

Définition :

La microbiologie se définit comme l'étude d'organismes trop petits pour être vus à l'œil nu c. à. d. l'étude des microorganismes. Ces microorganismes ont un diamètre inférieur du millimètre (les virus, les bactéries, beaucoup d'algues, de mycètes et de protozoaires). D'autres organismes parmi les algues et les mycètes sont plus grands, visibles à l'œil nu, mais sont étudiés par les microbiologistes. La microbiologie utilise des techniques spécifiques d'isolement et de croissance des microorganismes.

1. Historique

C'est le Hollandais VAN LEEWENHOEK (1632-1723) qui, pour la première fois en 1676, observa et décrit des microorganismes à l'aide de microscopes simples, d'agrandissement de 50 à 300 fois, composés de lentilles doubles convexes maintenues entre deux plaques d'argent. Il décrit "des animalcules" en forme de sphères, bâtonnets et spirilles, dans l'eau de rivière, des décoctions de foin et dans la salive.

L'essor de la microbiologie au cours de la seconde moitié du 19^{ème} siècle est marqué par la découverte du rôle des microorganismes dans les transformations de la matière organique et la genèse des maladies.

L'étude des fermentations par LUIS PASTEUR (1822 – 1895) amena la découverte de leur nature biologique : les fermentations sont produites par des microorganismes (levures ou bactéries) qui se multiplient. Pendant 20 ans PASTEUR poursuivit ses travaux sur les fermentations alcooliques, butyriques, acétiques, et sur les maladies qui les affectent et qui sont dues à des contaminants que l'on peut détruire par chauffage à 56°C; procédé dit **pasteurisation**.

Parallèlement, PASTEUR mit en évidence la présence de microorganismes dans l'atmo-sphère. Il montra que l'introduction et le développement de ces microorganismes dans certains liquides organiques sont la cause de leurs altérations et mit fin aussi à la controverse entre scientifiques de l'époque sur la croyance à la génération spontanée d'êtres vivants microscopiques à partir de matières organiques inertes. Les résultats amenèrent ainsi l'application de méthodes de stérilisation par la chaleur.

La découverte des germes dans l'air eut d'autres conséquences fondamentales, en chirurgie. La pratique de l'antisepsie puis de l'asepsie permit à la chirurgie de faire d'énormes progrès.

La médecine fut révolutionnée par la découverte du rôle des microorganismes dans la genèse des maladies, par les travaux de ROBERT KOCH (1843 – 1910) sur la maladie épidémique de **charbon**. KOCH et ces collaborateurs établirent les bases méthodologiques de la bactériologie médicale.

La découverte, par PASTEUR, de la vaccination par germes atténués, appliquée à grande échelle à la maladie du charbon, marqua le début de la prévention des maladies infectieuses.

Les travaux de WINOGRADSKI (1856 – 1953) et BEIJEEERINCK (1851 – 1831) montrèrent le rôle des bactéries dans la nature. De nombreux microorganismes participent fondamentalement aux grands cycles biologiques naturels, du carbone, de l'azote, du soufre, la remise en circulation des éléments chimiques bloqués dans les déchets organiques et les cadavres végétaux ou animaux, sous des formes minérales simples, assimilables par les plantes, et indispensables à la continuité de la vie sur la terre. C'est alors l'agriculture qui commença à bénéficier des connaissances acquises en microbiologie.

2. Place des microorganismes dans le monde vivant

Avant la découverte des microorganismes (+ de 110000 connus actuellement), tous les êtres vivants étaient classés à l'intérieur du règne animal ou du règne végétal. (**explication**)

La découverte de nouvelles formes vivantes microscopiques rendait difficile leur classement dans le règne animal ou végétal. Les algues (photosynthétiques) et les champignons (en raison de leur immobilité et de la morphologie de certains champignons supérieurs) pouvaient être rapprochés des plantes. Les protozoaires, mobiles, non photosynthétiques, sont souvent considérés comme de "petits animaux". Les bactéries sont assez difficiles à situer. Mais sous leur apparente diversité de taille, de morphologie, l'ensemble constitue le règne des **PROTISTES** (solution proposée par HAECKEL en 1866)

On donne le nom de protistes ou de microbes (micro : petit et bios : vie) aux organismes unicellulaires ou multicellulaires dont les cellules végétatives sont toutes équivalentes et ne présentent aucune spécialisation fonctionnelle.

2.1. Organisation biologique

– La **plupart** des protistes sont des êtres **unicellulaires**, ils sont dits microscopiques. Chaque cellule, indépendante, est donc un "organisme complet". c'est le cas des bactéries, des protozoaires, des algues microscopiques; ceci est rarement trouvé chez les champignons (levures). Ces êtres vivants unicellulaires présentent cependant de grandes différences de taille, de formes et d'organisation interne.

– **Certains** protistes sont **pluricellulaires** ; lorsque le nombre de cellules est petit, la taille reste microscopique. Mais certains organismes multicellulaires, surtout parmi les algues et les champignons, peuvent atteindre des tailles importantes. Leur apparence extérieure (morphologie et taille) les rapprocherait des plantes.

– **Certains** sont **cénocytiques**; c.à.d constitués d'une masse cytoplasmique importante à nombreux noyaux, sans véritable cloisonnement en unités cellulaires. Ils peuvent avoir une taille assez importante.

Chez ces organismes multicellulaires ou cénocytiques, les cellules végétatives ne présentent pas de spécialisation fonctionnelle et sont toutes équivalentes au sein de l'organisme.

2.2. Les types d'organisation cellulaire des protistes

Les algues, protozoaires, et champignons sont formés de cellules présentant certains éléments de structure identiques à ceux des cellules animales et végétales. Ils possèdent une cellule du type **eucaryote** "à noyau vrai" et sont appelés **protistes supérieurs**.

Les bactéries et les algues bleu-vert (cyanobactéries) ont un type de cellule **procaryote**. Se sont des **protistes inférieurs**.

D'autres organismes, qui ressemblent aux bactéries mais, phylogénétiquement, ils ne sont ni eucaryotes ni procaryotes, ont été découverts. Se sont des bactéries très anciennes appelées **archaebactéries**. Elles formeraient une troisième classe de protistes.

2.3. protiste des virus

Les virus ont une taille inférieure à celle de la plupart des bactéries; les protistes les plus petits. Ces agents infectieux invisibles au microscope optique traversent les filtres qui retiennent les bactéries. Ils ont des caractères très particuliers qui les qualifient d'être classés séparément.

3. Caractéristiques générales de la cellule procaryote

La cellule procaryote est entièrement dépourvue de membrane nucléaire; son matériel génétique est présent en suspension dans le cytoplasme sous la forme d'une molécule unique d'ADN circulaire. Cet ADN est répliqué au moment de la division cellulaire par un mécanisme spécifique, sans mitose.

La plupart des cellules procaryotes, sinon toutes, possèdent de petites molécules circulaires d'ADN extrachromosomique : les **plasmides**. Mais elles sont dépourvues d'organites intracellulaires fonctionnellement spécialisés présents chez les cellules eucaryotes.

Les bactéries (procaryotes) se présentent sous des formes peut diversifiées, maintenues par une paroi rigide : forme cylindrique, forme sphérique et des formes spiralées.

Les principaux caractères différentiels, structuraux et fonctionnels des cellules procaryotes et eucaryotes sont résumés dans le tableau suivant :

Structure / fonction	Cellule eucaryote "protistes supérieurs"	Cellule procaryote "protistes inférieurs"	
Appareil nucléaire	<ul style="list-style-type: none"> - entouré d'une membrane nucléaire. - constitué d'ADN associé à des protéines "histones" - organisé en plusieurs chromosomes 	<ul style="list-style-type: none"> - pas de membrane nucléaire "noyau diffus dans le cytoplasme". - constitué d'ADN non associé à des protéines. - chromosome unique circulaire. 	
Cytoplasme	<ul style="list-style-type: none"> - structuré de façon complexe "réticulum endoplasmique..." - en mouvement continu (cyclose) - nombreux ribosomes libres ou sur systèmes membranaires internes 	<ul style="list-style-type: none"> - pas de R.E. - pas de courants cytoplasmiques. - nombreux ribosomes libres. 	
Paroi	<ul style="list-style-type: none"> - non présente chez tous les protistes supérieurs. - rôle de protection. - réseau macromoléculaire formé de : <ul style="list-style-type: none"> • algues vertes : cellulose. • champignon : chitine. 	<ul style="list-style-type: none"> - constante chez les protistes inférieurs. - rôle de protection. - réseau macromoléculaire formé de : mucocomplexe "mucopeptide". 	
Caractéristiques fonctionnelles :	* respiration	<ul style="list-style-type: none"> - organites spécialisés : mitochondries. 	<ul style="list-style-type: none"> - pas de mitochondries; "enzymes localisées au niveau de la membrane cytoplasmique et de mésosomes.
	* reproduction	<ul style="list-style-type: none"> - division nucléaire : mitose. - reproduction sexuée par fusion de 2 cellules reproductrices avec : <ul style="list-style-type: none"> • fusion nucléaire : formation de zygote. • division nucléaire réductrice : méiose. 	<ul style="list-style-type: none"> - division nucléaire : amitose. - phénomènes sexués rares et différents : <ul style="list-style-type: none"> • conjugaison sans fusion cellulaire. • transfert partiel de matériel génétique d'une cellule donatrice à une réceptrice : pas de fusion nucléaire. • pas de division réductrice.

Fonctions facultatives :

*** photosynthèse**

- algues eucaryotes : chloroplastes "taille importante".

- algues bleu-vert et quelques bactéries photosynthétiques : pas de chloroplastes "structure différente, petite taille".

*** mouvement**

- amiboïde "eucaryotes sans paroi"

- pas de mouvement amiboïde "paroi rigide"

- contraction de flagelles "protozoaires, algues"

- contraction de flagelles "structure différente et plus simple".

3. LA PAROI

- 3.1. Composition chimique.
- 3.2. Structure moléculaire.
- 3.3. Fonctions.
- 3.4. Coloration de GRAM.

La paroi constitue l'enveloppe externe des bactéries. A l'exception des mycoplasmes, elle est présente chez toutes les bactéries dont elle assure la forme et la rigidité. Elle est aussi responsable de la protection physique de la membrane plasmique sous-jacente (pression osmotique interne de 5 à 20 at.). Le composant principal de la paroi est un complexe moléculaire appelé **peptidoglycane** (ou encore muco-complexe, mucopeptide ou muréine). D'autres constituants sont présents mais varient selon les espèces, tel que le lipopolysaccharide.

3.1. Composition chimique:

La paroi représente 20% du poids sec de la bactérie. Divers éléments peuvent être représentés selon les espèces:

3.1.1. **Osamines (sucres aminés)**: On distingue généralement la **N-acétylglucosamine (NAG)** et l'**acide N-acétylmuramique (NAM)** (figure 1).

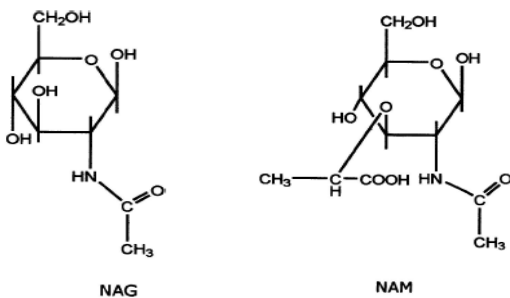


Figure 1

3.1.2. **Acides aminés**: Trois acides aminés sont isolés régulièrement chez toutes les bactéries : La **D** et la **L-alanine**, l'**acide D-glutamique** et la **L-lysine** ou l'**acide di-aminopimélique**. De nombreux acides aminés rencontrés habituellement dans les protéines sont absents.

3.1.3. **Acides teichoïques** : Ils sont uniquement présents chez les bactéries à Gram positif. Deux types ont été isolés : le **polyribitol-phosphate** et le **polyglycérol-phosphate**.

3.1.4. **Oses simples**: Ils sont nombreux : **glucose**, **galactose**, **mannose**. Certains sont spécifiques (rhamnose chez certains strepto-coques).

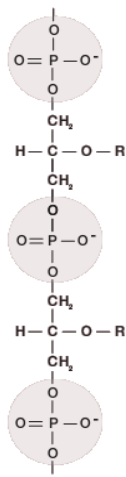


Figure 1

Structure de l'acide teichoïque. Le segment de l'acide teichoïque est formé de phosphate, glycérol, et une chaîne latérale, R. R peut représenter D-alanine, glucose, ou autres molécules.

3.1.5. Lipides: Ils sont présents en faibles proportions ou absents chez les bactéries à Gram positif. Se sont des lipides simples liés aux polysaccharides des bactéries à Gram négatif.

3.1.6. Acides mycoliques: Se sont des acides gras à très longue chaîne (C=60) ramifiée. Ils caractérisent particulièrement les bactéries acido-alcool-résistantes telles les mycobactéries.

3.2. Structure moléculaire :

Il existe une différence de structure entre la paroi des bactéries à Gram positif, qui est plus épaisse (15 à 80 nm) et d'aspect plus homogène, et celle des bactéries à Gram négatif qui est plus fine (6 à 15 nm) et plus hétérogène.

L'élément structural de base de toutes les parois bactériennes est le **peptidoglycane**. Il s'agit d'un polymère de poids moléculaire élevé qui représente jusque 90% du matériel de cette paroi. Il est constitué d'unités de glucos-aminopeptides comportant une molécule de N-acétylglucosamine reliée à une molécule d'acide N-acétylmuramique par une liaison β -gluco-sidique (ces osamines sont alternés dans des chaînes linéaires). L'acide muramique est associé à une chaîne de quatre acides aminés appelée térapeptide.

Ces unités mucopeptidiques sont polymérisées grâce à deux principaux types de liaison ; les liaisons β -glucosidiques réunissant l'acide N-acétylmuramique et le N-acétyl-glucosamine ou l'acide teichoïque, l'association

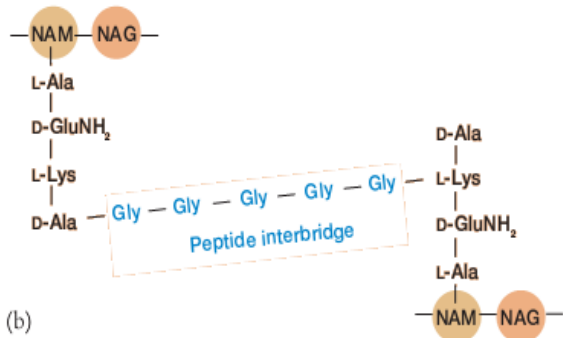


Figure 4. Peptidoglycane de *Staphylococcus aureus* (bactérie à G⁺)

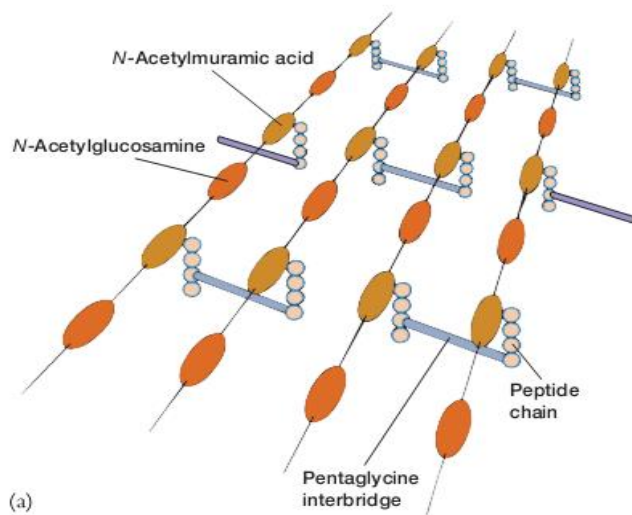


Figure 5. Structure du Peptidoglycane

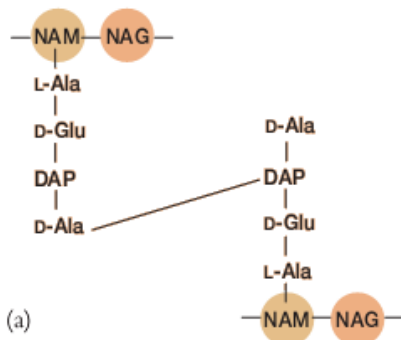


Figure 3. Peptidoglycane d'*E. coli* avec liaisons directes (type de la plupart des Gram négatives).

avec les chaînes peptidiques, d'une part, et le pontage entre la D-alanine d'un tetrapeptide et la L-lysine d'un autre tetrapeptide (liaison inter-peptidique), d'autre part. Cette structure en réseau donne à la cellule sa rigidité.

3.3. Fonction:

L'action du lysozyme détruteur du peptidoglycane (rompt les liaisons β , (1-4) gluc-osidiques) permet de comprendre le rôle de la paroi chez les bactéries. (figure 6)

- Avec une bactérie G^+ (*Bacillus megaterium*), l'action engendre la destruction de la paroi, la cellule gonfle et éclate. Pour éviter la lyse, la pression interne est équilibrée par une forte concentration de saccharose (milieu isotonique). Dans ces conditions, la paroi est détruite mais la cellule n'éclate pas ; elle prend une forme sphérique appelée **protoplaste** qui a perdu ses propriétés initiales antigéniques, ne fixe plus le bactériophage et ne se divise pas.
- Avec une bactérie G^- (*Escherichia coli*) et en milieu hypertonique, la paroi est détruite mais la cellule n'éclate pas ; elle prend une forme globuleuse appelée **sphéroplaste** qui conserve toutes ses propriétés initiales.

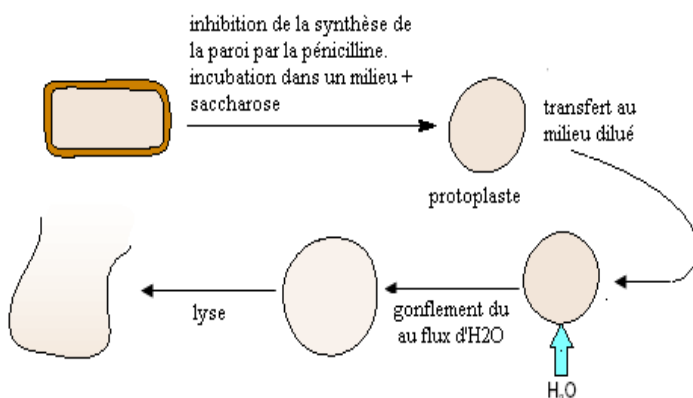


Figure 6

La différence est logique puisque les bactéries G^- possèdent, en plus du peptidoglycane, d'autres couches qui restent intactes.

On peut conclure que :

La paroi joue un rôle dans la forme de la cellule.

Elle joue un rôle dans la résistance à la pression interne de la cellule.

3.4. Coloration de GRAM:

La coloration de Gram consiste à traiter un frottis ou un étalement bactérien séché, fixé à la chaleur, par une solution de violé de gentiane (cristal violet), puis par une solution iodo-iodurée (Lugol). En soumettant la préparation à l'action de l'éthanol, les cellules bactériennes réagissent de deux façons et forment deux groupes : les unes dites Gram négatif se décolorent rapidement sous l'action du solvant ; les autres au contraire conservent leur coloration violette et sont dites Gram positif. Pour accentuer le contraste, la préparation est finalement traitée par de la fuchsine ou de la safranine : les bactéries G^- se colorent en rose, tandis que les bactéries G^+ restent colorées en violet.

Lorsque les bactéries G^+ sont colorées par la méthode de Gram puis soumises à l'action du lysozyme, les protoplastes obtenus sont également colorés en violet. Le siège de la coloration se situe donc au niveau du cytoplasme. Les protoplastes traités par l'alcool se décolorent instantanément. La paroi des G^+ constitue une barrière interdisant le passage de l'éthanol ; celle des G^- l'autorise, et le cytoplasme coloré en violet se décolore. La coloration de Gram traduit bien une différence de structure pariétale chez les bactéries en même temps qu'une différence fonctionnelle.

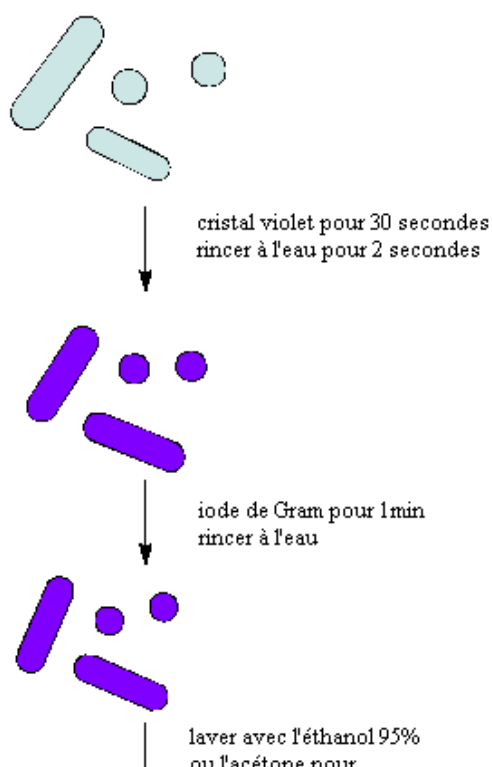


Figure 7. Procédure de la coloration de Gram.

La décoloration par l'éthanol ou l'acétone enlève le cristal violet des cellules gram-négatives mais non des cellules gram-positives. Les cellules gram-négatives se transforment en rose quand sont contre

4. LA MEMBRANE PLASMIQUE :

Elle entoure le cytoplasme de la cellule bactérienne et constitue le point principal de contact avec l'environnement cellulaire. La membrane cytoplasmique est responsable des rapports avec le monde extérieur.

La membrane cytoplasmique contient à la fois des protéines et des lipides en proportions variables.

Le phénomène de plasmolyse, au cours duquel le cytoplasme d'une bactérie placée en milieu hypertonique se rétracte, ne peut s'expliquer que par l'existence d'une membrane. Des membranes peuvent être isolées par centrifugation différentielle à partir de protoplastes lavés puis lysés en milieu isotonique. La membrane cytoplasmique a une épaisseur de 7.5 nm environ et comporte un feuillet interne transparent de nature lipidique pris entre deux feuillets denses de nature protéique.

4.1. Composition chimique:

L'analyse chimique des membranes révèle trois types de substances : des lipides, des protéines et des glucides. En poids, les protéines dépassent les lipides qui paraissent abondants; les proportions sont environ de 60% à 70% de protéines et de 30 à 40% de lipides. Les glucides (glucose, glucosamines...) sont quantitativement des constituants mineurs. Les protéines existent sous de très nombreuses formes (100 espèces reconnues).

Dans une membrane donnée, il n'existe que quelques espèces de lipides. A part les mycolames, le cholestérol n'est jamais rencontré chez les bactéries. Leurs membranes contiennent des phospholipides (le phosphatidylglycérol et/ou la phosphatidyléthanolamine).

Les membranes des bactéries G⁺ contiennent l'un de ces composants ou les deux avec plusieurs autres substances telles que l'acide phosphatidique et le diphosphatidylglycérol, tandis que les membranes des bactéries G⁻ ne renferment qu'un seul ou deux types de molécules lipidiques.

La membrane plasmique contient surtout les enzymes de la chaîne respiratoire ; les déshydrogénases et les coenzymes qui leur sont fonctionnellement associés : NAD, FAD, cytochromes, cytochromes oxydases.

D'autres enzymes impliqués dans la synthèse des lipides complexes, dans les constituants de la paroi et dans la réplication de l'ADN y sont localisés.

4.2. Structure :

Les lipides sont à la base de la structure de la membrane. Chaque molécule est amphipatique (ou amphiphile) ; elle est caractérisée par une partie hydrophobe soluble dans l'huile, insoluble dans l'eau, et

une partie hydrophile ayant les propriétés opposées et porteuse d'un groupement phosphate chargé négativement (PO_4^-).

Les molécules s'organisent en deux couches moléculaires, le double feuillet. Les molécules hydrophobes se font face et sont protégées du milieu aqueux tandis que les têtes hydrophiles externes y sont immergées. Cette organisation empêche le passage des molécules hydrophiles et constitue ainsi une véritable barrière imperméable à ces substances.

Comme dans toutes les membranes, on distingue dans la membrane deux catégories de protéines : les protéines **extrinsèques** et les protéines **intrinsèques**.

Les protéines **extrinsèques** ou protéines périphériques sont liées faiblement à la membrane ; elles apparaissent sur l'une des deux faces du double feuillet et n'ont aucun groupe inséré dans la zone hydrophobe. Les protéines intrinsèques ou internes traversent plus ou moins profondément ou complètement le double feuillet membranaire pour apparaître sur les deux faces, interne et externe de la membrane.

4.3. Fonctions :

Outre son rôle dans le processus de biosynthèse, la membrane joue un rôle essentiel dans la respiration et dans les transferts de substances.

4.3.1. Respiration :

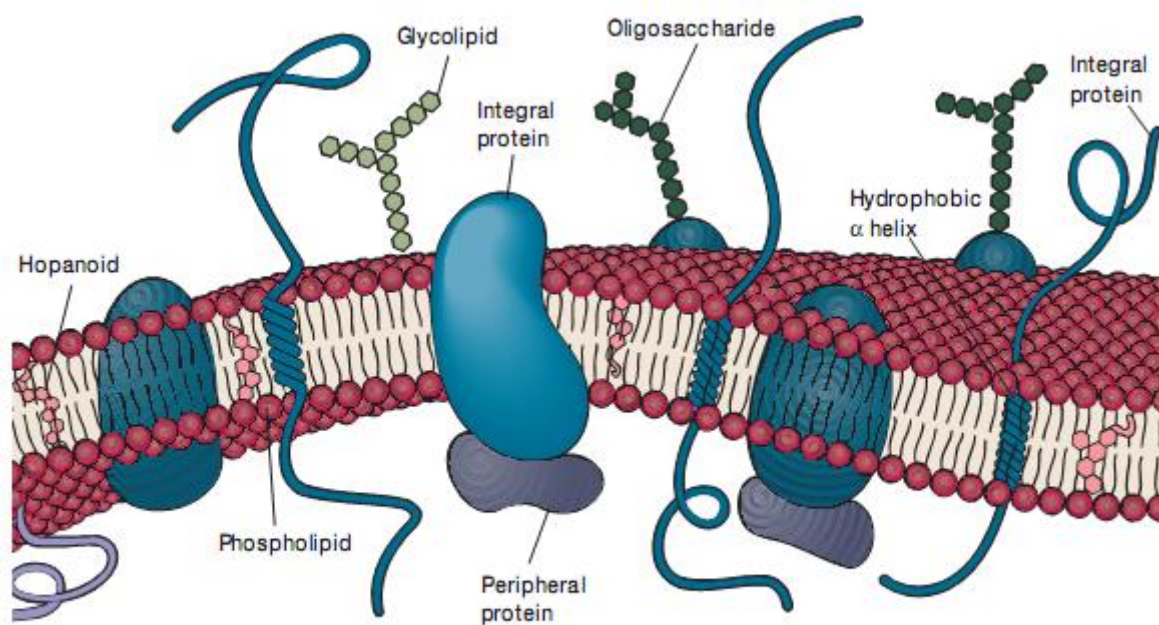
La membrane est le support des enzymes impliquées dans la respiration cellulaire, elle représente l'équivalent structural et fonctionnel des mitochondries des cellules eucaryotes. Au niveau de cette membrane, les réactions d'oxydoréduction amenant la dégradation des substrats assurent la libération d'une certaine quantité d'énergie qui est récupérée sous forme d'ATP.

4.3.2. Transfert de substances :

La membrane cytoplasmique joue le rôle de barrière en empêchant la fuite des composés intracytoplasmiques et les pénétrations libres (anarchiques) des constituants extracellulaires. Elle assure les échéances en absorbant les éléments utiles au métabolisme, en excréant d'autres molécules et en éliminant les déchets. Elle régit donc l'entrée et la sortie des métabolites. Perméable à l'eau et à de nombreuses molécules, elle sélectionne le passage de certaines petites molécules organiques et empêche celui des composés macromoléculaires.

On parle de transport passif lorsque la diffusion des substances s'effectue conformément aux lois de l'osmose, dans le sens du gradient de concentration, c'est-à-dire du milieu le plus concentré vers le milieu le moins concentré.

Dans la plupart des cas, les échanges à travers la membrane échappent aux lois de diffusion : les bactéries admettent et concentrent sélectivement certaines substances. Cette sélectivité met en œuvre des transporteurs protéiques analogues aux systèmes enzymatiques. Ce sont des perméases qui interviennent dans le passage de certains métabolites (acides aminés, sucres, acides organiques...) ; on parle donc de transport actif. La pénétration implique la formation d'un complexe entre le substrat et le transporteur membranaire, le passage du complexe à travers la phase lipidique de la membrane puis la dissociation du complexe à la surface de la membrane interne. Le passage des métabolites à travers la membrane n'est pas à sens unique mais régi par un mécanisme dans lequel la pénétration continue est contrebalancée par une sortie également continue. Le mécanisme de transport actif est consommateur d'énergie (ATP).



Structure de la membrane plasmique bactérienne

5. CYTOPLASME:

5.1. Ribosomes.

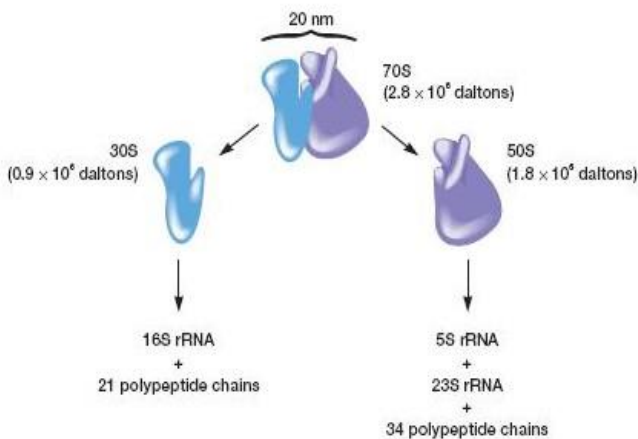
5.2. Substances de réserve.

5. Cytoplasme:

C'est un hydrogel colloïdal, pauvre en structures intracellulaires. Il contient en suspension le matériel génétique bactérien, de très nombreux ribosomes et quelques inclusions dont la présence est facultative. Son pH est situé entre 7 et 7.2. Il comporte en solution ou en suspension: des ions, des enzymes, des métabolites organiques, des lipides et une large variété de composés solubles. Le cytoplasme est le siège de la plupart des réactions métaboliques cellulaires.

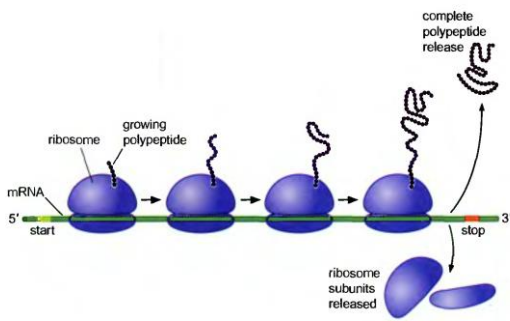
5.1. Ribosomes:

Les ribosomes sont les principales structures intracellulaires communes à toutes les bactéries. Ce sont de petites granulations sphériques, de 10 à 20 nm de diamètre et de PM 2.7 million, qui paraissent remplir totalement le cytoplasme, excepté les régions nucléaires. Leur constante de sédimentation est de 70S. Ces particules sont constituées de deux (02) unités associées: les unes ont une C^{te} de sédimentation de 50S et les autres, moins volumineuses, de 30S. (figure)



Les ribosomes sont constitués d'ARN (63 - 65%) et de protéines (35 - 37%). L'ARN ribosomal représente 80 - 90% de l'ARN total cellulaire.

Les ribosomes sont le siège de la biosynthèse des protéines. C'est à leur niveau que les acides aminés s'unissent les uns aux autres par liaison peptidique pour former une chaîne peptidique. Dans les cellules en phase active de biosynthèse protéique, les ribosomes sont souvent associés par de minces filaments d'ARN messager, réalisant ainsi des structures en chapelets qu'on appelle des polyribosomes ou polysomes. (figure)



Les cellules bactériennes contiennent des quantités variables de ribosomes allant de **5000 à 50000** (*E. coli* en contient appr.18000); leur nombre varie selon le taux de croissance et il est maximal durant la phase d'accélération de la croissance.

La différence entre les ribosomes des bactéries (70S) et ceux des eucaryotes (80S) est d'une grande importance dans la lutte contre les bactéries pathogènes; certains antibiotiques inhibent spécifiquement la synthèse protéique réalisée par les ribosomes à 70S sans affecter la fonction des ribosomes à 80S.

5.2. Substances de réserve:

Certaines bactéries **accumulent** dans leur cytoplasme des produits de réserve en forme de **granules** au contact direct du cytoplasme ou **limités** par une **mince enveloppe** de lipides. Ces granules peuvent être **mobilisés** au profit du **métabolisme cellulaire** dès que les conditions sont favorables. Ces **matériaux organiques** ou **inorganiques** constituent généralement des **réserves d'énergie**.

De nombreuses bactéries comme les **entérobactéries**, les *Bacillus* ou les *Clostridia*, mettent en réserve du **glycogène** (polymère ramifié de glucose). **D'autres** espèces appartenant aux genres *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Azotobacter*... **accumulent** des produits **carbonés lipidiques** sous forme d'acide β -hydroxybutyrique. D'autres encore peuvent **accumuler les deux** types du matériel de **réserve** tel est le cas des bactéries **pourpres** des *Sphaerotilus* tandis que d'autres en sont dépourvues (bactéries vertes).

Des **réserves azotées** peuvent être rencontrées chez les **cyanobactéries** qui accumulent la **cyanophycine** (polymère d'arginine et d'aspartate). Ces acides aminés servent de précurseurs pour la biosynthèse d'autres acides aminés et d'acides organiques.

Des **granulations chromatiques** ou vultines constitués de polyphosphates **inorganiques** sont associés à la région nucléaire et peuvent représenter jusqu'à 50% des phosphates cellulaires. Ces **granules** sont **intégrés** à la composition des acides nucléiques, des phospholipides, des acides teichoïques et des nucléotides (ATP, GTP, NAD⁺, FAD).

Des inclusions de soufre ou de fer sont aussi caractéristique de certaines bactéries: les thiobactéries; telles que les *Beggiatoa* et les *Thiobacillus* qui tirent leur énergie de l'oxydation de l'hydrogène sulfuré. Les bactéries qui oxydent le fer contiennent des inclusions cytoplasmiques d'hydroxyde ferrique qui peut être également incrusté dans les gaines des sidérobactéries.

6. APPAREIL NUCLEAIRE :

6. Le chromosome : morphologie

6.1.. Composition chimique et Structure

6.2. Réplication.

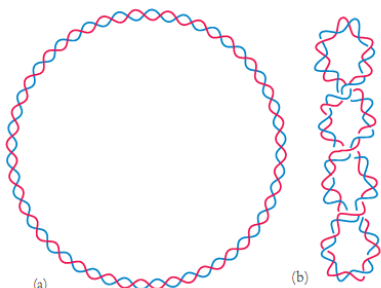
Le génome bactérien est le plus petit des cellules vivantes. Il est formé d'ADN et constitue le support de l'hérédité des bactéries. Il stocke et contrôle toutes les activités et les fonctions bactériennes. D'autres structures d'ADN extrachromosomiques sont également présents ; les plasmides qui sont responsables de l'expression phénotypique de nombreux caractères métaboliques additionnels.

6. Le chromosome : morphologie

L'observation au microscope électronique révèle que l'appareil nucléaire n'est pas entouré d'une membrane ; contrairement au noyau de la cellule eucaryote. Le corps chromatinien présente une structure fibrillaire constituée principalement d'ADN. Cette molécule est en suspension dans le cytoplasme cellulaire où elle est enroulée en un anneau.

L'ADN bactérien a une structure bicaténaire : constituée de l'association complémentaire de deux brins appariés en une double hélice, appelée génophore ou chromosome qui est situé dans un espace cytoplasmique appelé région nucléaire ou nucléoïde. Ce dernier prend une forme variable, selon les espèces et leur état physiologique.

Dans la bactérie, l'anneau d'ADN se présente en une structure pelotonnée liée à la membrane cytoplasmique. Il est toujours associé à de l'ARN et à des protéines dont principalement l'ADN polymérase. La double hélice de l'ADN est enroulée formant des boucles fixées sur un résidu central d'ARN. Ces boucles présentent un enroulement supplémentaire sur elles même : les superenroulements (super hélice ; + d'une paire de bases dans une unité de longueur)(Fig)



ADN circulaire en double hélice (a) et superhélice (b)

Le chromosome déroulé d'*E. coli* mesure 1,3 mm, soit 1000 fois sa taille. Il est formé d'environ 4 million de paires de bases, d'un poids moléculaire de $2,9 \times 10^9$ Da (3000 gènes).

A l'image de l'ADN des cellules eucaryotes, qui est couplé à des protéines basiques : les histones, l'ADN des bactéries est neutralisé, non par les histones qui n'ont jamais été isolés chez les bactéries mais par des cations Mg^{+} ou Ca^{+} et des protéines basiques de types polyamines : les protéines P.

De nombreuses bactéries présentent 02 ou même 04 chromosomes dont certains sont partiellement formés. Cette situation s'explique par le fait que chez les bactéries à croissance rapide, la duplication des différents éléments cellulaires est relativement moins rapide que celle du chromosome dont la copie est initiée avant même que l'ensemble de sa structure originale ne soit terminée.

6.1. Composition chimique et structure.

L'acide désoxyribonucléique est un polymère de poids moléculaire élevé, composé de nucléotides. Chaque nucléotide est formé d'un groupement phosphoré, d'un sucre à 05 atomes de carbone (le désoxyribose) et d'une base purique (adénine A ou guanine G), ou pyrimidique (cytosine C ou thymine T). Le groupement phosphoré est un phosphodiester en position 3' et 5' du désoxyribose.

Les nucléotides s'unissent les uns aux autres par des liaisons diester établies entre les fonctions acides de l'acide phosphorique et les fonctions alcools du sucre. De longues chaînes polynucléotidiques se constituent ainsi, formant une épine dorsale avec des projections latérales par les bases organiques fixes aux molécules de sucre.

Dans tous les ADN d'origine bactérienne, les chaînes sont associées par deux et maintenues par des liaisons hydrogènes qui relient les molécules de bases.

Selon WATSON et CRICK, « la molécule d'ADN est constituée d'une double hélice enroulée à la manière d'une échelle de corde autour d'un axe imaginaire ».

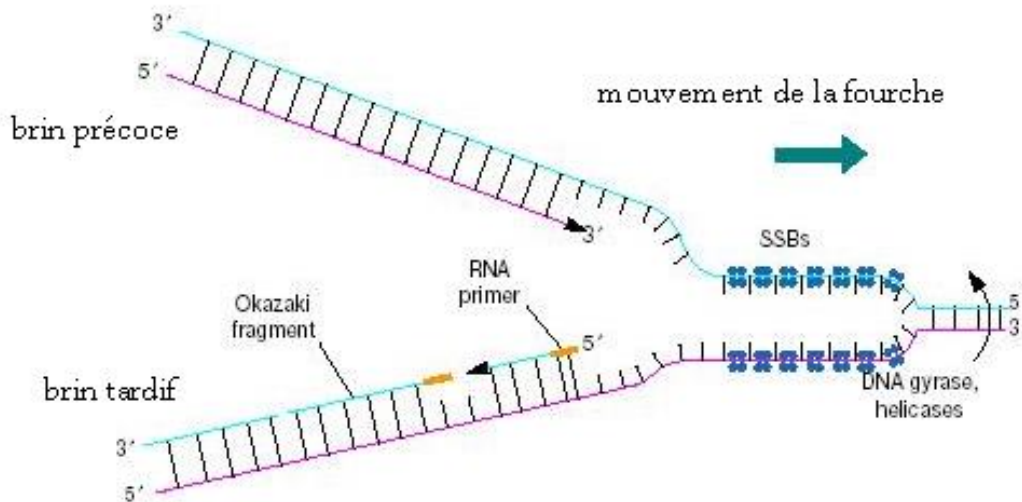
- Les 02 montants de l'échelle sont constitués par les squelettes désoxyribophosphates et les barreaux de l'échelle par les paires de bases.
- La distance séparant les 02 chaînes latérales est constante. L'appariement A-T et C-G est capable de maintenir le parallélisme.
- La largeur de la double hélice est de 02 nm, les nucléotides se succèdent tous les 0,34 nm. Un tour complet de l'hélice est réalisé tous les 3,4 nm, faisant intervenir un enchaînement de 10 nucléotides.
- Les 02 chaînes de la double hélice ont des polarités opposées par rapport aux liaisons 3' - 5' des désoxyriboses avec les phosphates.

6.2. Réplication.

La réplication ou la duplication chez les bactéries se fait de la même manière que chez les cellules eucaryotes c.à.d. selon un mécanisme semi-conservatif.

Chez *E. coli* la réplication commence à un seul endroit, l'origine. La séparation de la structure en double brins aboutit à la formation d'une **fourche de réplication**. 02 fourches de réplication se déplacent à partir de l'origine jusqu'à la copie totale du réplicon : 02 chromosomes sont formés.

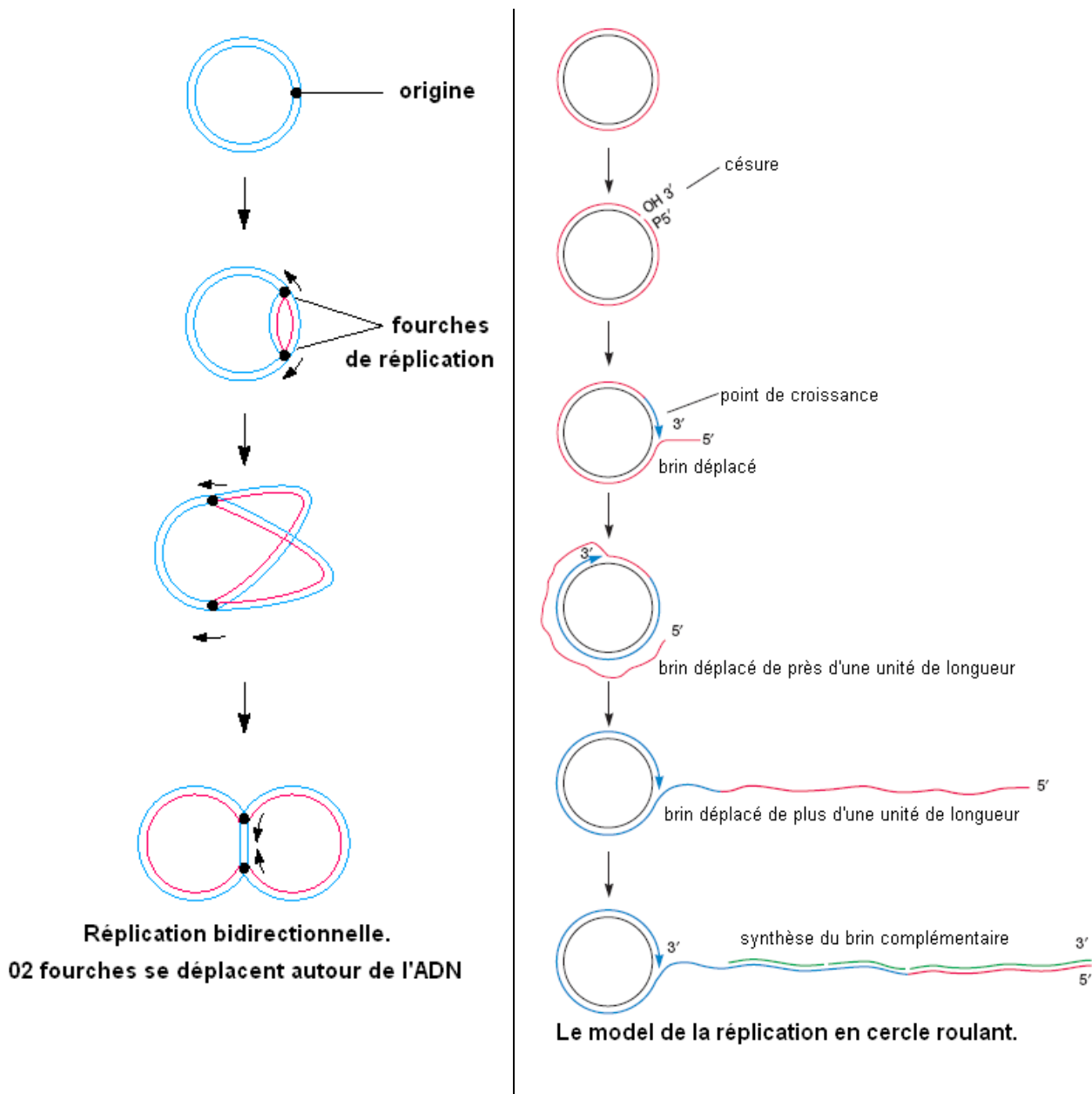
Durant la conjugaison d'*E. coli* le mode de réplication s'effectue en **cercle roulant**. Un brin est



Réplication de l'ADN bactérien :

diagramme général de la synthèse d'ADN d' *E. coli*

coupé et l'extrémité 3' s'agrandit grâce aux enzymes de la réplication. Le point de croissance tourne autour de la molécule circulaire et l'extrémité 5' du brin se déplace formant une queue « monobrin ». Celle-ci peut être convertie en double brin par la synthèse du brin complémentaire.



Mécanisme de réplication de l'ADN.

Le mécanisme de réplication chez *E. coli* met en œuvre un complexe multienzymatique appelé **réplisome** composé au moins d'une **trentaine** (30) de **protéines**. La réplication **commence** par **l'ouverture** de la double hélice de l'ADN en un point **d'origine** fixe. Ce site est composé de 100 à 200 **paires** de **bases riches** en **A-T**.

E. coli possède 03 ADN polymérases différentes, chacune catalysant la synthèse de l'ADN dans la direction $5' \rightarrow 3'$, en lisant la séquence de l'ADN matrice dans la direction $3' \rightarrow 5'$ (fig). Les nucléotides sont ajoutés aux extrémités 3 OH de la chaîne en croissance. L'ADN polymérase III joue le rôle majeur

dans la réplication et probablement aussi la polymérase I. Les polymérase I et II sont considérées comme réparateurs de l'ADN endommagé.

Les **hélicases**, ATP dépendantes, sont responsables du déroulement. Les super-enroulements sont enlevés par les **topoisomérases** (ADN girase).

Au cours de la réplication, les 02 brins séparés sont stabilisés par des protéines spécialisées SSB (Single-Stranded DNA Binding Proteins : protéines se liant à l'ADN simple brin).

Le processus de réplication est déroulé selon 04 phases :

- 1- L'hélicase déroule l'hélice avec la participation de l'ADN girase, et les brins séparés sont stabilisés par les protéines SSB.
- 2- L'ADN est répliqué de manière continue, par l'ADN polymérase III, sur le brin précoce ; et discontinue sur le brin tardif. Sur ce dernier, le mécanisme implique la formation de fragments, dans la direction 5' - 3', ajoutés à de petits fragments d'ARN (ARN primer : amorce) synthétisés par la primase (primase + protéines assistantes = primosome). Ces fragments d'ADN de 1000 à 2000 nucléotides sont appelés fragments OKAZAKI.
- 3- Après duplication d'une grande partie du brin tardif par des fragments OKAZAKI, l'ADN polymérase I ou l'ARNase H enlève les amorces d'ARN. Les vides ainsi engendrés sont complétés par l'ADN polymérase I ou III.
- 4- Finalement, les fragments sont raccordés par l'**ADN ligase** qui forme une liaison phospho-diester entre le groupement 3OH du brin en croissance avec le groupement 5`phosphate du fragment OKAZAKI. (fig)

7. LES PLASMIDES

7.1. Structure

7.2. Propriétés.

La conjugaison, le transfert d'ADN entre les bactéries impliquant le contact direct, dépend de la présence d'une molécule d'ADN extrachromosomique connue sous le nom de plasmide.

Les plasmides sont de petites molécules d'ADN circulaire, capables de se répliquer de manière autonome et sont présents chez beaucoup de bactéries. Ils sont présents aussi chez quelques levures et d'autres champignons.

L'ADN plasmidique se distingue des acides nucléiques des bactériophages (virus qui infectent des bactéries) par 02 caractères fondamentaux : ils ne provoquent aucun dommage aux cellules bactériennes qui les hébergent et ils n'ont aucune existence autonome à l'état libre en dehors des bactéries.

7.1. Structure

Le plasmide est une molécule d'ADN bicaténaire, circulaire et surenroulée, d'un poids moléculaire de 0.5 à 400 Mda (mégadalton = 1 million) et contient un petit nombre de gènes ; généralement moins de 30. Mais il existe quelques plasmides de structure linéaire.

La cellule bactérienne peut héberger de nombreux plasmides distincts les uns des autres selon leur nature et l'espèce bactérienne. Certains plasmides sont en nombre réduit (1 à 10 copies), d'autres sont plus nombreux (10 à 100 copies). Une bactérie peut héberger plusieurs types de plasmides ; plus leur taille est importante et moins ils sont nombreux.

Les plasmides sont généralement formés de séquences nucléotidiques différentes de celles du chromosome bactérien, ce qui montre qu'ils lui sont étrangers.

7.2. Propriétés.

L'acquisition des plasmides augmente le potentiel d'adaptation des bactéries en leur conférant des propriétés additionnelles. Certains plasmides portent des gènes confèrent plusieurs propriétés phénotypiques à la cellule hôte.

Les principales fonctions codées par les plasmides sont :

- a) **La résistance aux antibiotiques** : les plasmides de résistance (plasmides R ou facteurs R) ont des gènes qui codent pour des enzymes capables de détruire ou modifier les antibiotiques. Certains plasmides R ont seulement un gène de résistance, d'autres ont un nombre pouvant atteindre 08.

Parce que les facteurs R sont des plasmides conjuguants, ils peuvent propager et s'étendre sur toute une population bactérienne.

- b) **Production de toxines** : certains plasmides appelés plasmides de virulence rendent la bactérie qui les héberge plus pathogénique, car elle devient plus résistante à la défense de l'hôte ou à la production de toxines. Par exemple les souches entérotoxiques d'*E. coli* causent différents types de diarrhée car elles contiennent des plasmides codant pour une entérotoxine et d'autres substances qui assure l'adhésion de la bactérie à l'épithélium intestinal puis son envahissement.
- c) **Production de bactériocine** : les bactéries contiennent des plasmides (plasmides Col) qui leur confèrent un avantage compétitif dans le monde microbien. Les bactériocines sont des protéines bactériennes qui détruisent d'autres bactéries. Elles agissent, sur des souches de la même espèce ou d'espèces voisines de la souche productrice, par la formation de canaux dans leurs membranes plasmiques, ainsi élèver la perméabilité ou attquer le peptidoglycane et affaiblir la paroi cellulaire. Les plasmides Col contiennent des gènes pour la syntèse des bactériocines connues sous le nom de **colicines** qui sont dirigées contre *E. coli*. la bactérie productrice n'est pas affectée par les bactériocines qu'elle produit.
- d) **Caractères métaboliques** : les plasmides qui codent pour les caractères biochimiques sont appelés plasmides métaboliques. Ils contiennent des gènes codant pour des enzymes qui dégradent des substances comme les composés aromatiques (toluène), les pesticides (2-4 dichlorophénoxyacétique acide), et des sucres (lactose).

D'autres fonctions physiologiques ont aussi un support plasmidique : la fixation de l'azote, production d'H₂S, et la production de pigments.

10. SPORES

10.1. Morphologie et structure.

10.2. Sporulation.

10.3. Propriétés.

10.4. Germination.

Dans les conditions nutritionnelles défavorables, certaines espèces bactériennes se transforment en petites unités de résistance; les spores ou endospores: se sont des formes de résistance capables de retourner à la forme végétative dans les conditions physicochimiques favorables.

10.1. Morphologie et structure:

La spore bactérienne apparaît comme un espace claire, réfringent et ovoïde. Sa position dans la cellule peut être centrale, subterminale ou terminale.

En microscopie électronique, la spore apparaît constituée d'une région centrale entourée de plusieurs enveloppes.

La région centrale présente des zones claires représentant le matériel nucléaire et d'autres sombres représentant les acides nucléiques et les substances de réserve. Les enveloppes qui entourent cette région ont des structures et des compositions variées:

- la paroi sporale : formée d'un peptidoglycane normale qui deviendra la paroi après la germination.
- le cortex: couche épaisse transparente formée d'un peptidoglycane inhabituel très sensible au lysozyme et contenant le dipicolinate de calcium.
- les tunique (interne et externe): composée d'une protéine riche en liaisons disulfures (kératine). Elles sont imperméables et responsables de la résistance aux agents chimiques.
- l'exosporium : c'est la couche la plus externe. Il est formé d'une membrane lipoprotéinique contenant des sucres; il n'est pas essentiel à la survie de la spore.

10.2. Sporulation.

Le processus de sporulation se déclenche à la fin de la phase exponentielle de croissance ou en début de la phase stationnaire. Il dure de 7 à 10h pendant lesquelles la cellule subit de profondes modifications métaboliques morphologiques menées parallèlement.

* modifications morphologiques: généralement différenciées en 7 phases:

- **Stade I:** changement de l'ADN en un filament chromatique axial comprenant 02 génomes.

- **Stade II:** après séparation, l'un des 02 génomes occupe un pôle de la cellule en même temps qu'apparaît une invagination de la membrane plasmique séparant la cellule en 02 compartiments asymétriques:
 - **Stade III:** formation de **présore** ovoïde qui est progressivement entourée de la membrane de la cellule mère où elle se trouve (02 enveloppes sont formées).
 - **Stade IV:** entre les 02 membranes se forme une **paroi sporale** puis le **cortex**.
 - **Stade V:** formation des 02 enveloppes de nature protéique; les **tuniques sporales**.
 - **Stade VI:** lyse de la cellule mère après maturation de la spore.
 - **Stade VII:** libération de la spore mûre dépourvue de toute activité métabolique.
- * chez quelques bactéries (ex. *Bacillus cereus*), une enveloppe externe se forme; c'est l'**exosporium**.

* **modifications métaboliques:**

Les biosynthèses cellulaires subissent différentes variations:

- accumulation de matériel protéique et de substances de réserve. Ce phénomène est accompagné de production de toxines et d'antibiotiques.
- dégradation des protéines principales de la cellule végétative.
- apparition de nouveaux composés: ac.dipicolinique qui combine avec les ions Ca^{+} produits en même temps formant ainsi le dipicolinate de calcium.
- diminution de la teneur en eau jusqu'à 20% de la teneur initiale.

10.3. **Propriétés.**

10.3.1. Thermorésistance: alors que les cellules végétatives sont détruites par un chauffage de 10 min à 80°C, les spores peuvent vivre et résistent à de températures plus élevées (quelques heures à 100°C). Cette propriété constitue un problème dans les hôpitaux et les industries alimentaires. La thermorésistance des spores est essentiellement en rapport avec le dipicolinate de calcium formé uniquement au cours de la sporulation et de la teneur basse en eau qui est préservée grâce à l'imperméabilité des enveloppes dont principalement le cortex.

En résumé, la résistance sporale contre la chaleur est probablement due à différents facteurs : dipicolinate de calcium, les protéines solubles dans l'acide stabilisant l'ADN, la déshydratation des protoplastes et la grande stabilité des protéines cellulaires des bactéries adaptées à la croissance dans les environnements à haute température.

10.3.2. Résistance aux agents chimiques et physiques:

La spore présente une résistance importante aux rayons UV, X et les ultrapressions. Ses propriétés et sa survie ne sont pas gravement affectées au contact des agents antiseptiques. Les antibiotiques sont légèrement sporostatiques par rapport à leur effet bactéricide sur les cellules végétatives.

10.3.3. Synthèse d'antibiotiques: ces substances antibactériennes et d'autres produits comme les protéases et les ribonucléases sont synthétisées au moment de l'engagement t irréversible de la sporulation.

10.4. Germination:

Après une période de dormance, la spore peut retourner rapidement à son état initial en présence des conditions favorables de croissance et suite d'une activation exercée par des chocs physiques ou chimiques.

Le processus de germination implique 03 étapes : activation, germination ou initiation et excroissance d'une cellule végétative à partir de la structure sporale. Après activation, les spores peuvent germer en présence de nutriments spécifiques (ac aminés, glucides, ions inorganiques...). La spore perd sa refractilité, sa résistance parallèlement à la perte de dipicolinate de calcium et du cortex. L'excroissance implique le gonflement de la spore qui résulte de sa réhydratation et de la synthèse de nouvelles molécules de protéines (ADN, ARN...). La cellule végétative émerge des enveloppes sporales et s'engage dans un processus de croissance si les conditions du milieu le permettent.

8. LA CAPSULE

8.1. Morphologie

8.2. Composition chimique

8.3. Fonctions

De nombreuses bactéries synthétisent et sécrètent des substances organiques qui se déposent et s'accumulent, autour de leur paroi, en couche plus ou moins compacte et d'épaisseur variable. Lorsque cette couche présente une surface libre et nettement définie, elle est appelée capsule. Si ces structures sont plus diffuses et abondamment sécrétées, elles sont généralement appelées couches visqueuses.

Toutes les bactéries ne produisent pas de capsule et, chez une même souche, la formation de capsule est largement influencée par les constituants du milieu. Les glucides jouent un rôle important.

La capsule peut être aisément éliminée par un lavage avec une solution saline et souvent par l'effet mécanique d'une simple agitation d'une suspension bactérienne. Elle n'a pas de fonction vitale pour les bactéries, qu'elles peuvent croître et se multiplier après l'avoir perdue.

8.1. Mise en évidence et morphologie:

Pour mettre en évidence la capsule chez les bactéries, on procède habituellement à la coloration à l'encre de Chine: sur le fond noir de la préparation constitué par un mélange d'encre de Chine et de suspension bactérienne, la capsule apparaît comme un halo brillant, réfringent entourant le corps bactérien.

La capsule paraît entourer une cellule bactérienne ou quelquefois une courte chaînette de quelques cellules. Sa présence donne aux colonies obtenues en milieu solide un aspect muqueux caractéristique (ex. *Klebsiella pneumoniae*). Les amas visqueux entourant et noyant dans leur masse un grand nombre de cellules sont appelés zooglées (ex. *Zoogloea ramigera*).

8.2. Composition chimique:

La capsule, qui est une structure facultative, est le plus souvent de nature polysidique. Les capsules contenant des polysides sont également désignées par le terme de **glycocalyx**. Selon les espèces le glycocalyx peut être plus ou moins épais et rigide, en fonction de sa structure chimique, généralement formé d'une large variété de polysaccharides incluant des glucides aminés. Pour quelques bacilles Gram positif, principalement le genre *Bacillus*, les substances capsulaires sont des polypeptides, constitués le plus souvent d'un seul type d'acide aminé.

8.3. Fonctions:

La capsule **ne joue pas un rôle vital** comme l'appareil nucléaire ou la paroi: une bactérie dépourvue de capsule peut croître et se multiplier. L'élimination des constituants capsulaires par hydrolyses enzymatique n'empêche pas la bactérie de se produire.

Les substances capsulaires sont de véritables **facteurs de virulence**: les pneumocoques capsulés injectés à la souris provoquent sa mort, alors que les mêmes cellules, acapsulées, perdent leur agressivité vis-à-vis de la souris. Ces substances capsulaires protègent la bactérie de la phagocytose.

Les substances capsulaires **sont aussi le support de l'antigénicité**: leur injection dans un animal l'oblige à élaborer des anticorps protecteurs.

La capsule joue un rôle important contre les bactériophages qui sont incapables de se fixer et de pénétrer chez les bactéries capsulées. Elle forme aussi une structure protectrice contre le pouvoir agressif des agents physiques et chimiques (ex. dessiccation).

La capsule assure l'adhésion qui constitue la première étape de colonisation d'un écosystème. Elle permet aux bactéries de se développer en micocolonies adhérentes aux surfaces des objets solides dans les environnements aquatiques ou des tissus dans les plantes et les animaux hôtes.

La capsule est donc un facteur important de survie contribuant au maintien et à la multiplication des espèces qui la possèdent.

CHAPITRE IV : NUTRITION BACTERIENNE

1. Besoins élémentaires.
2. Facteurs de croissance.
3. Facteurs physiques.

La diversité dans la nature des substrats chimiques et des conditions physico-chimiques de nutrition engendre des profils nutritionnels bactériens très divers appelés : types trophiques.

La nutrition bactérienne requiert deux (02) types de substances :

les substances élémentaires constitutives de la cellule : carbonées, azotées, minérales..., et des substances énergétiques nécessaires à la synthèse des constituants cellulaires.

La nutrition est conditionnée par des conditions physico-chimiques.

En présence de ces besoins élémentaires et énergétiques, la majorité des bactéries peuvent croître et se multiplier, mais certaines autres en sont incapables car un ou plusieurs constituants essentiels nécessaires à la synthèse d'un composant indispensable à la vie cellulaire leur font défaut. Ces constituants ou métabolites doivent leur être fournis pour assurer leur développement. Ces besoins spécifiques sont appelés facteurs de croissance.

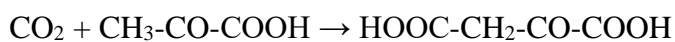
1. Besoins élémentaires :

1.1. Source de carbone :

Le carbone est le composant principal du matériel cellulaire ($\approx 50\%$ du poids sec). Les bactéries tirent le carbone de 02 sources différentes selon leur type trophique :

- Les bactéries autotrophes (Grec : autos = auto ; trophé = nutrition) utilisent le CO_2 moléculaire comme seule ou principale source de carbone. Le CO_2 est réduit en divers composés organiques.
- Les bactéries hétérotrophes (Grec : heteros = autre) présentent la majorité des bactéries. Elles utilisent des composés organiques comme source principale de carbone pour former leur matériel cellulaire.

Les différents substrats carbonés sont ajoutés dans les chaînes métaboliques spécialisées. Le CO_2 est important chez les hétérotrophes : son absence empêche la croissance de nombreuses espèces (*E. coli*, *salmonella typhi*). Il serait nécessaire à la synthèse de certains métabolites essentiels :



ac. Pyruvique ac. Oxaloacétique

1.2. Source d'énergie :

Selon le type d'énergie utilisé dans les fonctions cellulaires, on distingue 02 catégories de bactéries :

- Les bactéries **phototrophes** (Grec : phtos= lumière) ou **photosynthétiques**, peu nombreuses, puisant l'énergie par la conversion de l'énergie lumineuse (solaire) en énergie chimique biologiquement utilisable (ATP) au moyen du processus de photosynthèse. La plupart d'entre elles utilisent le CO_2 comme source de carbone : elles sont dites dans ce cas photolithotrophes (Grec : lithos = pierre) ou photoautotrophes. Les autres bactéries phototrophes utilisent des composés organiques comme sources de carbone : ce sont des bactéries **photoorganotrophes** ou **photohétérotrophes**.
- Les bactéries **chimiotrophes** ou **chimiosynthétiques** qui puisent l'énergie de l'oxydation de composés chimiques. Ces composés peuvent être organiques : glucides, acides organiques ... chez les bactéries dites **chimioorganotrophes** ou **chimiohétérotrophes**, ou des substrats inorganiques tels que : NH_4^+ , NO_2^- , H_2 , H_2S , S , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, CO , F^{+2} , MN^{+2} ... chez les bactéries dites **chimio-lithotrophes** ou **chimioautotrophes**.

Souvent, les composés organiques utilisés comme source de carbone servent aussi de substrats énergétiques (une partie est intégrée au matériel cellulaire, l'autre est oxydée pour former l'énergie).

Certaines espèces bactériennes peuvent utiliser un substrat organique unique, d'autres peuvent en utiliser plusieurs.

La grande majorité des bactéries sont chimioorganotrophes : bactéries pathogènes, bactéries de contamination alimentaire, bactéries utilisées dans l'industrie pour leur synthèse d'antibiotiques, de vitamines, d'acides aminés...

Les bactéries chimio-lithotrophes forment un groupe limité intervenant dans les cycles de la matière vivante dans le sol et dans les eaux : *Hydrogenomonas* (NH_4^+), *Nitrosomonas* (nitrite), *Nitrobacter*, *Thiobacillus* (composés réduits soufrés)...

Les bactéries intracellulaires (Rickettsies, Chlamydies) sont appelées **paratrophes** et tirent leur énergie de leur parasitisme obligatoire.

1.3. Source d'azote :

L'azote est un composé majeur des protéines, des acides nucléiques et d'autres constituants cellulaires. Il occupe environ 12% du poids sec cellulaire. L'azote est souvent présent dans la nature sous forme inorganique : ammoniacque (NH_3), nitrate (NO_3^-), azote moléculaire (N_2). Les bactéries assimilent l'azote le plus souvent sous forme de sels d'ammonium en solution (NH_4^+). Elles peuvent également utiliser les nitrates, les nitrites (NO_2^-) et à l'exception de tous les organismes vivants, seules quelques

bactéries sont capables de fixer l'azote moléculaire N_2 . Ce sont les bactéries fixatrices d'azote qui vivent en symbiose avec les plantes (*Rhizobium*) ou à l'état libre (*Azotobacter*).

La source d'azote peut être organique : groupements aminés des composés organiques R-H₂.

1.4. Source de Soufre et Phosphore :

Le soufre est un constituant cellulaire important (ac. aminés soufrés, vitamines coenzymes). Les principales formes de soufre dans la nature sont inorganiques (S, H₂S, (S₂O₃)⁻³).

De nombreuses bactéries sont capables de réduire les sulfates en sulfites pour les intégrer à leur métabolisme, certaines utilisent des composés soufrés réduits et d'autres ne peuvent croître qu'en présence de sulfure d'hydrogène H₂S.

Le phosphore est un constituant des acides nucléiques, des phospholipides et de l'ATP. Il est incorporé sous forme de phosphate inorganique.

1.3. Besoins en Azote, Phosphore et Soufre :

Diverses bactéries (exp : des cyano-bactéries et des bactéries symbiotiques : *Rhizobium*) peuvent assimiler le nitrogène atmosphérique (N₂) par le système de nitrogénase.

Beaucoup de microorganismes peuvent utiliser l'azote inclus dans les acides aminés, et l'ammoniaque est directement incorporée à travers l'action de certaines enzymes comme la glutamate déshydrogénase. Un grand nombre de microorganismes non photosynthétiques et la plupart des phototrophes réduisent le nitrate en ammoniaque assimilable.

Parce que tous les microorganismes utilisent le phosphate inorganique comme source de phosphore et l'incorporent directement. Les niveaux bas de phosphore limitent la croissance microbienne dans beaucoup d'environnements aquatiques.

La plupart des microorganismes utilisent le sulfate comme source de soufre et le réduisent par la réduction assimilatrice de sulfate.

1.5. Autres éléments minéraux :

Certains de ces éléments jouent un rôle dans l'équilibre physicochimique de la cellule. Ce sont le sodium, le potassium, le magnésium et le chlore.

D'autres sont partie constituante d'enzymes ou de coenzymes : le fer des cytochromes, le magnésium de la chlorophylle. Le calcium, le cobalt, le cuivre et le manganèse jouent le rôle d'activateurs enzymatiques. Ils sont appelés des **oligoéléments** car ils sont indispensables en quantités infimes et sont additionnés aux milieux de cultures sous-forme de traces par les produits chimiques.

2. Besoins spécifiques : Facteurs de croissance.

Les facteurs de croissances sont des composés organiques indispensables à la nutrition et à la croissance de certaines bactéries parce qu'elles sont incapables de les synthétiser. En fonction de ces besoins, les microorganismes sont classés en 02 catégories : les **prototrophes** qui n'ont pas besoin de facteurs de croissances, et les **auxotrophes** qui les exigent (auxo : L. auxilium = secours).

Il y a 03 classes majeures de facteurs de croissances : les acides aminés, les purines et les pyrimidines, et les vitamines.

Les acides aminés sont exigés pour la synthèse des protéines, les purines et les pyrimidines pour la synthèse des acides nucléiques. Les vitamines sont de petites molécules organiques qui constituent toujours tout le cofacteur d'enzyme ou une partie du cofacteur.

Les facteurs de croissances sont caractérisés par leur action à des concentrations infimes et par leur spécificité structurale et fonctionnelle. Ils sont requis en nombre plus ou moins important selon les espèces bactériennes : par exemple *Enterococcus faecalis* (bactérie d'ac. lactique) exige 08 vitamines différentes pour sa croissance et d'autres bactéries lactiques exigent la présence de plusieurs ac. aminés dans le milieu.

Les besoins en facteurs de croissance d'une espèce bactérienne peuvent être quelque fois satisfaits par la présence d'une autre espèce qui synthétise le dit facteur. Ce phénomène d'interaction métabolique est connu sous le nom de **syntrophie** (repas avec).

3. Facteurs physiques :

Un certains nombre de facteurs physiques interviennent aux cours de la nutrition. Ils peuvent l'empêcher ou la favoriser.

3.1 Température :

L'effet de la température sur la croissance est dépendant de la sensibilité des enzymes à la température. Le métabolisme est plus actif à des températures élevées et le microorganisme croît plus rapidement. Les températures les plus élevées deviennent létales. A un certain degré, les transporteurs, les enzymes et d'autres protéines sont dénaturés. Donc toutes les fonctions cellulaires sont perturbées.

Les **températures cardinales** (optimum, minimum et maximum) varient beaucoup entre les microorganismes. La température optimale des microorganismes s'étend de 0°C à plus de 75°C mais la croissance microbienne peut être produite de -20°C à plus de 100°C. Quelques microorganismes ont un intervalle de croissance restreint ; ils sont dits **stenothermiques**, d'autres peuvent croître sur une large gamme de température, ils sont appelés **eurythermiques**.

Selon la température optimale de développement, on distingue généralement 03 catégories de microorganismes :

- Les **mésophiles** (mésos : médian), qui préfèrent une température moyenne de croissance maximale entre 20 et 45°C.
- Les **psychrophiles** (psychro : froid), dont la température optimale de croissance est située entre 0°C et 20°C.
- Les **thermophiles** (thermo : chaud) qui ont un taux de croissance maximal entre 45°C et 80°C.

Cette classification n'a pas de limites strictes : certains mésophiles peuvent être des thermophiles facultatifs et inversement. Les psychrotrophes poussent aux températures de réfrigération mais se multiplient rapidement à +10°C à +20°C. Les thermotrophes qui peuvent pousser aux environs de 50°C mais plus nettement aux températures moyennes de 30°C.

La plupart des bactéries du sol et des eaux, ainsi que les bactéries saprophytes et les bactéries pathogènes de l'homme et des mammifères sont mésophiles.

Les thermophiles sont naturellement dans les écosystèmes naturels de l'eau, du sol et de l'air, mais se multiplient abondamment dans les milieux qui leur sont favorables tels que les sources thermales. Les archaebactéries sont des thermophiles extrêmes et ont un développement optimum aux températures très élevées (105°C pour *Pyrodictium occultum*).

Les psychrophiles ou psychrotrophes peuvent contaminer et altérer les produits biologiques conservés à basse température, de même que les aliments congelés.

Les bactéries des températures extrêmes, psychrophiles ou thermophiles extrêmes ont des structures cellulaires et métaboliques adaptées. Leurs enzymes ne sont actives qu'aux températures spécifiques. Elles possèdent dans leurs protéines des petites séquences d'acides aminés différentes. Leur stabilité est renforcée par des liaisons ioniques nombreuses. Les acides gras membranaires sont saturés ; conférant la stabilité aux températures élevées.

3.2 pH :

Toute variation du pH du milieu affecte les activités physiologiques cellulaires et donc la croissance microbienne. Chaque espèce bactérienne se développe dans une gamme définie de pH et à un pH optimum de croissance. Les **acidophiles** ont leur optimum de croissance entre pH₁ et pH_{5,5} ; les **neutrophiles** entre pH_{5,5} et pH₈ ; les **alcalophiles** entre pH_{8,5} et pH_{11,5} . La majorité des bactéries et des protozoaires sont des neutrophiles. La plupart des mycètes et des algues sont légèrement acidophiles (pH₄ à 6). Il y a de nombreuses exceptions pour les microorganismes pouvant se développer à des pH très acides (pH ≈ 0) ou alcalin.

Les microorganismes gardent un pH cytoplasmique neutre par les systèmes antiports potassium/proton et sodium/proton ou par des mécanismes impliquant la synthèse de protéines spécifiques.

Les microorganismes modifient fréquemment le pH de leur habitat en produisant des déchets métaboliques acides ou basiques.

Des tampons sont ajoutés aux milieux de culture pour empêcher l'inhibition de la croissance due aux modifications importantes du pH. Les tampons phosphates (K_2HPO_4 ou KH_2PO_4) permettent de couvrir une large zone de pH autour de la neutralité.

3.3 Oxygène :

Certaines bactéries sont **aérobies strictes** exigeant l'oxygène libre pour leur développement. D'autres, **anaérobies strictes**, ne peuvent se multiplier qu'en l'absence totale de l'oxygène libre. Celles capables de croître avec ou sans oxygène sont **aéro-anaérobies** ou **anaérobies facultatives**. Enfin, les **micro-aérophiles** qui ne se reproduisent qu'en présence d'une faible tension d'oxygène.

Ces quatre types respiratoires peuvent être mis en évidence par ensemencement d'un milieu gélosé solide en tube fin et profond. Les aérobies strictes cultivent seulement en surface, les aérobies strictes dans le fond, les aéro-anaérobies facultatives sur toute la hauteur et les microaérophiles dans une zone intermédiaire.

On parle des **aérophiles** qui se développent à la surface des milieux liquides en formant un voile (levures oxydantes).

La culture des microorganismes aérobie ne présente pas de difficultés. Celle des anaérobies nécessite des précautions spéciales :

- L'absence d'oxygène libre dans la zone profonde d'un milieu solide.
- L'addition de réducteurs aux milieux liquides.
- L'élimination de l'oxygène du récipient où les milieux de culture sont déposés.

3.4. Pression osmotique :

La plupart des bactéries sont pratiquement insensibles aux variations de pressions osmotiques. Elles sont protégées par leurs parois rigides.

Les bactéries marines, adaptées à un milieu contenant 35g/l de chlorure de sodium, sont appelées halophiles et doivent être cultivées dans des solutions contenant au moins 1% de sel. Les microorganismes cultivant sur les milieux hyper-sucrés sont appelés **osmophiles**.