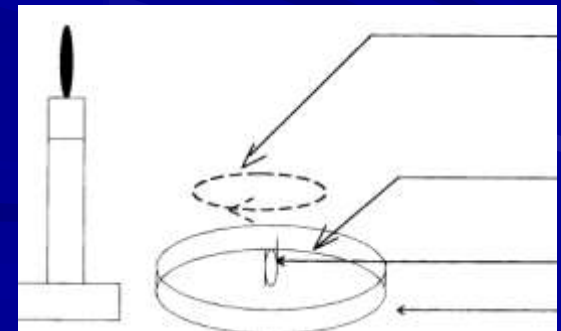
**Positionnement de l'entonnoir
sur l'appareil de filtration**



**L'échantillon est versé dans
l'entonnoir**



**Récupération de
La membrane**



**Dépôt de la membrane sur un milieu
solide**



1



2



3

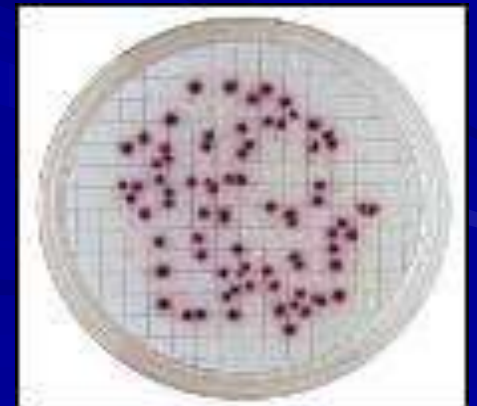


4

5

6

7



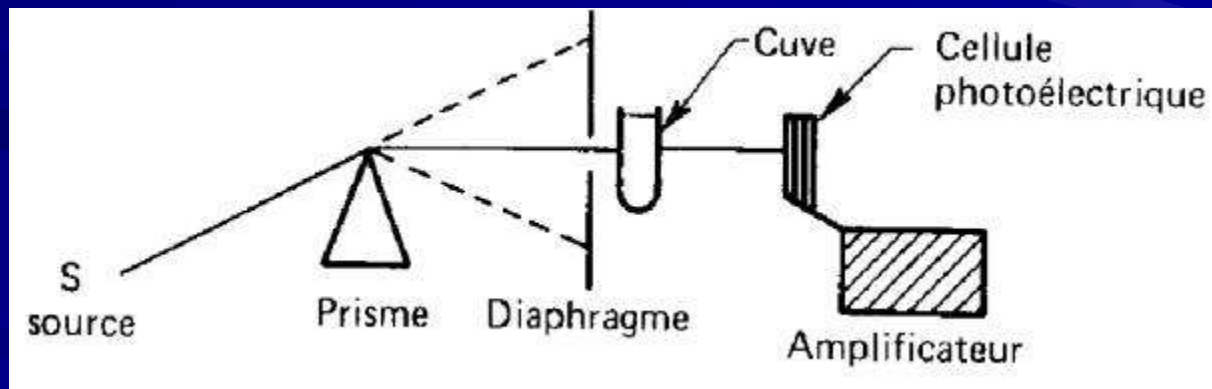
B. Mesure de la biomasse des bactéries

a) Mesure du trouble (ou absorbance)

- Cette méthode consiste à suivre l'évolution de la population bactérienne en mesurant l'absorbance du milieu de culture grâce à un spectrophotomètre.
- C'est la méthode la plus utilisée pour évaluer la masse microbienne

Principe

C'est une méthode optique fondée sur la propriété que présente toute suspension de diffracter une partie de l'intensité d'un faisceau de lumière Qui la traverse en ligne droite.



- Il existe une relation exponentielle entre la quantité de substance absorbant la lumière et la quantité de lumière absorbée.
- La quantité de substance absorbante dépend de l'épaisseur de la solution traversée et de la concentration .

* La loi de Beer-Lambert exprime cette relation à travers la formule suivante:

$$I = I_0 \cdot 10^{-Klc}$$

I_0 = intensité de la lumière incidente ;
 I = lumière transmise ;
 l = épaisseur traversée (soit souvent 1 cm) ;
 K = une constante caractéristique de la substance
 c = la concentration en substance.

On appelle absorbance ou densité optique (DO)

$$DO = \log(I / I_0) = K' \cdot c$$



il suffit de mesurer la DO pour en déduire la concentration c connaissant K'

b) Mesure du poids sec

- Les bactéries d'une suspension sont récoltées par centrifugation ou par filtration sur membrane.

- Après le culot ou le filtre est desséché à 100-110°C jusqu'à poids

Constant et on fait une pesée

- * Le poids est généralement exprimé en grammes de matière sèche par litre

3) Croissance et expression mathématique de la croissance.

- A partir d'une unique cellule, on obtient deux cellules filles qui vont chacune donner à leur tour deux autres cellules et ainsi de suite, selon une progression géométrique :

1 cellule ---> 2 cellules ---> 4 cellules ---> 8 cellules ---> 16 cellules ---> ...

- * La croissance d'une bactérie placée dans des conditions favorables est définie par deux paramètres :

@ **Le taux de croissance (μ)** = nombre de divisions par unité de

$$\text{temps} \longrightarrow \mu = n/t = 1/G$$

@ **Le temps de génération (G)** = temps qui sépare deux

$$\text{divisions successives} \longrightarrow G = t/n$$

* Expression mathématique de la croissance

- Une population bactérienne qui contient un **nombre initial** de Bactéries X_0

- Après une génération $\longrightarrow X_1 = 2 X_0$

-Après deux générations $\longrightarrow X_2 = 2 X_1 = 2 \times 2 X_0 = 2^2 X_0$

- Après trois générations $\longrightarrow X_3 = 2 X_2 = 2 \times 2 \times 2 X_0 = 2^3 X_0$

.

.

.

- Après n générations $\longrightarrow$

$$X_n = 2^n X_0$$

n = nombre de divisions

- La forme logarithmique de cette équation est :

$$\log_2 X_n = \log_2 n + \log_2 X_0$$

$$\log_2 X_n = \log_2 n + \log_2 X_0$$

-Le taux de croissance : $\mu = n/t$

-Donc : $n = \mu t$

- l'équation devient :

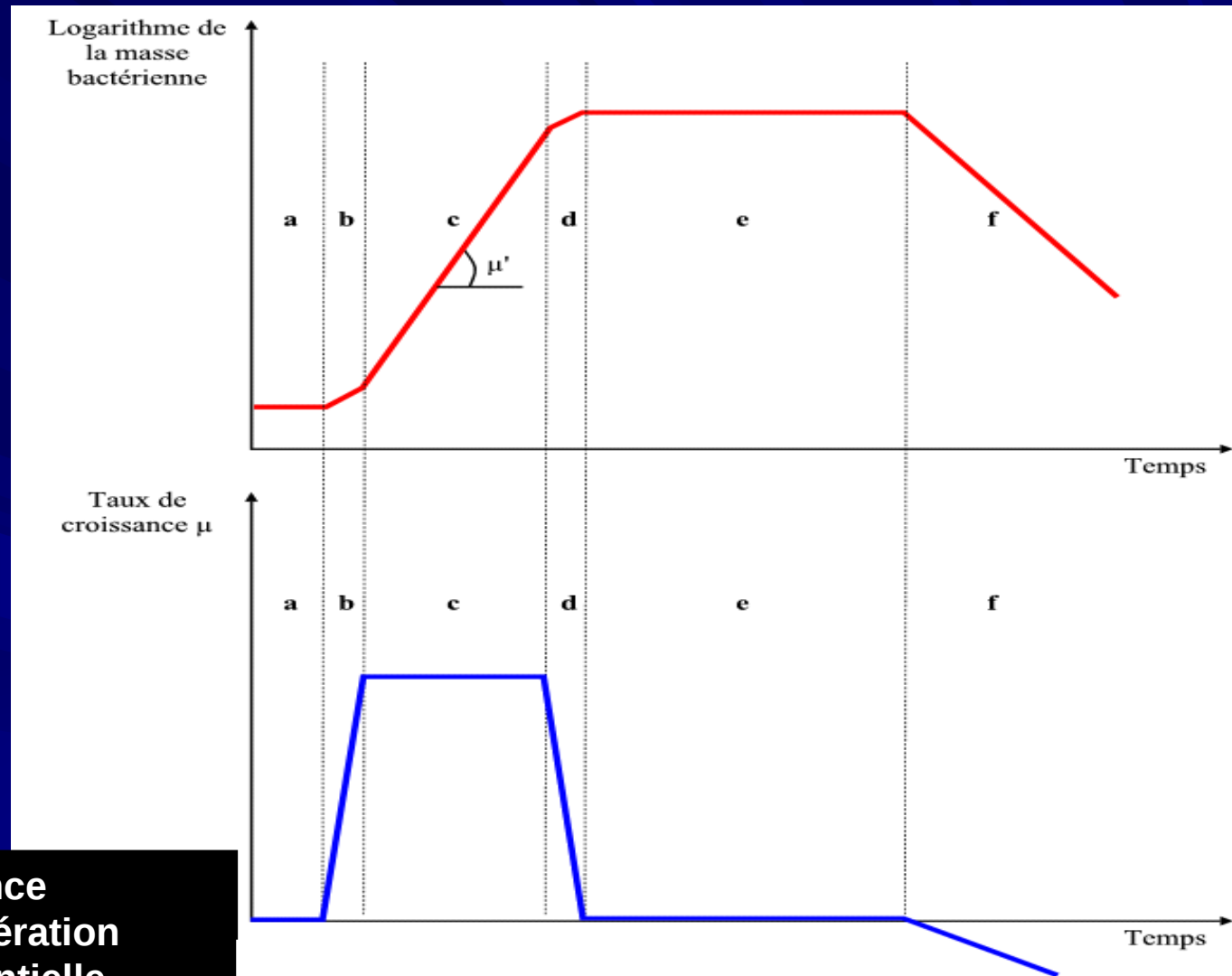
$$\log_2 X_n = \log_2 \mu t + \log_2 X_0$$

Ainsi :

$$\mu = (\log_2 X_n - \log_2 X_0) / (t_n - t_0)$$

- C'est l'expression mathématique du taux de croissance
- Cette équation permet de déterminer μ expérimentalement

* Courbe de croissance en milieu non renouvelé



a : phase de latence
b : phase d'accélération
c : phase exponentielle,
d : phase de ralentissement,
e : phase stationnaire,
f : phase de déclin.

*** Phases de la croissance**

Phase de latence :

- * le taux de croissance nul ($\mu = 0$).**
- * Sa durée dépend de l'âge des bactéries, du taux d'inoculum et de la composition du milieu.**
- * C'est le temps nécessaire à la bactérie pour synthétiser les enzymes adaptées au nouveau substrat (pas de phase de latence si repiquage sur milieu identique au précédent) .**

Phase d'accélération : il se produit une augmentation de la vitesse de croissance.

Phase exponentielle :

- * le taux de croissance atteint un maximum ($\mu=\max$). Il est influencé par certains facteurs appelés paramètres d'action de la croissance (pH, température, la nature et la concentration des nutriments)
- * Cette phase dure tant que la vitesse de croissance est constante.
- * Le temps de doublement des bactéries est le plus court.
- * La masse cellulaire est représentée par des cellules viables (mortalité nulle).

Phase de ralentissement :

- * la vitesse de croissance régresse.
- * Il y a un épuisement du milieu de culture et une accumulation des déchets.
- * Il existe un début d'autolyse des bactéries.

Phase stationnaire :

- * le taux de croissance devient nul ($\mu = 0$).
- * Les bactéries qui se multiplient compensent celles qui meurent.

Phase de déclin :

- * le taux de croissance est négatif ($\mu < 0$).**
- * Toutes les ressources nutritives sont épuisées.**
- * Il y a accumulation de métabolites toxiques.**
- * Il se produit une diminution d'organismes viables et une lyse cellulaire sous l'action des enzymes protéolytiques endogènes.**

Chapitre V : Les Grands groupes de bactéries

1. Les Spirochètes

Caractéristiques générales :

- Gram -
- Chimiohétérotrophe
- Anaérobie, souvent stricte
- Forme cellulaire et Type de mobilité particulier
- fins, flexibles et doté de filament axial ou endoflagelles leurs conférant cette mobilité typique et cette forme en spirale .
- La plupart des Spirochètes vivent seul (dans les sédiments...) ou associés à des animaux.

- Ils regroupes 4 genres :

genre *Spirochaeta* : vit en eaux douces et marines

genre *Treponema* : parasite l'homme et les animaux

genre *Borrelia* : pathogène pour l'Homme et les animaux

genre *Leptospira* : pathogène pour l'homme



2. Les Actinomycètes

* Bactéries dont la croissance donne lieu à des colonies constituées d'hyphes (filaments).

- en général, les Actinomycètes sont des hétérotrophes, mais plusieurs espèces sont chimio-autotrophes.

- Tous Gram positifs

- Colonies à aspect compact, sec, lisse rugueux, poudreux et en choux fleur

- Largement répartis dans la nature (air, eau, aliments, sol)

- rôle important dans les grands cycles biologiques

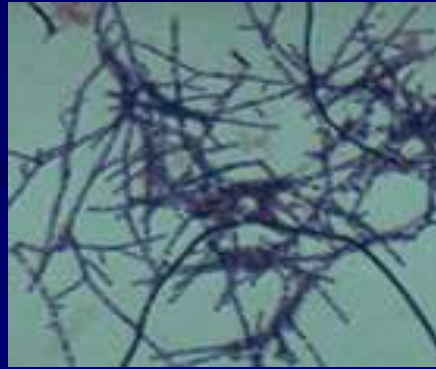
- producteurs d'antibiotiques et d'enzymes protéolytiques

- L'ordre des actinomycétales comprend plusieurs genres :

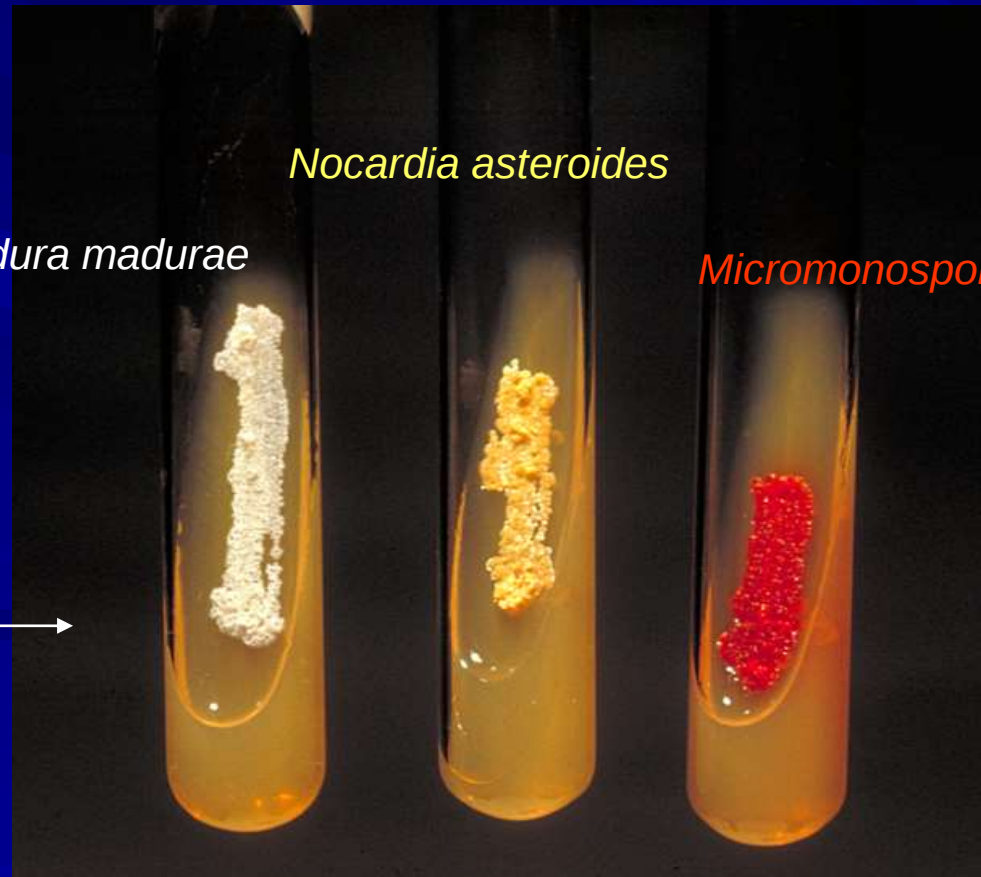
Mycobacterium, Actinomyces, Nocardia, Streptomyces, micromonospora...



Colonie de *streptomyces*



Colonies
d'actinomycètes
du sol



Nocardia asteroides

Actinomadura madurae

Micromonospora

• Les actinomycètes sont
souvent pigmentés



Chapitre VI : La virologie

1) Définition d'un virus

* Un virus = **Parasite intracellulaire obligatoire** ne pouvant se multiplier qu'à l'intérieur d'une cellule hôte et utilisant sa machinerie cellulaire.

* Il contient :

- Une information génétique sous forme **d'ADN** ou **d'ARN**
- Une structure de protection souvent protéique, compacte, pour protéger son Acide Nucléique : La Capside

* les virus sont classés en 2 catégories :

- les virus possédant une capsidie à **symétrie icosaédrique** (ou encore hexagonale)
- les virus possédant une capsidie à **symétrie hélicoïdale** (comme le virus de la mosaïque du tabac).

* Le virus prend le pouvoir dans la cellule infectée: tous les systèmes de la cellule sont canalisés pour fabriquer du virus.

2) Historique (voir planches)

3) Éléments de protection des virus :

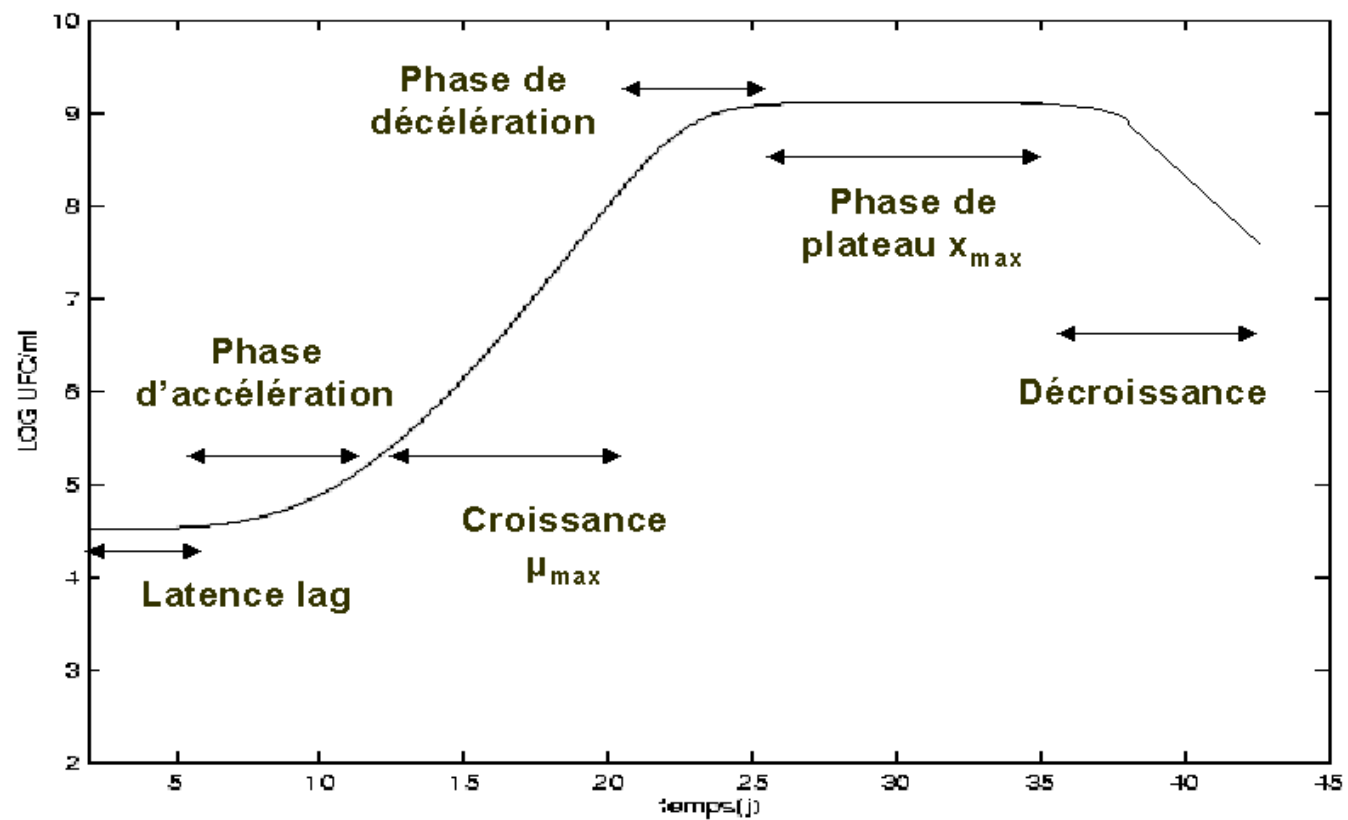
* **CAPSIDE:** - protège le génome du virus.

- formée de briques identiques, les protéines de capsid.

- Il existe 2 grands types de structure de capsid:

@ les virus à structure hélicoïdale

@ les virus à structure icosaédrique (cubique).

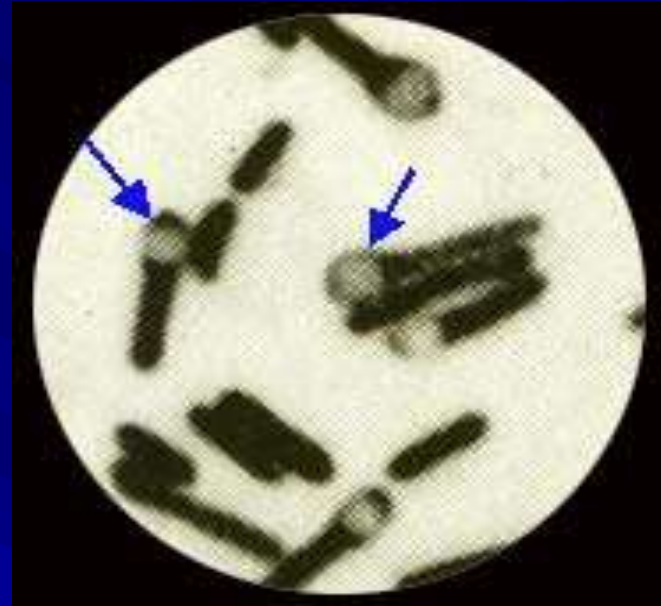


- μ et G varient en fonction du type de micro-organisme

<i>Micro-organisme</i>	<i>G</i>	<i>μ (h^{-1})</i>
<i>Levure</i>	1h	1
<i>Esherischia Coli</i>	20min	3
<i>Lactobacillus</i>	100min	0,6



*Clostridium
botulinum*



Clostridium

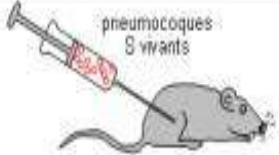
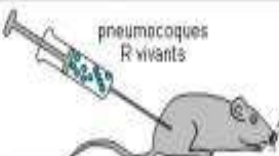
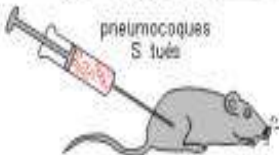
Expérience d'Avery, MacLeod et McCarty

De 1928 à 1944 une technique de transformation du pneumocoque in vitro a été mise au point, ce qui permet de se passer du passage dans la souris, et simplifie l'expérience. On cultive des cellules R en présence de S tuées et on récupère des S vivantes. On refait la même expérience mais en utilisant un extrait acellulaire de cellules S : les cellules R ont été transformées. L'agent transformant est donc un agent chimique provenant de l'extrait acellulaire de S. L'intégrité physique de la cellule n'est pas indispensable pour la transformation. L'extrait acellulaire peut être fractionné, ce qui permet de démontrer que l'agent transformant est de nature macromoléculaire, qu'il n'est constitué ni de polysaccharides ni de protéines ni d'acide ribonucléique (ARN). Par contre la fraction contenant l'acide désoxyribonucléique (ADN) est capable de réaliser la transformation. Afin d'éliminer la possibilité que cette fraction ait été contaminée par des impuretés, on prépare un extrait acellulaire que l'on répartit en trois fractions, la première est soumise à l'action des protéases qui dégradent les protéines, la seconde est soumise à l'action de l'ARNase qui dégrade l'ARN Figure 1-2. Expérience d'Avery, MacLeod et McCarty et la troisième est traitée par l'ADNase qui dégrade l'ADN. Alors que les deux premières fractions sont encore capables de transformer, la troisième est dépourvue de tout pouvoir transformant

Deux spécimens d'*Escherichia coli* pris en flagrant délit d'échange de matériel génétique. Cette forme de sexualité primitive permet aux bactéries de transmettre à leurs congénères des gènes de résistance aux antibiotiques. Des recherches récentes ont montré que ces échanges pouvaient survenir entre des espèces très différentes.
(Science et Avenir, Nov. 96)

L'expérience de Griffith

Souche S : souche de *Streptococcus pneumoniae* capsulée.
Souche R : souche de *Streptococcus pneumoniae* non capsulée.

n°	expériences	état de	
1	 pneumocoques S vivants	 pneumocoques S vivants	mort
2	 pneumocoques R vivants	 pneumocoques R vivants	survie
3	 pneumocoques S tués	 pneumocoques S tués	survie
4	 pneumocoques S tués + pneumocoques R vivants	 pneumocoques S tués + pneumocoques R vivants	mort
5	 pneumocoques S tués et sans ADN + pneumocoques R vivants	 pneumocoques S tués et sans ADN + pneumocoques R vivants	survie
6	 pneumocoques R vivants +ADN extrait de pneumocoques S	 pneumocoques R vivants + ADN extrait de pneumocoques S	mort

Expérience 1 : injection de la "souche S"



Septicémie mortelle due à des bactéries de type S

Expérience 2 : injection de la "souche S tuée"



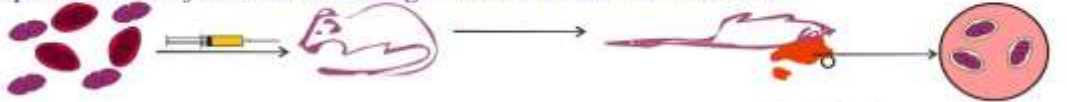
La souris survie

Expérience 3 : injection de la "souche R"



La souris survie

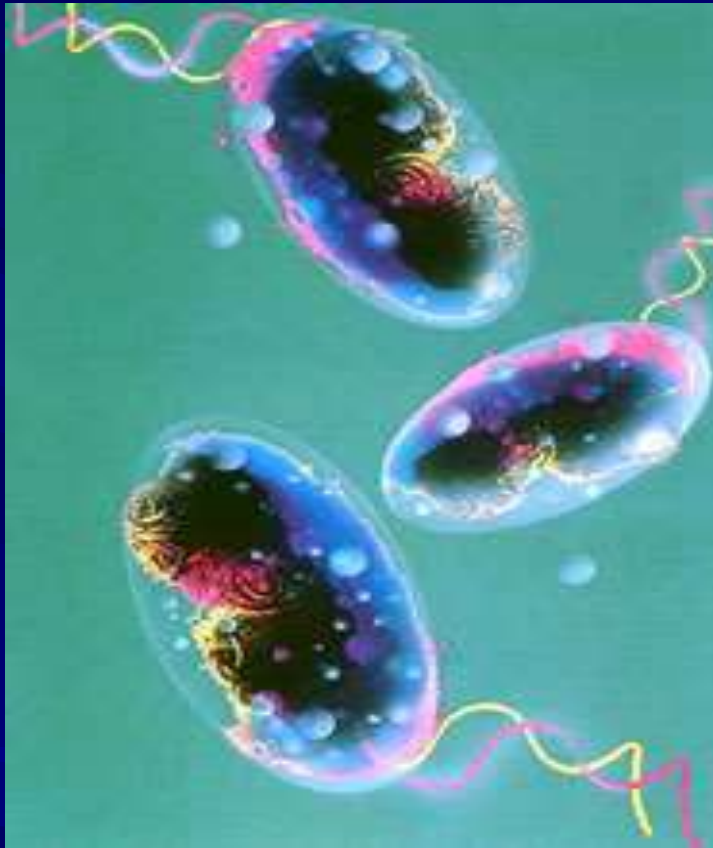
Expérience 4 : injection d'un mélange "souche S tuée" et "souche R"



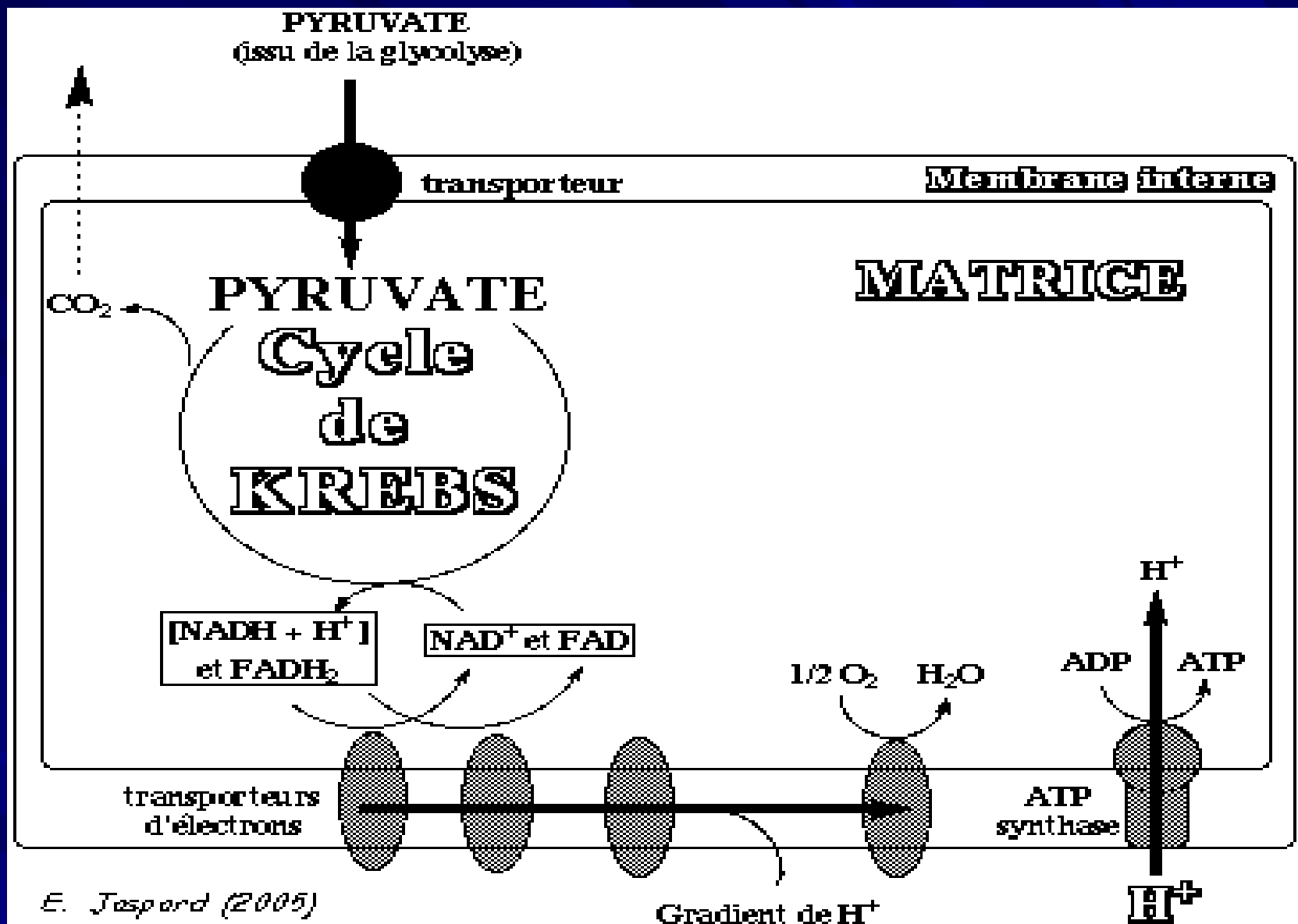
Septicémie mortelle due à des bactéries de type S

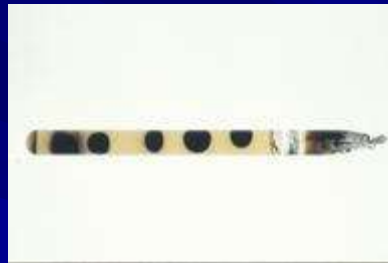
Présence de très nombreux pneumocoques S vivants





vibrio cholerae





Culture de *Clostridium perfringens*

Gélose MacConkey composition



- Peptones
- Lactose (sucre) :
élément différentiel
- Sels biliaires et cristal
violet : éléments
sélectifs
- NaCl
- Agar
- Rouge neutre:
indicateur de pH
- Utilité: isolement et
distinction des bactéries
Gram (-)

<http://fr.wikipedia.org/wiki/Portail:Microbiologie>

<http://membres.lycos.fr/neb5000/>

<http://anne.decoaster.free.fr/bindex.html>

http://www.gch.ulaval.ca/agarnier/bcm20329/hur_c01.htm

<http://www.microbe-edu.org/etudiant/intro.html>

http://crdp.ac-amiens.fr/enviro/sols/sol_maj_detailp2_1.htm

<http://fr.wikipedia.org/wiki/Microbiologie>

<http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/systematique/nomenclature.html>

<http://www.bacteriologie.net/generale/sommaire.html>

<http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/POLY.Chp.1.2.5.html>

<http://images.google.co.ma/imgres?imgurl=http://web.indstate.edu/thcme/micro/GI/GIpathogens/Slide25.JPG&imgrefurl=http://web.indstate.edu/thcme/micro/GI/GIpathogens/sld025.htm&h=540&w=720&sz=62&hl=fr&start=12&tbnid=WkCB3yp6tdpHPM:&tbnh=105&tbnw=140&prev=/images%3Fq%3DVibrio%2Bcholerae%26gbv%3D2%26svnum%3D10%26hl%3Dfr%26sa%3DG>

web.indstate.edu/.../GI/GIpathogens/sld025.htm .

<http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/bacteriogene/structure.html#morphologie>
btown.com/nhatquanglan/index.html Trang Web nay coi cung ha
btown.com/nhatquanglan/index.html unTrang Web nay coi cung ha
<http://www.chups.jussieu.fr/pols/bacterio/bacterio/POLYChp.1.2.htm>

btown.com/nhatquanglan/index.html E Trang Web đang chờ bạn

