

SAHLA MAHLA

المصدر الأول للطالب الجزائري



LA CROISSANCE BACTÉRIENNE

Cours préparé par Mme MAKHLOUF C.

Introduction

- Généralement la croissance c'est l'accroissement de tous les composants d'un organisme.
- Chez les organismes pluricellulaires, il y a augmentation de taille.
- Chez les bactéries augmentation du nombre de cellules.
- Cet accroissement est donc synonyme d'une multiplication bactérienne.

1 - DIVISION BACTERIENNE

- La bactérie se multiplie par fission binaire : la bactérie grandit puis se divise en deux cellules filles séparées par un septum de division formé par la paroi cellulaire.
- Durant la division, l'ADN se duplique ainsi que les autres constituants.
- Divers systèmes enzymatiques de synthèse et de dégradation participent à la division cellulaire.

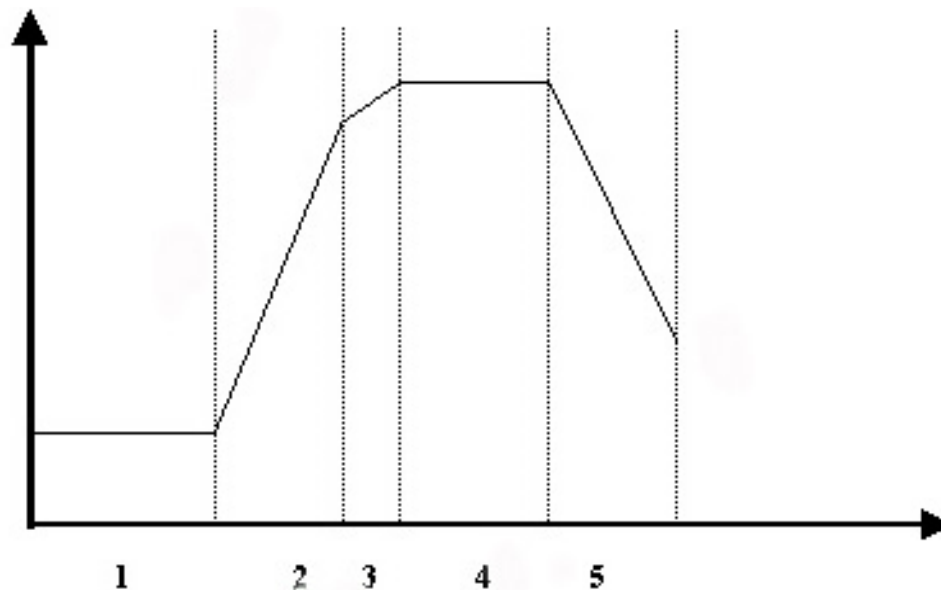


2 - DYNAMIQUE DE LA CROISSANCE

- La croissance bactérienne est l'accroissement ordonné de tous les composants de la bactérie. Elle aboutit à l'augmentation du nombre de bactéries.
- Au cours de la croissance, il se produit, d'une part, un appauvrissement du milieu de culture en nutriments et, d'autre part, un enrichissement en sous-produits du métabolisme, éventuellement toxiques.
- La croissance peut être étudiée en milieu liquide ou solide.

2.1. Courbe de croissance

- La croissance d'une bactérie s'étudie en milieu liquide. Il existe 6 phases dont l'ensemble constitue la courbe de croissance.



1 : phase de latence,

2 : phase de croissance exponentielle,

3 : phase de ralentissement,

4 : phase stationnaire,

5 : phase de déclin.

Exemple d'une courbe de croissance

• **Phase de latence** : le taux de croissance nul ($\mu = 0$). La durée de cette phase dépend de l'âge des bactéries 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).

• **Croissance exponentielle** : le taux de croissance atteint un maximum ($\mu = \mu_{\max}$). Cette phase dure tant que la vitesse de croissance est constante. Le temps de doublement des bactéries est le plus court. La mass cellulaire est représentée par des cellules viables (mortalité nulle).

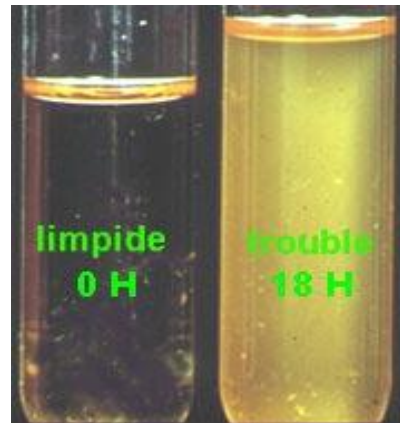
• **Phase de ralentissement** : la vitesse de croissance régresse. Il y a un épuisement du milieu de culture et une accumulation des déchets. Il existe un début d'autolyse des bactéries.

• **Phase maximale 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. Cependant, il persiste une croissance par libération de substances libérées lors de la lyse (croissance cryptique).

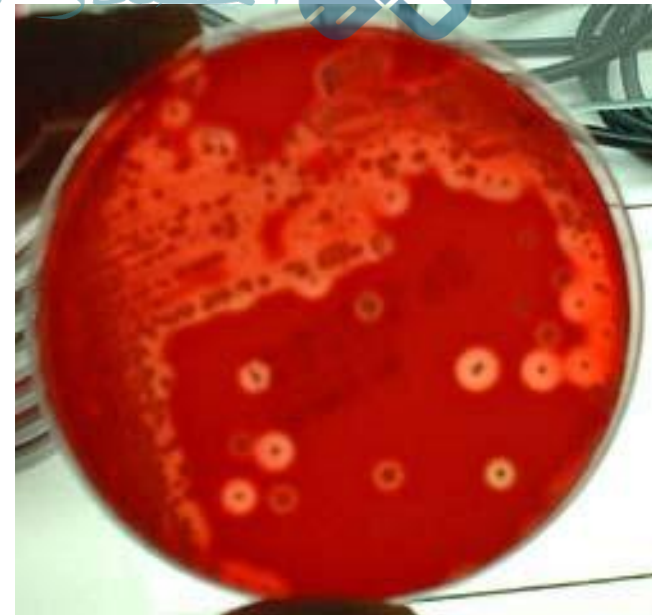
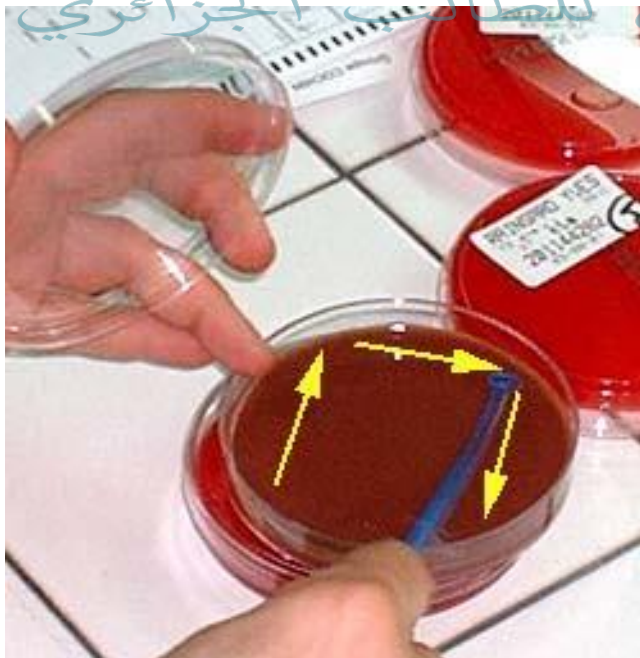
2.2. Croissance in vitro (milieux liquides et solides)

- Les bactéries peuvent être cultivées en milieux liquide, solide et semi-liquide.
- Les milieux liquides sont utilisés pour la culture de bactéries pures ou lors d'infection mono-microbienne (hémoculture).



Exemples : culture d'une bactérie dans un bouillon nutritif ou encore à partir du sang d'un malade (hémoculture en flacon)

❑ Les milieux solides ou semi-solides, à base d'agar (gélose), sont utilisés pour l'isolement de bactéries. Dans ces milieux, ont été ajoutés des nutriments favorisant la croissance des bactéries étudiées.



Exemples : culture par isolement d'une bactérie à la surface d'un milieu gélosé contenant du sang (mouton, cheval) montrant après 18 à 24 H à 37°C d'incubation des colonies hémolytiques.

2.3. Croissance in vivo

- La croissance in vivo est beaucoup plus ralentie.
- La phase de latence est beaucoup plus longue.
- In vivo, les bactéries peuvent être phagocytées par les macrophages et les polynucléaires et être inhibées par les produits antibactériens comme le lysozyme ou le complément.

Temps de génération (TG) de quelques espèces bactériennes

Bactérie	<i>In vitro</i> (min)	<i>In vivo</i> (h)
<i>Escherichia coli</i>	20-40	5
<i>Salmonella Typhimurium</i>	20-40	3-5
<i>Staphylococcus aureus</i>	40	3-5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	40	4
<i>Vibrio cholerae</i>	20	2-5
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	120-240	24-48

3 - CONDITIONS FAVORABLES A LA CROISSANCE

3.1. Sources d'énergie

- Les bactéries doivent trouver dans leur environnement les substances nécessaires à leur énergie et à leurs synthèses cellulaires.
- **Les bactéries phototrophes** utilisent l'énergie lumineuse pour la photosynthèse (synthèse d'ATP à partir d'ADP et de phosphate inorganique).
- **Les bactéries chimiotrophes** puisent leur énergie à partir de composés minéraux ou organiques. Elles utilisent des donneurs et des accepteurs d'électrons (élément minéral : bactérie **chimiolithotrophe** ; élément organique : bactérie **chimioorganotrophe**).
- La grande majorité des bactéries d'intérêt médical sont **chimioorganotrophes**.

3.2. Sources de carbone

- Le carbone est l'un des éléments les plus abondants de la bactérie.
- Le plus simple des composés est l'anhydride carbonique ou **CO₂**. Celui-ci peut être utilisé par la bactérie pour la synthèse de certains métabolites essentiels qui ferait intervenir une réaction de **carboxylation**.
- Le CO₂ est la seule source de carbone pour les bactéries **autotrophes**.
- Les bactéries **hétérotrophes** utilisent facultativement le CO₂. Les bactéries hétérotrophes dégradent une grande quantité de substances hydrocarbonées (alcool, acide acétique, acide lactique, polysaccharides, sucres divers).

3.3. Sources d'azote et besoins en soufre

- Les bactéries ont besoin de substances azotées pour synthétiser leurs protéines.
- La provenance de cet azote peut se faire par fixation directe de l'azote atmosphérique ou par incorporation de composés azotés (réactions de désamination, de transamination)
- Le soufre est incorporé par les bactéries sous forme de sulfate ou de composés soufrés organiques.

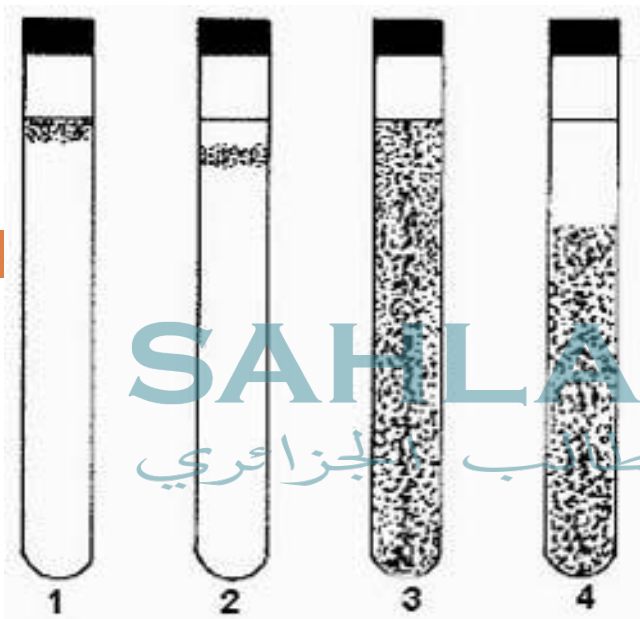
3.4. Besoins inorganiques

- Le phosphore fait partie des acides nucléiques et de nombreuses réactions enzymatiques.
- Il permet la récupération, l'accumulation et la distribution de l'énergie dans la bactérie.
- Il est incorporé sous forme de phosphate inorganique.

4 - CONDITIONS PHYSICO-CHIMIQUES DE LA CROISSANCE

4.1. Effet de l'oxygène

- Il existe plusieurs classes de bactéries en fonction de leurs rapports avec l'oxygène:
 - 1 - **Les bactéries aérobies strictes** ne se développent qu'en présence d'air. (Pseudomonas, Acinetobacter, Neisseria).
 - 2 - **Les bactéries microaérophiles** se développent mieux ou exclusivement lorsque la pression partielle d'oxygène est inférieure à celle de l'air (Campylobacter, Mycobacteriaceae).
 - 3 - **Les bactéries aéro-anaérobies facultatives** se développent avec ou sans air: les entérobactéries (Escherichia, Salmonella), les streptocoques, les staphylocoques.
 - 4 - **Les bactéries anaérobies strictes** ne se développent qu'en absence totale ou presque d'oxygène qui est le plus souvent toxique (Clostridium...)



Croissance des bactéries en fonction de leurs rapports avec l'oxygène



Exemple : Etuve avec culture de bactéries anaérobies stricts en jarre



Autre exemple : culture de bactéries anaérobies stricts en sachet plastique et en atmosphère contrôlée



4.2. Effet de la température

- Les bactéries peuvent être classées selon leur température optimale de croissance.
- 1- Bactéries mésophiles** (Ex. : *Escherichia coli*) : température de croissance proche de celle du corps humain (37°C)
- 2- Bactéries thermophiles** (Ex. : *Thermus aquaticus*) : températures de croissance comprises entre 45°C et 70°C .
- 3- Bactéries hyperthermophiles** (Ex. : Archaea) : températures de croissance supérieures à 80°C .
- 4- Bactéries psychrophiles** : Températures proches de 0°C (optimum à $10-15^{\circ}\text{C}$).
- 5- Bactéries psychrotrophes** (Ex. : *Pseudomonas*) : températures de croissance proches de 0°C avec optimum de croissance proche des bactéries mésophiles.



Exemple : Dans un laboratoire d'analyse, étuve dont la température intérieure est réglée à 37°C

4.3. Effet du pH

- Le pH (concentration en ion hydrogène $[H^+]$) de l'environnement varie entre 0,5 (sols acides) et 10,5 (eaux alcalines des lacs). On distingue les bactéries:
 - 1- neutrophiles** qui se développent pour des pH sont compris entre 5,5 et 8,5 avec un optimum voisin de 7. La plupart des bactéries médicalement importantes sont ainsi. (ex: *Escherichia coli*)
 - 2- alcalophiles** qui préfèrent les pH alcalins: cas de *Pseudomonas* et *Vibrio*, donc milieux de culture particuliers
 - 3- acidophiles** qui se multiplient mieux dans des milieux acides : cas des *Lactobacillus*.

4.4. Effet de la pression osmotique

- Les bactéries sont assez tolérantes aux variations des concentrations ioniques.
- Certaines espèces sont osmotolérantes (staphylocoques, *Vibrio cholerae*).

4.5. Effet de l'eau libre

- La disponibilité de l'eau présente dans l'atmosphère ou dans une substance intervient dans la croissance bactérienne.
- L'activité de l'eau (A_w) est inversement proportionnelle à la pression osmotique d'un composé. Ainsi, elle est affectée par la présence plus ou moins importante de sels ou de sucres dissous dans l'eau.

** Présence de sels :

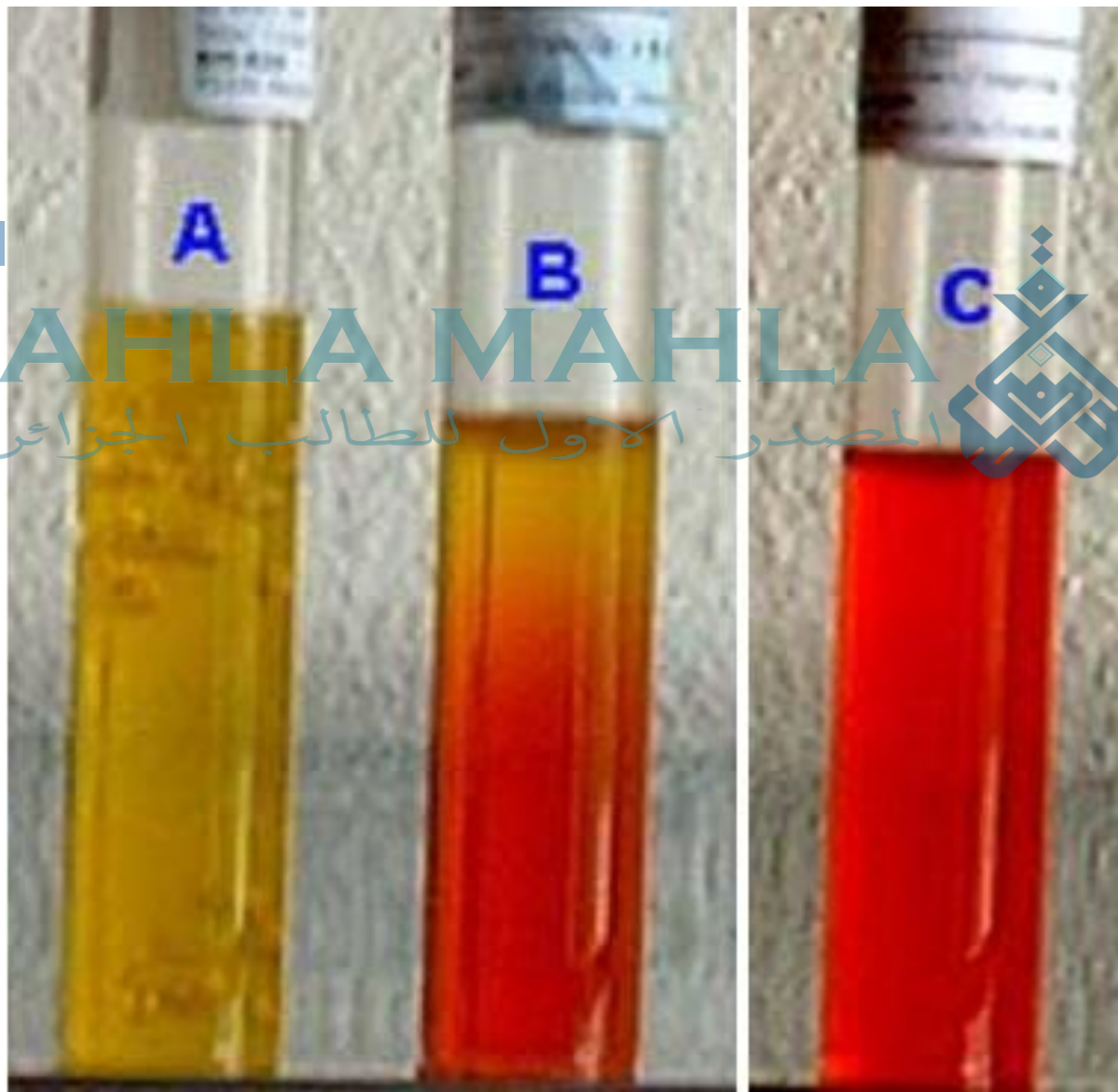
- 1- **Les bactéries halophiles** nécessitent du sel (NaCl) pour leur croissance. Cette concentration peut varier de 1-6% pour les faiblement halophiles jusque 15-30% pour les bactéries halophiles extrêmes (Halobacterium).
- 2- **Les bactéries halotolérantes** acceptent des concentrations modérées de sels mais non obligatoires pour leur croissance (Ex. : Staphylococcus aureus).

** Présence de sucres :

- 1- **Les bactéries osmophiles** nécessitent des sucres pour leur croissance.
 - 2- **Les bactéries osmotolérantes** acceptent des concentrations modérées de sucres mais non obligatoires pour leur croissance.
- ****Enfin les bactéries xérophiles** peuvent se multiplier en l'absence d'eau dans leur environnement.

4.6. Métabolisme énergétique

- On peut opposer les bactéries ayant un métabolisme fermentatif et celles ayant un métabolisme de type respiratoire.
- Pour les bactéries à métabolisme fermentatif, la dégradation du glucose est incomplète et aboutit à la formation de divers composés organiques (acides organiques).
- Pour les bactéries ayant un métabolisme oxydatif, la dégradation se fait par le cycle de Krebs. L'accepteur final d'électron est l'oxygène.
- Chez les bactéries, le système de transport d'électrons est situé dans la membrane cytoplasmique.



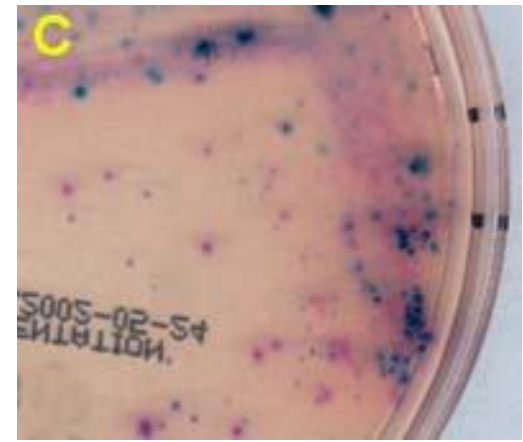
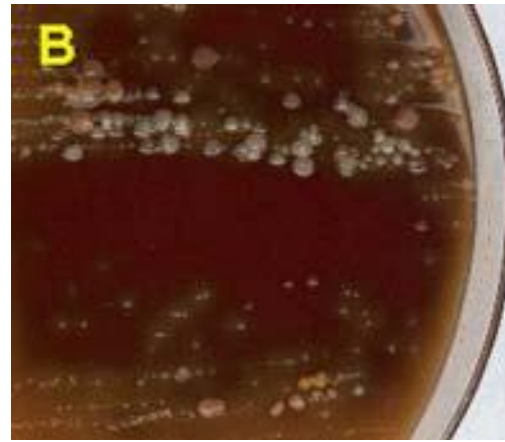
Exemple : Mise en évidence du caractère fermentaire (A) ou oxydatif (B) avec un milieu dit de MEVAG contenant du glucose. Le témoin (C) est le même milieu sans sucre ensemencé de manière identique.

5. Milieux de culture

- Un milieu de culture est composé:
 - ❖ d'un mélange de substrats nutritifs (acides aminés, peptides, bases nucléiques, sucres, etc),
 - ❖ d'un système tampon pour éviter les variations importantes du pH,
 - ❖ de sels minéraux et de vitamines.
 - ❖ d'autres facteurs de croissance (sang, protéines, hémoglobine, vitamines).
- Ils sont de nature **solide**, **semi-solide** ou **liquide**.

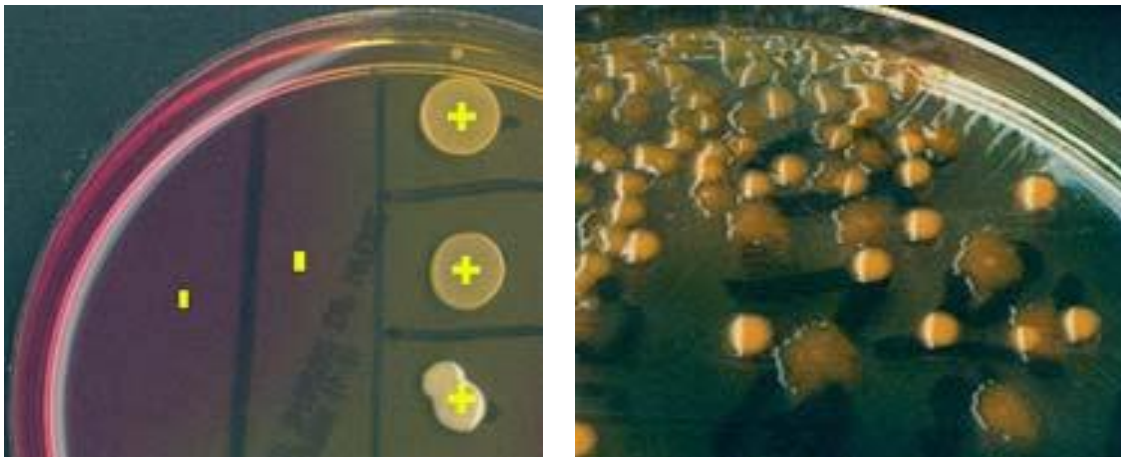
Parmi les milieux de culture, on distingue:

1- **les milieux d'isolement:** qui sont le plus souvent solides (gélifiés) et de composition variable pour permettre le développement de plusieurs espèces bactériennes: gélose au sang frais, gélose dite au sang cuit...



Exemple : isolement d'une aspiration bronchique sur milieu gélosé au sang frais (A), au sang cuit (B) ou contenant des substrats chromogéniques (C)

2- Milieux sélectifs: qui favorisent artificiellement la croissance d'une espèce au détriment des autres tels le **Milieu de Chapman** (hypersalé + mannitol + indicateur de pH), **Drigalski** (sels biliaires + cristal violet + lactose + indicateur de pH)...



Exemple : culture d'une part sur le milieu de Chapman (gauche) de trois souches de *Staphylococcus aureus* et d'autre part sur celui de Drigalski (droite) de *Escherichia coli* et *Proteus mirabilis*

3- Milieux d'identification: permettent au cours de l'isolement ou non de mettre en évidence une ou plusieurs propriétés biochimiques d'une bactérie pour commencer à l'identifier

6. Apparences des colonies

- L'aspect des colonies est le caractère primaire utilisé pour orienter le diagnostic effectué par le bactériologiste. La forme des colonies dépend de:

A) facteurs intrinsèques à la bactérie :

- mobilité,
- morphologie : taille, forme, contour, relief, surface
- production d'une capsule,
- production de matériel extracellulaire,
- pigmentation,
- présence de fimbriae

B) facteurs extrinsèques :

- gradients de solutés créés autour de la colonie
- présence de colorants dans le milieu de culture.