

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université 20 Août 1955 Skikda
Faculté des Sciences
Domaine Des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Agronomiques
Filières : Sciences Agronomiques et Sciences Alimentaires
Parcours tronc commun (2^{ème} année) Sciences Agronomiques et Sciences Alimentaires



Polycopié pédagogique du cours de la matière

« Microbiologie »

Destiné aux étudiants de la 2^{ème} Année Licence LMD
Sciences Agronomiques et Sciences Alimentaires (semestre 04)

Elaboré par : **Dr. BECHIRI Loubna**

Maître de conférences- A-

Année universitaire: 2024- 2025

Préface

Le mot Microbiologie comporte trois parties : « Micro » qui provient du mot microscopique, ça veut dire un volume trop petit, c'est-à-dire invisible à l'œil nu. « Bio » qui provient de biologie, c'est-à-dire un être vivant et enfin le suffixe « logie » qui signifie science, traité ou étude ; c'est-à-dire la science des organismes vivants qui ne peuvent être perçues ou reconnues à l'œil nu.

Théoriquement, la microbiologie est une science de la biologie et de la médecine, elle étudie les organismes vivants à l'échelle microscopique.

Idiomatiquement, la microbiologie est une branche spécialisée de la biologie qui étudie les organismes microscopiques ou les micro-organismes (germes ou protistes) tel que : les bactéries, champignons, protozoaires, algues et virus. Elle s'intéresse donc à l'étude des cellules quelque soit unicellulaire (cellule unique) ; multicellulaire (colonie de cellules) ou acellulaire (dépourvue de cellules).

Pourquoi on s'intéresse à la Microbiologie dans les Sciences Agronomiques et les Sciences Alimentaires ?

La microbiologie est une science qui englobe de nombreuses sous-disciplines selon le type et la catégorie du micro-organisme étudié, il existe :

- Bactériologie : Science de la bactérie ;
- Mycologie : Science des champignons ;
- Protozoologie : Science des protozoaires ;
- Virologie : Sciences des virus ;
- Phycologie : Sciences des algues unicellulaires.

Chaque sous discipline est appliquée dans une spécialité ou le micro-organisme est le principal traité pour son application dans une panoplie de domaines ou disciplines différentes comme par exemple :

- Dans la Médecine : Microbiologie Médicale ;
- Dans l'Alimentation : Microbiologie Alimentaire ;
- Dans l'Agronomie, précisément le sol : Microbiologie des Sols ;
- Dans l'Habitat/Environnement : Géo microbiologie
- Dans la marine : Microbiologie Marine

La microbiologie est intimement liée à la pathologie ou à l'infection afin de déterminer les causes d'une maladie.

A quel point les résultats de la microbiologie peuvent-elles être utilisables et exploitables?

Les résultats issus de la microbiologie sont utilisés dans de nouvelles spécialités tel que : la Biotechnologie, la Technologie Agro-alimentaire, l'Ingénierie des déchets, l'Ingénierie des matériaux et la médecine. Aussi, vu la structure microscopique des micro-organismes, ils représentent comme modèles dans la recherche génétique, génomes car ils sont très faciles à gérer et peuvent être facilement examinés par un très grand nombre d'individus.

Pour toutes ces raisons et autres applications, la microbiologie est une matière principale de base dans l'unité fondamentale dans le tronc commun (2^{ème} année) dans le domaine des Sciences de la Nature et de la Vie quelque soit pour la filière des Sciences Agronomiques ou les Sciences Alimentaires où elles est considérée très importante vu le rôle des micro-organismes dans la vie et dans les différents domaines des Sciences de la Nature et de la Vie surtout dans l'application dans les Industries Agro-alimentaires principalement l'industrie laitière ou fromagère (ferments lactiques, bactéries lactiques, champignons : *Penicillium camemberti*) ou dans la panification (levures : *Saccharomyces cerevisiae*), c'est pour cette raison le volume horaire de cette matière dans les Sciences Alimentaires est deux fois plus le volume horaire dans les Sciences Agronomiques.

Ces différentes applications microbiologiques exigent la bonne compréhension de ce monde vivant depuis son origine (la cellule bactérienne) , sa forme végétative et de résistance (spore) à sa classification et identification (taxonomie) à son mode de croissance (multiplication cellulaire) à son développement et alimentation (Nutrition bactérienne), les différentes méthodes de destruction des micro-organismes, les différentes méthodes de conservation des denrées alimentaires pour une durée plus longue en évitant la contamination microbienne, notions de base sur les levures, moisissures et virus en matière de structure, classification et reproduction.

Ce cours pédagogique traite toute la théorie nécessaire pour connaître au mieux et comprendre tout ce qui concerne ce monde microbien, il représente un guide indispensable de base au profit des étudiants du tronc commun 2^{ème} année cycle Licence des deux filières Sciences Agronomiques et Sciences Alimentaires.

Les chapitres présentés dans ce cours aideront les futurs scientifiques à, d'une part, comprendre les notions de base de la microbiologie alimentaire d'autre part, appliquer et exploiter au mieux ces notions dans le laboratoire de microbiologie afin d'obtenir les résultats quelque soit dans le cursus normal ou même dans les travaux de mémoire de fin de cycle quelque soit pour la filière des Sciences Agronomiques ou même des Sciences

Alimentaires. Le contenu général est très précieux ce qui prouve son utilisation et exploitation à court ou à long terme dans la voie de l'étude scientifique.

L'objectif de ce document pédagogique est de permettre aux étudiants du tronc commun 2^{ème} année licence LMD des deux filières Sciences Agronomiques et Sciences Alimentaires de découvrir ce monde microbien, acquérir certaines notions fondamentales de base et autres nouvelles exploitables, se familiariser surtout avec des méthodes de base de conservation des aliments et leur application même dans leurs vies quotidiennes.

Le but final est de préserver la vie contre les intoxications alimentaires provoquées par contamination ou certaines maladies infectieuses contagieuses et transmissibles d'une personne à autre sans oublier la notion des personnes asymptomatiques ou les porteurs sains. D'une part fournir les bases pratiques aidant à la compréhension des notions théoriques et d'autre part d'apprendre à l'étudiant la démarche à adopter face à une manipulation de base dans le laboratoire comme la coloration de Gram, observation microscopique des différentes formes cellulaires des bactéries et le dénombrement des colonies bactériennes en multipliant dans les boîtes de Pétri.

- Il vise à permettre de comprendre les bases théoriques des différentes techniques de base utilisées dans le laboratoire de microbiologie et leur applications ;
- Acquérir leurs principes théoriques microbiologiques ;
- Se familiariser avec le matériel de base utilisé dans le laboratoire de microbiologie comme les lames, microscope, boîtes de pétri, colorants... ;
- Connaître les différents types des antimicrobiens physiques, chimiques et chimiothérapeutiques;
- Permettre aux étudiants qui préparent leur mémoire de fin de cycle de retourner à ces cours de base pour maîtriser quelques techniques microbiologiques utilisées au niveau quelque soit du végétal, de l'animal et même du sol ;
- Prendre connaissance et familiarisation avec les différents instruments et matériels de manipulation microbiologique.

L'étudiant au terme de l'activité sera capable de :

- Comprendre la structure de la cellule microbienne et ses composantes et organites ;
- Différencier entre les bactéries Gram+ et Gram- ;
- Capacité d'identifier le germe selon la classification phénotypique ou génétique ;

- Utiliser, en suivant des procédures écrites, les différentes manipulations microbiennes ;
- Distinguer entre bactéries, champignons et levures en matière de structure, forme et multiplication;
- Interpréter les résultats des différents analyses microbiologiques ;
- Choisir la méthode appropriée de lutter contre les microbes et la méthode de conservation la plus convenable et correspondante à la nature de la denrée alimentaire afin d'éviter les intoxications alimentaires.

Ce polycopié est réparti en six chapitres :

- 1- LE MONDE MICROBIEN
- 2- LA CELLULE BACTERIENNE
- 3- CLASSIFICATION BACTERIENNE
- 4- LA NUTRITION BACTERIENNE
- 5- CROISSANCE BACTERIENNE
- 6- NOTIONS DE MYCOLOGIE ET DE VIROLOGIE

Je tiens à remercier énormément les cher (e) s collègues qui ont bien voulu juger le
manuscrit du cours pédagogique et m'aider à l'améliorer encore une fois.

Il est possible que cette première version comporte quelques imperfections, je serais
reconnaissante à tous ceux qui me feront part de leurs corrections, remarques et
suggestions. Merci beaucoup.

Sommaire

CHAPITRE 01 : LE MONDE MICROBIEN.....	01
1-INTRODUCTION.....	01
2- HISTORIQUE.....	02
3- PLACE DES MICRO-ORGANISMES DANS LE MONDE VIVANT.....	04
3-1- Classification Carl van Linné.....	04
3-2- Classification de Haeckel.....	04
3-3- Distinction entre cellules eucaryotes et procaryotes selon Edward Chatton.....	04
3-4- Classification selon Murray.....	04
3-5- Classification à cinq règnes.....	04
3-6- Classification Génomique selon, CR, Woese (1978).....	05
CHAPITRE 02 : LA CELLULE BACTERIENNE.....	08
1- TECHNIQUES D'OBSERVATION DE LA CELLULE BACTERIENNE..	08
2- MORPHOLOGIE CELLULAIRE.....	09
2-1- Formes des cellules bactériennes.....	09
2-2- Taille.....	10
2-3- Associations cellulaires.....	10
2-4- Eléments constants et inconstants de la structure bactérienne.....	11
3- LA PAROI.....	12
3-1- Composition chimique de la paroi.....	12
3-2- Structure moléculaire de la paroi des Gram négatives et positives.....	15
3-2-1- Paroi des Gram positives.....	15
3-2-2- Paroi des Gram négatives.....	17
3-3- Fonctions de la paroi.....	18
3-4- Coloration de Gram.....	19
4- MEMBRANE PLASMIQUE.....	19
4-1- Composition chimique.....	19
4-2- Structure de la membrane plasmique.....	19
4-3- Fonctions de la membrane plasmique.....	20
5- CYTOPLASME.....	21
5-1- Les ribosomes.....	21
5-2- Les substances de réserve.....	22
6- CHROMOSOME.....	22

6-1- Morphologie et structure.....	22
6-2- Composition.....	23
6-3- Réplication chimique.....	23
7- PLASMIDES.....	25
7-1- Structure des plasmides.....	25
7-2- Réplication des plasmides.....	26
7-3- Propriétés des plasmides.....	28
8- PILI.....	29
8-1- Structure.....	29
8-2- Fonction du pili.....	30
9- CAPSULE.....	31
9-1- Morphologie de la capsule.....	31
9-2- Mise en évidence de la capsule	31
9-3- Composition chimique.....	32
9-4- Fonctions de la capsule.....	32
10- CILS ET FLAGELLES.....	33
10-1- Mise en évidence.....	33
10-2- Structure.....	33
10-3- Fonction de flagelle.....	35
11- SPORE.....	36
11-1- Morphologie.....	36
11-2- Structure de la spore.....	36
11-3- Phénomènes de sporulation.....	37
11-4- Propriétés.....	39
11-5- Germination.....	41
CHAPITRE 03 : CLASSIFICATION BACTERIENNE	42
1- INTRODUCTION.....	42
2- CLASSIFICATION PHENOTYPIQUE.....	44
3- CLASSIFICATION GENETIQUE OU PHYLOGENIQUE.....	45
3-1- La taille du génome.....	45
3-2- Composition en base d'ADN (Coefficient de Chargaff).....	46
3-3- Hybridation ADN/ADN.....	47
3-3-1- Homologie ADN/ADN à Tor.....	48
3-3-2- Stabilité thermique des hybrides.....	48

3-3-3- Homologie ADN/ADN à Trr.....	49
3-3-4- Le séquençage des ARN ribosomiaux (ARNr).....	49
4- CLASSIFICATION SELON LE MANUEL DE BERGY.....	50
CHAPITRE 04 : LA NUTRITION BACTERIENNE.....	52
1- INTRODUCTION.....	52
2- BESOINS ELEMENTAIRES.....	52
2-1- L'eau.....	52
2-2- Source d'énergie.....	52
2-3- Source de carbone.....	53
2-4- Source d'azote.....	54
2-5- Macronutriments.....	55
2-6- Les oligoéléments.....	56
3- FACTEURS DE CROISSANCE.....	56
4- TYPES TROPHIQUES (NUTRITIONNELS).....	57
5- PARAMETRES ENVIRONNEMENTAUX, PHYSICO-CHIMIQUES....	57
5-1- Température.....	57
5-2- pH.....	58
5-3- Pression.....	59
5-4- Pression osmotique.....	59
5-5- Besoins gazeux.....	59
CHAPITRE 05 : CROISSANCE BACTERIENNE.....	61
1- INTRODUCTION.....	61
2- MESURE DE LA CROISSANCE.....	61
2-1- Mesures directes : Dénombrement des bactéries après culture.....	62
2-2- Mesure directe du nombre de cellules.....	62
2-3- Mesure par filtration sur membrane.....	64
2-4- La technique d'épifluorescence.....	64
2-5- Mesures indirectes de la turbidimétrie.....	64
2-6- Mesure indirecte par la biomasse sèche.....	65
2-7- Mesure indirecte par l'activité métabolique.....	65
3- PARAMETRES DE LA CROISSANCE.....	65
4- COURBE DE CROISSANCE EN MILIEU NON RENOUVELE, CULTURE DISCONTINUE.....	66
4-1- Phénomène de diauxie (deux croissance en grec).....	67

5- CULTURE BACTERIENNE.....	67
5-1- Classification des milieux selon la consistance.....	68
5-2- Culture spéciales et bactéries non cultivables.....	69
6- AGENTS ANTIMICROBIENS.....	69
6-1- Introduction.....	69
6-2- Définitions.....	70
6-3- Les modes d'action des agents antimicrobiens.....	71
6-3-1- Les méthodes physiques.....	71
6-3-2- Les méthodes chimiques.....	76
6-3-3- Agents chimio-thérapeutiques antimicrobiens.....	77
CHAPITRE 06 : NOTIONS DE MYCOLOGIE ET DE VIROLOGIE.....	81
1- MYCOLOGIE (LEVURE ET MOISSURE).....	81
1-1- Taxonomie.....	81
1-1-1- Phylum des chytridiomycètes.....	83
1-1-2- Phylum des zygomycètes.....	84
1-1-3- Phylum des Glomeromycètes.....	85
1-1-4- Phylum des ascomycètes.....	85
1-1-5- Phylum des basidiomycètes.....	88
1-1-6- Phylum des oomycètes.....	89
1-1-7- Les organismes fongiformes.....	90
1-2- Morphologie.....	91
1-3- Reproduction.....	93
2- VIROLOGIE.....	94
2-1- Introduction.....	94
2-2- La spécificité ou spectre d'hôtes cellulaires.....	95
2-3- La taille des virus.....	95
2-4- Structure virale.....	96
2-5- Différents types de virus.....	99
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	103

Liste des tableaux

Tableau 01: Caractéristiques des eucaryotes et des procaryotes	07
Tableau 02: Types trophiques.....	57
Tableau 03 : Comportement des bactéries vis-à-vis de l'oxygène et types respiratoire.....	60
Tableau 04: Comparaison entre les bactéries et les virus.....	96

Liste des figures

Figure 01: Les différentes branches de la microbiologie.....	01
Figure 02 : Organisation cellulaire d'une bactérie	06
Figure 03: Organisation d'une Cellule Eucaryote	06
Figure 04 : Observation à l'état frais.....	08
Figure 05 : Coloration à l'encre de chine.....	08
Figure 06 : Coloration de Gram.....	09
Figure 07 : <i>Mycobactérium tuberculosis</i> par la coloration de Ziehl-Nielsen.....	09
Figure 08 : Schéma et photo microscopique sur les méthodes immunocytochimiques....	09
Figure 09 : Les différentes formes et associations bactériennes (a, b).....	11
Figure 10 : Représentation schématique montrant les différentes structures bactériennes.	12
Figure 11 : Principaux constituants chimiques de la paroi	13
Figure 12 : Dessin schématique du peptidoglycane (a,b).....	14
Figure 13 : Paroi de Gram négative et Gram positive.....	15
Figure 14 : Paroi Gram+.....	16
Figure 15 : Structure d'un acide téicoïque: Phosphate + glycérol + R (Alanine, Glucose...).	17
Figure 16 : Paroi Gram-.....	18
Figure 17 : Structure de la membrane cytoplasmique bactérienne	20
Figure 18 : Le ribosome bactérien	21
Figure 19 : Polysome.....	22
Figure 20 : Fourche de réplication de l'ADN chez E. coli	24
Figure 21 : Représentation schématique d'un plasmide commercial	25
Figure 22 : Plasmide au microscope électronique	26
Figure 23 : Réplication de Type « Thêta θ ».....	27
Figure 24 : Réplication de type « Rolling cercle ».....	28
Figure 25 : Pili communs chez <i>Escherichia coli</i>	29
Figure 26 : Bactéries en conjugaison, liées par un pilus sexuel.....	30
Figure 27 : Schéma représente le fimbriae et pili.....	31
Figure 28 : Types flagellaires et modes d'insertion.....	34
Figure 29 : Structure de flagelle bactérienne.....	35
Figure 30 : Coloration au vert de malachite de <i>Bacillus subtilis</i> sporulant.....	36

Figure 31 : Structure d'un endospore de <i>Bacillus anthracis</i> (x 150000).....	38
Figure 32 : Le cycle sporal.....	39
Figure 33 : Le cristal parasporal d'un pathogène d'insecte (<i>Bacillus thuringiensis</i>).....	40
Figure 34 : Tests métaboliques en mini galerie API.....	44
Figure 35 : Lysotypie d' <i>E.coli</i> par un bactériophage (absence de culture signifie une lyse).....	45
Figure 36 : Taille du génome.....	46
Figure 37 : Hybridation ADN/ADN.....	48
Figure 38 : La résolution taxinomique des différentes techniques moléculaires.....	50
Figure 39 : Fumeurs noirs au fond des océans.....	54
Figure 40 : Le cycle biogéochimique simplifié de l'azote.....	55
Figure 41 : Taux de croissance en fonction de la température.....	58
Figure 42 : La division par scissiparité.....	61
Figure 43 : Dénombrement des bactéries après culture.....	62
Figure 44 : Dénombrement des bactéries viables.....	63
Figure 45 : Comptage microscopique.....	63
Figure 46 : Filtration d'eau sur membrane et dénombrement.....	64
Figure 47 : Courbe de croissance bactérienne.....	66
Figure 48 : Phase I (Glucose) –Phase II (Lactose).....	67
Figure 49 : Croissance sur milieux de culture liquide.....	68
Figure 50 : Colonies de différents micro-organismes sur gélose.....	69
Figure 51 : Autoclave de laboratoire.....	72
Figure 52 : Influence des radiations.....	74
Figure 53 : Filtration.....	75
Figure 54 : Les différents mécanismes des antibiotiques.....	79
Figure 55 : Antibiogramme : méthode des disques d'antibiotiques.....	80
Figure 56 : Cycle biologiques des chytridiomycètes.....	83
Figure 57 : Chytridiomycètes.....	84
Figure 58 : Cycle biologique des zygomycètes.....	85
Figure 59 : La reproduction sexuée chez les ascomycètes	87
Figure 60 : Cycle vital d'un basidiomycète.....	88
Figure 61 : Cycle vital d'un oomycète.....	89
Figure 62 : Moisissure glaireuse cellulaire (<i>Dictyostellium discoïdum</i>).....	90
Figure 63 : Cycle vital d'une moisissure glaireuse acellulaire (myxomycètes).....	91

Figure 64 : Schéma d'une Levure bourgeonnante.....	92
Figure 65 : Schéma d'un hyphe de champignons.....	92
Figure 66 : Filtres de Chamberland en porcelaine.....	94
Figure 67 : Virus polyédrique à ARN, de l'hépatite A.....	97
Figure 68 : Types de virus.....	98
Figure 69 : Comparaison d'un virus nu et d'un virus enveloppée.....	99
Figure 70 : Bactériophage à symétrie complexe.....	99
Figure 71 : Réplication du rétrovirus VIH.....	101
Figure 72 : Cycle lytique et lysogénique du bactériophage lambda dans <i>Escherichia coli</i>	102

CHAPITRE 1 : LE MONDE MICROBIEN

1- INTRODUCTION

Les micro-organismes aussi appelés microbes et protistes, forment un ensemble d'organismes vivants microscopiques, invisibles à l'œil nu. C'est leur seul point commun, car ils diffèrent et varient par leur morphologie, leur physiologie, leur mode de reproduction et leur écologie.

Les protistes se composent: **des bactéries, des protozoaires, des champignons (mycètes) microscopiques, et des algues. Les virus** sont considérés comme des micro-organismes non vivants, acellulaires qui dépendent entièrement des cellules hôtes infectées.

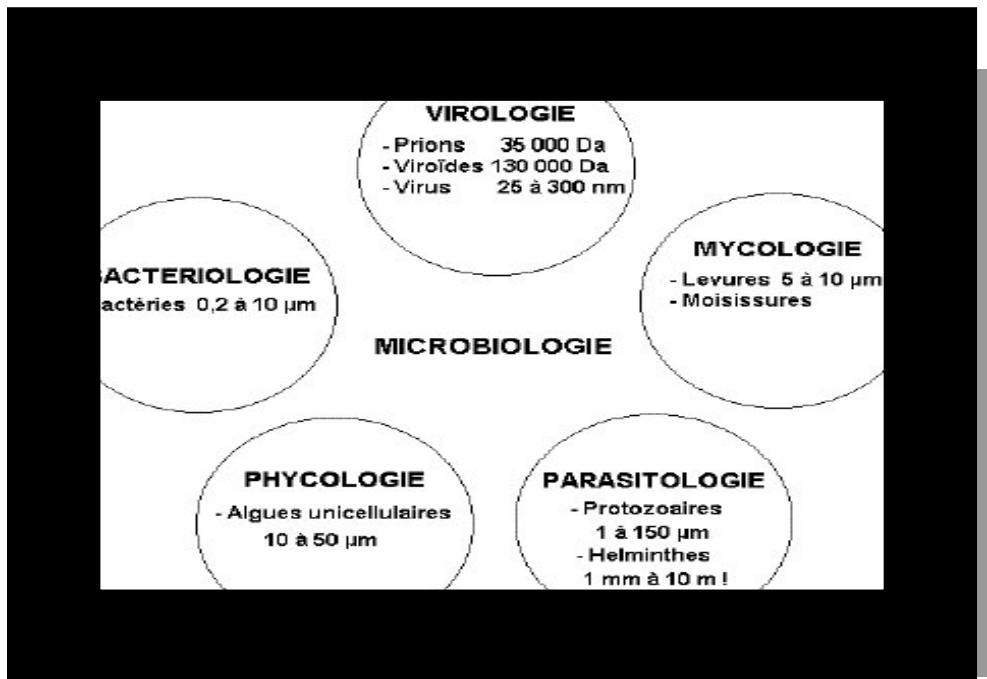


Fig. 01: Les différentes branches de la microbiologie

2- HISTORIQUE

Robert Hooke (1665) est le père de la théorie cellulaire (**la plus petite unité structurale d'un organisme vivant est la cellule**).

Anthony Van Leeuwenhoek (1632-1723), un marchand hollandais et grand amateur d'instruments d'optique, découvrit et décrivit pour la première fois, dans une série de lettres à la « Royal society of London », entre 1674 et 1687, **le monde microbien**.

Il appela ces micro-organismes **des animalcules**. Il observa, l'eau de pluie, sa propre matière fécale, la matière prélevée de ses dents.

Le concept ou théorie de la génération spontanée existe depuis plusieurs dizaines de siècles. **Le philosophe Aristote** défendait cette théorie. On croyait que les organismes vivants naissaient de végétaux et d'animaux en décomposition grâce à une mystérieuse force vitale. Après la découverte des animalcules par **Van Leeuwenhoek**, cette théorie se confirma, notamment par les expériences de **John Needham, en 1745**, qui démontra la croissance des micro-organismes dans des flacons contenant des bouillons de viande ou de maïs. Ces bouillons furent chauffés avant d'être enfermés dans des flacons. Puis, **Lazzaro Spallanzani** démontra que les flacons de **Needham** n'étaient pas étanches. Il ferma les flacons avant le chauffage et aucune croissance ne fut observée. **Donc, les micro-organismes proviennent de l'air**. Ses travaux furent critiqués par **Needham** (les bouchons ont empêché l'entrée de la force vitale !) et par **Lavoisier** (La fermeture des flacons empêche l'entrée de l'oxygène, nécessaire à la vie !).

Le concept de la génération spontanée resta très ancré dans les esprits jusqu'en 1861. Le chimiste **Louis Pasteur**, partisan de la biogenèse prit en charge cette question. Il montre qu'aucun micro-organisme ne se développe dans un ballon fermé et stérilisé contenant de la matière organique. Bref, que la génération spontanée n'existe pas. Il affirma la biogenèse (que l'apparition de vie dans une solution non vivante provient de la contamination par des micro-organismes présents dans l'air). Cette prouesse lui vaudra le prix de l'académie des sciences en 1862.

La microbiologie **est devenue une science à part entière**, lorsqu'on a réussi à obtenir **des cultures pures**, grâce au développement des **milieux de culture gélosés** (solides) et **les boîtes de Pétri**. Aussi, **grâce à la fabrication de**

microscopes plus puissants que les premières loupes et l'élaboration de **colorations spécifiques...**

La relation directe entre une bactérie et une maladie a été démontrée par **le médecin allemand Robert Koch (1843-1910)** en étudiant la tuberculose et son agent causal

Mycobacterium tuberculosis. Pour affirmer cette causalité, il faut vérifier plusieurs critères rassemblés sous le nom de « **Postulats de Koch** ».

- ✓ Le micro-organisme doit être isolé et cultivé en culture pure.
- ✓ A partir de ces cultures pures on doit être en mesure de provoquer la maladie par inoculation expérimentale
- ✓ Le même micro-organisme doit être de nouveau isolé des malades expérimentaux.
- ✓ En 1884, Hans Christian **Gram** (1853-1928) développe une technique de coloration qui est encore aujourd'hui la plus utilisée dans l'étude et la classification des bactéries.

En même temps et par la suite d'autres scientifiques célèbres :

Tyndall 1877: découverte des spores, leur thermorésistante et il mit au point **la tyndallisation**.

Winogradsky 1856-1953: Travaux sur les bactéries nitrifiantes, les bactéries fixatrices de l'azote, sulfureuses et la décomposition bactériennes de la cellulose dans les sols.

Beijerinck 1851-1931: les bactéries fixatrices de l'azote, symbiotiques.

La première édition du manuel de Bergey est publiée en 1923.

Cette classification est la plus acceptée par tous les microbiologistes. Dans ces premières éditions, en 1936, elle se basait sur l'étude :

***De leur morphologie microscopique** (bactérie de type coque, bacille, vibrion ; isolés, par deux, en chaînettes...);

*** De leur morphologie macroscopique** (taille, forme, couleur... des colonies sur milieux de culture gélosés) ;

***De leur mobilité** (mobilité ou immobilité à une température donnée) ;

***De la présence de spores** (à l'état frais ou après coloration) ;

***Du résultat de la coloration de Gram** (coloration de Gram positive ou négative) ;

***De la température de** croissance (4° C, 20° C, 30° C, 37° C...);

***Du type respiratoire** (aérobie, anaérobie strict, aéro-anaérobie facultatif, micro aérophile..);

***Des besoins nutritionnels** (nécessité de substances particulière pour le développement);

***De la capacité à utiliser certaines sources de carbone ou d'azote** (on parlera de biotypes ou biovars).

3- PLACE DES MICRO-ORGANISMES DANS LE MONDE VIVANT

Depuis leur découverte par **Anthony van Leeuwenhoek**, la place des bactéries dans le monde vivant a beaucoup évoluée.

3-1- Classification Carl van Linné

Le botaniste suédois **Carl van Linné** (1735), élabora une première classification des organismes vivants en deux règnes Plantae et Animalia. En 1857, **Karl van Nageli** proposa de classer les bactéries et les champignons dans le règne des Plantes.

3-2- Classification de Haeckel

En 1866, **E. Haeckel** divise le monde vivant en trois règnes, **le règne animal, le règne végétal et le règne des protistes** qui rassemble les algues, les protozoaires, les champignons et les bactéries.

3-3- Distinction entre cellules eucaryotes et procaryotes selon Edward Chatton

En 1937 et grâce à l'invention du microscope électronique, **Edward Chatton** mis en opposition deux types de cellules, **la cellule eucaryote (noyau est entouré d'une membrane et qui renferme des d'organites cellulaires) et la cellule procaryote (noyau sans membrane et dont l'organisation est très simple).**

En 1938, **H.F. Copeland** sépare le règne des bactéries (ou "Monera") de celui des protistes. Cette définition des procaryotes fut renforcée en 1961 par **Roger Stanier**.

3-4- Classification selon Murray

En 1968, **R.G.E. Murray**, dans la continuité du travail d'**E. Chatton**, divise le monde vivant en deux règnes, celui des "Eucaryotae" et celui des "Procaryotae"

(ou "Monera"). Au sein du règne des Procaryotae, R.G.E. Murray distinguait 04 divisions retrouvées dans le manuel de Bergey:

- La division des "Gracilicutes". Regroupant les bactéries à Gram négatif.
- La division des "Firmicutes". Regroupant les bactéries à Gram positif.
- La division des "Tenericutes". Bactéries dépourvues de paroi.
- La division des "Mendosicutes". Archaeobactéries.

3-5- Classification à cinq règnes

En 1969, **Robert H. Whittaker** décrit une classification à cinq règnes. Quatre règnes eucaryotes (**Animal, Végétal, Champignons et Protistes**). Les procaryotes se regroupent dans le règne des **monères**. Bien qu'elles ne peuvent s'accorder, les deux classifications,

d'E. Chatton et de R.H. Whittaker ont existé simultanément pendant une longue période.

3-6- Classification Génomique selon, CR, Woese (1978)

Le développement des techniques de **biologie moléculaire** a permis de caractériser les gènes qui codent pour **les ARN ribosomiaux (ARNr)**. En comparant une multitude de séquences d'ARNr, appartenant à divers organismes vivants, il est arrivé à diviser les organismes vivants en **trois domaines**.

Le domaine des **Bacteria ou Eubacteria**, le domaine **des Archaea** et le domaine des **Eucarya** (animaux, plantes, les mycètes et les protistes).

- **Bactéries :**

Bactéries vertes filamenteuses, Spirochètes, Gram positives, Protéobactéries, Cyanobactéries, Planctomyces, Bacteroides, Cytophaga, Thermotoga, Aquifex.

- **Archées:**

Halophiles, Methanosarcina, Methanobacterium, Methanococcus, T. Celer, Thermoproteus, Pyrodicticum.

- **Eucaryotes :**

Amibes, Myxomycètes, Animalia, Fungi, Plantae, Ciliés, Flagellés, Trichomonades, Microsporides, Diplomonades.

4- CARACTERISTIQUES GENERALES DE LA CELLULE PROCARYOTE

Sur la base de la présence ou l'absence d'une membrane nucléaire séparant le cytoplasme du matériel génétique « ADN ». La microscopie électronique a mis en évidence d'autres différences structurales très importantes

et fondamentales, induisant des comportements physiologiques et de reproduction très différents.

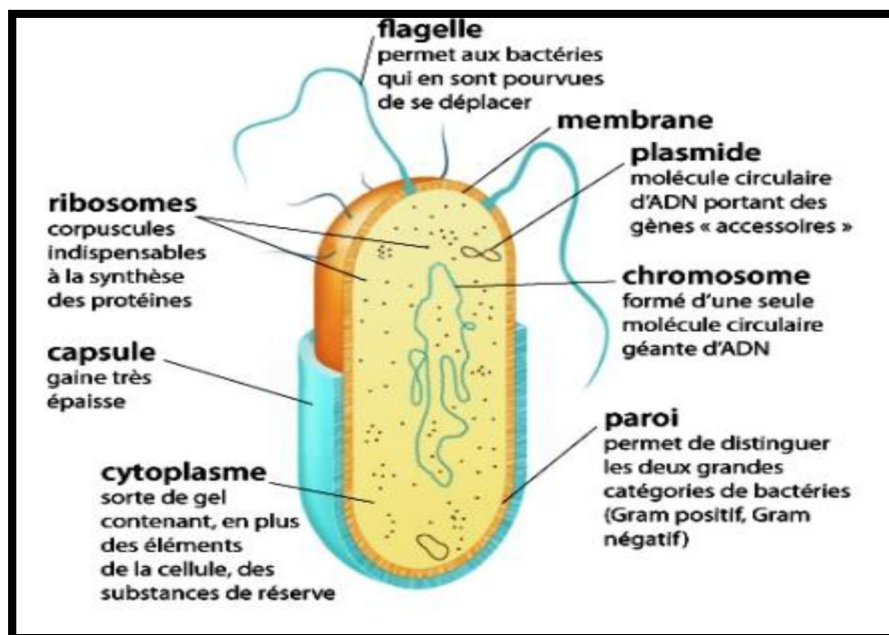


Fig. 02 : Organisation cellulaire d'une bactérie

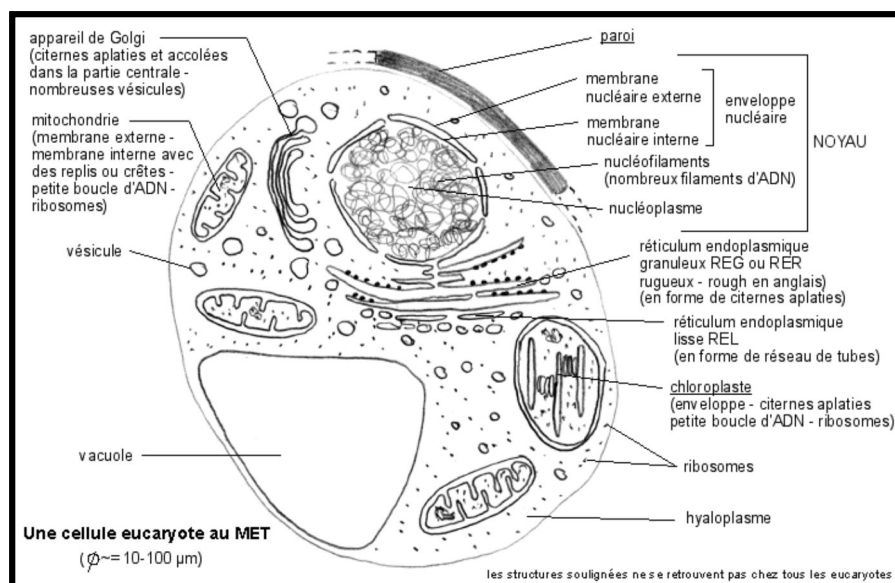


Fig. 03 : Organisation d'une Cellule Eucaryote

Les bactéries sont des micro-organismes que l'on rencontre pratiquement partout. Leur présence est souvent manifeste : les blessures s'infectent, le lait s'acidifie, la viande se putréfie, mais, on ne peut les voir qu'au microscope. Ils sont généralement unicellulaires et leurs cellules sont des cellules de type procaryote.

Les caractères propres des procaryotes ont été décrits dans le tableau « différences entre procaryotes et eucaryotes ». Le tableau suivant résume les caractéristiques des eucaryotes et des procaryotes tout en faisant apparaître les caractères de différenciation.

Tableau 01 : Caractéristiques des eucaryotes et des procaryotes

Caractéristiques	Cellule Procaryote	Cellule Eucaryote
Taille typique	1-10 µm	10-100 µm
Type de noyau	nucléotide (pas de véritable noyau)	vrai noyau avec double membrane
Division de la cellule	division simple	mitose (réplication de la cellule) méiose (menant à la formation de gamètes)
Organisation génétique		
Membrane nucléaire	Non	oui
Nombre de chromosomes	1 chromosome (Haploïde)	Plusieurs chromosomes Diploïde)
Chromosome circulaire	Oui	non
Histones	Non	oui
Nucléole	Non	oui
Echange génétique	transfert unidirectionnel	fusion de gamètes
ARN et synthèse des protéines	couplé au cytoplasme	synthèse d'ARN dans le noyau synthèse de protéines dans le cytoplasme
Premier acide aminé initiant la synthèse d'une chaîne polypeptidique	méthionine ou N-formylméthionine	méthionine
Structures cellulaires et organites		
Réticulum endoplasmique	Non	oui
Appareil de Golgi	Non	oui
Lysosomes	Non	oui
Mitochondries	Non	oui
Chloroplastes	Non	oui chez les plantes
Microtubules	Non	oui
Paroi cellulaire avec peptidoglycane	Oui	non
Présence de stéroïds dans les membranes	Non	oui
Endospores	oui, parfois	non
Taille des ribosomes	70 S	80 S, sauf mitochondries et chloroplastes
Localisation des ribosomes	dispersés dans le cytoplasme	dispersés dans le cytoplasme ou liés au réticulum endoplasmique
Constantes de sédimentation des ARN ribosomaux	16S, 23S, 5S	18S, 28S, 5.8S, 5S

Des procaryotes nommés algues bleu-vert jusqu'aux années soixante, parfois assimilés aux bactéries, ont reçu le nom de cyanobactéries. Ces organismes ont des caractères communs aux bactéries, mais ils en diffèrent aussi. Pour cela nous utiliserons le terme bactérie dans un sens restrictif qui exclut les cyanobactéries.

CHAPITRE 2 : LA CELLULE BACTERIENNE

1- TECHNIQUES D'OBSERVATION DE LA CELLULE BACTERIENNE

La mise au point du premier microscope par A. Van Leeuwenhok marque le point de départ de la microbiologie. Depuis, cet appareil a été largement amélioré. Avec des grossissements pouvant aller jusqu'à 2500 x, on peut observer des structures de l'ordre de 1 μM .

On distingue :

- **Observation à l'état frais** : entre lame et lamelle, de bactéries en milieu liquide et sa variante, **la coloration à l'encre de Chine** (pour la mise en évidence de la capsule). Les capsules correspondent au halo clair entourant les corps bactériens en noir.



Fig. 04 : Observation à l'état frais de chine

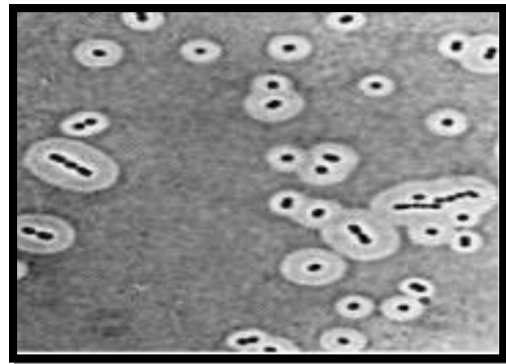


Fig. 05 : Coloration à l'encre

- **Observation des frottis séchés, fixés et colorés** (colorations de Gram et de Ziehl-Nielsen) : permettent la reconnaissance des bactéries pathogènes, d'autres font apparaître spécifiquement les cils, les flagelles, les spores...
 - Les frottis sont observés à l'immersion avec une goutte d'huile spéciale entre l'objectif et la préparation, cela permet d'obtenir une image plus nette.

Toutes ces méthodes font partie de **la microscopie photonique** (utilisation du rayonnement lumineux).

Pour observer des structures de l'ordre de 5 nm à 10 nm, **on utilise la microscopie électronique**. Certaines structures peuvent retenir ou laisser passer les électrons. Cette approche nécessite ou non la fixation de l'échantillon.

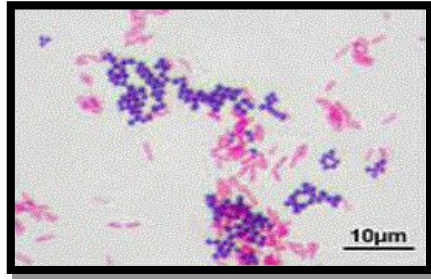


Fig. 06: Coloration de Gram
tuberculosis
Nielsen

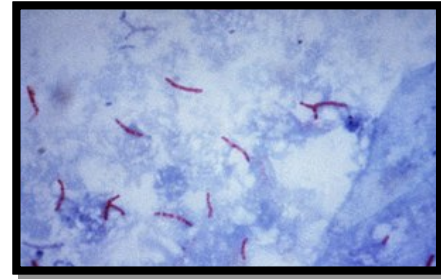


Fig. 07: Mycobactérium
par la coloration de Ziehl-

- Méthodes **immunocytochimiques** : permettent de localiser dans la cellule des molécules bactériennes. On utilise des anticorps marqués par la peroxydase, la biotine ou des molécules fluorescentes comme la fluorescéine. La formation d'un complexe stable antigène-anticorps permet de repérer la présence d'une molécule dans la cellule.

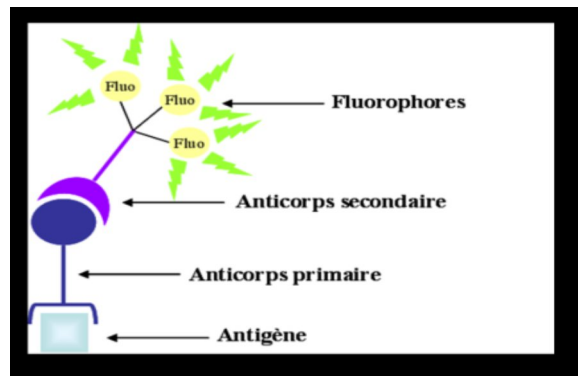
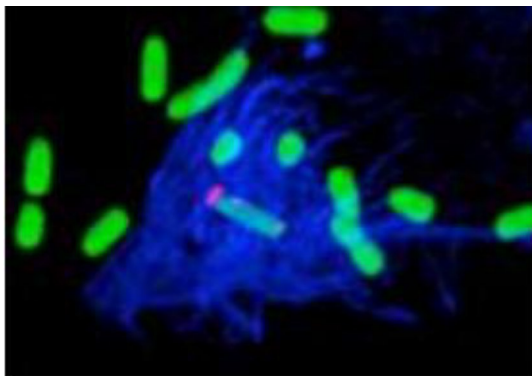


Fig. 08 : Schéma et photo microscopique sur les méthodes immunocytochimiques

2- MORPHOLOGIE CELLULAIRE

2-1- Formes des cellules bactériennes

La forme des bactéries est un facteur primordial de différenciation des principaux groupes bactériens, les bactéries sont des organismes unicellulaires de formes variées. On distingue généralement :

Bactéries de forme arrondies ou **cocci**, isolées, en chaînette, en amas (nombre variable de cellules) : **Staphylocoques, Streptocoques ...**

- **Bactéries de forme cylindrique ou en bâtonnet**: On en distingue deux principales:

a- Le bâtonnet droit ou bacille (allongée) : isolé, en chaînette ou en amas, de longueur et de diamètre variables : *E.coli, Salmonella, Bacillus*.

b- le bâtonnet incurvé ou vibrion : bacille incurvé, en virgule :

Vibrio cholerae

- Bactéries de **forme spiralée**: **spirilles, spirochètes, comme *Treponema***.

- Un groupe particulier de bactéries de **forme filamenteuse** se rapprochant des moisissures: **les Actinomycètes**.

2-2- Taille

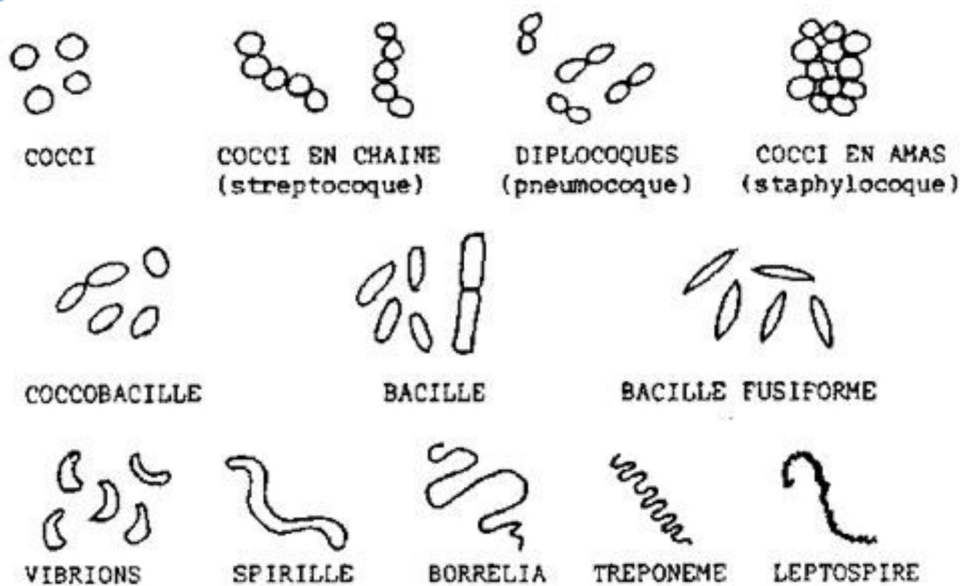
Les bactéries les plus petites ont une taille d'environ 0,2 μm (Chlamydia) et les plus longues certains Spirochètes peuvent atteindre 250 μm de long. En moyenne la taille se situe entre 1 et 10 μm .

2-3- Associations cellulaires

Une espèce bactérienne peut apparaître sous forme de cellules isolées séparées ou en groupements caractéristiques variables selon les espèces : **association par paires, en amas réguliers, en chaînette, par quatre (tétrades)**.

Une espèce bactérienne peut apparaître sous forme de cellules isolées séparées ou en groupements caractéristiques variables selon les espèces : Chez les coques, on peut distinguer **les diplocoques** (paires), **les streptocoques** (chaînes), **les staphylocoques** (amas en forme de grappes de raisin) ou **les tétrades** (sarcines).

MICROBIOLOGIE



(a)

MORPHOLOGIE BACTERIENNE

Formes sphériques : coques	Formes allongées
<p>★Forme ronde : ● Ex. : <i>Staphylococcus</i></p> <p>★Forme ovale (ovoïde) : ● Ex. : <i>Streptococcus</i></p>	<p>★ Formes droites :</p> <p>court ■ Long ■</p> <p>épais ■ fin —</p> <p>Bouts ronds ● bords carrés ■</p> <p>Coccobacille ● Fusiforme ●</p> <p>★ Formes particulières</p> <p>➤ Forme incurvée ⤿ ex : <i>Vibrio</i></p> <p>➤ Forme spiralée ⤿ ex : <i>Treponema</i></p>
<p>★Mode de groupement :</p> <p>➤ isolé ●●●</p> <p>➤ par deux (diplocoques) ●●</p> <p>➤ En flamme de bougie ●● ex. : <i>Streptococcus pneumoniae</i></p> <p>➤ En grain de café ●● ex. : <i>Neisseria</i></p> <p>➤ Par quatre : tétrade ●●●● ex. : <i>Micrococcus</i></p> <p>➤ En amas ●●●●●●</p> <p>➤ En chaînette ●●●●●●</p>	<p>★ Modes de groupement :</p> <p>➤ isolés ■ ■ ■</p> <p>➤ diplobacille ■■</p> <p>➤ En amas ■■</p> <p>➤ En chaînette ■■■■■■</p> <p>➤ En palissade ■■■■</p>

(b)

Fig. 09 : Les différentes formes et associations bactériennes (a, b)

2-4- Eléments constants et inconstants de la structure bactérienne

- Certaines structures sont présentes chez toutes les bactéries, ce sont les éléments

- « constants » ou « obligatoires » ; communs à toutes les bactéries observées, sont toutes limitées par une enveloppe comprenant au moins
 - ✓ **Une paroi** ; (sauf chez les mycoplasmes) qui forme une enveloppe rigide.
 - ✓ **Une membrane cytoplasmique** ; qui entoure le cytoplasme possède deux feuilletts phospholipidiques contenant des protéines
- ✓ Un **cytoplasme** avec des inclusions ex : **ribosomes**, vacuoles contenant des substances de réserve, un **élément nucléaire ; noyau et du chromosome**.
- ✓ **Polysome et périplasma**

D'autres sont retrouvés seulement chez certaines bactéries : ce sont les éléments « inconstants » ou « facultatifs » :

- quant à elles, peuvent être des polymères de surface comme
 - ✓ la **capsule**,
 - ✓ les **flagelles** et les **pili** comme
 - ✓ et des structures génétiques comme les **plasmides** (molécules d'ADN extra-chromosomiques).
- ✓ Les **spores** caractérisent quelques genres bactériens (*Bacillus* et *Clostridium*); elles ne sont élaborées que lorsque les conditions de vie deviennent défavorables.
- ✓ **Vacuole à gaz, inclusion de réserve et mésosome**

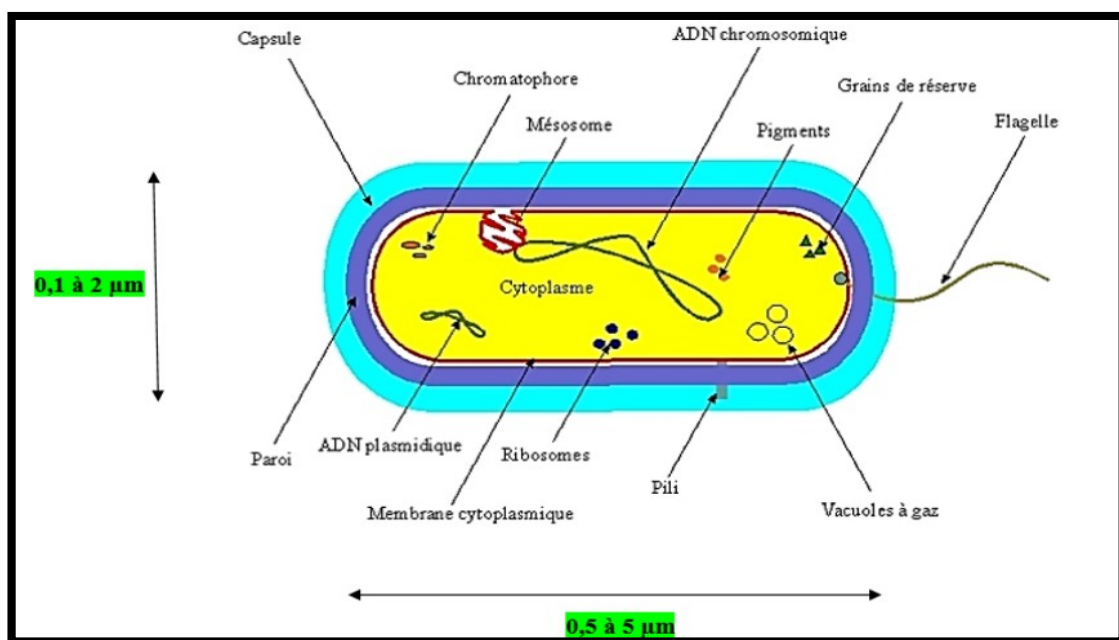


Fig. 10: Représentation schématique montrant les différentes structures bactériennes

3- LA PAROI

Enveloppe **rigide** assurant l'intégrité de la bactérie. Elle est responsable de la forme des cellules. Elle est **absente** chez les **Mollicutes**, (*Mycoplasma*). Elle **protège** des variations de pression osmotique ; malgré la forte pression osmotique (5 à 20 atmosphères) qui règne à l'intérieur du cytoplasme bactérien, la bactérie n'éclate pas grâce à l'existence de la paroi qui est de nature polymérique. Les polymères et leur mode de liaison varient selon les espèces bactériennes. Toutefois, une substance de base, *spécifique des bactéries*, est partout présente : c'est la muréine, appelée encore peptidoglycane.

3-1- Composition chimique de la paroi

La paroi permet la différenciation de deux grands types de bactéries. En effet, la distinction entre bactéries à Gram **positif** et à Gram **néгатif** repose sur une différence de composition pariétale.

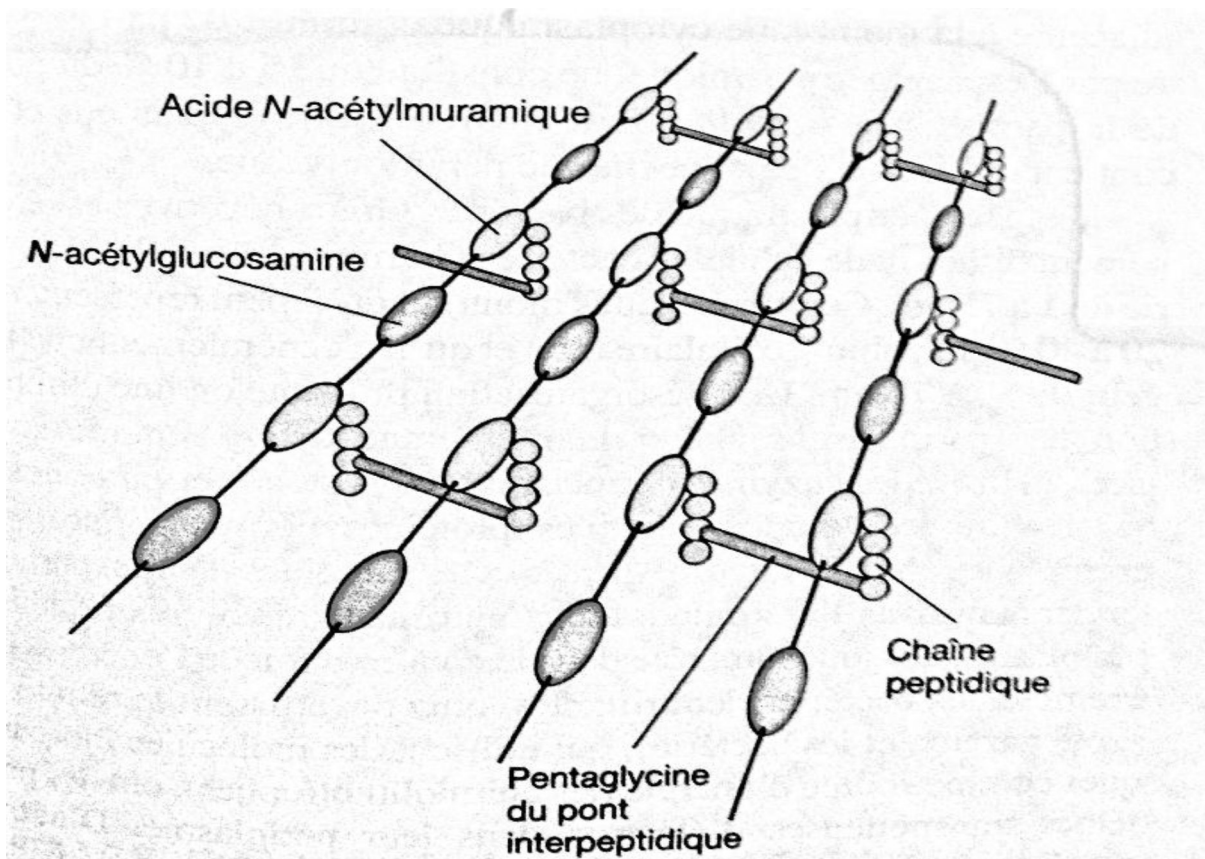
Gram positive	Gram négative
Très peu de lipides (1 à 2 %)	Lipides en grande quantité (10 à 20 %, Membrane externe)
Acides teïchoïques et lipoteïchoïques	Il n y a pas d'acides teïchoïques ou lipoteïchoïques
4 Acides aminés majeurs : Ala (D et L) D-Glu, L-Lys, acide diaminopomélique (DAP)	Mêmes acides aminés Beaucoup moins de DAP et de L-Lys
Osamines N-acétyl glucosamine (NAG) et Acide N-acétyl muramique (ANAM)	

Fig. 11 : Principaux constituants chimiques de la paroi

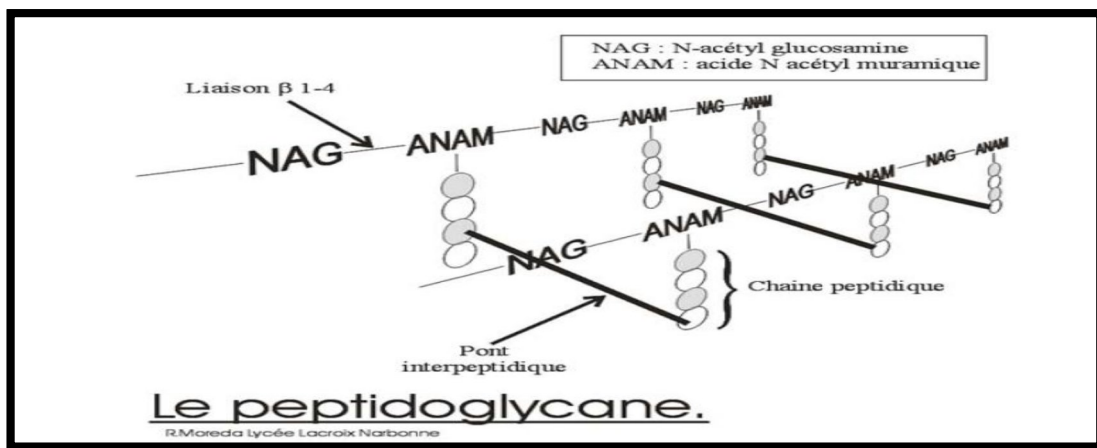
A- Le peptidoglycane

Le peptidoglycane (la muréine) est un polymère complexe formé de 3 éléments différents :

- B- une épine dorsale faite d'une alternance de molécules de N-acétylglucosamine et d'acide N-acétylmuramique ;
- C- un ensemble de chaînes latérales peptidiques identiques, composées de 4 acides aminés et attachées à l'acide N-acétylmuramique ;
- D- un ensemble de « ponts interpeptidiques » identiques.



(a)



(b)

Fig. 12 : Dessin schématique du peptidoglycane (a,b)

B- Acide teïchoïques: l'acide téichoïque est un acide qui permet au peptidoglycane de s'attacher à la membrane des bactéries. Il est présent sur les Gram + mais pas sur les Gram -.

3-2- Structure moléculaire de la paroi des Gram négatives et positives

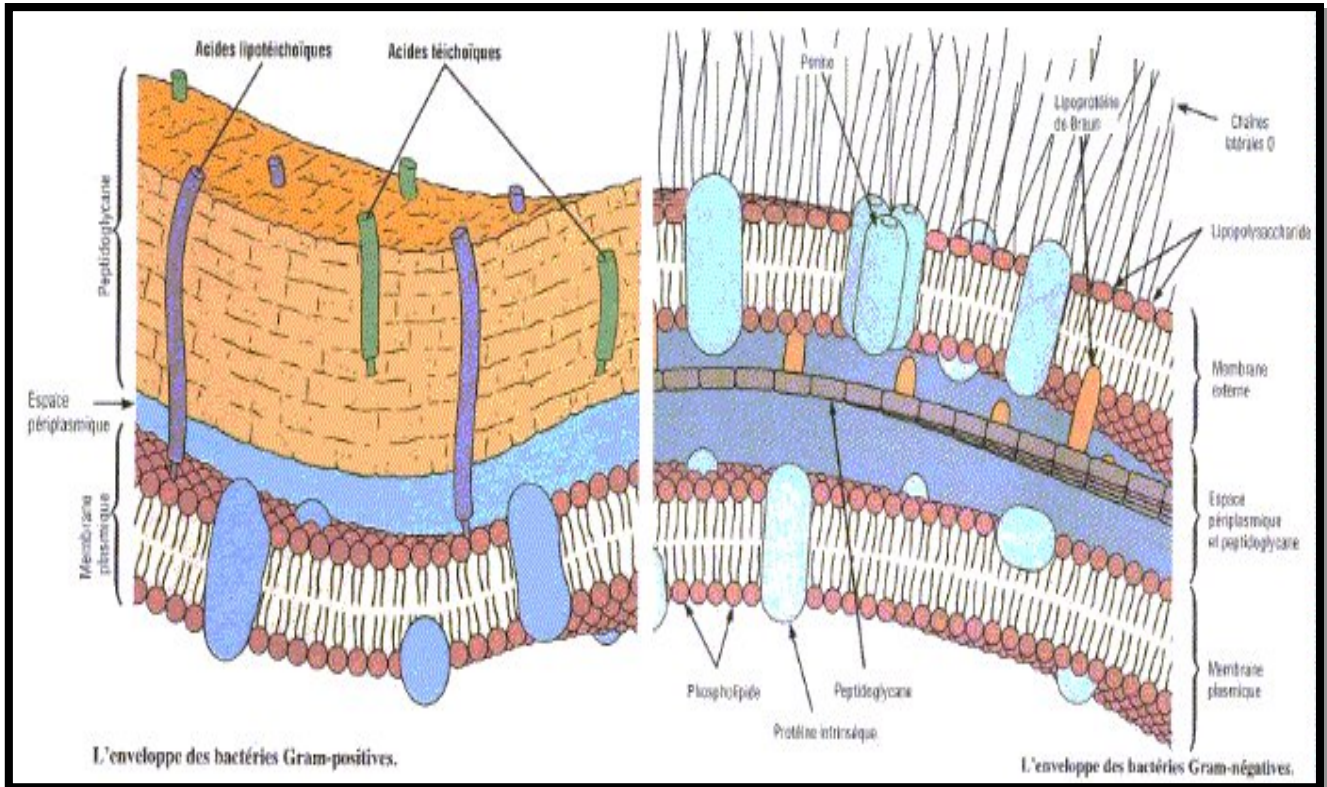


Fig. 13 : Paroi de Gram négative et Gram positive

3-2-1- Paroi des Gram positives

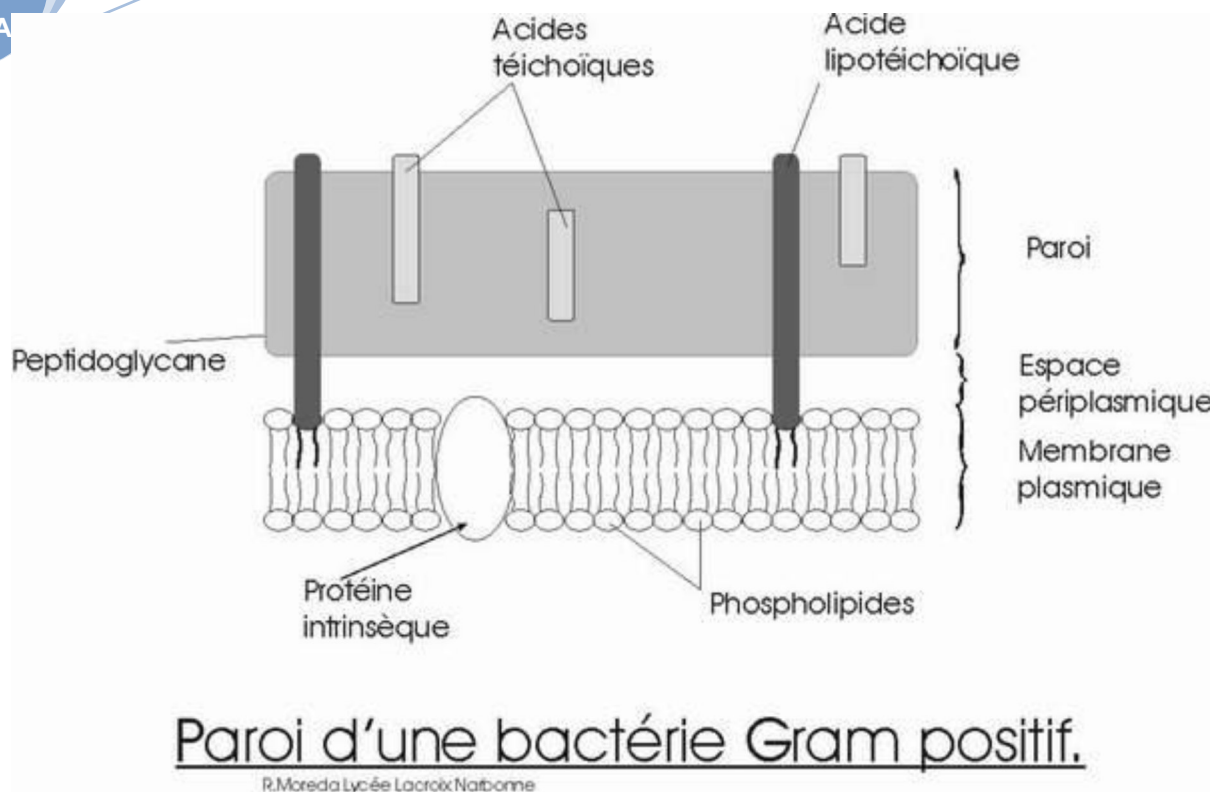


Fig. 14 : Paroi Gram+

- Le peptidoglycane est **le constituant majeur** des constituants de la paroi bactérienne.
(90%), il y a de nombreuses couches de **peptidoglycane**.
- Le reste correspond à un feutrage d'acides téichoïques (10%) (polymères du glycérol ou du ribitol phosphate) associés étroitement au peptidoglycane et faisant parfois saillie à la surface de la bactérie.
- Le peptidoglycane est **très solide**, les liaisons croisées entre chaînes glucidiques sont nombreuses.
- Présence de **flagelles**

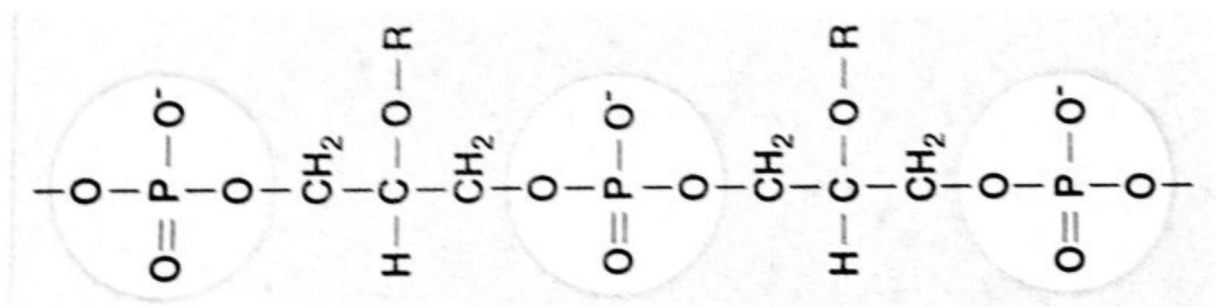


Fig. 15 : Structure d'un acide téicoïque: Phosphate + glycérol + R (Alanine, Glucose...)

3-2-2- Paroi des Gram négatives

Beaucoup plus complexe, elle est constituée **du peptidoglycane et de la membrane externe**. Il y a plusieurs couches :

- Peptidoglycane en couche mince.
- Phospholipides

La **membrane externe** est formée de :

- - Lipoprotéines de Braun : une petite lipoprotéine attachée par liaison covalente au peptidoglycane sous-jacent et enfouie dans la membrane externe par son extrémité hydrophobe.

Lipopolysaccharides (LPS) : formé de 3 parties :

- **Le lipide (A)** couplé à la glucosamine et à des résidus phosphore qui est amphiphile, possédant une partie hydrophobe et une hydrophile. Il y a analogie entre les appellations

« **endotoxine** », « **lipide A** » et « **membrane externe** »

- **Le polysaccharide central (ou core)** : constitué de 10 sucres.

- La partie périphérique appelée : **la chaîne latérale O, ou antigène O**, chaîne courte, sa composition varie selon la souche bactérienne.

Le LPS joue plusieurs fonctions, telle que l'**attachement** sur les surfaces, **bloque l'entrée de substances toxiques**. Il agit comme **une endotoxine** (lipide A) qui cause les symptômes des maladies induites par des Gram négatives.

On note également la présence de **PORINES** (protéines de passage trimérique) : seules structures de transport des composés hydrophiles, essentielles à la vie de la bactérie comme

les monosaccharides, mais aussi à l'action de certains antibiotiques. **D'autres protéines** servent à la captation d'ions (fer), ou de vitamines (facteurs de croissance).

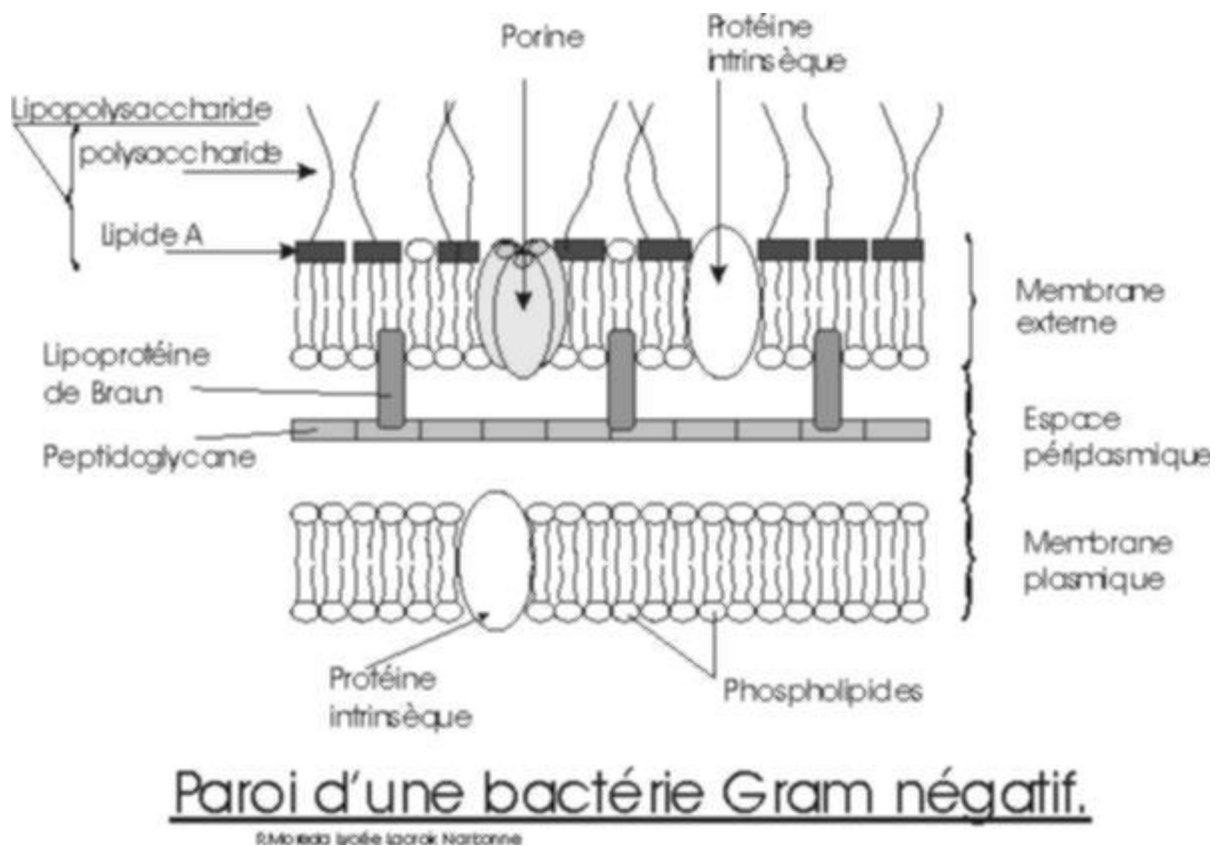


Fig. 16 : Paroi Gram-

3-3- Fonctions de la paroi

- Assurer le maintien de la forme de la bactérie
- Assurer une protection contre la pression osmotique intracellulaire (car forte concentration en métabolites à l'intérieur de la cellule → l'eau rentre).
- Propriétés antigéniques
- Permettre la fixation des bactériophages. Ils reconnaissent des récepteurs localisés sur le peptidoglycane des Gram(+) ou la membrane externe des Gram(-).

Cette propriété est utilisée pour l'identification de certaines bactéries : c'est la **lysotypie**.

- Participer à la mobilité. En effet, les flagelles sont implantés dans la membrane cytoplasmique mais ne peuvent pas fonctionner en absence de peptidoglycane.
- Toxicité. Chez les Gram(-), le LPS est une endotoxine (effet toxique porté par le lipide A) qui peut donner fièvres et lésions.
- Perméabilité. La paroi laisse passer de petites molécules comme l'eau, les sels minéraux ou des métabolites simples. Par contre elle est plus ou moins perméable à certains solvants (exemple l'alcool. cf. coloration de Gram).
- **L'espace péri plasmique** : Contient des enzymes qui participent à la nutrition (hydrolases) et des protéines qui sont impliquées dans le transport de molécules à l'intérieur de la cellule.
- Les Gram (+) excrètent plutôt les enzymes hors de la cellule. Ce sont alors des « **exoenzymes** ». Celles des Gram – sont retenues entre les membranes Interne et Externe.

3-4- Coloration de Gram

Les différences de constitution et de structure chimique des parois Gram (+) et Gram (-) permettent d'établir le principe de la **coloration élaborée par Christian GRAM** (1884) :

Procédure de la coloration de Gram :

Après fixation du frottis on colore avec le **violet de gentiane**. On rince avec de l'eau. On rajoute un fixateur qui est le **Lugol**. On rince avec de l'eau distillée. On procède ensuite à une étape de décoloration par un mélange d'alcool et d'acétone. Ce dernier pénètre dans les bactéries Gram négatives et non dans les bactéries Gram positives dont les pores ont fermés par déshydratation par l'alcool. On rince et on procède à une contre coloration à la safranine. Les Gram positives vont apparaître **violetes** et les Gram négatives **roses**.

4- MEMBRANE PLASMIQUE

4-1- Composition chimique

Elle possède le même type de structure que celle d'une cellule eucaryote (bicouche phospholipidique) mais avec **beaucoup moins de glucides et jamais de stérols** (sauf chez les mycoplasmes).

Elle est composée de **60 à 70 % de protéines** et **30 à 40 % de lipides**.

La membrane plasmique contient les enzymes de **la chaîne respiratoire**, les déshydrogénases et les coenzymes associés : NAD⁺, FAD, cytochromes, cytochrome oxydase.

D'autres enzymes impliquées dans la synthèse des lipides et dans la réplication de l'ADN y sont localisées.

4-2- Structure de la membrane plasmique

- Les membranes cellulaires sont des structures très minces d'environ 5 à 10nm d'épaisseur qui ne peuvent être observés qu'au microscope électronique.
- La membrane cytoplasmique apparait constituée de trois couches, une couche claire comprise entre deux couches sombres, son analyse biochimique montre qu'elle est riche en phospholipides.

Les lipides sont à la base de la structure de la membrane. Chaque molécule de lipide est amphipathique ; elle est constituée d'une partie hydrophobe et une partie hydrophile. La partie hydrophobe soluble dans l'huile mais insoluble dans l'eau et une partie hydrophile ayant des propriétés opposées et portant un groupement phosphate chargé négativement. **Ces deux couches moléculaires induisent une organisation en double feuillet.** Cette organisation n'est pas statique, elle répond au modèle dit en **mosaïque fluide** (Les molécules peuvent se déplacer latéralement en échangeant leurs places). On distingue deux catégories de protéines : **les protéines périphériques** et **les protéines intégrales** qui traversent complètement le double feuillet.

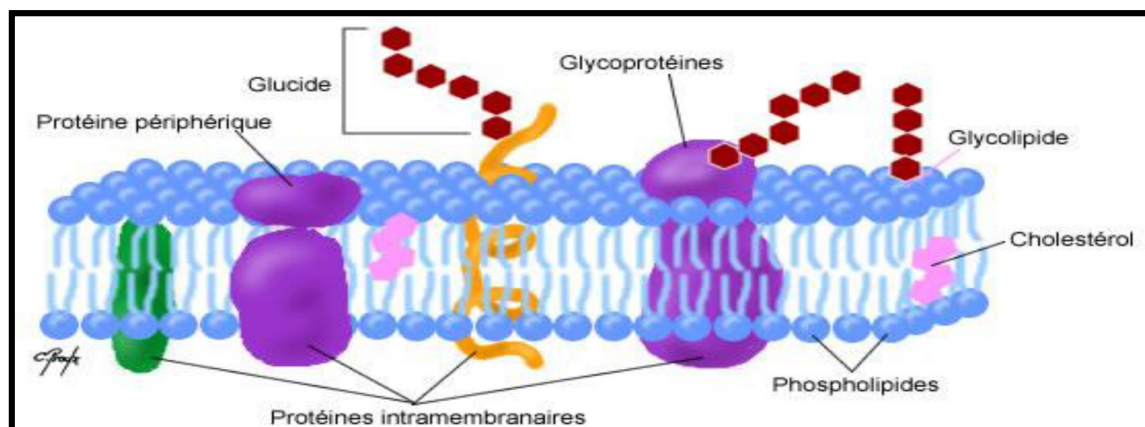


Fig. 17: Structure de la membrane cytoplasmique bactérienne

4-3- Fonctions de la membrane plasmique

a-Rôle de barrière semi-perméable (ou semi sélective): elle permet le passage de molécules lipophiles et empêche le passage des molécules hydrophiles.

On distingue 2 grands types de transport :

Le transport passif : il se fait dans le sens du gradient de concentration et ne nécessite pas d'énergie.

Le transport actif : il se fait en sens inverse du gradient de concentration des molécules, ce qui nécessite l'utilisation d'énergie (généralement fournie sous forme d'ATP)

b- Site de fixation des flagelles

c- Possède des protéines membranaires ayant pour rôles :

Enzymes responsables de la biosynthèse et de l'excrétion dans l'espace péri plasmique de molécules nécessaires à la synthèse de la paroi. Des **Enzymes de la chaîne respiratoire** permettant la synthèse d'ATP et celles de la photosynthèse. Enfin, des **transporteurs** de diverses molécules (ions, sucres, ...) dans les 2 sens.

De plus la membrane joue un rôle important dans la détection des signaux et de composés présents dans le milieu environnant grâce à **la présence de protéines transmembranaires du chimiotactisme**. Ceci, permet aux bactéries dotées de flagelles, **de nager vers les endroits** les plus riches en nutriments, ou bien, de s'éloigner des endroits défavorables comme ceux qui contiennent des substances toxiques. Ces protéines interviennent dans le sens de rotation des flagelles.

5- CYTOPLASME

Le cytoplasme est un hydrogel colloïdal neutre de pH neutre situé entre 7 et 7,2, délimité par la **membrane cytoplasmique**. Comprenant :

5-1- Les ribosomes

Sont de petites granulations sphériques de 20 à 30 nm de diamètre, contenant environ 66% d'ADN ribosomal (ARNr) et 33% de protéines.

Ils ont un coefficient de sédimentation de 70S (unités Svedberg) par opposition à celui des cellules eucaryotes qui est de 80S, se dissocient en deux sous-unités :

***la petite sous unité** de 30S.

la grande sous unité, de 50S.

Les ribosomes interviennent dans la **synthèse des protéines**. Sont associés en chapelets sur l'ARNm sous forme de **polysomes**.

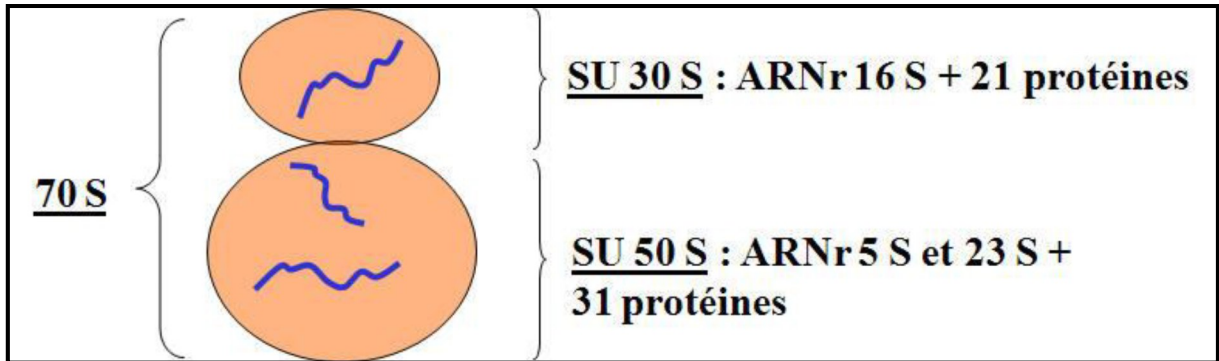


Fig. 18: Le ribosome bactérien

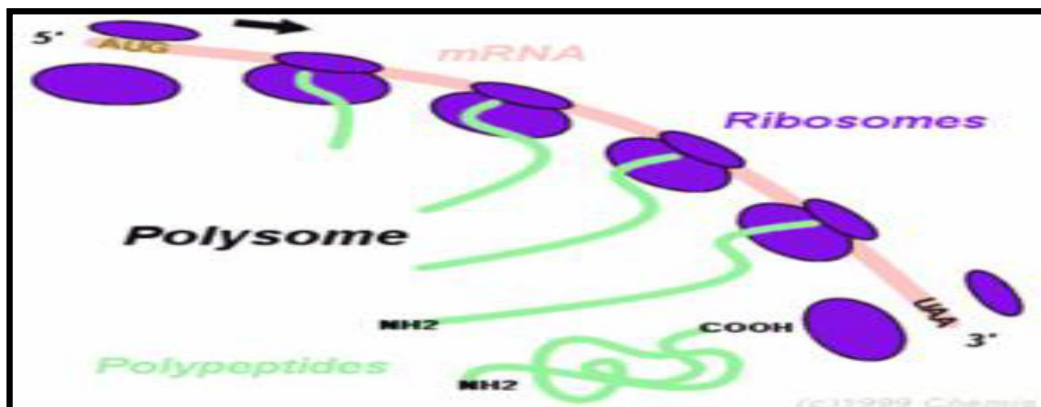


Fig. 19: Polysome

5-2- Les substances de réserve

Les substances de réserve = inclusions cytoplasmiques : en général, chaque groupe de bactéries synthétise une seule catégorie de substances de réserve qui forment des agrégats, parfois de grande taille. Cela peut être des **glucides** (amidon et glycogène), des **lipides** (poly-hydroxy-butyrate), **du polyphosphate**, et parfois des **minéraux (fer, soufre)**.

Au niveau de cytoplasme bactérien il existe aussi :

-Des organites spécialisés : On trouve des **chromatophores** (organites spécialisés dans la photosynthèse),

Vacuoles à gaz (permettant aux bactéries aquatiques de flotter à la surface de l'eau).

6- CHROMOSOME

6-1- Morphologie et structure

- Chez les bactéries, le chromosome est constitué d'un unique filament continu et circulaire formé d'une double chaîne d'ADN (à laquelle semblent associées des protéines notamment des topoisomérases qui interviennent dans le repliement de la molécule d'ADN, par contre on ne trouve pas d'histones comme chez les eucaryotes. On trouve par contre des polyamines analogues aux histones, tel que la protéine II, riche en Arginine.

- L'absence de membrane nucléaire conduit à parler **d'appareil nucléaire** ou de **nucléoïde** ou de **chromosome** plutôt que de noyau.

- La majorité des bactéries possèdent un chromosome unique, circulaire. Par contre, *Vibrio cholerae* en possède **deux**, un grand de 2,9 millions de bases et un petit de 1 million de bases.

- Celui d'*Escherichia coli* est empaqueté. Il mesure 1400 μm et 300 \AA d'épaisseur.

- La morphologie des corps observés est variable selon la phase de croissance et de division de la bactérie.

* Chez **les cocci**, on observe une petite masse sphérique ou ovoïde, souvent centrale.

* Chez **les bacilles**, un bâtonnet situés transversalement dans la cellule.

L'appareil nucléaire se réplique plusieurs fois avant que la cellule ne se divise.

6-2- Composition

L'ADN ou acide désoxyribonucléique est un polymère de PM élevé, composé d'unités appelées nucléotides.

Nucléotide : « **Groupement phosphoré + sucre à 5 atomes + une base purique ou pyrimidique** ».

Bases puriques : Adénine A et Guanine G

Bases pyrimidiques : Cytosine C et Thymine T

Le sucre : Désoxyribose

Le groupement phosphoré : est un phosphate diester en 3' et 5' du désoxyribose

Il y a autant de « A que de T » et autant de « C que G » par contre le rapport (A+T)/G+C) mieux connu sous le nom de coefficient de Chargaff varie selon les espèces. On l'exprime en GC%. 50% chez *E.coli* 60% chez *Pseudomonas*, 25 à 45% chez *Clostridium*.

6-3- Réplication chimique

L'ADN se réplique, c'est-à-dire qu'il se reproduit lui-même. La séquence sur une chaîne détermine automatiquement la séquence sur l'autre chaîne.

La réplication **est bidirectionnelle et semi-conservative** : Chaque chaîne parentale reste associée à la nouvelle chaîne pour qui elle sert de matrice.

Mécanisme de réplication :

- La réplication débute en un point spécifique (**le point origine ou point d'initiation**).
-Au niveau de la fourche de réplication, l'un des deux brins est synthétisé dans le sens de déplacement (3'OH libre), catalysé par la DNA polymérase III. Il est **appelé brin précoce ou avancé**. L'autre à extrémité 5' sera synthétisé par **fragments d'Ogasaki** et il est appelé **brin tardif**.

-Ces fragments de 1000 à 2000 résidus nécessitent **des amorces d'ARN** synthétisées par une ARN polymérase DNA dépendante appelée **primase**.

-Ensuite ces amorces ARN sont excisées par **l'ADN polymérase I** (activité exonucléasique) et les délétions sont remplacées par de l'ADN par cette même enzyme.

-Enfin l'ADN ligase relie les différentes séquences au niveau de leurs extrémités 3'OH et 5'OH libre.

-Durant toutes ces étapes, les d'ADN matrice sont maintenus déroulés et stabilisés par des protéines appelées « **DNA bindingproteins** ».

- **Les enzymes impliquées :**

- **Gyrase ou Topoisomérase II** : La **Gyrase** fait une coupure au niveau de l'un des brins, ce qui induit la désenroulement de l'ADN superenroulé en molécule circulaire enroulée.
- **Hélicase**: Elle ouvre les chaînes d'ADN avant la réplication.
- **DNA bindingproteins**
- **ADN polymérase I, II, III** : catalysent l'addition des désoxyribonucléotides à l'extrémité d'une chaîne d'ADN, elles ont aussi une activité exonucléasique. La III est la plus active.

- **ADN ligase** : unit les extrémités de deux chaînes d'ADN en catalysant la synthèse d'un pont phosphodiester entre un 3'OH et 5'P. Elle répare les coupures d'ADN et circularise l'ADN bactérien.

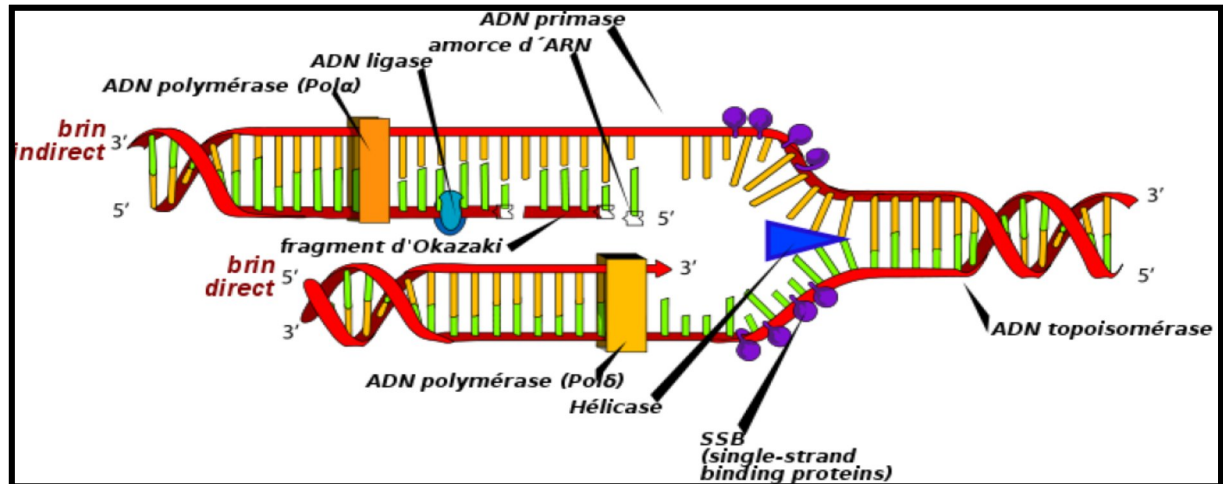


Fig. 20: Fourche de réplication de l'ADN chez E. coli

7- PLASMIDES

La cellule bactérienne peut contenir des éléments génétiques extra chromosomiques, capables d'autoréplication. On les appelle **plasmides (Lederberg, 1952)**. Certaines bactéries possèdent plusieurs plasmides différents. Les plasmides permettent à la bactérie une meilleure adaptation à son environnement.

7-1- Structure des plasmides

Ce sont des molécules d'ADN bicaténaire, généralement **circulaires**, mais **il en existe des linéaires**. Parfois ils s'intègrent dans le chromosome et on les appelle des **épisomes**. Ils sont transmissibles aux cours des générations mais pas de façon équitable comme pour le chromosome.

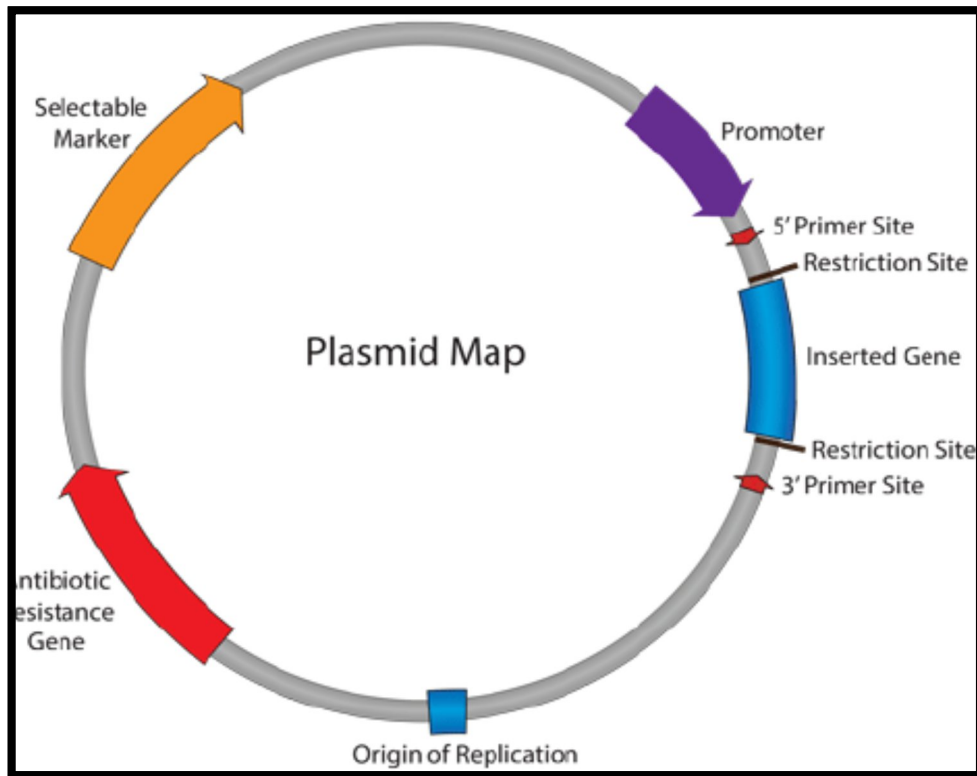


Fig. 21: Représentation schématique d'un plasmide commercial



Fig. 22: Plasmide au microscope électronique

Les plasmides sont généralement de petite taille, (1 kb à 400 kb), 1/100 du chromosome bactérien. Ils portent très peu de gènes, moins de 30. On classe les plasmides selon leur fonction et leur propagation.

On distingue ainsi : des **plasmides conjugatifs**, qui portent le gène responsable de la synthèse des pili sexuels, nécessaires à la conjugaison.

Des **plasmides R** (facteurs de résistances) : ils permettent aux bactéries de résister aux antibiotiques.

Des **plasmides Col** qui codent pour des protéines dites **bactériocines**, telle que **la colicine d'*E.coli***. Les bactériocines donnent un avantage à la bactérie en tuant des souches très proches systématiquement parlant d'*E.coli*.

Des **plasmides de virulence** qui codent pour des **toxines** responsables des symptômes causés par des bactéries pathogènes.

Des **Plasmides métaboliques** qui codent pour des enzymes capables de cataboliser des molécules complexes, aromatiques qui polluent notre environnement (pesticides) ou bien des nutriments comme le lactose, citrate de Na, urée. Enfin la fixation de l'azote chez *Rhizobium*.

7-2- Réplication des plasmides

Les plasmides ont leur propre origine de réplication, se répliquent de façon **autonome** et sont transmis aux cellules filles de manière stable.

Le plasmide peut se répliquer selon deux modèles:

A- La réplication de type Thêta θ , uni ou bidirectionnelle, à partir d'une origine de réplication en utilisant l'équipement enzymatique de la bactérie hôte.

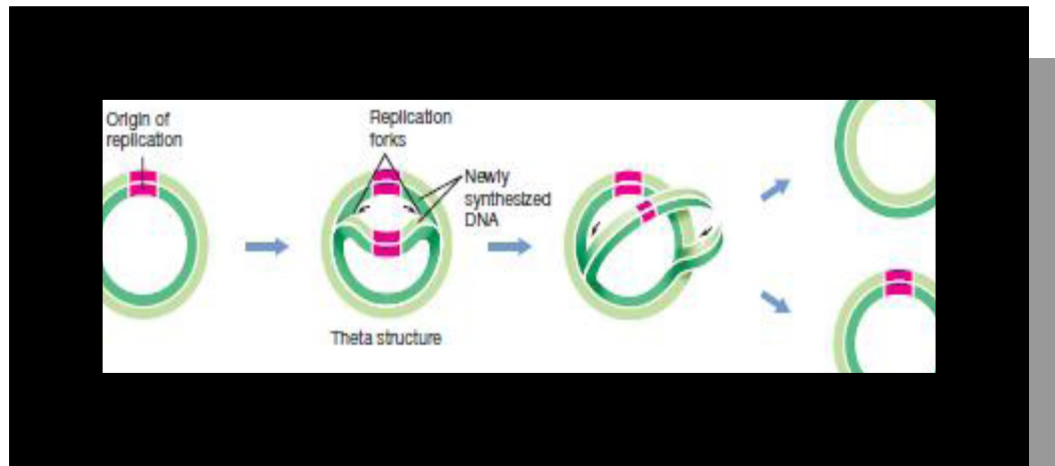


Fig. 23: Réplication de Type « Thêta θ »

B- Une répliation de type « rolling cercle » ou cercle déroulant. Un brin est coupé par une nucléase. Ce brin va se dérouler autour de l'autre brin dans le sens 5'P et la bactérie va synthétiser un brin complémentaire simultanément aux deux brins parents.

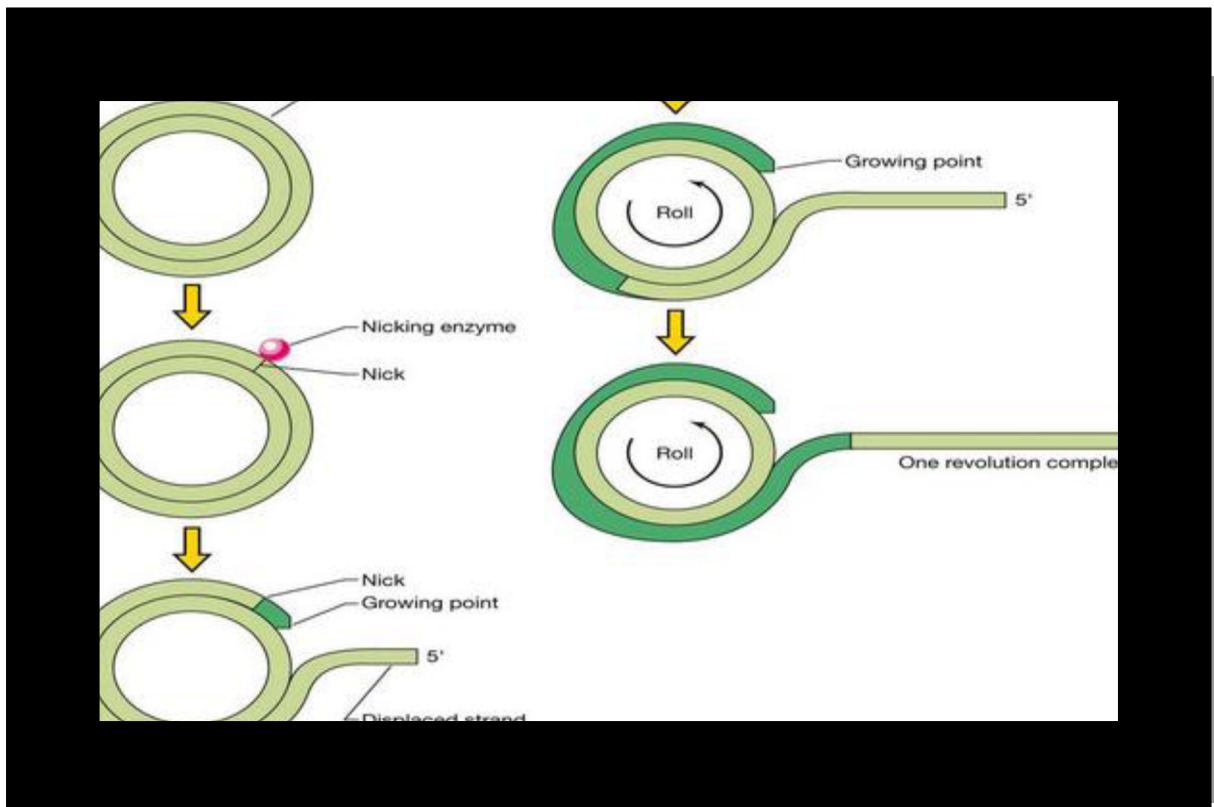


Fig. 24: Réplication de type « Rolling cercle »

7-3- Propriétés des plasmides

Le plasmide peut être perdu (le phénomène de **curage**), soit spontanément au cours des repiquages ou de la conservation des souches, soit sous l'influence de facteurs physiques (rayons UV) ou de facteurs chimiques. Les plasmides portent souvent des gènes qui ne sont pas indispensables à la vie cellulaire, mais peuvent assurer un meilleur fonctionnement de la cellule bactérienne. Il existe plusieurs types de plasmides, qui codent pour différentes fonctions ; on distingue :

- Résistance aux antibiotiques** (90% plasmidique) les 10% restant (chromosomique).
- Résistance aux métaux lourds** (mercure, sels de cadmium, bismuth, de plomb, d'antimoine et arsénites).
- Production de substances à rôle pathogène.** L'exemple le plus étudié est rencontré chez les *Escherichia coli*, responsables de diarrhées.

d) **Le pouvoir pathogène** dans les 3 cas est contrôlé par une information génétique **portée par un plasmide**, codant pour des **entérotoxines** et des **facteurs de colonisation** permettant l'attachement des bactéries à la surface de l'intestin (épithélium intestinal).

e) **Production de bactériocines**

f) **Caractères métaboliques** : un grand nombre de caractères biochimiques des bactéries sont d'origines plasmidiques.

8- PILI

8-1- Structure

- Au microscope électronique, ils apparaissent comme de minces tubes composés de sous-unités protéiques (la piline) arrangées en hélice et ils ont à peu près 3 à 10 nm de diamètre sur plusieurs µm de long que l'on trouve fréquemment chez les bactéries à Gram **négatif** et rarement chez les bactéries à Gram positif
- A ce jour on distingue **4 types de Pili (I, II III et IV)**. Il est plus juste de nommer les **types I, III, IV** des **fimbriae** et le **type II** un **Pili sexuel**. On en distingue alors deux catégories :

A- Les pili communs (ou fimbriae): Les fimbriae : mot latin, signifie **filament** . C'est un appendice court (de l'ordre de 1µm) et cassants, creux, rigide, très nombreux (parfois quelques centaines par bactérie). Ils possèdent des **propriétés antigéniques**. Jouent un rôle dans **l'agglutination** des bactéries et constituent un des éléments de pouvoir invasifs par le **processus d'adhésion** aux surfaces, (ex : *E.coli* qui colonise la muqueuse intestinale). Les pili communs sont donc des **facteurs d'adhésion** ou **adhésines**, qui sont reconnus par des récepteurs glycoprotéiques ou glycolipidiques des cellules de l'hôte.

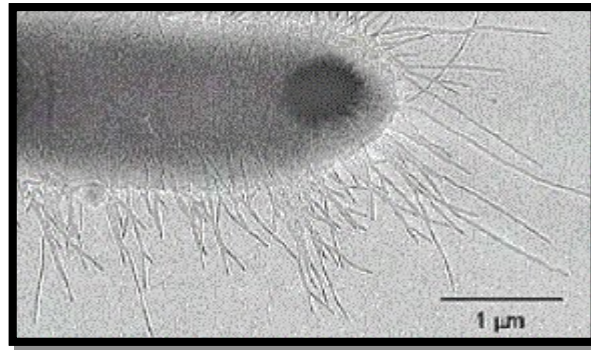


Fig. 25: Pili communs chez *Escherichia coli*

B -Les pili sexuels ou de type II :

Pili en latin signifie **cheveu**. Ils sont plus longs (jusqu'à 20 μm) et plus épais que les fimbriae (10 μm, 9 nm respectivement) ,mais en nombre plus restreint (1 à 4 cellule).

Ils jouent un rôle essentiel dans le processus de conjugaison (transfert de matériel génétique entre bactéries par contact). Ils peuvent aussi servir de support de fixation pour certains bactériophages. Ces *pili* sont déterminés génétiquement par des **plasmides conjugatifs**.

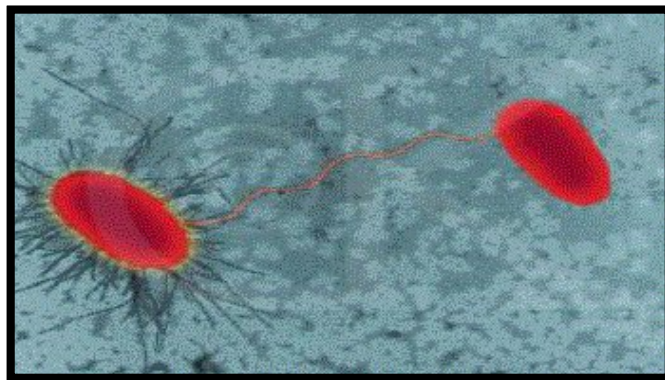


Fig. 26: Bactéries en conjugaison, liées par un pilus sexuel

8-2- Fonction du pili

- **Les fimbriae de type I, III** ; jouent un rôle dans l'adhésion des bactéries aux différents supports vivant ou non. Ils favorisent la formation de **biofilm**.
- **Les fimbriae de type IV**, retrouvés par exemple chez *Pseudomonas aeruginosa*, en plus de l'**attachement**, ils sont impliqués dans un autre mode de **mobilité**. On les retrouve au niveau des pôles des cellules

bactériennes. Les fimbriae **IV** se contractent et se rétractent comme un ressort, pour permettre la mobilité de la bactérie.

- **Le pili sexuel ou de type II:** Il a un rôle dans la **conjugaison bactérienne** (un des trois modes de transfert de matériel génétique d'une bactérie à une autre). Entraîner la création d'un pont cytoplasmique entre les deux bactéries, permettant ainsi le passage d'une molécule de plasmide.

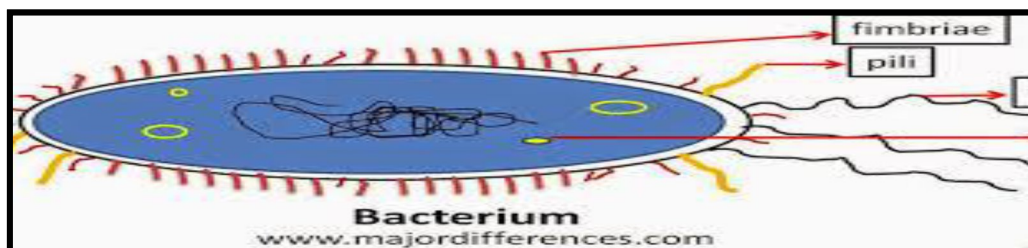


Fig. 27: Schéma représente le fimbriae et pili

9- CAPSULE

9-1- Morphologie de la capsule

Certaines bactéries possèdent des structures entourant la paroi. On distingue en réalité 3 types de couches, **la capsule, les couches mucoïde et la couche S** selon les bactéries.

La capsule, est bien organisée, bien définie et elle est difficilement détachable de la bactérie.

La couche mucoïde, retrouvée chez les bactéries aquatiques est moins bien organisée, diffuse, elle est facilement détachable de la bactérie.

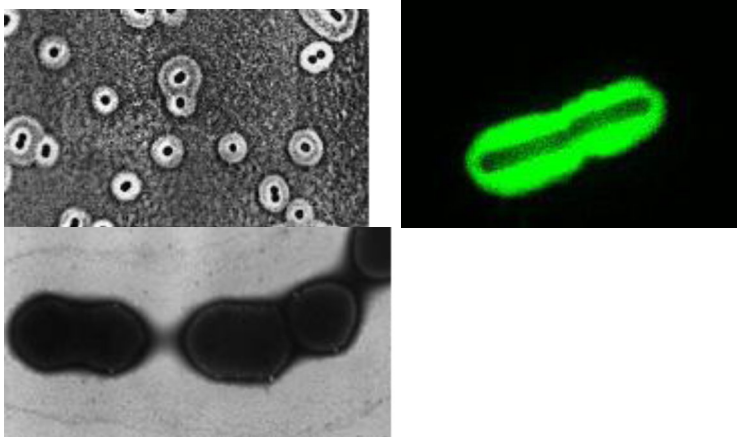
La couche S, plus rigide, très structurée. C'est une couche de surface mise en évidence que par microscopie électronique. Elle est constituée de sous unités protéiques organisées de façon.

9-2- Mise en évidence de la capsule

Etat frais à l'encre de chine : les bactéries apparaissent sur fond sombre avec un halo clair autour du corps bactérien qui correspond à la capsule.

Microscopie électronique

Techniques immunochimiques : des Anticorps anti-capsulaires se fixent sur les Ag capsulaires. Le complexe Ag-Ac précipite et augmente l'épaisseur de la capsule qui devient visible au microscope. Cette réaction est appelée : **Réaction de gonflement de la capsule de NEUFELD**.



Coloration à l'encre de chine Techniques immunochimiques Microscopie électronique

9-3- Composition chimique

La capsule et les couches mucoïdes peuvent être regroupées sous le terme de **glycocalyx**. Le glycocalyx est un réseau de polysaccharides. *Bacillus anthracis* agent de la maladie du charbon, possède une capsule de nature protéique.

La couche mucoïde est fréquente chez les bactéries aquatiques et particulièrement importante chez les bactéries du genre *Zooglea* qui produisent des masses gluantes. Certains polysides produits par des bactéries **ont un intérêt industriel et sont produits comme gélifiant** notamment en industries alimentaires : *Leuconostoc mesenteroides* produit des dextrans, *Xanthomonas* des xanthanes ...

La couche S est composée de protéines et de glycoprotéines, organisés en pavement.

9-4- Fonctions de la capsule

Les bactéries peuvent vivre sans capsule, mais cette dernière lui confère des avantages grâce à ses rôles :

- **De protection** : contre les Ultraviolets, la dessiccation, les agents physiques et chimiques.
- **De Virulence (la pathogénicité)**
- **p. Anti phagocytaire** : Elle s'oppose à la phagocytose en diminuant l'adhésion de bactéries aux macrophages. Elle exerce un chimiotactisme négatif sur les leucocytes.
- **Antigénique** : les Ag capsulaires sont responsable de la spécificité sérologique (Ag K). A partir de cette propriété, une classification peut être établie (ex : 70 types sérologiques différents chez *Streptococcus pneumoniae*).
- Elle est impliquée dans **l'adhésion**, dans la résistance aux protéases des macrophages et dans la protection vis à vis des bactériophages.
- **La Couche S**: Elle est trouvée chez des Archéobactéries (*Methanococcus* par ex) et chez des Bactéries (*Chlamydia*, *Treponema*, *Helicobacter*, *Bacillus Clostridium* ...). La couche S joue un rôle en tant que structure pariétale en plus de la paroi. Elle est impliquée dans l'adhésion, dans la résistance aux protéases des macrophages et dans la protection vis à vis des bactériophages. La couche S sert de filtre excluant aussi bien l'entrée que la sortie des molécules trop grosses.

10- CILS ET FLAGELLES

Ce sont des organes locomoteurs spécialisés. Ils sont très rares chez les coques.

10-1- Mise en évidence

Indirecte : état frais (bactéries en mouvement) ou en milieu semi-gélosé. Plusieurs facteurs influence la mobilité tels que l'âge de la culture, la température (*Yersinia sp* est immobile à 37°C et mobile à 22°C).

Directe : en **microscopie optique** après avoir épaissi les flagelles par des colorations spéciales (Rhodes, Leifson : fuchsine basique) ; ou en **microscopie électronique**.

Coloration de Rhodes : Les flagelles sont fragiles et la préparation du frottis est délicate

Technique :

-Préparation du frottis (utiliser une lame neuve) : laisse couler, sur lame inclinée à 45° au dessus de la cuve à coloration (mettre de l'eau de Javel dans la cuve), deux (02) gouttes d'une culture en bouillon (culture jeune : 6 à 12 heures) de la souche à étudier.

-Laisser sécher.

-Recouvrir la préparation de mordant de Rhodes (préparé extemporanément) pendant 3 mn

-Laver soigneusement à l'eau distillée.

- Recouvrir de nitrate d'argent ammoniacal (préparé extemporanément), chauffé presque à ébullition, et laisser agir 3 à 5 mn. Rincer à l'eau distillée à l'eau distillée.

-Sécher et observer à l'immersion.

10-2- Structure

- **Dans le système polaire** : le ou les cils sont insérés à une ou aux deux extrémités de la cellule. La cellule est :

* Monotriche : si l'on ne rencontre qu'un seul flagelle à l'une de ses extrémités.

* Amphitriche : lorsqu'un flagelle émerge à chacun des pôles.

*Lophotriche : lorsqu'une touffe de cils apparaît à l'une ou aux deux extrémités.

- **Dans le système péritriche** : la bactérie porte de très nombreux cils insérés sur tout le pourtour de la cellule. L'intérêt de ces notions est évident en taxonomie.

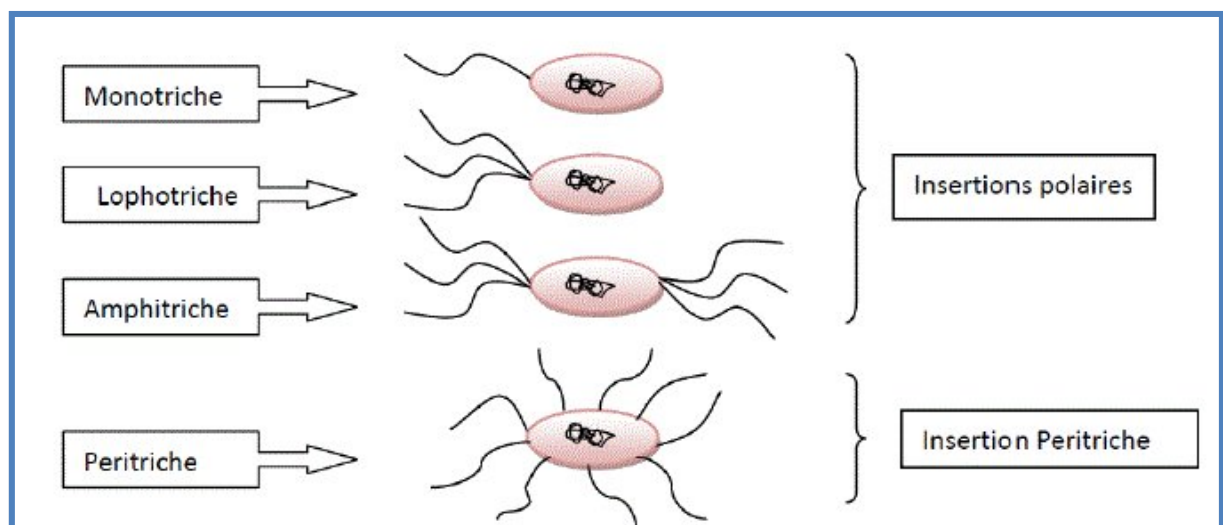


Fig. 28: Types flagellaires et modes d'insertion

Le flagelle bactérien est constitué de 3 parties :

A- Le filament hélicoïdal ; C'est un cylindre creux constitué d'une seule protéine multimérique : la flagelline.

B -Le crochet ; segment court et courbe, il lie le filament au corps basal. Il est plus large que le filament et fait de différentes sous-unités protéiques. Il permet d'induire le mouvement de la bactérie.

C -Le corpuscule basal : Enfoui dans la cellule, il insère le flagelle dans le corps cellulaire. Son architecture, assez complexe, peut être simplifiée en 3 parties :

1- Une partie mobile : le rotor.

2- Une partie fixe : le stator.

3- Un inverseur qui déclenche le mouvement soit dans le sens des aiguilles d'une montre soit dans le sens inverse.

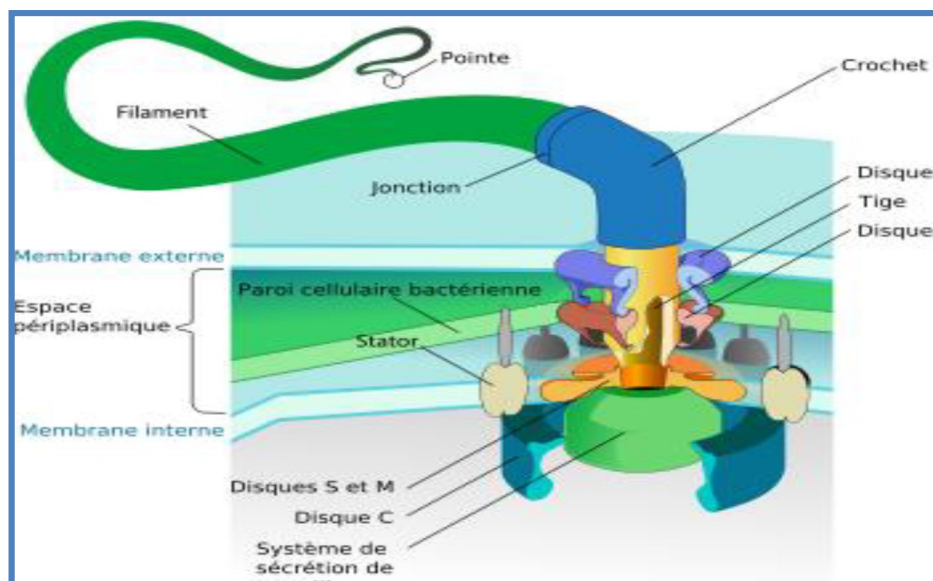


Fig. 29: Structure de flagelle bactérienne

10-3- Fonction de flagelle

- La locomotion ou la mobilité

Mises en évidence sur des milieux semi-gélosés (diffusion dans la gélose) ou sur milieu solide (envahissement de la surface de la boîte. Ex : *Proteus*).

- Rôle antigénique

Les antigènes flagellaires (Ag H) déterminent différents sérotypes (exemple : stéréotypage des *Salmonella*). La spécificité antigénique repose sur le nombre et la séquence des acides aminés de la flagelline.

-Fixation des bactériophages

Les flagelles sont le lieu de fixation de certains bactériophages.

11- SPORE

11-1- Morphologie

Les spores sont de petites unités **ovales ou sphériques**. Elles peuvent **déformer ou non** le corps bactérien. Leur **position** dans la cellule est variable : centrale, terminale, subterminale. Elles servent également dans l'identification bactérienne. La spore peut-être **libre ou non**. La recherche de tous ces caractères se fait dans un **but taxonomique**.

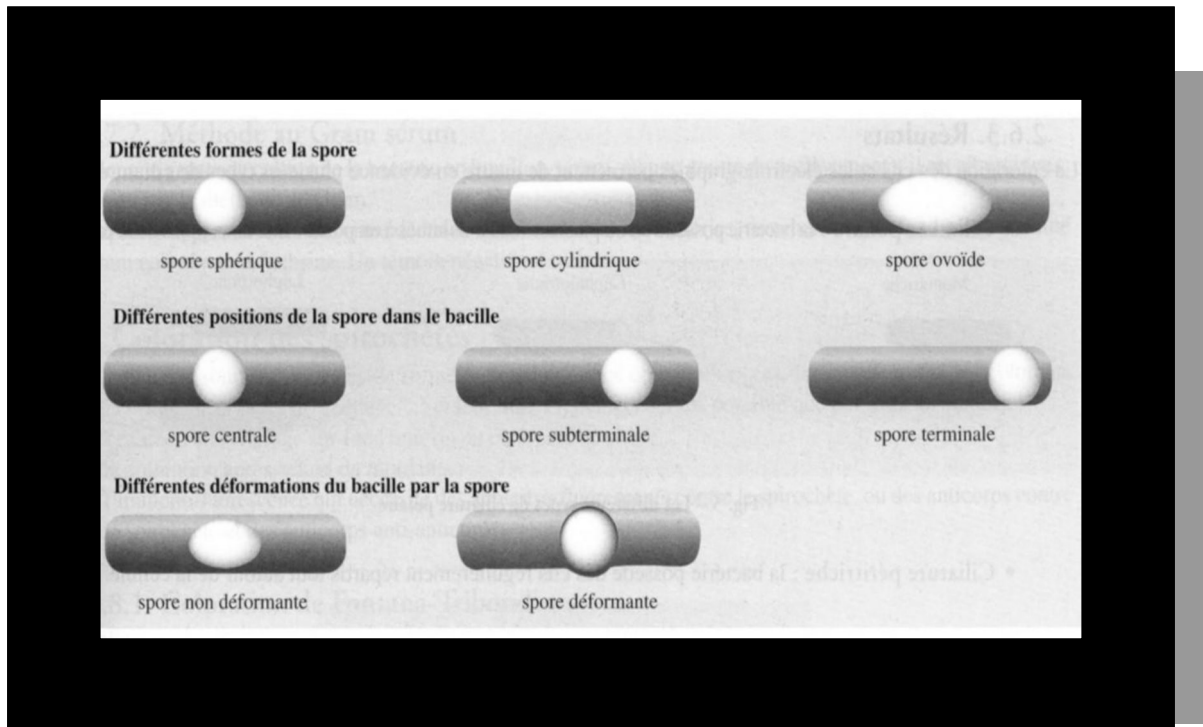


Fig. 30 : Coloration au vert de malachite de *Bacillus subtilis* sporulant

11-2- Structure de la spore

La spore possède **une paroi et une membrane plasmique** identiques à celle de la cellule végétative. L'enveloppe la plus externe est mince, appelée **exosporium**. Sous l'exosporium on trouve **le manteau** ou **la tunique**, composée de plusieurs feuillettes protéiques. **Le cortex** est localisé juste sous la tunique. Enfin le **protoplaste** (cytoplasme) ou cœur de la spore, contient les ribosomes, le nucleoïde et des enzymes inactives.

11-3- Phénomènes de sporulation

Des conditions défavorables de croissance entraînent la sporulation ou l'absence de germination de la spore. Il représente le passage de la forme végétative à la forme sporulée. La sporulation dure environ **10.5 heures**, chez *Bacillus megaterium*. Elle est provoquée par l'épuisement du milieu en substrat nutritif et elle peut nécessiter des conditions particulières : **absence d'oxygène** pour les Clostridium, **présence d'oxygène** au

contraire pour *B. anthracis*. Le processus de sporulation débute à la fin de la phase exponentielle et se déroule en 6 étapes :

Stade I formation du filament axial : la division nucléaire n'étant pas suivie d'une division cellulaire, les deux génomes fusionnent donnant un filament chromatique axial.

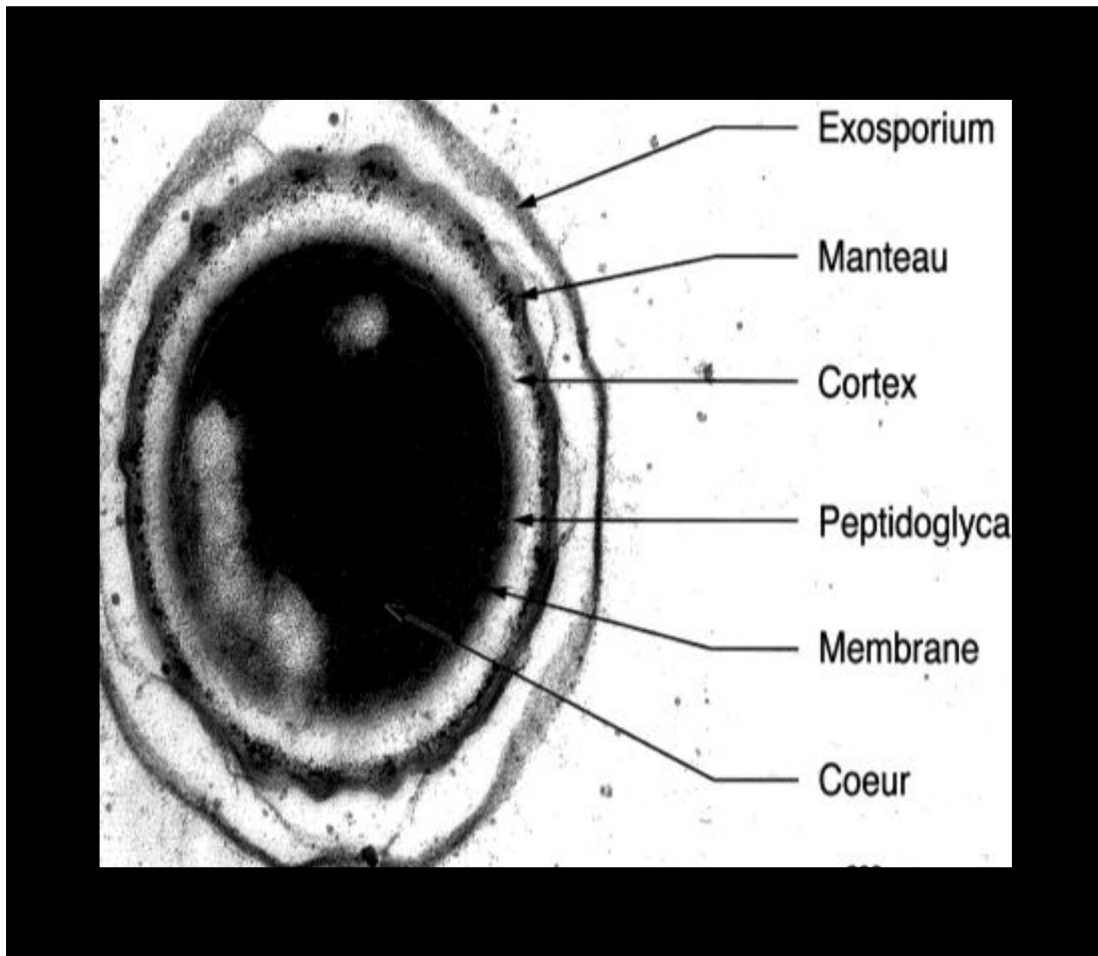
Stade II : les deux génomes se séparent et en même temps la membrane cytoplasmique s'invagine près d'un pôle de la cellule pour former un septum de sporulation qui partage la cellule en deux parties inégales. Ce septum va envelopper le cytoplasme de la plus petite partie pour former une préspore caractéristique.

Stade III : Engloutissement de la préspore.

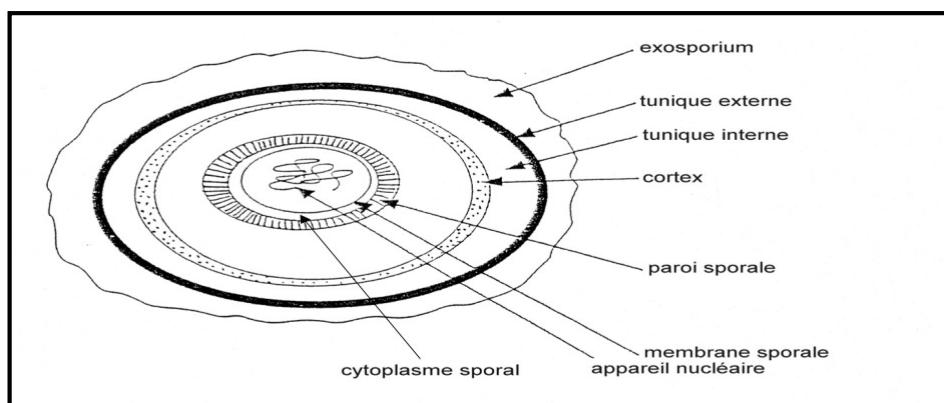
Stade IV : entre les deux membranes limitant la préspore se forme la paroi sporale puis apparaît rapidement le cortex.

Stades V and VI : apparition des tuniques et après maturation.

Stade VII : la cellule végétative se lyse et libère la spore.



(a)



(b)

Fig. 31: Structure d'un endospore de *Bacillus anthracis* (x 150000)

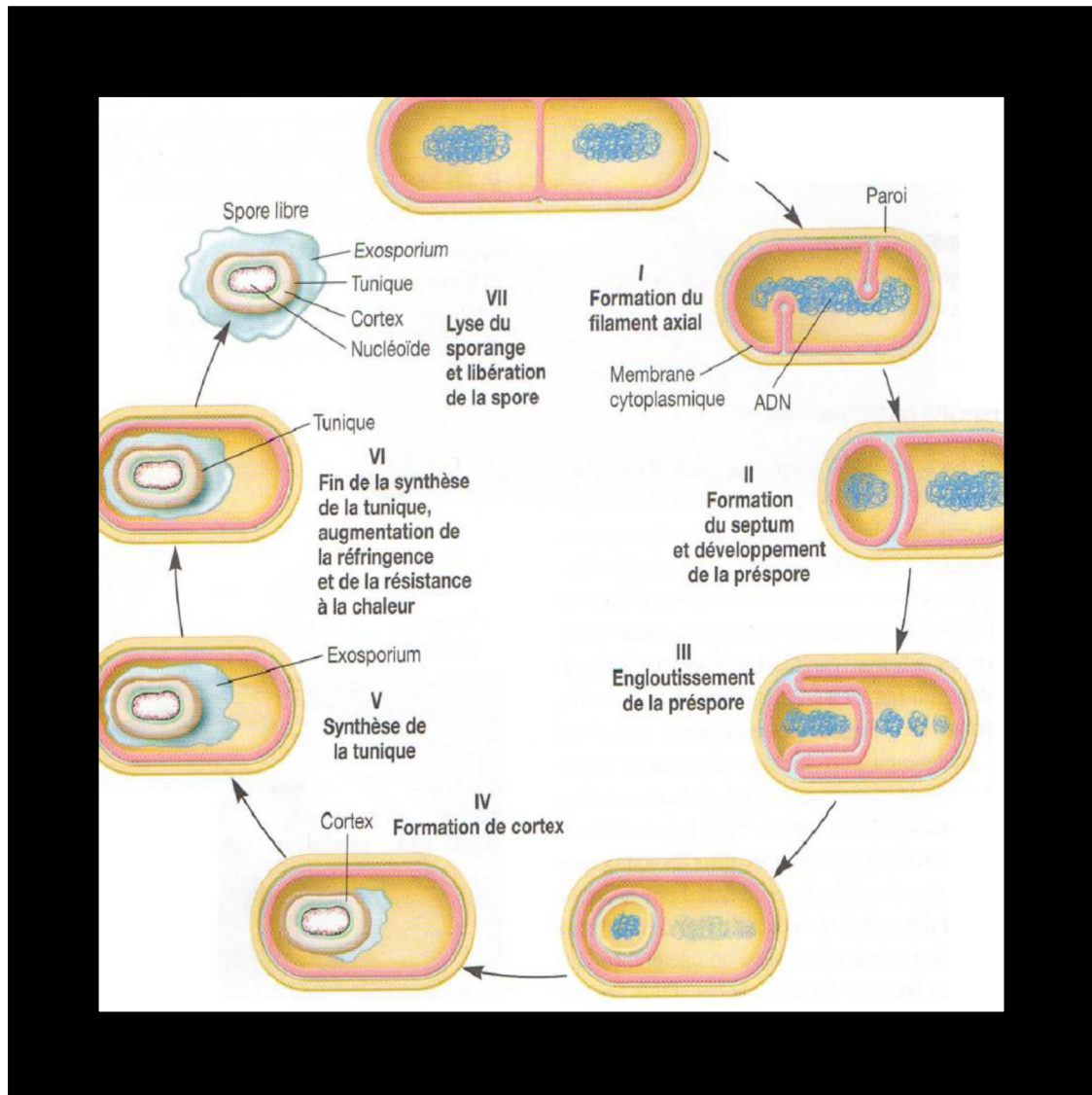


Fig. 32: Le cycle sporal

11-4- Propriétés

La spore possède de nouvelles propriétés par rapport à la cellule végétative :

Dans la nature (conditions naturelles), la spore permet de résister aux manques d'eau et de nutriments.

Expérimentalement on a démontré les propriétés suivantes :

- **La thermo résistance** : La spore résiste en général à des températures de **70-80°C pendant 10 minutes**, parfois plus. Cette propriété est due à la présence de l'**acide dipicolinique**, la **déshydratation de la spore** et aux **protéines « SASP »** (petites protéines acides et solubles pouvant se fixer à l'ADN).
- **Résistance aux agents physiques et chimiques** : La spore résiste aux rayons Ultraviolets, aux rayons gamma (Calcium, et SASP). Aux antiseptiques, désinfectants, antibiotiques (la tunique).
- **Synthèse d'antibiotiques** : Certaines bactéries synthétisent des antibiotiques au début de la phase de sporulation. **Exemple** : *Bacillus licheniformis* synthétise ainsi la **Bacitracine** ; *Bacillus polymyxa* le **polymyxine**. Mais aussi **des toxines** (entérotoxine de *Clostridium perfringens*) ou des substances à activité biopesticide (toxines qui tue des insectes), **le corps parasporal** de *Bacillus thuringiensis* et de *Bacillus sphaericus*. C'est un cristal protéique, lorsqu'il est ingéré par les insectes, il se dissout dans l'intestin et détruit l'épithélium. Les peptides clivés par les protéases passent dans le sang et provoque la paralysie, suivie de la mort de l'insecte.

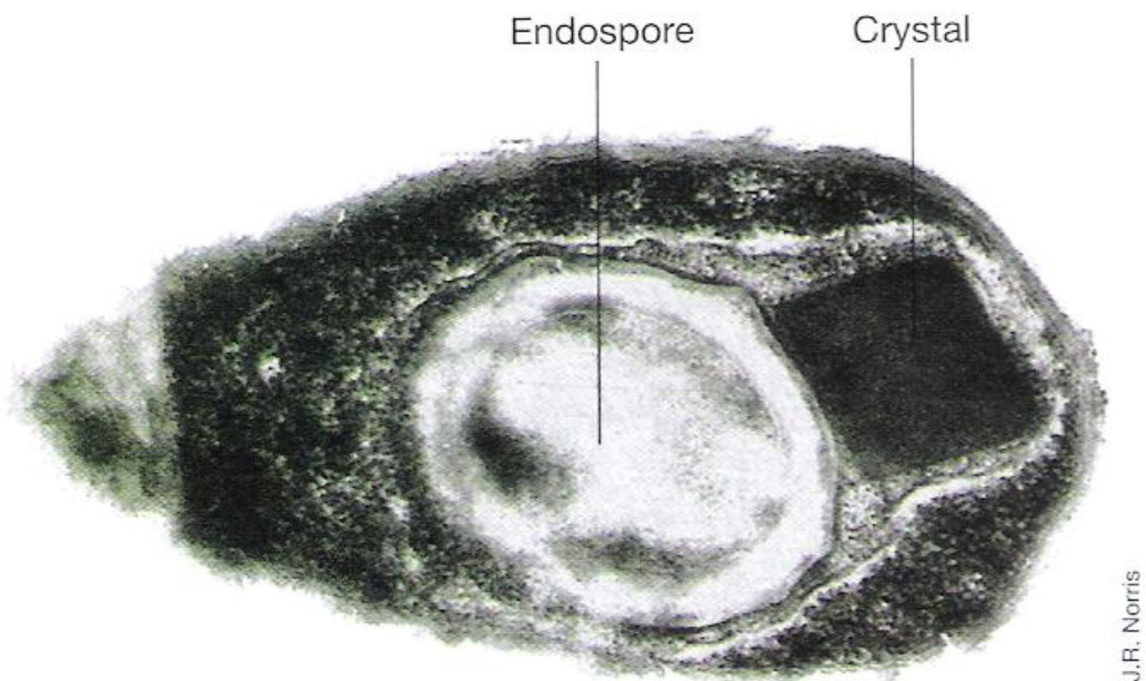


Fig. 26 : Le cristal parasporal d'un pathogène d'insecte (*Bacillus thuringiensis*)

11-5- Germination

Afin que la spore **germe**, elle doit se trouver dans des **conditions favorables** : eau, nutriments, pH, force ionique, température convenable, aucun d'agent antimicrobien.

Placée dans des conditions favorables (eau glucose acides aminés) la spore redonne naissance à une cellule végétative. On distingue 3 stades dans le processus de germination :

L'activation : correspondant à une lésion des enveloppes sporales par des agents physiques (choc thermique) ou chimiques (acides, lysozyme) ou mécaniques (abrasion, choc).

L'initiation débute en présence de conditions favorables d'hydratation et de métabolites effecteurs (alanine, magnésium, adénosine) qui pénètrent à travers les enveloppes endommagées. Des enzymes hydrolytiques dégradent les constituants de la spore ; il y a libération du dipicolinate de calcium. Le cortex ainsi détruit, la spore s'imbibe d'eau et gonfle.

L'émergence de la nouvelle cellule végétative, grâce à l'altération des enveloppes.

CHAPITRE 03 : CLASSIFICATION BACTERIENNE

1- INTRODUCTION

La science des règles de la classification s'appelle **taxinomie**. Du grec *taxis*, qui veut dire ordre et *-nomie* qui signifie lois. La taxinomie permet de nommer les organismes vivants (**la nomenclature**) et de les classer en unités (**taxons**), au sein desquels, ils partagent un grand nombre de caractéristiques communes.

En microbiologie, cela nous permet d'identifier (**l'identification**) les micro-organismes pour mieux les utiliser ou les exploiter (ceux qui sont bénéfiques) ou bien pour mieux s'en protéger et de les contrôler (ceux qui sont pathogènes).

La taxinomie microbienne **est en perpétuelle évolution**. Chaque année, de nouvelles espèces sont découvertes. A l'heure actuelle, on connaît à peine 10 à 15% des micro-organismes existant. Le reste est à découvrir. Ce constat est dû à notre **incapacité de les isoler** et de les cultiver. L'obtention d'une culture pure est nécessaire pour toute étude taxinomique au sens large, ou plus simplement pour toute identification d'un agent infectieux.

Une confusion existe entre taxinomie et **systematique**. La systematique étudie la diversité biologique et permet de classer, d'organiser les taxons dans un ordre logique.

Enfin, on doit définir :

- **La phylogénie** : l'étude de l'histoire évolutive d'un groupe d'organisme à partir d'un ancêtre commun. Elle permet de regrouper les organismes selon leurs liens de parenté.
- **La nomenclature** : est l'ensemble des règles qui permettent de donner un nom stable à chaque taxon et de réglementer la façon de faire (code international de nomenclature des bactéries).

On distingue deux catégories de noms : **Les noms informels, noms spécialisés et les noms scientifiques des taxons.**

Par exemple: Colibacille = **nom informel**

E.coli O157 = **nom spécialisé.**

On parlera de : l'espèce *E. coli*,

du genre *Escherichia*

de la famille des *Enterobacteriaceae*

= ce sont les noms scientifiques qui sont des mots latins.

- **Règle de formation des noms scientifiques :** On utilise le **système binomial** du botaniste suédois **Carl Von Linné**.

La première partie du nom est le nom du Genre, la seconde partie est celui de l'espèce.

Le genre : écrit en Italique. Avec sa première lettre en **majuscule**. Après sa citation le nom du genre est abrégé à sa première lettre.

L'espèce : écrite en Italique (ou souligné dans les livres et manuscrits). Avec sa première lettre en minuscule.

La famille : Le nom est fondé sur un genre valide, il est féminin, pluriel et se termine par **-aceae**.

Les principaux taxons par ordre décroissant (hiérarchie taxinomique) :

Domaine	Bacteria
Règne	non défini
Phylum	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre	<i>Enterobacteriales</i>
Famille	<i>Enterobacteriaceae</i>
Genre	<i>Escherichia</i> (ensemble d'espèces)

Espèce *Escherichia coli*, *E. coli* (ensemble de souches)

« Il ne faut pas confondre classification et identification des micro-organismes. Une étude de classification permet de sélectionner une liste de caractéristique et une approche qui facilitera l'identification. Les techniques d'identification sont plus simples et rapide à faire au laboratoire, comparées aux méthodes de classification ».

- **Définitions de certains termes utilisés :**

- **Espèce :** est le rang le plus important dans la hiérarchie taxinomique, c'est l'unité de base : elle regroupe de souches qui en en commun de nombreuses propriétés stables et différent de façon significative des autres groupes de souches. Les espèces apparentées sont groupées en genre. Une espèce peut être subdivisée en différentes sous-espèce (subspecies).

Espèce génomique : sa définition est basée exclusivement sur l'analyse des acides nucléiques.

- **Souche** : une souche bactérienne est une culture pure de bactéries issues de la descendance d'un isolement unique (une seule colonie) c'est-à-dire constitué par des individus rigoureusement identique issus d'une même bactérie.

Plusieurs méthodes ont été développées pour la classification et l'identification des micro-organismes. On distingue, les méthodes phénotypiques et les méthodes génotypiques.

2- CLASSIFICATION PHENOTYPIQUE

Depuis la classification proposée par Cohn en 1872 et jusqu'au début des années soixante, toute la taxonomie bactérienne reposait sur une classification phénétique.

La classification phénétique (ou phénotypique) utilise un nombre de caractères considérés comme importants :

- **Observations macroscopiques, microscopiques et caractères tinctoriaux :**

Descriptions des **colonies** (forme, taille, couleur, odeur) ; **la morphologie des cellules** (bacille, coque) ; leurs **arrangements**.

Les colorations (Gram, bleu méthylène, acido-alcool-résistante).

Observation de **la mobilité** à l'état frais. On peut également rechercher la présence **d'endospores**, la croissance **aérobie, anaérobie**.

Les caractères morphologiques sont utiles pour l'identification, mais ne peuvent pas démontrer à eux seuls les relations phylogénétiques.

- **Les Tests métaboliques :**

Très importants, ils peuvent distinguer des bactéries très apparentées. On recherche la présence d'enzymes (oxydase, catalase), la dégradation de l'urée, de l'esculine.

La transformation du lactose et la production de gaz, l'utilisation de différents sucres comme source de carbone, l'utilisation du citrate, la production d'acétoïne.

Ces techniques ont été miniaturisées dans des galeries spécialisées (API), on peut faire 20 tests sur une même galerie spécifique des entérobactéries.



Fig. 34 : Tests métaboliques en mini galerie API

- **La méthode sérologique** : le sérodiagnostic et le stéréotypage est basé sur la réaction spécifique **antigène – anticorps**. Cette méthode permet de différencier des espèces et même des souches au sein d'une même espèce. Les antigènes ciblés sont les Ag O chez les Gram négatives, les Ag H flagellaires et les Ag K capsulaires.
- **Les tests d'inhibition** : On évalue la croissance des micro-organismes sur des milieux sélectifs, en présence d'antibiotiques (**antibiogramme**).
- **La chimiotaxonomie** : On détermine le profil **des acides gras des parois**. Le profil **des protéines totales** par électrophorèse (séparation selon le pHi et le poids moléculaire).
- **La lysotypie** : Infection par des bactériophages et formation de plages de lyses. On définit le **lysovar** ou le **lysotype**.

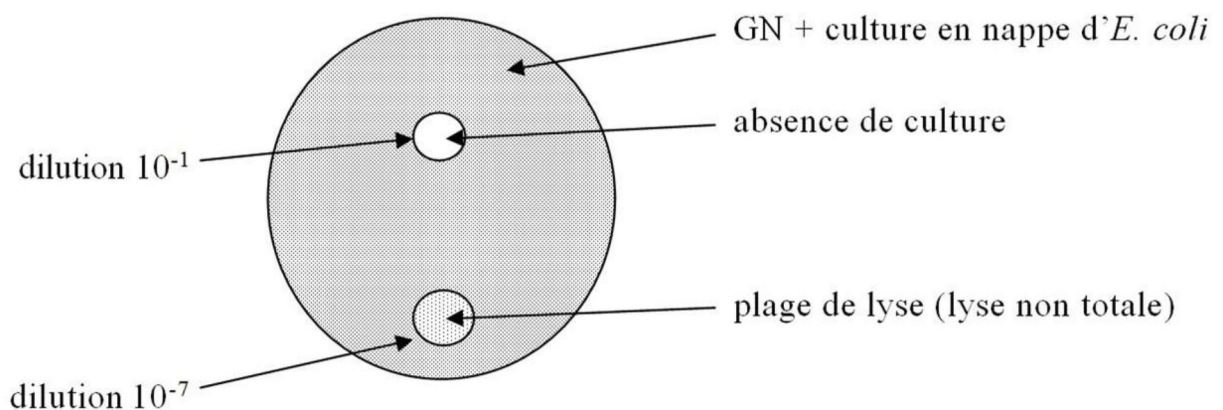


Fig. 35 : Lysotypie d'*E.coli* par un bactériophage (absence de culture signifie une lyse)

3- CLASSIFICATION GENETIQUE OU PHYLOGENIQUE

Les critères sont recherchés :

- La taille du génome
- La composition des bases d'ADN sous la forme de pourcentage de G+C (GC%)
- Le taux d'hybridation ADN/ADN
- La séquence de l'ADN qui code pour l'ARN ribosomal 16 S

3-1- La taille du génome

Selon les espèces voir les genres la taille du génome est variable. Les bactéries paratrophes (parasite, intracellulaire obligatoire) le génome est très réduit.

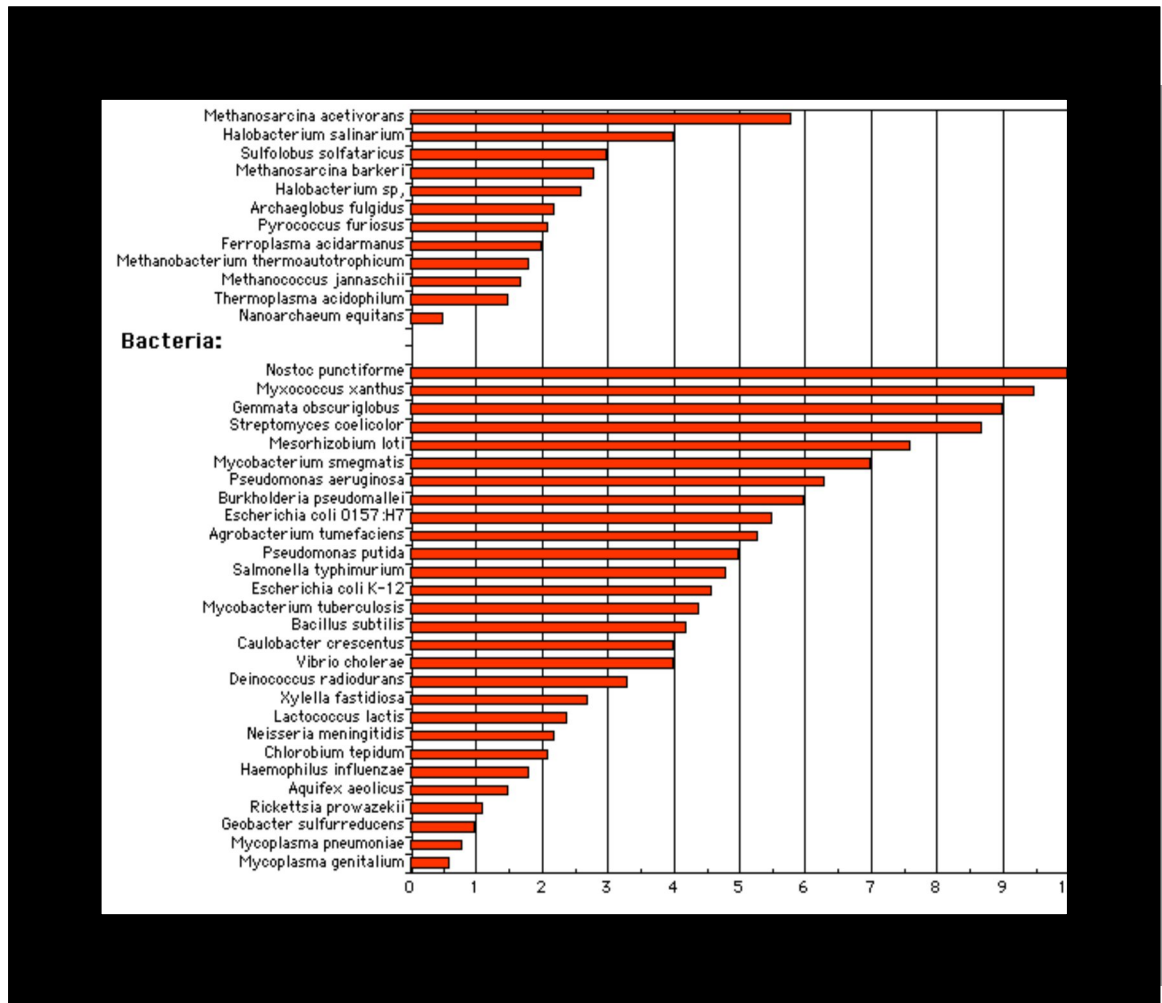


Fig. 36 : Taille du génome

(Tiré de : <http://www.sci.sdsu.edu/~smaloy/MicrobialGenetics/topics/chroms-genes-prots/genomes.html>)

3-2- Composition en base d'ADN (Coefficient de Chargaff)

Du nom de la personne qui a remarqué (dans les années 1940) que :

Quelque soit l'espèce d'origine, l'ADN contient toujours autant de purine que de pyrimidine soit : $(A + G) = (C + T)$ ou $(A+G) / (C+T) = 1$

De plus, il y a autant de thymine que d'adénine $A/T = 1$, autant de guanine que de cytosine $G/C = 1$ Par contre, le rapport $(A+T)/(C+G)$ varie beaucoup: **il est caractéristique de l'espèce.**

Ce coefficient est appelé coefficient de Chargaff. Il peut être calculé suite à un séquençage par la formule suivante $((G+C)/(A+T+G+C)) \times 100$, ou bien par une méthode de spectrométrie ultra-violet.

Les deux brins d'ADN peuvent se séparer par rupture des liaisons hydrogènes qui lient les bases.

On peut observer ce phénomène en chauffant la solution (ou milieu acide ou basique qui ionise les bases). Ce phénomène est appelé **fusion**. La température de fusion (**T_m**), est la température où 50% de l'ADN est déroulé. On la mesure par spectrophotométrie à 260 nm.

Lors de la fusion la DO₂₆₀ augmente c'est l'effet hyperchrome.

La température de fusion T_m varie avec la teneur en GC% de l'ADN.

Exemple: *E. coli* T_m = 72°C (GC% = 50) • *P. aeruginosa* T_m = 79°C (GC% = 66).

La valeur du T_m est variable, il dépend de la composition en bases de l'ADN. Plus la teneur en (G+C) d'un ADN est importante, plus la valeur du T_m est grande car les 2 brins sont d'autant plus difficiles à séparer car maintenues par plus de liaisons H. (3 liaisons pour GC contre seulement 2 pour AT)

- Détermination du point de fusion T_m

On définit le point de fusion noté T_m = température pour laquelle l'absorbance à augmenter de moitié, l'ADN est donc demi dénaturé. T_m = t (°C) pour $A/2$.

Règles d'interprétations du GC% :

- Deux espèces microbiennes ayant des GC% différents n'ont aucune communauté génétique.
- Deux espèces microbiennes ayant les mêmes séquences nucléotidiques ont nécessairement le même GC%.
- Deux espèces microbiennes ayant le même GC% peuvent être génétiquement éloignées.
- Les bactéries appartenant à la même espèce ont le même GC%.

3-3- Hybridation ADN/ADN

Les températures clés et leurs définitions

T_m : Point de fusion (Thermal elution midpoint) : Température de dénaturation de 50% de l'hybride.

T_{or} : Température optimale de renaturation : 25° à 30°C < Température de dénaturation.

T_{rr} : Température restrictive de renaturation: 10 à 15 °C < Température de dénaturation.

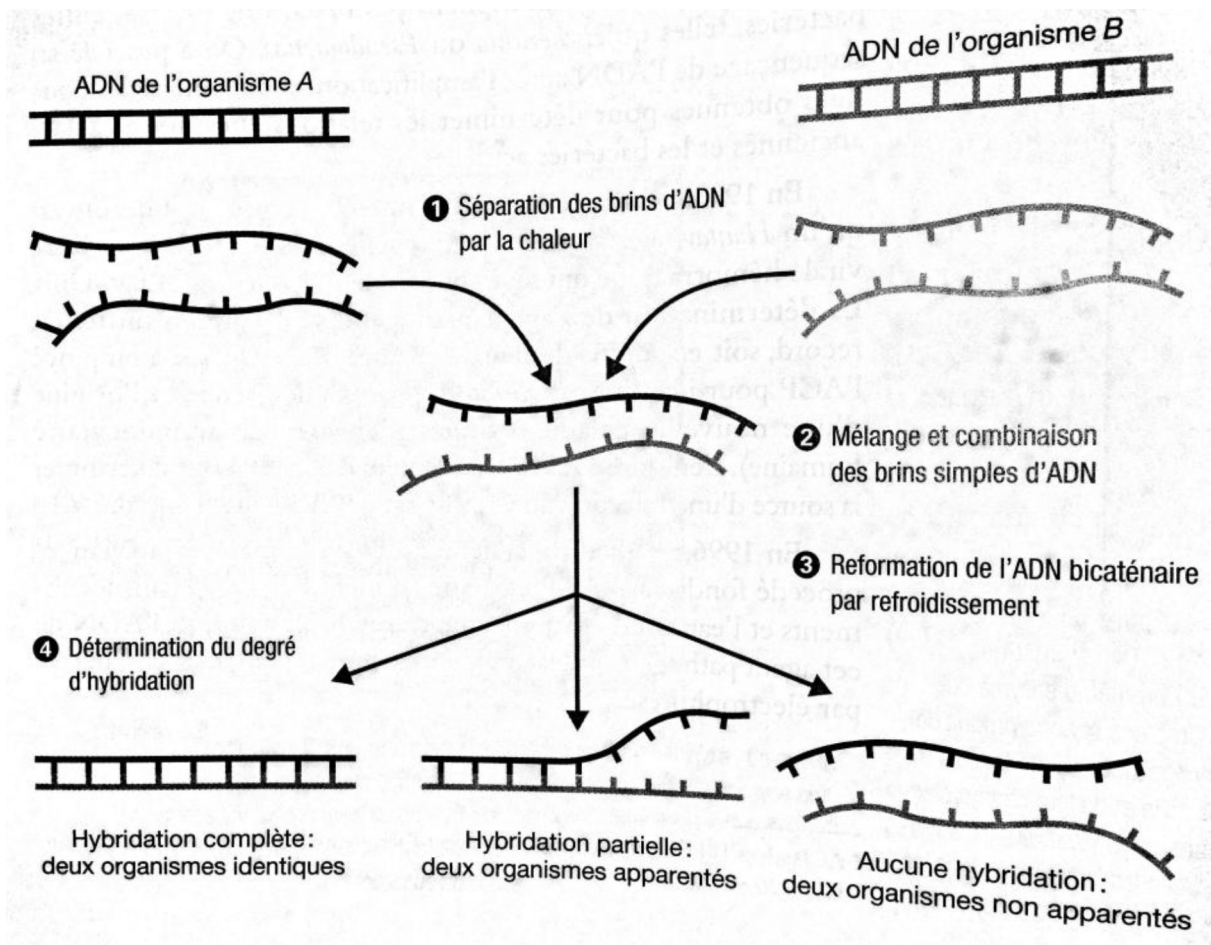


Fig. 37: Hybridation ADN/ADN

Grace à cela on a démontré qu'en réalité que *Shigella* et *Escherichia* forment génétiquement la même espèce, ainsi que *Salmonella* et *Arizona*.

3-3-1- Homologie ADN/ADN à Tor

La renaturation ou hybridation, est maximum à Tor.

Tor = 60°C pour les Entérobactéries.

L'homologie, c'est-à-dire le % de base appariées / aux bases totales est de 70 à 100 % pour des mêmes espèces.

Elle est de 0 à 60 % pour des espèces différentes.

3-3-2- Stabilité thermique des hybrides

On utilise le Tm.

Après l'obtention des hybrides à Tor (Température optimale de renaturation), On augmente la température doucement au dessus de Tor pour avoir que 50% de dénaturation de l'hybride.

On compare les hybridations homologues et hétérologues en parallèle (A x A et A x B). La différence de stabilité thermique ΔT_m est proportionnelle au % de bases non appariées.

1 à 1,6 °C de ΔT_m = 1% de bases non appariées.

Mêmes espèces : ΔT_m entre 1 et 5°C (5% de base non appariées).

Espèces différentes : ΔT_m entre 7 et 20° C.

3-3-3- Homologie ADN/ADN à Trr

Cette approche est très utile pour des souches présentant des Homologie ADN/ADN à Trr, égalent à 60 -70%. Cette température est défavorable à la renaturation, elle ouvre les ADN hybrides mal ou peu appariés. A Trr les même espèces ont des homologies de 55 à 100%. Les espèces différentes 0 à 50 % d'homologie.

Plusieurs méthodes sont utilisées pour l'analyse par hybridation ADN/ADN.

Hybridation sur filtre de nitrocellulose (utilisation de radioactivité)

Technique de l'hydroxyapatite (utilisation de radioactivité)

Technique de l'endonucléases (utilisation de radioactivité)

Technique optique (pas de radioactivité)

3-3-4- Le séquençage des ARN ribosomaux (ARNr)

Selon **Woese**, les ARNr sont les meilleurs chronomètres moléculaires par :

- **La constance de leur fonction**
- **Leur répartition dans tous les organismes**
- **Leur grande taille**

On peut les séquencer directement et rapidement.

On distingue:

- **ARNr 23S 2900 nucleotides (grand ARNr)**
- **ARNr 16S 1540 nucleotides (petit ARNr)**
- **ARN r 5S 120 nucleotides (très petit ARNr)**

On peut purifier l'ADN génomique (le chromosome bactérien) et utiliser l'ACP (l'amplification en chaîne par polymérase) ou PCR en anglais. C'est une technique qui permet de multiplier l'ADN codant pour l'ARN 16S pour l'analyser par électrophorèse et le séquencer base par base. A partir d'une copie on peut obtenir 01 million de copies.

Plus de 97,5 % d'homologie, même genre. Pour l'espèce possibilité faire des hybridations ADN/ADN.

Entre 90 et 97,5%: espèces différentes, a priori même genre, à conforter par chimiotaxonomie.

Moins de 90%: a priori genres différents.

Grâce aux statistiques et à l'informatique on peut construire des arbres phylogénétiques.

Famille	Genre	Espèce	Sous-espèce	Souche
Séquençage génomique				
Séquençage de l'ARNr 16S				
GC Mol%				
Hybridation ADN-ADN				
Typage de séquence multilocus				
Profilage des protéines totales				
Prise d'empreinte génomique				

Fig. 50: La résolution taxinomique des différentes techniques moléculaires

De nombreux taxinomistes pensent que seule une combinaison des données génotypiques et phénotypiques peut permettre d'établir une phylogénie. **C'est l'approche polyphasique.**

Les taxinomistes utilisent un maximum de caractères écologiques, morphologiques, métaboliques comme des propriétés moléculaires, afin d'obtenir les résultats les plus fiables et les plus réalistes.

4- CLASSIFICATION SELON LE MANUEL DE BERGY

Ce qu'il faut savoir c'est qu'il n'existe pas une classification officielle des bactéries, mais on se réfère à la classification du manuel de Bergey. Cette classification est la plus acceptée par tous les microbiologistes.

Dans ces premières éditions, en 1936, elle se basait sur l'étude :

- De leur morphologie microscopique (bactérie de type coque, bacille, vibron ; isolés, par deux, en chaînettes...).
- De leur morphologie macroscopique (taille, forme, couleur... des colonies sur milieux de culture gélosés).
- De leur mobilité (mobilité ou immobilité à une température donnée).

- De la présence de spores (à l'état frais ou après coloration).
- Du résultat de la coloration de Gram (coloration de Gram positive ou négative).
- De la température de croissance (4° C, 20° C, 30° C, 37° C...), du type respiratoire (aérobie, anaérobie strict, aéro-anaérobie facultatif, microaérophile..), des besoins nutritionnels (nécessité de substances particulière pour le développement), de la capacité à utiliser certaines sources de carbone ou d'azote (on parlera de biotypes ou biovars).

A cette période, les procaryotes étaient répartis en 4 divisions reconnues sur la base de l'existence ou non de la paroi. : **Les *Gracilicutes*, les *Firmicutes*, les *Tenericutes*, les *Mondosicutes*.**

- **I- *Gracilicutes* *Gracilis cutis*** : peau fine. (Eubactéries Gram -)
- Anoxyphotobacteriae (photosynthèse sans production d'oxygène)
- Photobacteriae (cyanobactéries)
- Scotobacteriae (pas de photosynthèse)
- **II- *Firmicutes* *Firmus cutis*** : peau dure. (Eubactéries Gram +)
- Firmibacteriae (% G+C faible)
- Thallobacteriae (%G+C fort, ramifiées)
- **III- *Tenericutes* *Tener cutis*** : peau tendre. (Eubactéries sans paroi, gram -)
- Mollicutes
- **IV- *Mendosicutes* *mendosus cutis*** : peau défectueuse
- Archaeobacteriae (archéobactérie gram + / -).
- Dans l'édition récente, moderne avec l'utilisation de la classification polyphasique :
- Les procaryotes sont divisés en **deux domaines *Eubacteria* et *Archaeobacteria*** qui comprennent **34 phylums**. 30 pour ***Eubacteria*** et 5 pour ***Archaeobacteria***.

CHAPITRE 04 : LA NUTRITION BACTERIENNE

1- INTRODUCTION

Une bactérie peut avoir un métabolisme intense qui se traduit par une augmentation de la taille, mais, surtout du nombre des cellules. Cet état est dit **végétatif**. Dans certaines conditions, la bactérie ralentit son métabolisme et ne se divise plus. C'est l'état **de repos**. Dans les deux états, la bactérie a des besoins nutritifs (pour se diviser ou juste se maintenir en vie). Selon la nature de ces besoins, on définit des bactéries **prototrophes** et des bactéries **auxotrophes**.

Les bactéries prototrophes ont des besoins élémentaires (**Eau-source d'énergie-source de carbone et d'azote – macro et micronutriments**). Les bactéries auxotrophes nécessitent en plus des besoins élémentaires, **des facteurs de croissances**. **Les facteurs environnementaux** sont également très importants pour la croissance, le **pH**, la **température**, la **pression osmotique**, la **présence ou non d'oxygène**.

2- BESOINS ELEMENTAIRES

2-1- L'eau

L'eau représente 70% du poids cellulaire total chez *Escherichia coli*. Elle solubilise les nutriments, elle joue un rôle important dans leur transport et ceci dans les deux sens. C'est le solvant de la vie, où se déroulent toutes les réactions métaboliques (catabolisme plus anabolisme).

Un paramètre appelé « **activity of water** », **aw**, ou **activité de l'eau**) quantifie la disponibilité de l'eau libre, non associée aux nutriments. Elle varie de 0 à 1.

Certains germes ne se développent que pour une valeur de l'*Aw* supérieure à 0,97. A l'opposé, les bactéries halophiles qui nécessitent la présence de sel (NaCl, 1 à 15%) l'*aw* est de l'ordre de 0.75.

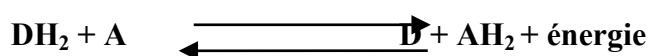
Les endospores peuvent survivre dans un environnement dépourvu d'eau libre. Le degré d'humidité des aliments a une influence sur leur conservation et leur séchage. C'est un procédé de conservation basé en partie sur la diminution de l'*aw*.

2-2- Source d'énergie

Sur la base de la source d'énergie, on distingue **les bactéries chimiotrophes et les bactéries phototrophes.**

Les bactéries chimiotrophes puisent leurs énergies des réactions chimiques d'oxydoréduction. Si les composés (donneurs d'électrons) sont inorganiques comme H₂S,

H₂, Fe²⁺ ou NH₃ ..., les bactéries sont dites **chimiolithotrophes**. Si le donneur d'électron est organique, elles sont dites **chimioorganotrophes**. La réaction type peut se résumer comme suit : D = donneur électrons ; A= accepteur d'électron



Les bactéries phototrophes puisent leur énergie de la lumière. Si la source d'électrons est minérale, les bactéries sont dites **photolithotrophes**, si la source d'électrons est organique, les bactéries sont dites **photoorganotrophes**.

2-3- Source de carbone

Le carbone est l'élément constitutif le plus abondant chez les bactéries. Si la source est le dioxyde de carbone (CO₂) les bactéries sont dites **autotrophes**, c'est le cas des bactéries **phototrophes** et la plupart des bactéries **chimiolithotrophes**. Si la source de carbone assimilable est un substrat **organique**, ces bactéries sont qualifiées **d'hétérotrophes**.

Les bactéries **hétérotrophes** peuvent dégrader de nombreuses substances hydrocarbonées : alcools, acides organiques, sucres ou polyholosides. La liste des substrats carbonés utilisables par une souche bactérienne comme unique source de carbone et d'énergie constitue **l'auxanogramme de la souche**.

Les **photoautotrophes** sont photosynthétiques. On peut citer les cyanobactéries, les bactéries vertes, les bactéries pourpres non sulfureuses.

La photosynthèse bactérienne est différente de celle des végétaux supérieurs. Elle ne conduit jamais à la libération d'oxygène libre. Les pigments et les donneurs d'électrons sont également différents (hydrogène, soufre, jamais l'eau comme chez les plantes).

Les **photohétérotrophes** sont photosynthétiques et puisent le carbone de composés organiques.

Les **chimioautotrophes**, n'ont besoin ni de matière organique, ni de lumière du soleil. Ils puisent leur énergie de substance inorganique et transforme le CO₂ en

matière organique. Comme exemples, les bactéries des sources chaudes hydrothermales profondes (fumeurs noirs). Elles nourrissent tout un écosystème. Comme deuxième exemple, on peut citer **les bactéries méthanogènes** (Archeae) qui synthétisent le méthane (CH_4) à partir de CO_2 .

Les chimiohétérotrophes puisent leur énergie et leur carbone des substances organiques. C'est le cas de la plus part des bactéries d'intérêt médical (pathogènes).

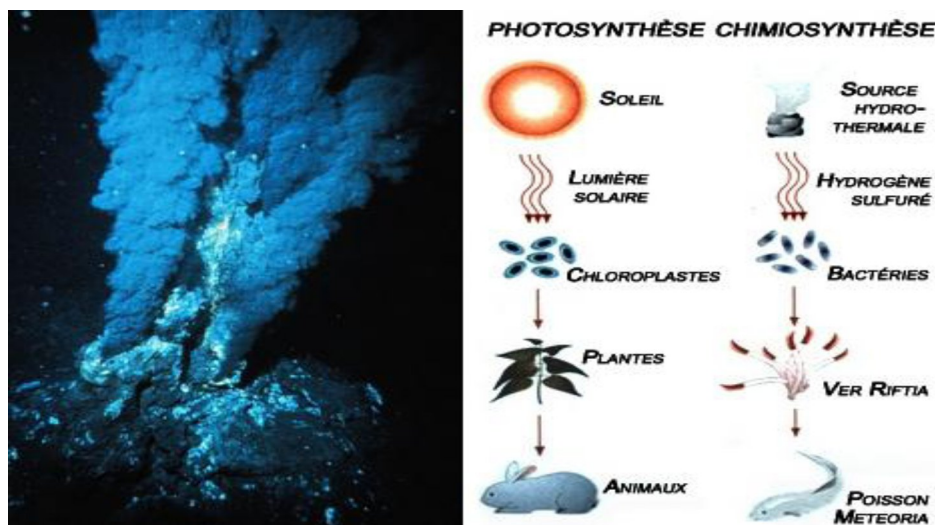


Fig. 39: Fumeurs noirs au fond des océans

2-4- Source d'azote

La synthèse des protéines et des acides nucléiques nécessite des substances azotées. L'azote représente 12% du poids sec des bactéries et 80% de l'air qu'on respire.

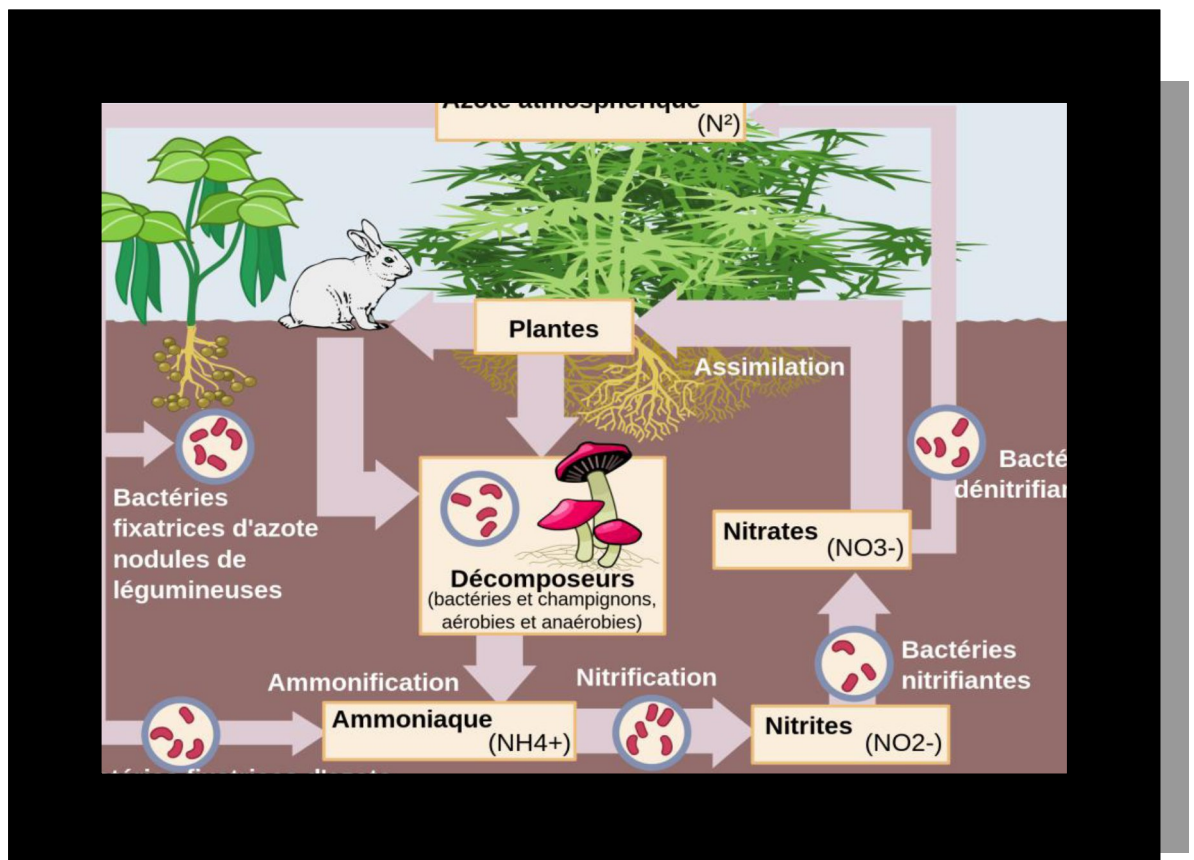


Fig. 40: Le cycle biogéochimique simplifié de l'azote

L'azote moléculaire (N_2) est fixé par quelques bactéries vivant en symbiose avec des légumineuses (bactéries fixatrices d'azote) ou des champignons ou par des bactéries jouant un rôle dans la fertilisation des sols.

Pour la majorité des bactéries la source d'azote est constituée par d'autres composés inorganiques (ammoniaque, nitrites, nitrates) ou par des sources organiques (groupements amines des composés organiques).

2-5- Macronutriments

Les bactéries ont besoin de **phosphore, de soufre, de magnésium, de calcium et de sodium.**

- **Le phosphore** : est important dans la synthèse des acides nucléiques et phospholipides des membranes plasmiques et externes. Sans oublier l'ATP (énergie).

Il est apporté sous forme de phosphate organique et inorganique

- **Le soufre** : est retrouvé au niveau de deux acides aminés qui jouent un rôle dans les ponts disulfure (**la méthionine et la cystéine**). Il intervient dans les structures complexes des protéines. Il est également utilisé dans la synthèse des vitamines. (Biotine, coenzyme A). Le soufre cellulaire est d'origine inorganique (sulfate SO_4^- , sulfure métallique FeS, CuS, ZnS).
- **Le potassium** : joue un rôle comme cofacteur enzymatique, **le magnésium** aussi, qui, en plus a une fonction de stabilisateur de structures cellulaires.
- **Le calcium** : joue un rôle important dans la résistance à la chaleur des endospores (chez *Bacillus*, *Clostridium*). Il stabilise également la paroi des bactéries.
- **Le sodium** : est important pour la croissance des bactéries **halophiles** (du grec *halos*, sel et *philein*, aimer). Enfin,
- **Le Fer** : qui intervient dans la chaîne respiratoire (bactéries aérobies), élément des cytochromes au niveau de la membrane plasmique. Les bactéries possèdent **des sidérophores** qui capturent **le fer** insoluble et le transportent à l'intérieur des cellules bactériennes.

2-6- Les oligoéléments

Ils sont indispensables à la cellule en très faibles quantités. On peut citer le cobalt, le zinc, le bore, le cuivre, le manganèse, le sélénium....Très importants pour le fonctionnement des enzymes. Ils ne sont pas tous requis par une même espèce.

3- FACTEURS DE CROISSANCE

Selon les besoins nutritionnels nécessaire à la croissance des bactéries, on a définie les bactéries **prototrophes** et les bactéries **auxotrophes**. Les prototrophes ont des besoins élémentaires, alors que les auxotrophes nécessitent en plus, un ou plusieurs **facteurs de croissance** qu'elles sont **incapables de synthétiser**. Soit ils sont fournis par l'environnement ou rajouter dans le milieu de culture.

A ne pas confondre avec **un métabolite essentiel** est un composé organique indispensable à la croissance des bactéries mais, qu'elles sont capables de synthétiser.

Les facteurs de croissance sont **des vitamines B1, B6, B12, acide folique, des précurseurs de coenzymes (de NAD, de coenzyme A, de FMN, de FAD)**. La **syntrophie** est un phénomène d'interaction métabolique, qui se traduit sur un milieu solide par la présence de colonies satellites d'une bactérie auxotrophe autour de celles d'une bactérie prototrophe productrice du facteur de croissance.

4- TYPES TROPHIQUES (NUTRITIONNELS)

Tableau 02 : TYPES TROPHIQUES

Type du besoin	Nature du besoin	Type trophique
Source d'énergie	Rayonnement lumineux	Phototrophe
	Oxydation de composés organiques ou inorganiques	Chimiotrophe
Donneur d'électrons	Minéral	Lithotrophe
	Organique	Organotrophe
Source de carbone	Composé minéral	Autotrophe
	Composé organique	Hétérotrophe
Facteurs de croissance	Aucun besoin	Prototrophe
	Nécessaires	Auxotrophe

Les bactéries intracellulaires obligatoires, comme les *Chlamydiae*, tirent leur énergie de la cellule qu'elles parasitent et elles sont qualifiées de **paratrophes**.

5- PARAMETRES ENVIRONNEMENTAUX, PHYSICO-CHIMIQUES

Les facteurs environnementaux, comme **la température, le pH, la salinité, l'osmolarité et l'oxygène** influencent et contrôlent la croissance bactérienne. Chaque bactérie possède des valeurs optimales pour chaque facteur et par conséquent, selon les valeurs optimales, on définit différentes catégories de bactéries.

5-1- Température

Selon la température optimale de développement, on distingue les catégories des bactéries :

- **Les psychrotrophes** : peuvent se cultiver à **0°C**. Température optimale de multiplication entre **20 à 25 °C**.
- **Les bactéries psychrophiles** : température maximale **20°C**. Température optimale de croissance inférieure à **15 °C**.
- **Les cryophiles** : peuvent se développer à des températures négatives. Elles sont souvent isolées des matières fécales d'animaux polaires. Température optimale de croissance (**- 5 °C**).
- **Les mésophiles**: croissance entre **25 et 40 °C**. Optimum à **37°C**. La majorité des bactéries pathogènes.
- **Les thermophiles**: température optimale entre **50 et 60 °C**.
- **Les hyperthermophiles** : ont une température optimale de croissance entre **70 °C et 110°C**.

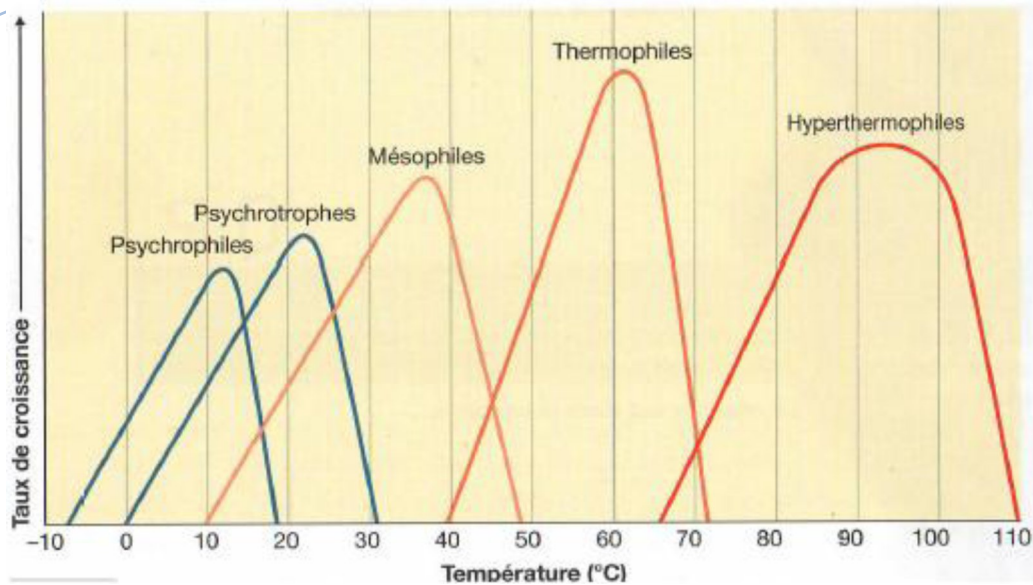


Fig. 41 : Taux de croissance en fonction de la température

5-2- pH

La majorité des bactéries se multiplient préférentiellement à des pH voisins de la neutralité (6,5 à 7,5), mais elles sont capables de croître dans une large gamme de pH. On distingue :

- **Les acidophiles** : préfèrent un pH acide. C'est le cas des lactobacilles dont le pH optimal est de 6. *Thermoplasma acidophilum* a un pH optimal entre 0,8 et 3.
- **Les alcalophiles** : préfèrent des pH alcalins. Ainsi, le pH optimal est de 9 pour la multiplication de *Vibrio cholerae*. *Alkaliphilus transvaalensis* est capable de croître à un pH de 12,5.

En culture, le métabolisme bactérien engendre des acides qui inhiberaient la multiplication bactérienne. Pour éviter cela, on rajoute des solutions tampons qui maintiennent un pH optimal.

5-3- Pression

Les bactéries **barophiles** (du grec *baros*, poids, pesanteur), ont une La croissance optimale dans une atmosphère dont la pression est supérieure à la pression atmosphérique.

Ce sont les bactéries des eaux profondes des mers et des océans.

5-4- Pression osmotique

Les bactéries sont peu sensibles aux variations de pression osmotique car elles sont **protégées par leur paroi**. A l'inverse des Mycoplasmes.

Selon leur sensibilité à la pression osmotique, on distingue trois catégories de bactéries.

- **Les bactéries non-halophiles** : NaCl est inférieure à 0,2 M.

- **Les espèces halophiles** : NaCl supérieure à 0,2 M pour les moins halophiles (*Cobetia marina*) à 5,2 M pour les plus halophiles *Halobacterium salinarum*.

- **Les espèces halotolérantes** : comme les *Staphylococcus*, les *Listeria* ou les *Lactobacillus*. Ils tolèrent 7.5 à 15% de NaCl.



Les anciens conservent les aliments en rajoutant du sel ou du sucre ce qui entraîne une augmentation de la pression osmotique. La croissance des bactéries est limitée.

- **Les bactéries osmophiles** : se multiplient en présence de grandes concentrations de sucre.

5-5- Besoins gazeux

L'oxygène est en réalité un gaz très toxiques s'il n'est pas neutralisé par les cellules qui en ont besoin. Lors de la respiration aérobie, il est neutralisé en se combinant à l'hydrogène pour former une molécule d'eau. C'est le cas des **aérobies stricts**. Ils utilisent l'oxygène comme accepteur final d'électrons et neutralisent les différentes formes toxiques (radical superoxyde, le peroxyde d'hydrogène, le radical hydroxyl ...) par différentes enzymes (**catalase, oxydase, superoxyde dismutase**).

Tableau 03: Comportement des bactéries vis-à-vis de l'oxygène et types respiratoire

	a) Aérobies stricts	b) Anaérobies facultatifs	c) Anaérobies stricts	d) Anaérobies aérotolérants	e) Microaérophiles
Effet de l'oxygène sur la croissance	Croissance aérobie seulement; la présence de molécules d'O ₂ est essentielle.	Croissance aérobie ou anaérobie; croissance optimale en présence de molécules d'O ₂ .	Croissance anaérobie seulement; arrêt de la croissance en présence de molécules d'O ₂ .	Croissance anaérobie seulement; toutefois, la croissance se poursuit en présence de molécules d'O ₂ .	Croissance aérobie seulement; les molécules d'O ₂ sont essentielles en faible concentration.
Croissance bactérienne dans un tube contenant un milieu de culture solide					
Explication du modèle de croissance	La croissance a lieu seulement là où une forte concentration de molécules d'O ₂ a diffusé dans le milieu.	La croissance est optimale là où la concentration de molécules d'O ₂ est la plus élevée, mais elle a lieu partout dans le tube.	La croissance a lieu seulement là où il n'y a pas de molécules d'O ₂ .	La croissance est uniforme partout dans le tube; la molécule d'O ₂ n'a aucun effet.	La croissance a lieu seulement là où une faible quantité de molécules d'O ₂ a diffusé dans le milieu.
Explication des effets de l'oxygène	La présence d'enzymes (catalase et superoxyde dismutase SOD) permet la neutralisation des formes toxiques de la molécule d'O ₂ , qui peut alors être utilisée.	La présence d'enzymes (catalase et SOD) permet la neutralisation des formes toxiques de la molécule d'O ₂ , qui peut alors être utilisée.	Il n'y a pas d'enzyme permettant la neutralisation des formes toxiques de la molécule d'O ₂ ; la molécule d'O ₂ n'est pas tolérée.	La présence d'une enzyme, la SOD, permet la neutralisation partielle des formes toxiques de la molécule d'O ₂ ; la molécule d'O ₂ est tolérée.	Des quantités létales de formes toxiques de la molécule d'O ₂ sont produites en présence d'O ₂ atmosphérique.

- **Les anaérobies facultatifs** : peuvent croître en absence ou en présence d'oxygène. Mais leur croissance est maximale en présence de ce dernier (Production d'ATP élevée). En absence d'oxygène, elle utilise la fermentation ou la respiration anaérobie pour produire de l'énergie. C'est le cas *d'E. coli*.
- **Les anaérobies stricts** : n'ont aucune enzyme capable de neutraliser les formes toxiques de l'oxygène. Leur croissance doit se faire dans une atmosphère dépourvue d'oxygène. C'est le cas de *Clostridium*.
- **Les anaérobies aérotolérants** : n'utilisent pas l'oxygène pour leur croissance mais ce gaz n'a aucun effet sur elles. C'est le cas des **Lactobacilles**.
- **Les microaérophiles** : qui ont besoin d'oxygène, mais à une proportion inférieure à celle de l'air.

Enfin,

Les **capnophiles** qui exigent la présence de concentration très élevées de CO₂ (10 à 30 fois supérieures à celle de l'air). Ces bactéries poussent à l'intérieur des hôtes (humain ou animaux). C'est le cas de *Helicobacter pylori* ; *Neisseria gonorrhoea*.

CHAPITRE 05 : CROISSANCE BACTERIENNE

1- INTRODUCTION

La croissance bactérienne se traduit par **une augmentation du nombre de bactéries**. On observe également un allongement de la taille et une augmentation du volume, plus visibles chez les formes en bâtonnets. Ces dimensions, lorsqu'elles sont atteintes, déclenchent la division cellulaire par **scissiparité**. Une bactérie donne deux cellules filles.

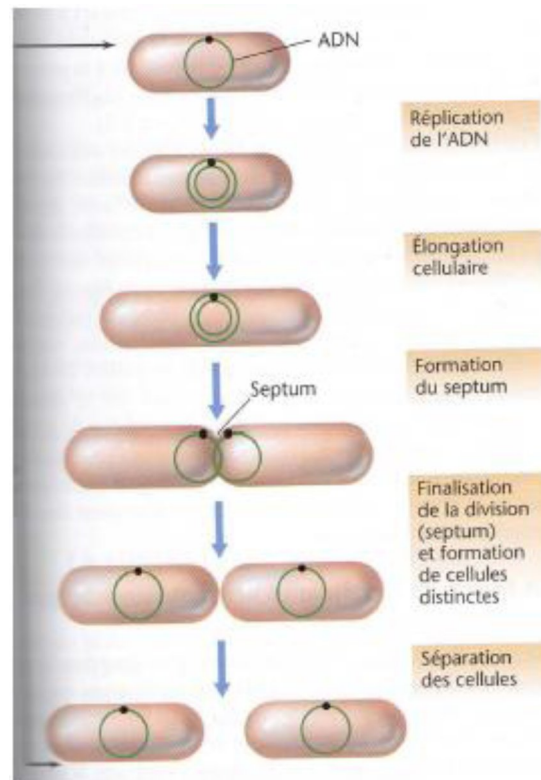


Fig. 42: La division par scissiparité

D'autres mécanismes de division existent chez des bactéries particulières, comme **le bourgeonnement** (observé chez les cyanobactéries) et **la fragmentation** (chez les bactéries filamenteuses). Le point de division est appelé septum qui va former la cloison qui séparera les deux cellules filles. Chaque cellule recevra une copie du chromosome et la moitié des composants cellulaires.

2- MESURE DE LA CROISSANCE

Plusieurs techniques sont utilisées pour analyser, suivre et mesurer la croissance. Chacune a des avantages et des inconvénients. On distingue les méthodes directes et les méthodes indirectes. Certaines distinguent les cellules vivantes des cellules mortes et d'autres, en sont incapables.

2-1- Mesures directes : Dénombrement des bactéries après culture

Le résultat est exprimé en nombre **de bactéries par ml**. On peut partir de 1 ml de lait, de jus ou quelques mg de viandes broyées, dans 9 ml d'eau stérile (**première dilution 1/10**).

On procède ensuite à une dilution en série de **1/100, 1/1000, 1/10000, 1/100000, 1/1000000**. Ensuite, 1 ml de chaque dilution est étalé soit **en profondeur** soit **en surface** en utilisant des milieux solides sur boîte de Pétri.

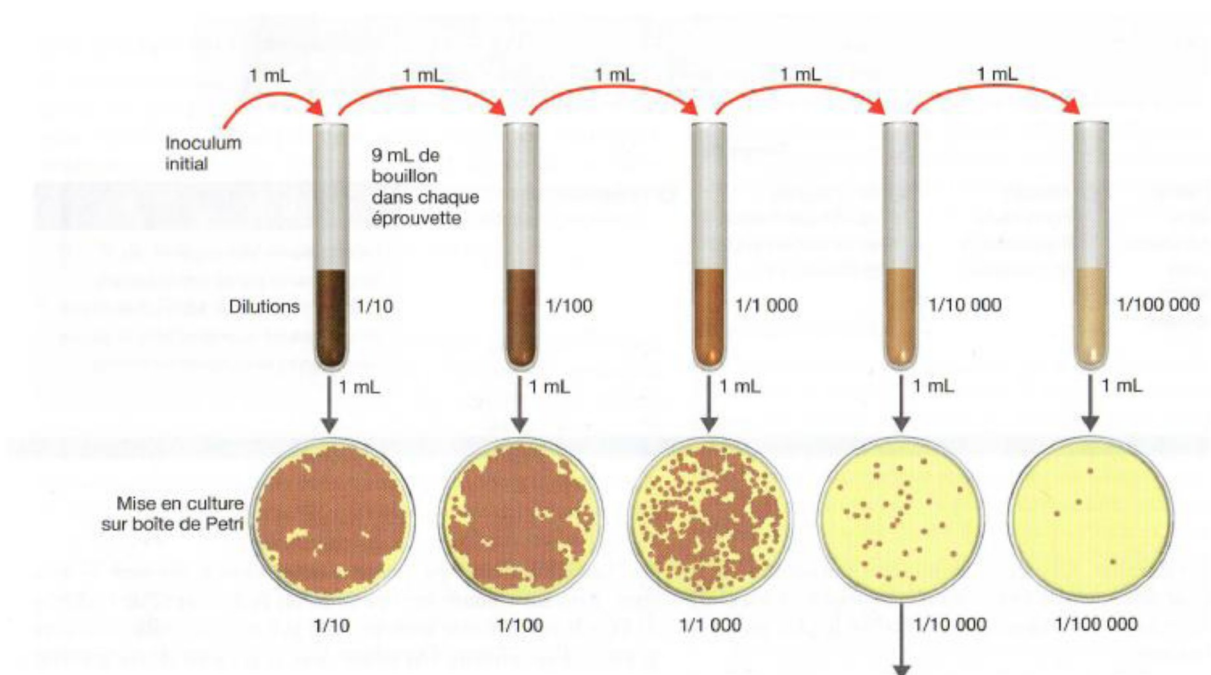


Fig. 43 : Dénombrement des bactéries après culture

On prend en considération les boîtes de 30 à 300 colonies. **Le nombre de bactérie.** Le calcul se fait comme suit : (**dilution 1/10000, 125 colonies obtenues**) : $125 \times 10000 = 1,25$ million bactérie par ml.

On suppose dans ce cas que chaque colonie est issue d'une bactérie, mais **en réalité c'est faux**. On parle d'unités formant colonies (**UFC**). Chaque colonie provient de plusieurs bactéries en chainettes ou en amas.

L'ensemencement par étalement présente l'inconvénient que l'échantillon peut **ne pas être absorbé dans sa totalité**.

L'ensemencement **en profondeur** ou en masse exige que les bactéries puissent supporter la température de la gélose liquide en surfusion (50°C). L'échantillon est mélangé avec la gélose et les colonies vont pousser en profondeur et en surface.

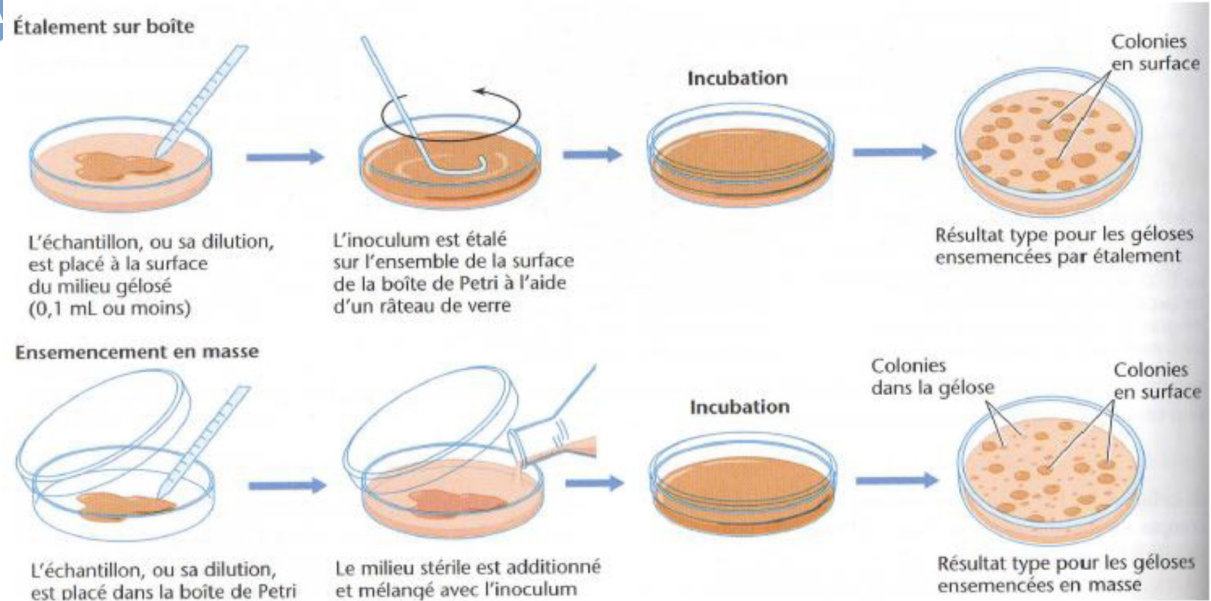


Fig. 44: Dénombrement des bactéries viables

2-2- Mesure directe du nombre de cellules

A partir d'un volume connu d'une suspension bactérienne on peut faire une numération totale des cellules au microscope. On utilise une lame spéciale appelée **chambre de comptage de Petroff-Hausser**.

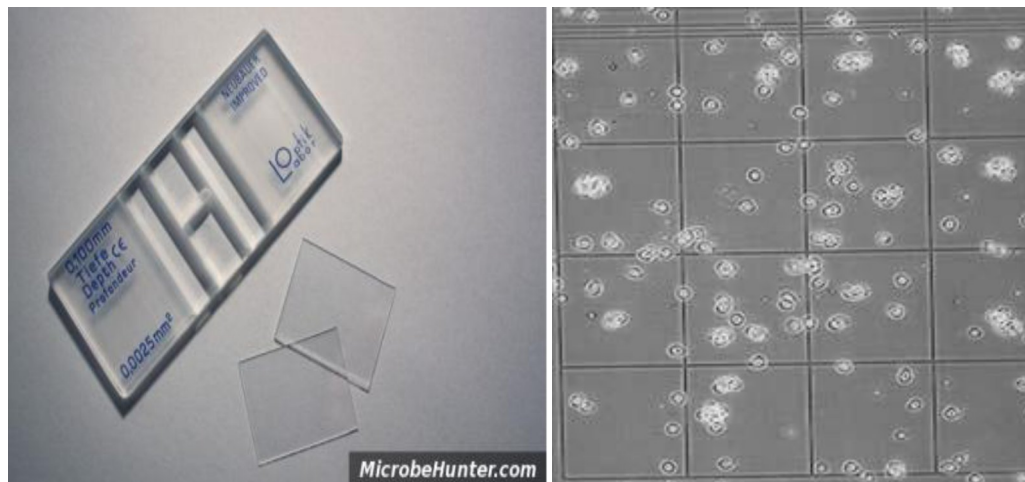


Fig. 45: Comptage microscopique

Chambre de comptage de Petroff-Hausser Comptage au microscope

2-3- Mesure par filtration sur membrane

Très utiles lorsque le nombre des bactéries est très bas. Utilisée pour la recherche des coliformes dans l'eau, comme preuve de contamination fécale. On procède par filtration sur membrane de 100 ml d'eau puis la membrane est mise en culture sur boîte de Pétri (Gélose).

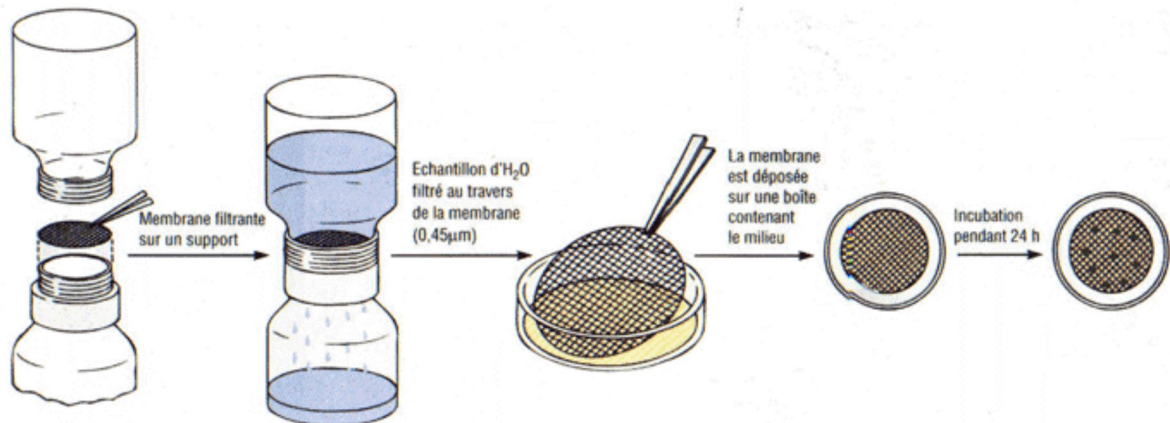


Fig. 46: Filtration d'eau sur membrane et dénombrement

2-4- La technique d'épifluorescence

Elle distingue les cellules vivantes des cellules mortes. Elle utilise l'acridine orange, un colorant qui se fixe sur l'ADN. En microscopie sous UV, les bactéries vivantes apparaissent vertes alors que les bactéries mortes apparaissent rouges.

2-5- Mesures indirectes de la turbidimétrie

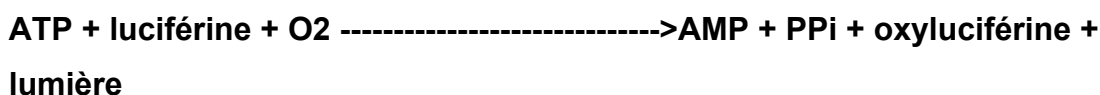
Plus une bactérie pousse dans un liquide plus ce dernier devient trouble. Il y a formation d'un voile. On utilise un **spectrophotomètre** pour mesurer cette **turbidimétrie** à travers une mesure appelée densité optique (DO) ou Absorbance (A). **La quantité de lumière transmise à une cellule photosensible est inversement proportionnelle au nombre de bactérie.** Plus, il y a de bactéries, plus l'absorbance est élevée. On peut tracer des courbes de corrélation entre le nombre de bactéries et l'absorbance. Dans la phase exponentielle, elle est représentée par une droite. (C'est la technique la plus employée car la plus simple, la plus rapide et la moins coûteuse. Son inconvénient majeur est sa sensibilité relativement modérée; il faut au moins 10^7 bactéries par ml pour pouvoir mesurer une densité optique). Les milieux très colorés ne peuvent être utilisés.

2-6- Mesure indirecte par la biomasse sèche

Les micro-organismes filamenteux ne se prêtent pas facilement aux techniques décrites ci-dessus. Leur culture en milieu liquide, peut être centrifugée ou bien filtrée, puis **séchée dans un dessiccateur**. On procède ensuite au pesage. Plus la biomasse est élevée plus le nombre de bactérie est grand. Cette technique ne différencie pas les bactéries vivantes des mortes.

2-7- Mesure indirecte par l'activité métabolique

On peut suivre la variation du pH, la consommation d'oxygène, de l'ATP par le test de la luciférase. **L'ATP-métrie** correspond à la réaction suivante.



La quantité de lumière émise est inversement proportionnelle à la croissance des bactéries. Elle peut être mesurée grâce à un luminomètre (1pgATP \approx 1 000 bactéries).

3- PARAMETRES DE LA CROISSANCE

Ces paramètres sont appelés également constantes de la croissance. La division cellulaire répond une progression exponentielle à temps régulier. 01 cellule donne 02 cellules, qui donnent 04 cellules, puis 16, puis 32 et ainsi de suite.

Le temps nécessaire au doublement du nombre de cellules est appelé **temps de génération (G)**.

Le temps de génération est **spécifique à chaque espèce** et il dépend des conditions environnementales.

(G) est de 20 minutes pour *Escherichia coli*, de 1000 minutes pour *Mycobacterium tuberculosis*.

Calcul du nombre de génération (phase exponentielle)

Soit N= nombre de cellule en division au temps (t) et N_0 le nombre de bactérie initial

Après 1 division : $N_1 = 2^1 \cdot N_0$ Après 2 divisions : $N_2 = 2^2 \cdot N_0$ Après n division : $N_n = 2^n \cdot N_0$

Donc $\text{Log}N = \text{Log}2^n \cdot N_0 = n\text{Log}2 + \text{Log} N_0$

Donc $n = \text{Log}N - \text{Log}N_0 / \text{Log}2$

Le temps de génération $G = (t_n - t_0) / n$

Ainsi par e, si une population bactérienne croit de 10³ à 10⁹/ml en 10h.

$n = (\text{Log}10^9 - \text{log}10^3) / \text{Log}2 = 6 / 0.3 = 20$ divisions

$G = 10 / 20 = 0.5\text{h} = 30 \text{ mn}$

4- COURBE DE CROISSANCE EN MILIEU NON RENOUVELE, CULTURE DISCONTINUE

Dans une culture discontinue ou la croissance n'est pas synchrone et ou les nutriments s'épuisent avec le temps, la croissance suit une courbe à **04 phases**. La phase de **latence**, la phase de **croissance exponentielle**, la phase **stationnaire** et la phase de **déclin**.

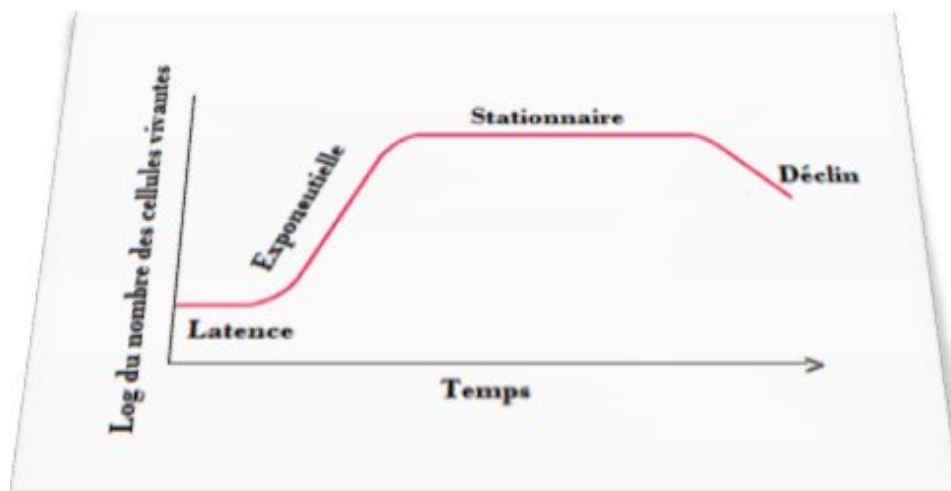


Fig. 47: Courbe de croissance bactérienne

- **La phase de latence** : le taux de croissance (k) est égal à zéro. Les bactéries ne se divisent pas, mais s'adaptent aux conditions de leur milieu environnemental. Elles synthétisent les enzymes nécessaires spécifiques des substrats (nutriments) présents.

Si on inocule le même milieu avec des bactéries prélevées en phase exponentielle, il n'y aura pas de phase de latence.

- **La phase de croissance exponentielle** : les cellules bactériennes se divisent sans arrêt, tant que les nutriments sont disponibles et les substances toxiques absentes et le pH est optimal. Le taux de croissance (k) est maximal. L'état physiologique est maximal également.
- **La phase stationnaire** : lorsque la culture est faite dans un flacon ou un tube, à un moment donné, les nutriments s'épuisent, les produits toxiques s'accumulent et le pH change. Le nombre de cellules ne varie plus. Il y a autant de division que de

mort cellulaire. Le taux de croissance (k) est constant. On parle même d'une **croissance cryptique**, où des cellules se nourrissent du contenu libéré par des cellules mortes.

- **La phase de déclin** : les bactéries ne se divisent plus. Elles meurent par lyse cellulaire. Le taux de croissance (k) est négatif.

4-1- Phénomène de diauxie (deux croissance en grec)

Le phénomène de diauxie, est une croissance qui se traduit par une courbe biphasique. Cette croissance est observée lorsqu'on utilise un milieu synthétique contenant deux sources de carbone. Dans un milieu contenant du glucose et du lactose, les bactéries vont utiliser en premier le glucose grâce à des enzymes constitutives. La dégradation du lactose est sous la dépendance d'enzymes inductibles dont l'induction est réprimée en présence de glucose. Lorsque le glucose est consommé, les bactéries utiliseront le lactose et initieront une nouvelle phase de croissance exponentielle après un temps de latence adaptatif.

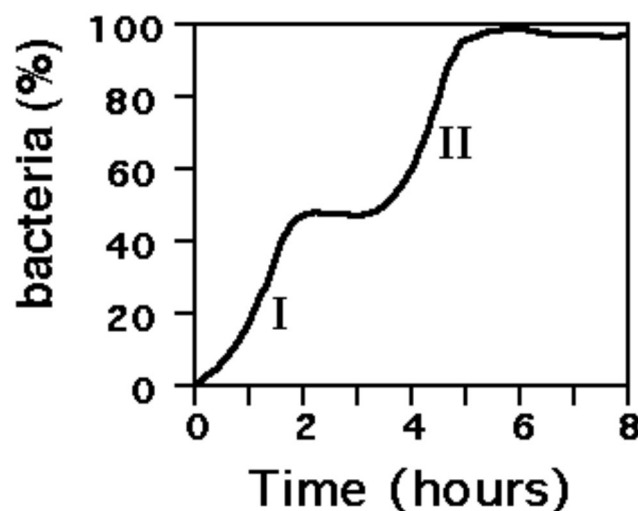


Fig. 48: Phase I (Glucose) –Phase II (Lactose)

5- CULTURE BACTERIENNE

Une préparation nutritive qu'on prépare au laboratoire pour cultiver les micro-organismes est appelé **milieu de culture**. Les bactéries introduites dans le milieu de culture constituent **l'inoculum**. Les micro-organismes qui s'y développent forment **une culture**.

5-1- Classification des milieux selon la consistance

Selon les analyses et les expériences à effectuer, on peut cultiver des bactéries sur **des milieux liquides** qu'on appelle **bouillons de culture**. Si on rajoute de l'**agar-agar** (polysaccharides isolés des algues), on obtient **des milieux solides**. Les micro-organismes se développent sous forme **d'un trouble ou voile** en suspension.

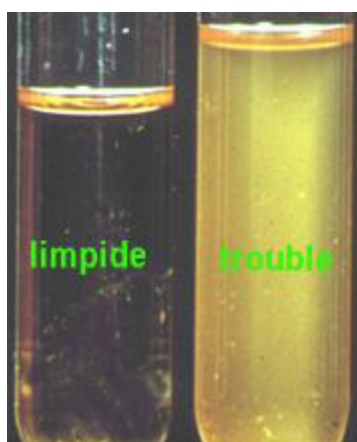


Fig.49 : Croissance sur milieux de culture liquide

Les **milieux solides** peuvent être préparés **sur boîte de Pétri** ou **en tube** (**gélose inclinée, gélose profonde**). Selon la quantité d'agar rajoutée, on a des **géluses solides** (1,5%) et des **géluses molles** (0,75%). Il est déconseillé de dépasser 1,5% car cela pourrait inhiber la croissance de certaines bactéries à cause **d'une forte pression osmotique**.

Les bactéries se développent sous forme de colonies, dont la forme, la couleur, l'odeur, dépendent à la fois de l'espèce et du milieu utilisé. La colonie **s'agrandit radialement** avant de pousser **verticalement** à une taille et une hauteur limites.

L'agar fond lorsqu'on la réchauffe à 100°C et se solidifie lorsqu'elle se refroidit (dès 40°C). Généralement, on prépare les boîtes de Pétri avec une gélose stabilisée à 50°C.



Fig. 50: Colonies de différents micro-organismes sur gélose

5-2- Culture spéciales et bactéries non cultivables

D'autres bactéries sont dites non cultivables. En réalité, **il faut dire que l'on ne sait pas encore cultiver à ce jour**. Beaucoup d'entre elles sont identifiées uniquement sur la base de leur ARNr 16S.

En microbiologie clinique, l'agent de la lèpre, *Mycobacterium leprae* est cultivé **dans un petit animal appelé Tatou**. Enfin, les bactéries intracellulaires obligatoires (Rickettsies, Chlamydias), sont cultivées **dans des cellules mammifères en monocouches**.

Les anaérobies stricts ont besoin de milieux réducteurs et d'équipements spéciaux comme **la jarre anaérobie ou une hôte anaérobie étanche**, dont l'air est contrôlé.

6- AGENTS ANTIMICROBIENS

6-1- Introduction

Au cours du 20e siècle, les scientifiques ont développé une série de méthodes physiques et chimiques pour lutter et contrôler la croissance des micro-organismes. Tous ces efforts étaient dans un cadre de pratique médicale pour

diminuer le pourcentage de décès post chirurgicaux ou après des accouchements. L'altération des aliments et le développement d'approches efficaces pour leur conservation constituaient également une motivation d'ordre sanitaire et économique.

6-2- Définitions

- **La stérilisation** : est l'action de tuer toutes les formes de vie microbienne contenues dans une préparation ou présents à la surface d'un objet. Le matériel traité est dit stérile lorsqu'aucun micro-organisme ne peut être revivifié.

Il faut souvent emballer les objets avant leur stérilisation et bien fermer les préparations pour éviter la contamination postérieure.

- **La désinfection** : est une mesure qui a comme objectif de détruire les microbes pathogènes. Elle est inefficace sur les endospores. Elle utilise un produit chimique qu'on nomme **désinfectant** sur des produits inertes. C'est une opération **au résultat momentané**. Elle détruit les microbes présents, mais il faut répéter le traitement en cas de contamination postérieure. Si elle est appliquée à un tissu vivant on parle **d'antisepsie** et le produit utilisé est un **antiseptique**. On n'utilise pas les mêmes produits pour les tissus vivants et les objets inertes. L'antiseptique doit être non toxique et non irritant pour l'homme ou l'animal.
- **La décontamination** : comme la désinfection est une action au résultat non permanent. Elle permet d'inhiber les micro-organismes, sans forcément les tuer. Elle s'applique à des tissus vivants.
- **L'asepsie** est l'ensemble des règles à respecter par les équipes médicales pour éviter l'apport de microbes exogènes.

Selon l'effet de l'agent antimicrobien sur la croissance des micro-organismes, on distingue:

- Une action **bactériolytique** avec une lyse (la mort) des cellules. Les nombres de bactéries totales et viables diminuent brutalement
- Une action **bactéricide**, les agents se lient à leurs cibles de façon étroite et même si une dilution a lieu, ils ne se détachent pas de leur cible et le nombre de cellules viables diminue sans lyse cellulaire de façon exponentielle en fonction du temps..
- Enfin une action **bactériostatique**, si la concentration diminue, la croissance bactérienne reprend. Il peut se détacher de sa cible. Dans des concentrations

normales d'utilisation, le nombre totale de bactérie est stable et égale au nombre de bactéries viables.

6-3-Les modes d'action des agents antimicrobiens

Qu'ils soient physiques ou chimiques, ils agissent sur la croissance bactérienne en altérant la paroi, ou la membrane plasmique. En dénaturant les protéines cytoplasmiques ou les acides nucléiques. On distingue 3 classes d'agents antimicrobiens :

- Les agents physiques
- Les agents chimiques
- Les agents chimio-thérapeutiques

6-3-1- Les méthodes physiques

A. La température

Elle peut être utilisée pour **la conservation** des aliments soit par le froid (**réfrigération, congélation**) soit par la chaleur (**la pasteurisation**). Dans les deux cas, le nombre de micro-organismes est stabilisé par le ralentissement de la croissance.

La température permet également **de détruire** les micro-organismes (stérilisation, appertisation). Son action dépend du milieu, de la physiologie et du nombre de cellules.

Les destructions thermiques utilisent **la chaleur humide ou la chaleur sèche**.

➤ **Chaleur humide (stérilisation)**

L'appertisation, méthode fiable, efficace et simple. Développé par Nicolas Appert en 1785 et confirmé par Pasteur en 1801. Consiste à plonger des légumes enfermés hermétiquement dans des bouteilles, dans de l'eau bouillante. Cette approche est très utilisée dans l'industrie des conserves.

L'autoclave, est une enceinte métallique hermétiquement close dans laquelle on chauffe de l'eau sous pression (120°C à 1 atm) pour faire agir la vapeur d'eau pressurisé, pendant 15 à 20 minutes. La stérilisation est obtenue par dénaturation des protéines. Il y'a plusieurs modèles d'autoclaves de tailles et de formes différentes.



Fig. 51: Autoclave de laboratoire

La tyndallisation

Il est possible d'arriver à stériliser les matières fragiles, très altérables par la chaleur, en leur faisant subir une série de chauffages à température moins élevée (60°C), séparées par des périodes de repos à la température ordinaire. C'est la tyndallisation. Elle est utilisée pour éliminer les endospores qui ont réactivées en cellules végétatives, éliminées à chaque cycle de chauffage.

La pasteurisation

Développée **par Pasteur entre 1866 et 1876**. Un chauffage pas très élevé (60°C) permet de détruire la flore pathogène (Salmonella, Listeria, Escherichia...) et ralentie la croissance des germes d'altération. Elle préserve les qualités nutritives de l'aliment (lait), l'équilibre chimique et les vitamines.

La pasteurisation ne peut être considérée comme une stérilisation, on l'applique à des produits pour préserver les caractères organoleptiques, (gout, couleur, odeur, saveur) et en permettant leur conservation pendant une période. On distingue :

-**La pasteurisation haute température** : Le lait est porté à 90°C pendant 30 secondes puis refroidi à 10°C.

-**La pasteurisation basse température** : Chauffage à 60 à 70°C pendant des temps plus longs.

-**La pasteurisation Ultra Haute Température (UHT)** : La plus récente, elle est appliquée au lait et au jus de fruit. Une température de 140°C pendant quelques secondes, puis on refroidit brutalement.

➤ **La chaleur sèche**

Les objets (verrerie, matériel chirurgical), ne peuvent être stérilisés par la chaleur humide.

Il faut utiliser le **four Pasteur ou Poupinel** à circulation d'air pour une bonne répartition de la chaleur. La stérilisation est obtenue par une dénaturation des protéines :

180°C (30 mn) - 170°C (1h) - 160°C (2h).

➤ **Action du froid**

L'activité de l'eau est grande lors de la réfrigération (développement des psychrophiles), par contre la congélation la diminue. Les 3 règles à respecter dans l'application du froid :

Il faut réfrigérer un aliment sain

Le plus tôt que possible (rapidement)

La réfrigération doit être continue (aucune rupture dans la chaîne du froid)

B. Les radiations

On a les **rayonnements ionisants** comme les rayons gamma, les rayons X et les faisceaux d'électrons. Ils ont une longueur d'onde très petite et ils transportent plus d'énergie. L'énergie agit sur l'eau des cellules qui sera ionisée avec formation d'ions hydroxyles qui agissent sur l'ADN en le modifiant chimiquement ou en le coupant.

Les rayonnements non ionisants comme les ultraviolets, surtout ceux dont la longueur d'onde est de 270 nm. Ils provoquent la formation de liaisons anormales entre des bases de thymine proches dans l'ADN. Ceci, va induire des problèmes au niveau de la réplication de l'ADN. Les UV du soleil sont moins puissantes et certaines bactéries utilisent des pigments pour s'en protéger.

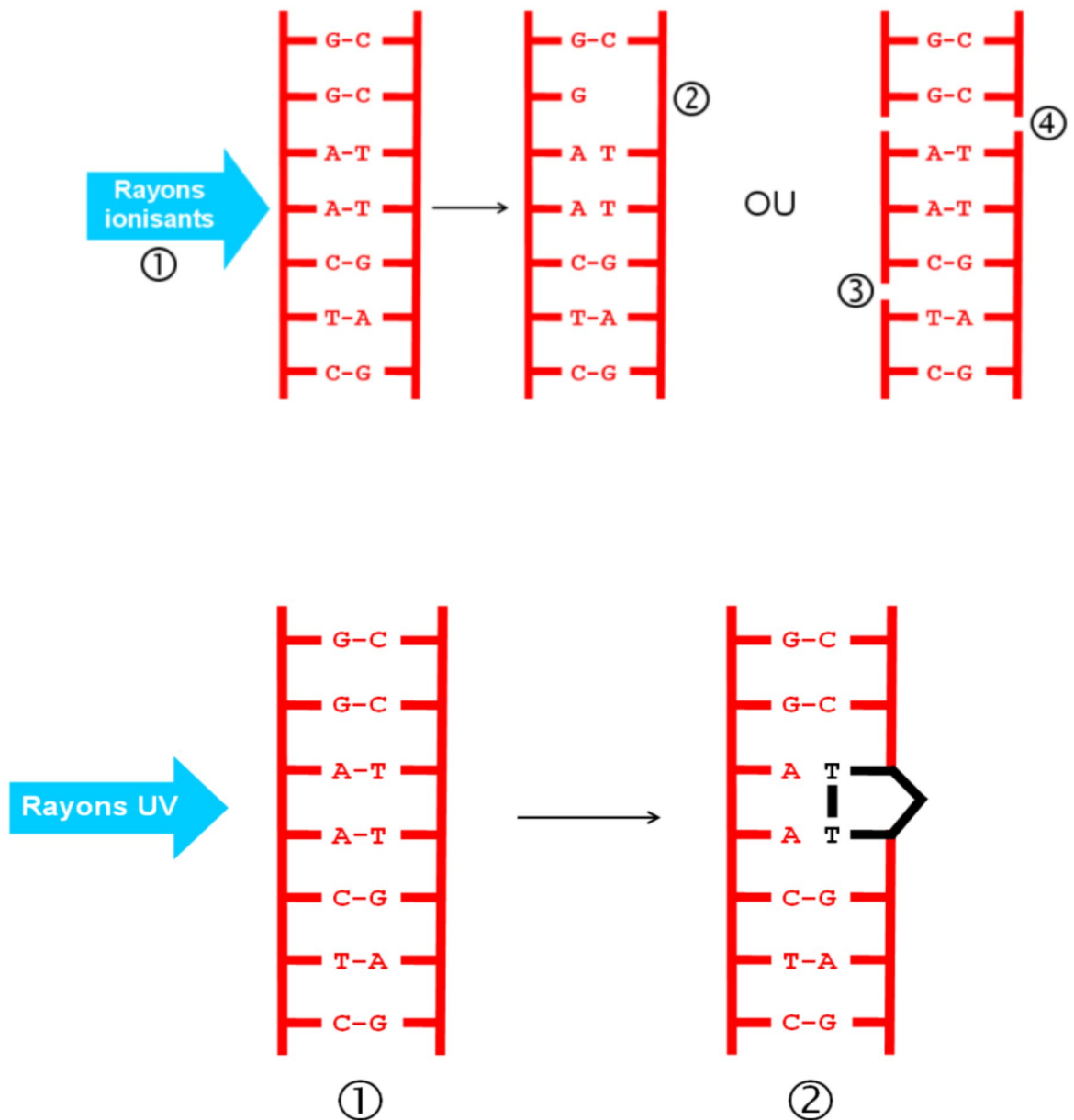


Fig. 52: Influence des Radiations

C. Pression

Les ultrapressions peuvent détruire les micro-organismes. Elles sont utilisées en recherche pour faire éclater les cellules « french press ». En industrie alimentaire, on utilise la **Pascalisation**, associée au traitement par la température. Confiture et jus de fruit sont traités par pasteurisation à basse température, avant de subir un traitement de 10 à 30 mn sous 3500 à 6000 bars. On peut congeler

des aliments à -20°C sans formation de glace. L'eau reste liquide à -20°C sous 2000 bars.

D. Elimination mécanique

La filtration est le meilleur moyen pour stériliser des solutions renfermant **des substances thermolabiles**, comme des protéines, vitamines, sérum, ATB... La filtration stérilisante est appelée stérilisation à froid. Il y a différents dispositifs de filtrations selon les volumes traités.



Fig. 53 : Filtration

Filtre pour seringue

Unité de filtration

6-3-2- Les méthodes chimiques

Ils sont très actifs mais toxiques pour l'homme. Ils ne peuvent être ingérés.

L'activité est très diverse. Leur **action est brutale et non spécifique** (à la différence des ATB).

On distingue :

- **Oxydation et dénaturation des protéines** : L'eau oxygénée oxyde les SH libre des enzymes, les sels de métaux lourds se combinent aux SH et inactivent les protéines. L'alcool agit comme la chaleur et coagule les protéines
- **Altération de la membrane cytoplasmique** : les agents liposolubles (phénoliques, savons, et surtout détergents) détruisent la membrane plasmique et laissent s'échapper le cytoplasme et ses composants.
- **Action sur le métabolisme** : Les cyanures et les fluorures attaquent la chaîne respiratoire. Les colorants basiques (bleu de méthylène, violet de gentiane, réagissent avec les acides ribonucléiques.

D'autres agents sont mutagènes, comme l'acridine, ou chélateurs comme la quinoléine et ses dérivés. On a isolé des plasmides de résistance secondaire aux antiseptiques. Comme exemples :

- **Oxydants** : Eau oxygénée, l'eau de javel, l'alcool iodé.
- **Alcool** : Ethanol dilué à 70% (l'alcool diluée et plus efficace que l'alcool pur)
- **Métaux lourds et leurs sels** : Les sels d'argents en ophtalmologie, en ORL. Les sels de mercure comme antiseptique de la peau et des muqueuses (Mercurochrome Mercryl, Merseptyl).
- **Le sulfate de cuivre** comme antifongique. Ils tuent la cellule en précipitant les enzymes ou en se combinant aux groupements thiols SH. Ils sont très toxiques pour l'homme.
- **Phénol et Aldéhydes** très toxiques pour l'homme, ils ont bactéricides, fongicides et virucides. Ils dénaturent la membrane, l'ADN et les protéines
- **Les Savons**, leur action est mécanique. Ils augmentent le pouvoir mouillant de l'eau et emprisonnent les germes dans la mousse et les éliminent avec le rinçage.

D'autres composés à pouvoir mouillant, très bactéricides ont été synthétisés. Ce sont les **détergents ou surfactants**.

- **Les colorants**, antiseptiques à usage local, quelques-uns sont utilisés par voie digestif. Le vert de malachite et le vert brillant pour le traitement des plaies superficielles, le violet de méthyle comme antiseptique urinaire, le violet de gentiane comme désinfectant. On les utilise dans la préparation des milieux de culture pour leurs actions sélectives. Ils sont souvent plus actifs sur les Gram (+) en sélectionnant du coup les Gram (-).
- **Stérilisation par les gaz**, on les utilise pour stériliser les produits instables à la chaleur, la désinfection des locaux (hôpitaux), ou la stérilisation des objets en plastique comme les boîtes de Pétri et tubes.

6-3-3- Agents chimio-thérapeutiques antimicrobiens

C'est en 1929 avec **Flemming**, que l'ère véritable des antibiotiques débuta. Il observa de façon anodine, l'inhibition de la croissance de Staphylocoques par des moisissures de *Penicillium*, sur une boîte de Petri oubliée sur la paille. Il cultiva en masse le *Penicillium* et montra que les extraits étaient bactéricides sans être toxiques pour les cellules animales. Il appela Pénicilline le principe actif du filtrat.

En 1939 Florey et Chain, on purifié la pénicilline à grande échelle et effectué des essais cliniques avec des résultats spectaculaires.

En 1944, Waksman, découvrit la Streptomycine à partir *Streptomyces griseus*

En 1953, Newton et Abraham, La céphalosporine C à partir d'une culture de *Cephalosporium acremonium*.

Depuis 1965, une nouvelle ère débuta, celle des antibiotiques **semi-synthétiques**, tel que les B-lactamines

A. Le principe de la toxicité sélective

Les agents antibactériens chimiques (antiseptiques, désinfectants) : Exercent une action antibactérienne non spécifique. Ils ne peuvent pas être utilisés en thérapeutique par ingestion ou injection, puisque leur action s'exerce sur les micro-organismes, mais aussi vis à vis des cellules de l'homme ou de l'animal. Les agents chimiothérapeutiques (antibiotiques, sulfamides), exercent un effet nuisible sur les microbes mais n'ont **pas d'effet nocif sur les cellules animales et humaines**.

B. Classification des antibiotiques

Les antibiotiques sont très nombreux et peuvent être classés selon divers critères :

B.1 En fonction de leur origine

- **Les antibiotiques naturels** ou produits par les micro-organismes :
Champignons (Pénicilline, Céphalosporine).
Bactéries (Streptomycine, Chloramphénicol, polypeptides).
- **Les antibiotiques synthétiques** ou produits obtenus entièrement par voie chimique : Sulfamides. Acides nalidixiques.
- **Les antibiotiques semi-synthétiques** : Ces antibiotiques sont obtenus à partir d'une fraction moléculaire naturelle sur laquelle a été greffé un radical chimique.

B.2 En fonction de leur spectre d'activité

Le spectre d'activité d'un antibiotique ou domaine d'action est une liste théorique de toutes les bactéries pouvant être inhibées dans leur croissance ou détruites par un antibiotique donné.

- **Large spectre** : Actif sur la majorité des bactéries Gram positif ou négatif.
- **Spectre limité** : Actif sur les bactéries Gram positif et quelques Gram négatif.
- **Spectre étroit** : Actif uniquement sur certains germes Gram positif ou sur certains Gram négatif ou un genre.

B.3 En fonction de leur parenté chimique

La structure de base commune à plusieurs antibiotiques permet de regrouper ces antibiotiques dans une même famille. Les antibiotiques d'une même famille ont en générale le même mécanisme d'action.

B.4 En fonction de leur site d'action

Le schéma guide suivant résume les cinq différents mécanismes des antibiotiques.

Principaux mécanismes d'action des agents antibactériens

Ce schéma illustre les cinq mécanismes d'action des antibactériens, mécanismes que nous décrivons en détail dans le chapitre. Les limites du spectre d'action de chaque antibiotique sont un facteur dont il est important de tenir compte pour savoir dans quelles circonstances utiliser les médicaments et pour comprendre par quels mécanismes les microbes deviennent résistants.

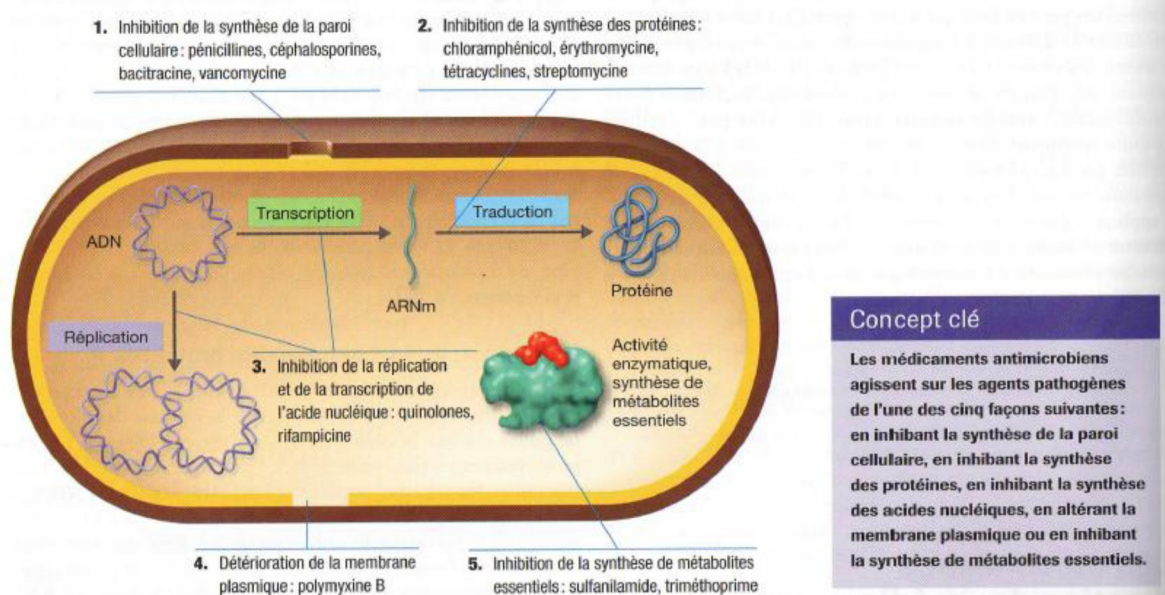


Fig. 54 : Les différents mécanismes des antibiotiques

C. L'antibiogramme

Dans les infections graves, récidivantes ou les échecs thérapeutiques on fait appel au laboratoire de microbiologie pour réaliser une culture et un antibiogramme. Un antibiogramme permet de tester sur milieu de culture, l'action de molécules antibiotiques sur une souche bactérienne.

L'antibiogramme standard en milieu gélosé : méthode des disques

Pour réaliser l'antibiogramme par la méthode des disques, la culture bactérienne estensemencée à la surface d'une gélose de **Mueller-Hinton**. Des disques imprégnés d'une dose connue d'antibiotique sont déposés à la surface de la gélose. L'antibiotique diffuse à partir du disque en créant un gradient de concentration. La détermination du diamètre de la zone d'inhibition permet une estimation de la concentration minimale inhibitrice. **La sensibilité** ou **la résistance** de la souche bactérienne sera déterminée.



Fig. 55: Antibiogramme : méthode des disques d'antibiotiques

CHAPITRE 6 : NOTIONS DE MYCOLOGIE ET DE VIROLOGIE

1- MYCOLOGIE (LEVURE ET MOISSURE)

La mycologie est l'étude des mycètes ou champignons. On distingue trois groupes majeurs de champignons. **Les moisissures (champignons filamenteux), les levures (unicellulaires) et les champignons macroscopiques.** Il y a 1.5 millions d'espèces de mycètes.

Les mycètes sont des **eucaryotes saprophytes**. Ils se nourrissent de matières organiques en décomposition qu'ils transforment en matière minérale, par absorption à travers une membrane.

Commensales dans leurs majorité, donc vivant en association symbiotique avec d'autres organismes. Mais certains sont parasites et hautement pathogènes pour l'homme, les animaux et les plantes (causant des pertes économiques considérables aux agriculteurs).

L'homme également s'en sert pour la fabrication de médicament (antibiotiques, vitamines), d'aliment (pain, fromages), d'enzymes...

Le type respiratoire est **aérobie**, à l'exception de ceux que l'on trouve dans le tube digestif des mammifères. Les levures sont **anaérobies facultatives**. Du point de vue des facteurs physicochimiques, les mycètes sont **mésophiles**, Température optimale de croissance entre 25 et 35°C. Le maximum observé est de 62°C. Ils tolèrent **des milieux acides** $5.5 < \text{PH} < 7.5$ et ils sont moins exigeant en humidité par rapport aux autres micro-organismes.

Chimiohétérotrophes, ils utilisent la matière organique comme source d'énergie d'électrons et de carbone. Ils oxydent la matière organique pour puiser l'énergie nécessaire à leur développement et croissance. Les molécules simples sont absorbées directement (acide aminé, monosaccharides). Les molécules plus complexes sont hydrolysées à l'extérieur par un équipement enzymatique sécrété ou associé à la paroi.

Les mycètes **ont une paroi**, principalement constituée de 10 à 20% de protéines, 80% de polysaccharides antigéniques : **la chitine** (polymère linéaire de β -D-1-4- N Acétyl-glucosamine), de la cellulose (polymère linéaire de β -D-1-4- glucose) des mannanes ou des glucanes. La majorité, sont **immobiles** à l'exception de quelques espèces aquatiques.

L'appareil végétatif des mycètes est appelé **un thalle**. Le thalle peut être constitué d'une seule cellule (levures). La plupart des champignons ont des thalles pluricellulaires constitués d'un mycélium et d'organes de fructification (les moisissures).

Les levures sont **unicellulaires** et se reproduisent **par bourgeonnement** mais également **par fission binaire** ou **scissiparité** comme *Schizosaccharomyces pompe*.

Leur cycle vital peut se faire **par reproduction sexuée ou asexuée**. Dans la reproduction sexuée, **les spores** présentent des différences notables en termes de forme, taille et autres caractéristiques, **spécifiques de l'espèce**.

1-1- Taxonomie

Les moisissures et les levures sont classées donc sur **la base de la diversité des cycles de reproduction**, en tenant compte **de la formation de spores sexuées différentes**.

La reproduction la plus répandue se fait sans recombinaison génétique. Les spores asexuées sont produites par une mitose suivie d'une division cellulaire. Elle peut avoir lieu par fragmentation du mycélium (arthrospore), par bourgeonnement d'une cellule mère végétative (blastospores), si elles sont enveloppées, elles sont dites chlamydospores, ou à l'extrémité d'un hyphes: conidiospores. Elles peuvent être formées à l'intérieur d'un sporange : sporangiospores.

La reproduction sexuée implique la formation de gamètes ou cellules sexuelles. Les gamètes de deux thalles fusionnent leur patrimoines génétiques et forme un nouvel individu.

On reconnaît 3 règnes de mycètes, **le règne des Eumycota , des Straminipila et des fongiformes**, selon leur morphologie et leur mode de reproduction.

A. Le règne des Eumycota (champignons vrais) on distingue **5 phylums qui dérivent probablement d'un ancêtre commun choanoflagellés**.

Phylum Chytridiomycota

Phylum Zygomycota

Phylum Glomeromycota

Phylum Ascomycota

Phylum Basidiomycota

B. Le règne des Straminipila comprend 3 phylums qui dérivent probablement d'un groupe de protistes comme les diatomées et certaines algues dorées. Le plus important est celui des Oomycota

Phylum Oomycota

Phylum Hyphochytridiomycota

Phylum Labyrinthulomycota

C. Le règne des fongiformes ou moisissures glaireuses avec 4 phylums

Phylum Myxomycota

Phylum Plasmodiophoromycota

Phylum Dicytosteliomycota

Phylum Acrasiomycota

1-1-1-Phylum des chytridiomycètes

Ce sont des champignons inférieurs, le mycélium n'est pas septé (sauf dans des structures en cours de reproduction). Les Chytrides produisent des zoospores dans des sporanges. **Les zoospores sont mobiles généralement par un flagelle.** La reproduction sexuée se fait par la formation d'une spore diploïde après la fusion de 2 cellules haploïdes ou la fusion d'un gamète haploïde avec un oeuf immobile. La spore peut subir une méiose et produit un mycélium haploïde ou germer et produire un mycélium diploïde. Le mycélium diploïde peut donner naissance à des sporanges, qui après méiose forment des zoospores haploïdes qui germent en mycélium végétatif haploïde.

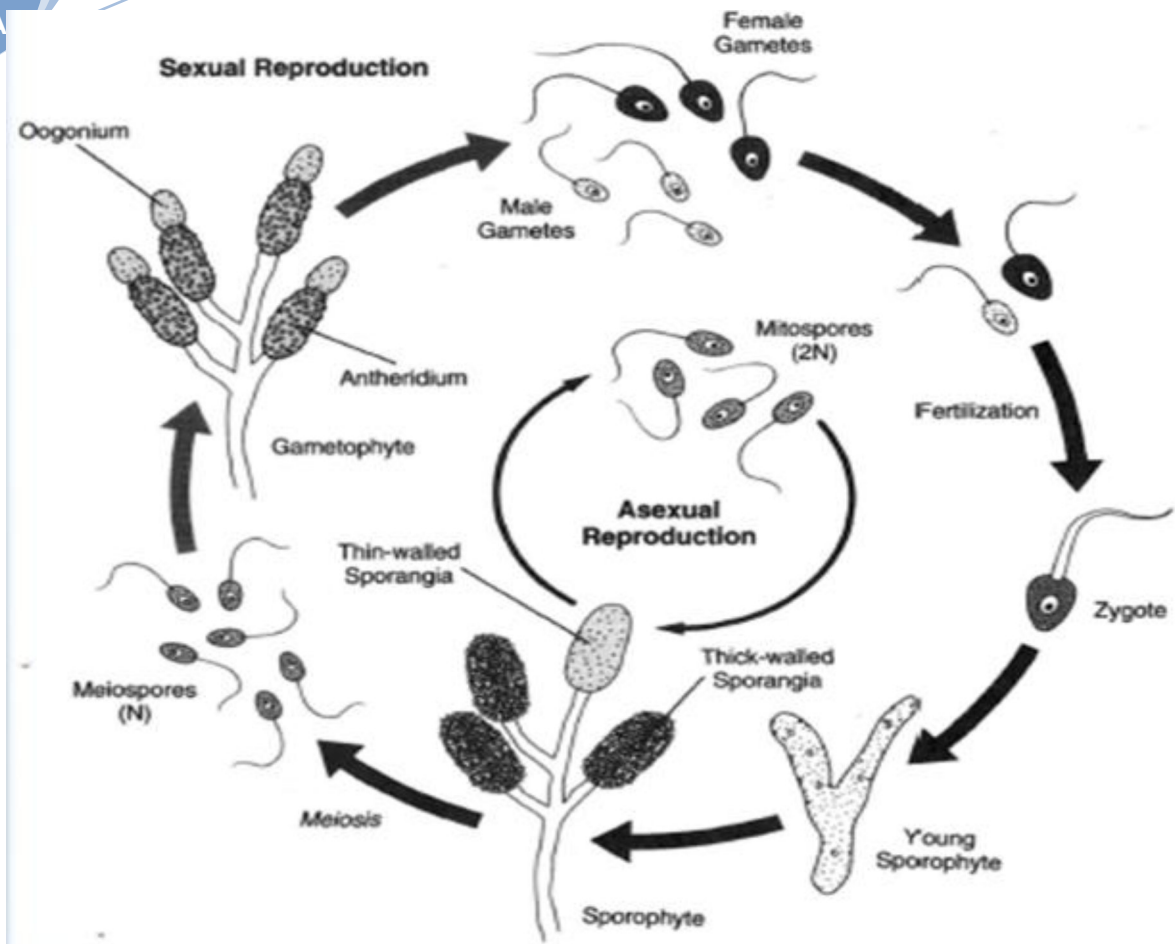


Fig. 56: Cycle biologiques des chytridiomycètes

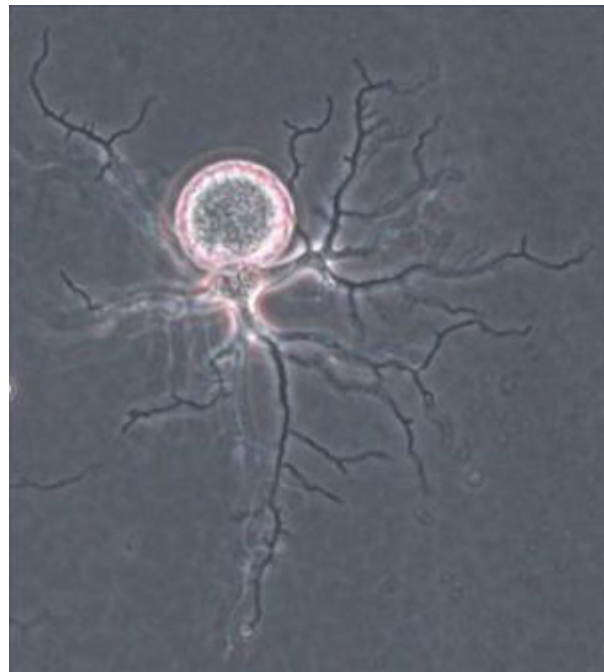


Fig. 57: Chytridiomycètes

1-1-2- Phylum des zygomycètes

Lors de la reproduction asexuée, il y'a formation d'un hyphe aérien, l'extrémité du hyphe est appelée **spongiospore**, elle est séparée de l'hyphe par un septum appelé columelle. Les éléments contenus dans le cytoplasme de l'extrémité d'un hyphe se transforment en **sporange** contenant de nombreuses **spores asexuées**. Les spores contiennent des noyaux haploïdes issus de division mitotique d'un noyau du mycélium végétatif. La dissémination se fait par l'intermédiaire de l'eau et le vent.

Dans la reproduction sexuée, deux noyaux de signes contraires fusionnent dans une structure appelée **zygospore**. Si c'est le même mycélium (homothalisme) si deux mycéliums distincts (hétérothalisme). La fusion se fait au niveau des extrémités différentes des hyphes, appelées progamétanges et donne la zygospore. Après une méiose, 3 noyaux dégénèrent et un seul reste pour donner le mycélium végétatif. Il y'a formation de nouvelles spongiospores à partir de la zygospore.

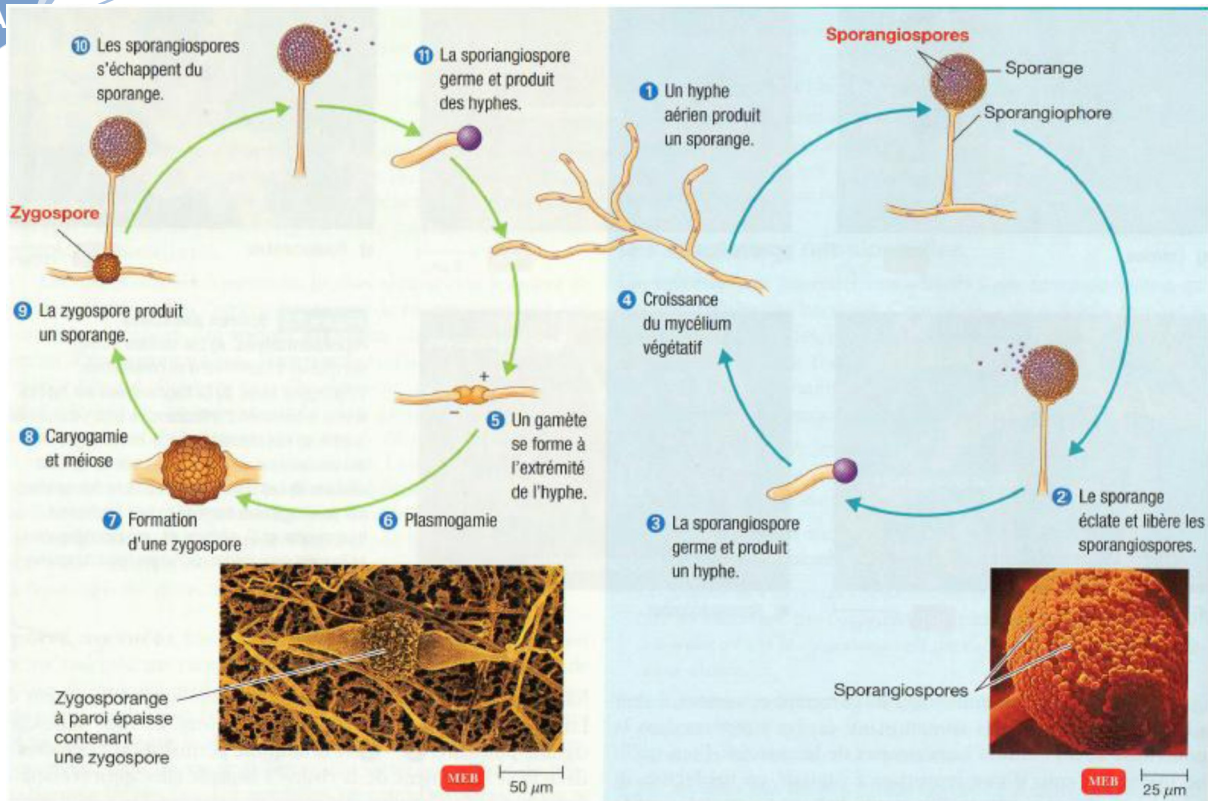


Fig. 58: Cycle biologique des zygomycètes

1-1-3- Phylum des Glomeromycètes

Ils ont été récemment définis par la comparaison des séquences de l'ADN ribosomal. Il inclut essentiellement des espèces qui vivent en association obligatoire avec des plantes ainsi qu'une espèce vivant en association avec des cyanobactéries, *Geosiphon pyriforme*. Ils jouent un grand rôle écologique en formant les mycorhizes avec 90% des arbres.

1-1-4- Phylum des ascomycètes

Ils produisent des mycéliums complexes avec des septums perforés. Ils produisent des conidiospores asexuées et des ascospores sexuées dans des structures sacciformes appelées **asque**. La reproduction végétative ou asexuée s'accompagne par la production de spores appelées conidiospores à l'extrémité des hyphes aériens appelés **conidiophores**.

Si les spores sont séparées par des parois transversales, on obtient des **arthrospores**, si c'est un bourgeonnement de la cellule mère, on obtient la formation de **blastospores**.

Les **conidiophores** peuvent s'agréger sous **différentes structures en forme de tiges** :

Les spores non protégées, à leur sommet : **Coremie**

Protégées dans des tissus mycéliens stériles : **Picnide**

Dans des tissus végétaux, dans l'épiderme des plantes : **Acervule**

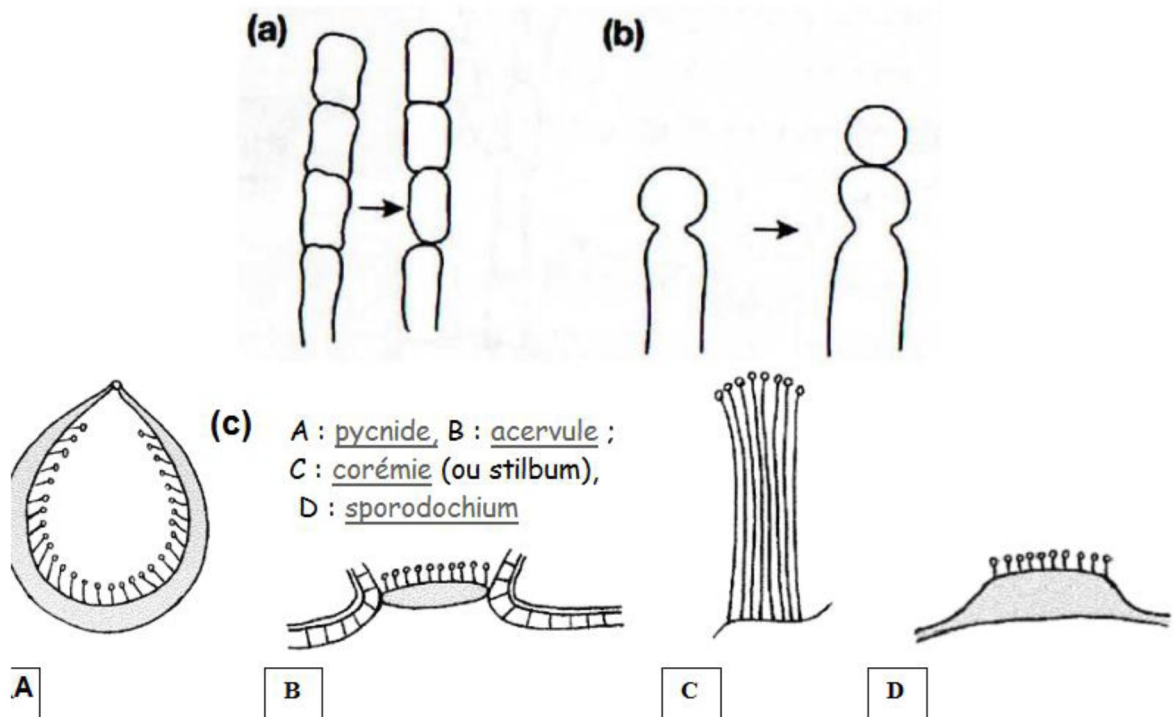


Fig. 04 : Types de spores

(a) Arthrospores ou spores thallics (b) Blastospore, ou spores Blastiques.

(c) Aggrégation de conidiophores ou hyphes aériens.

La reproduction sexuée a lieu par une union somatique de deux mycéliums de sexe différent. Une courte phase diploïde est suivie par la formation d'ascospores à l'intérieur d'asques sacciformes. Les hyphes se courbent pour donner des structures appelées

« **croziers** » ou bâton de bergers qui possèdent des septums distincts à leur base, permettant la présence des deux noyaux de sexe différent dans une cellule terminale.

La formation du septum est coordonnée avec la division nucléaire, qui aboutit à la formation d'un asque.

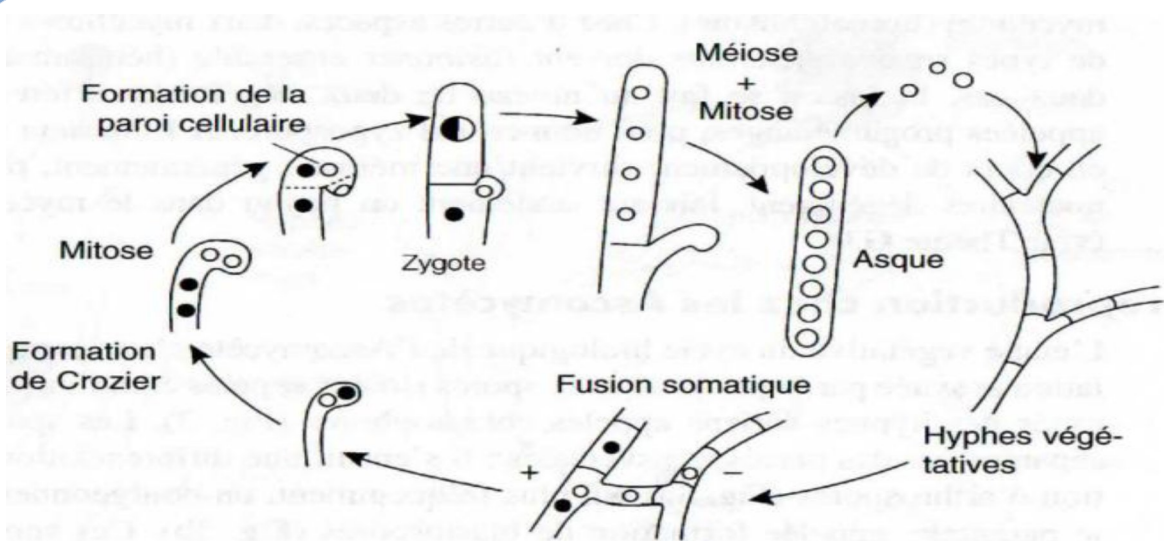


Fig. 59: La reproduction sexuée chez les ascomycètes

Chez les ascomycètes plus complexes, plusieurs asques se forment en même temps, se qui forme un tissu fertile appelé hyphénium. Ces hyphéniums peuvent être entourés d'une grande quantité de mycélium végétatif au point qu'ils sont visibles à l'œil nu. Ces appareils sexuels protègent les asques et contribuent dans leurs dispersions.

La levure, mycète unicellulaire, est également un ascomycète. ***Saccharomyces cerevisiae*** est l'exemple type. Elle possède deux modes de reproduction, asexuée et sexuée. Les cellules diploïde bourgeonnent et donnent des individus identiques. Si le milieu devient pauvre en azote et en carbone, un diploïde a/α , subie une méiose et donne un asque qui va libérer des spores a et des spores α (haploïdes). Ces spores peuvent se reproduire par bourgeonnement individuellement et dès que les conditions redeviennent favorables, une cellule (a) peut fusionner avec une cellule (α) et reformer une cellule diploïde.

Parmi les ascomycètes nous considérons un large groupe de champignons vrais qui ne possède pas de reproduction sexuée (inconnue ou rare) et qui produisent des conidies. On les regroupe sous le nom de champignon imparfait ou deutéromycètes. La mitospore est un autre nom à la conidie parce qu'elle est produite de manière asexuée par le seul processus de mitose. Un champignon **anamorphe** (ne se reproduisant que par conidies) peut donc être également dit **mitosporique**.

Par opposition, les champignons qui possèdent une reproduction sexuée sont dits **téléomorphes** et ceux qui ont les deux types de reproduction au sein d'une même colonie fongique, sont dits holomorphes.

Parmi ces mitosporiques on a comme exemple un champignon très dangereux *Aspergillus niger*, un producteur d'antibiotique, *Penicillium*, *Fusarium*.

1-1-5- Phylum des basidiomycètes

Elles sont dits **mycètes à massue**. Leur hyphe est complètement cloisonné par des septums. La forme en massue est appelée **baside**, à l'extrémité de l'hyphe, d'où sont émises **les basidiospores**. La majorité, sont phytopathogènes (la rouille du blé, le charbon des céréales). Mais, les champignons à chapeau font partie de ce groupe.

Les basidiomycètes produisent rarement des spores sexuelles. Ils sont souvent sous la forme de mycélium végétatif. La reproduction asexuée a lieu lorsqu'un fragment de l'hyphe se détache et forme un nouveau mycélium.

La reproduction sexuée passe par la formation d'un stade dicaryote issue de la formation de deux noyaux de sexe différent suite à la fusion de deux mycéliums compatibles. C'est les conditions environnementales qui conditionnent l'initiation des spores sexuelles. Les mycéliums se disséminent et donnent des basidiums.

Quatre spores bourgeonnent au niveau du basidium. Les basidiums se regroupent pour former des hyphéniums, très sensibles à la présence de l'eau.

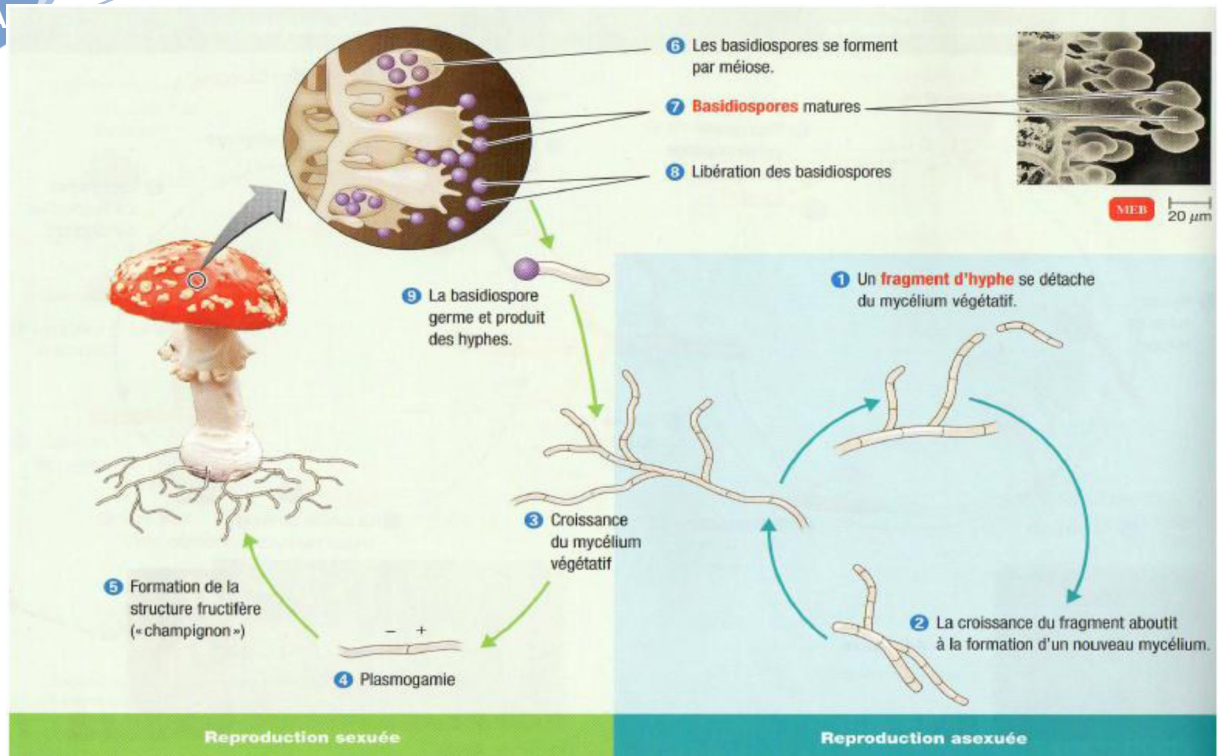


Fig. 60: Cycle vital d'un basidiomycète

1-1-6- Phylum des oomycètes

Se sont des moisissures aquatiques formant **des hyphes coenocytiques**. Phytopathogènes importants, avec comme maladies de références, **le mildiou de la pomme terre, la rouille de la pomme de terre et des maladies de poissons**. Ils se comportent comme des champignons vrais, mais ils possèdent des caractéristiques des plantes en étant non photosynthétiques. Un noyau diploïde, une paroi cellulosique, des stérols de plante au niveau de la membrane au lieu d'ergostérol des mycètes, des citernes de golgi plates et celles des mitochondries tubulaires (inversées pour les mycètes).

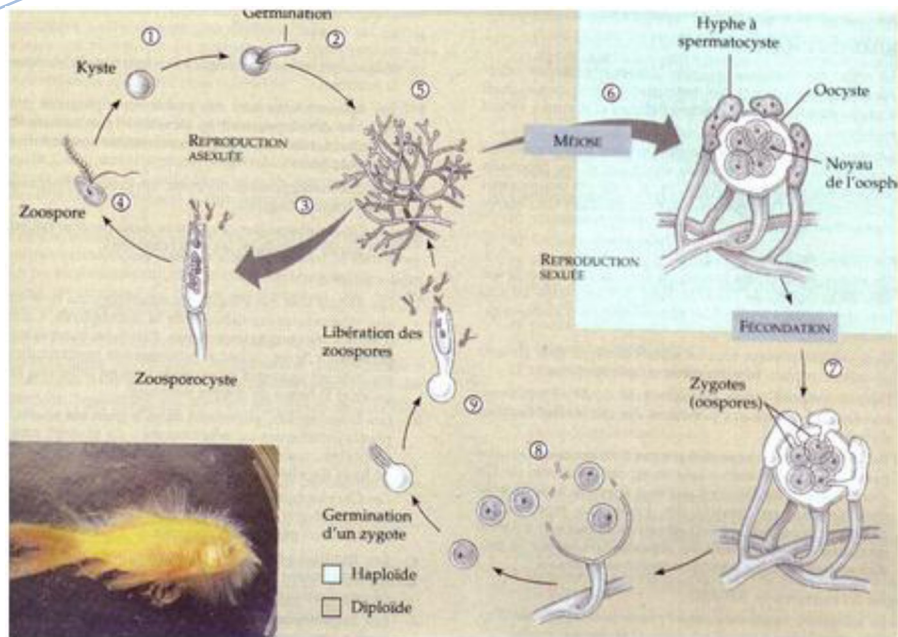


Fig. 61: Cycle vital d'un oomycète

La reproduction sexuée des oomycètes, commence par les spores enkystées qui se posent sur un substrat favorable et germent. Puis se forme un réseau d'hyphes cénocytique. À l'extrémité des hyphes se forment des zoosporocystes tubulaires qui relâchent des **zoospores à deux flagelles** et qui vont s'encyster.

Les hyphes peuvent entamer une reproduction sexuée en formant des structures sexuées. La méiose produit des oosphères à l'intérieur des oocystes et des hyphes à spermatocystes (**antheridium ou anthéridie**) sur le pourtour de l'oosphère. Les hyphes vont déposer leurs noyaux dans les oosphères. Cette dernière se désintègre et libère les oospores. Les oospores vont germer pour libérer les zoospores qui vont générer un nouvel hyphes.

1-1-7- Les organismes fongiformes

Ce sont des moisissures visqueuses, aquatiques dites glaireuses. Elles ne ressemblent aux champignons que par leur aspect et leur mode de vie, **mais ils se rapprochent plus des amibes** par leur reproduction et leur cycle biologique. Les moisissures glaireuses peuvent produire des spores et entamer un cycle vital. Par contre, comme les protozoaires, elles sont mobiles et se déplacent rapidement sur les substrats qu'elles colonisent. On distingue, les **moisissures glaireuses cellulaires** avec une forme végétative amiboïde et les moisissures glaireuses acellulaires dont la forme végétative est **une masse protoplasmique appelée plasmode**. Les myxomycètes se nourrissent des bactéries et on vient de

montrer récemment qu'elles sont capables de cultiver des bactéries pour des raisons encore inconnues.

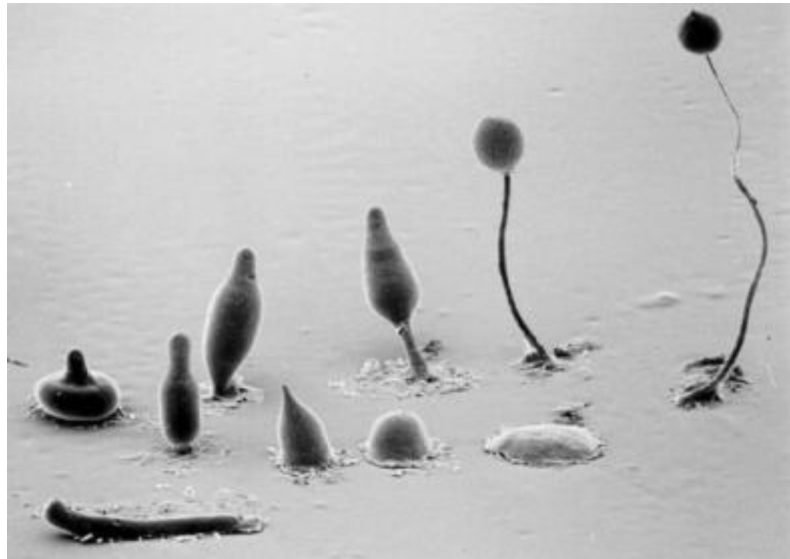


Fig. 62: Moisissure glaireuse cellulaire (*Dictyostellium discoideum*)

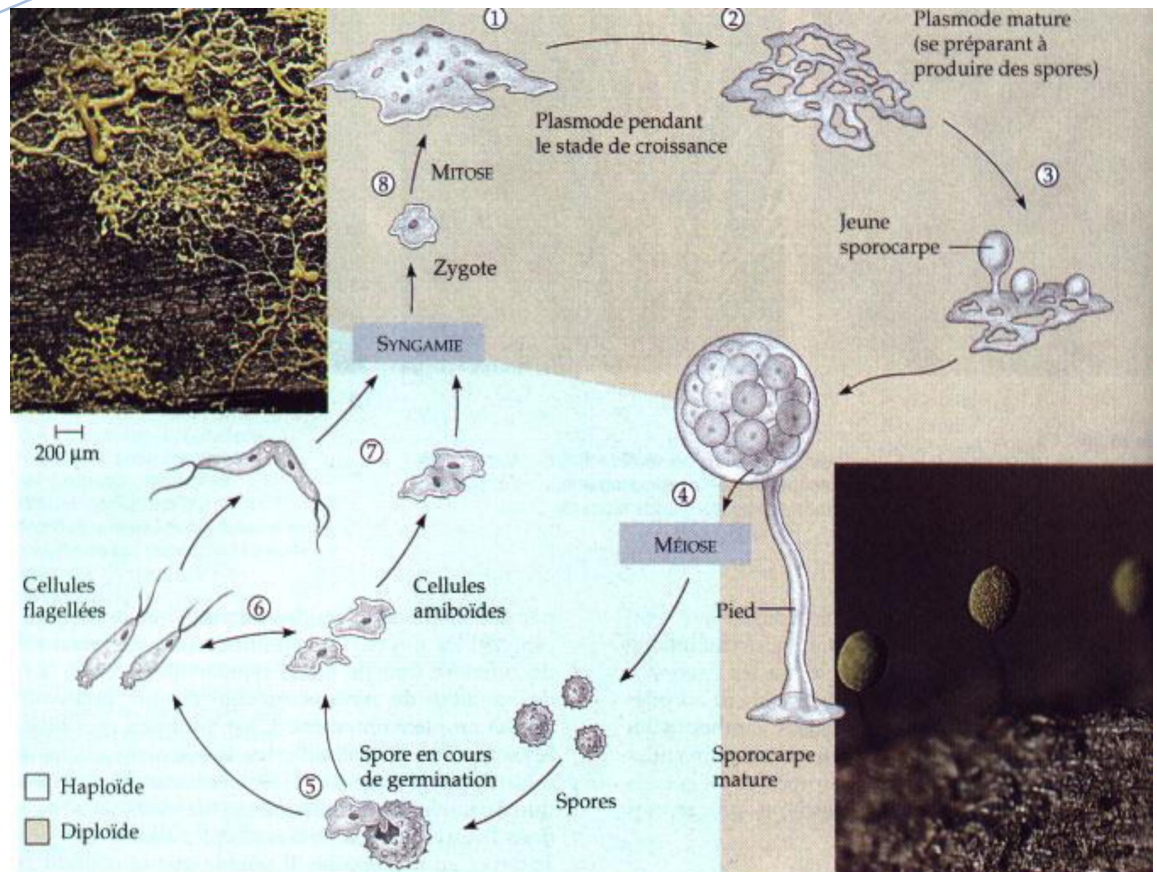


Fig. 63: Cycle vital d'une moisissure glaireuse acellulaire (myxomycètes)

1-2- Morphologie

Les levures sont des champignons unicellulaires, de forme arrondies, ovale ou même triangulaire. Alors que les moisissures sont pluricellulaires et parfois coénocytiques.

Les levures ne forment pas de mycélium et sont souvent associées en agrégats. Les moisissures sont des champignons filamenteux de forme mycélienne.

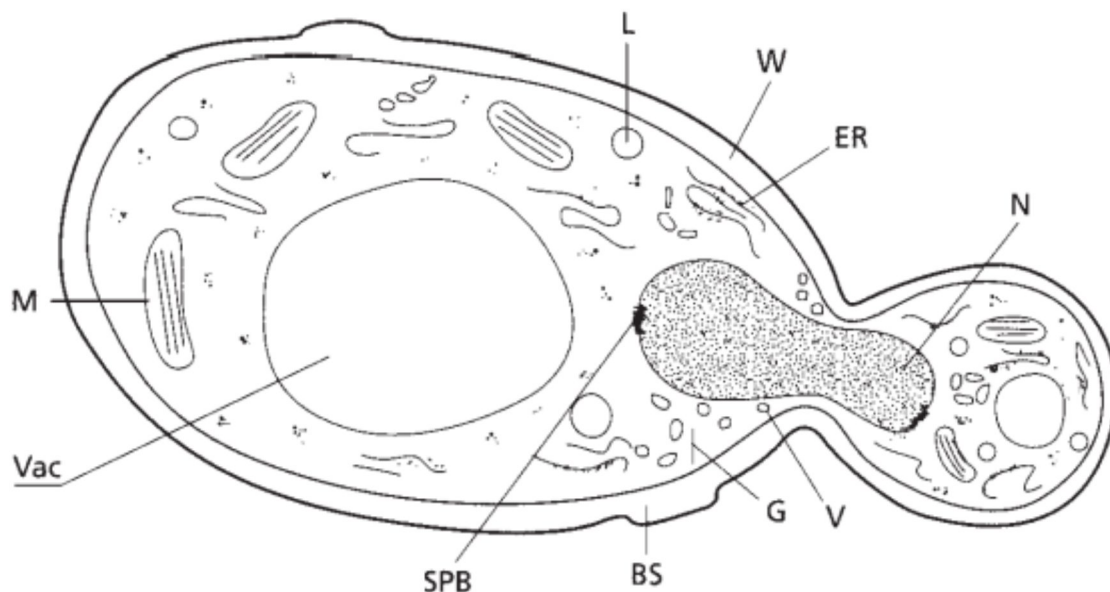


Fig. 64: Schéma d'une Levure bourgeonnante

M : mitochondrie, Vac : vacuole, L : corps lipidiques, BS : cicatrice de bourgeonnement, ER : réticulum endoplasmique, N : noyau, W : paroi, G : Golgi, V : visicule.

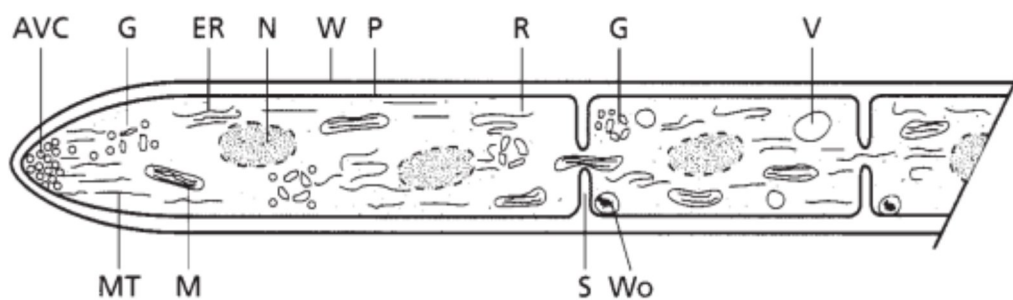


Fig. 65: Schéma d'un hyphes de champignons

AVC : vésicule apicale, G : golgi, N : noyau, W : paroi, ER : réticulum endoplasmique, P : membrane plasmique, R : polysomes, V : vacuole, S : septum, Wo : corps de Woronin (de nature protéique).

Certains champignons sont dimorphiques et qui selon les conditions du milieu peuvent être sous forme de levure ou de moisissure (mycélium). Ce sont souvent des

champignons très pathogènes, comme *Histoplasma capsulatum*. *In vitro* il est sous forme mycélienne, alors qu'*in vivo* il est sous forme de levure.

Les moisissures se présentent sous la forme de filaments enchevêtrés et ramifiés tel que les branches d'un arbre. Ces filaments sont appelés **hyphes**.

L'ensemble des hyphes d'un mycélium constitue **un thalle**. **D'où le nom de thallophytes**.

L'hyphe constitue la base du mycélium et se présente sous la forme d'une paroi cellulaire entourant le cytoplasme et ses inclusions.

On distingue **les thalles siphonnés**, donc pas de cloisons (Champignons inférieurs coénocytiques) et **les thalles cloisonnés** par une septation transversale de la paroi (champignons supérieurs).

Il faut noter que les septums restent perforés pour permettre la communication entre les différents compartiments de l'hyphe. Si l'hyphe est blessé, **les corps de Wonorin** bouchent les septums pour protéger le contenu cytoplasmique.

1-3- Reproduction

- Les levures sont **unicellulaires** et se reproduisent **par bourgeonnement** mais également **par fission binaire** ou **scissiparité** comme *Schizosaccharomyces pompe*.
- **Leur cycle vital** peut se faire **par reproduction sexuée ou asexuée**. Dans la reproduction sexuée, **les spores** présentent des différences notables en termes de forme, taille et autres caractéristiques, **spécifiques de l'espèce**.
- La reproduction des champignons est complexe, reflétant ainsi l'hétérogénéité de leur mode de vie. Elle peut être sexuée ou asexuée, bien que certains champignons alternent entre les deux types de reproduction.
- La reproduction la plus répandue se fait sans recombinaison génétique. Les spores asexuées sont produites par une mitose suivie d'une division cellulaire. Elle peut avoir lieu par fragmentation du mycélium (**arthrospore**), par bourgeonnement d'une cellule mère végétative (**blastospores**), si elles sont enveloppées, elles sont dites **chlamydospores**, ou à l'extrémité d'un hyphe: **conidiospores**. Elles peuvent être formées à l'intérieur d'un sporange : **sporangiospores**.

- La reproduction sexuée implique la formation de gamètes ou cellules sexuelles. Les gamètes de deux thalles fusionnent leur patrimoines génétiques et forme un nouvel individu (Oospores, **zygospores**, **ascospores**, **basidiospores**).

2- VIROLOGIE

2-1-Introduction

Le premier virus découvert est celui de la mosaïque fluide du tabac. Ivanovski démontre en 1892 qu'un extrait de feuille malade reste infectieux après filtration à travers un filtre. Les bactéries sont retenues par ces filtres, mais autre chose passe à travers le filtre. Un nouveau monde est découvert : **les agents pathogènes filtrants**. Beijerinck, en 1898, sera le premier à appeler « **virus** », l'agent causal de la mosaïque du tabac.



Fig. 66: Filtres de Chamberland en porcelaine

Les virus ont une structure composés de deux ou trois éléments. Ils ne sont pas considérés comme des organismes vivants. A l'extérieur de l'hôte, **c'est une structure acellulaire**, incapable d'effectuer le moindre métabolisme. Du point de vue médical, les virus une fois à l'intérieur de l'hôte, deviennent très actifs et ils prolifèrent comme les bactéries, les mycètes et les protozoaires. Donc, du point de vue clinique on considère qu'ils sont vivants.

Les virus ne possèdent qu'un seul type d'acides nucléiques (ADN ou ARN), renfermé dans une coque protéique. Dans la cellule hôte, ils détournent le métabolisme énergétique à leur profit pour synthétiser de nouveaux virions.

Du point de vue thérapeutique, vu que le virus n'ont pas ou très peu, d'enzymes spécifiques, les traitements antiviraux sont également toxiques pou l'homme et l'animal.

2-2- La spécificité ou spectre d'hôtes cellulaires

C'est l'ensemble des cellules qu'un virus est capable d'infecter. La majorité infectent un type spécifique de cellules, voir d'une espèce particulière. **Ce concept de barrière d'espèce** est tombé avec la grippe et ses différents virus. Le virus humain H3N2 est transmissible au porc. Le virus H7N7 de la grippe aviaire (oiseaux) est transmissible également au porc. Ce dernier possède son propre virus H1N1 (grippe porcine). Des recombinaisons entre les trois virus a fait émerger de nouveaux virus très dangereux transmissibles du porc à l'homme.

2-3- La taille des virus

Elle varie de 20 nm (virus de la poliomyélite) à 1000 nm (virus d'Ebola).

La poliomyélite est une maladie qui touche les petits enfants et qui entraine une paralysie. Le virus Ebola est d'actualité (2014-2015, épidémie en Afrique). Il provoque une fièvre hémorragique, mortelle. Comme comparaison *E.coli* fait 2000 sur 1000 nm. L'épaisseur d'une membrane plasmique d'un globule rouge est de 10 nm.

Leur petite taille et leur **caractère parasite intracellulaire obligatoire**, nous fait rappeler les rickettsies et les chlamidies. Mais ces deux dernières s'en distinguent par les caractères résumés dans le tableau suivant :

Tableau 04: Comparaison entre les bactéries et les virus

Comparaison entre les virus et les bactéries			
	Bactéries		Virus
	Bactérie typique (<i>E. coli</i>)	Rickettsies /Chlamidies	
Parasite intracellulaire	Non	Oui	Oui
Membrane plasmique	Oui	Oui	Non
Scissiparité	Oui	Oui	Non
Filtrable par un filtre bactériologique	Non	Non / Oui	Oui
Renferme à la fois de l'ADN et de l'ARN	Oui	Oui	Non
Métabolisme générant de l'ATP	Oui	Oui / Non	Non
Ribosomes	Oui	Oui	Non
Sensible aux antibiotiques	Oui	Oui	Non
Sensible à l'interféron	Non	Non	Oui

2-4- Structure virale

Le virion est la particule virale complète sur le plan structural. Elle possède une capsid qui entoure un matériel génétique. Parfois cette capsid est elle-même entourée d'une enveloppe. Le virion infecte une cellule et induit la synthèse de plusieurs particules virales identiques à la particule initiale.

Il existe une classification basée sur la structure virale. Elle est basée sur **la capsid** qui entoure le matériel génétique. L'ensemble capsid plus acide nucléique forme **la nucléocapsid**.

La capsid est composée de sous unités protéiques appelées **capsomères**. C'est la plus petite unité structurale observable au microscope électronique. Selon l'assemblage des capsomères on définit les différentes formes de capsides, caractéristiques du type de virus.

➤ *Les virus polyédriques*

La capsid se présente sous la forme **d'un icosaèdre**, composé de 20 faces triangulaires et 12 sommets. Les capsomères forment un triangle équilatéral. Cette structure est observée chez la majorité des virus animaux, végétaux et bactériophages.

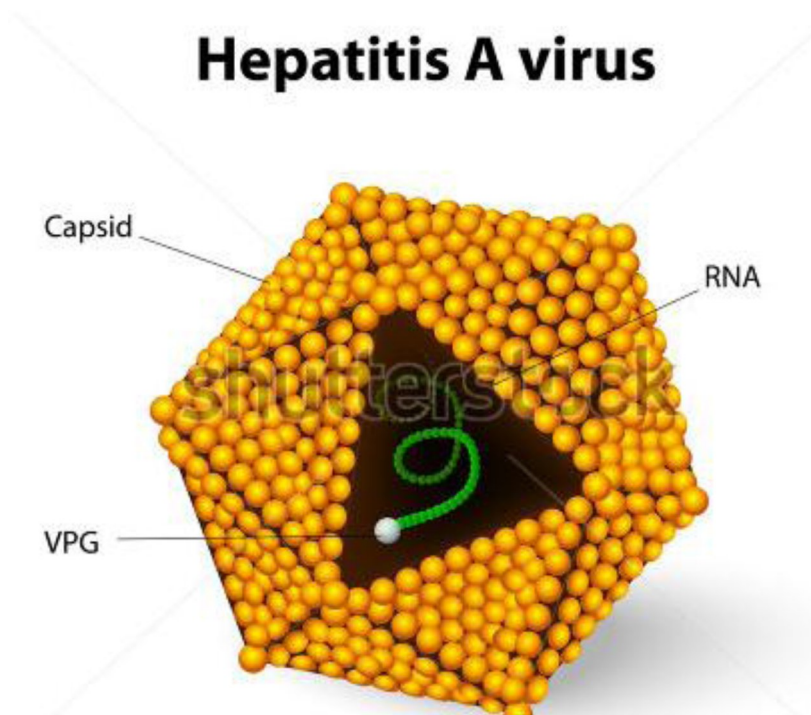


Fig. 67: Virus polyédrique à ARN, de l'hépatite A

➤ *Les virus hélicoïdaux*

Se sont des virus sous la forme d'un filament creux ou d'un cylindre. Les capsomères s'enroulent en spirale autour de l'acide nucléique. **Le virus de la mosaïque du tabac (VMT), de la rage et Ebola** ont ce type de symétrie.

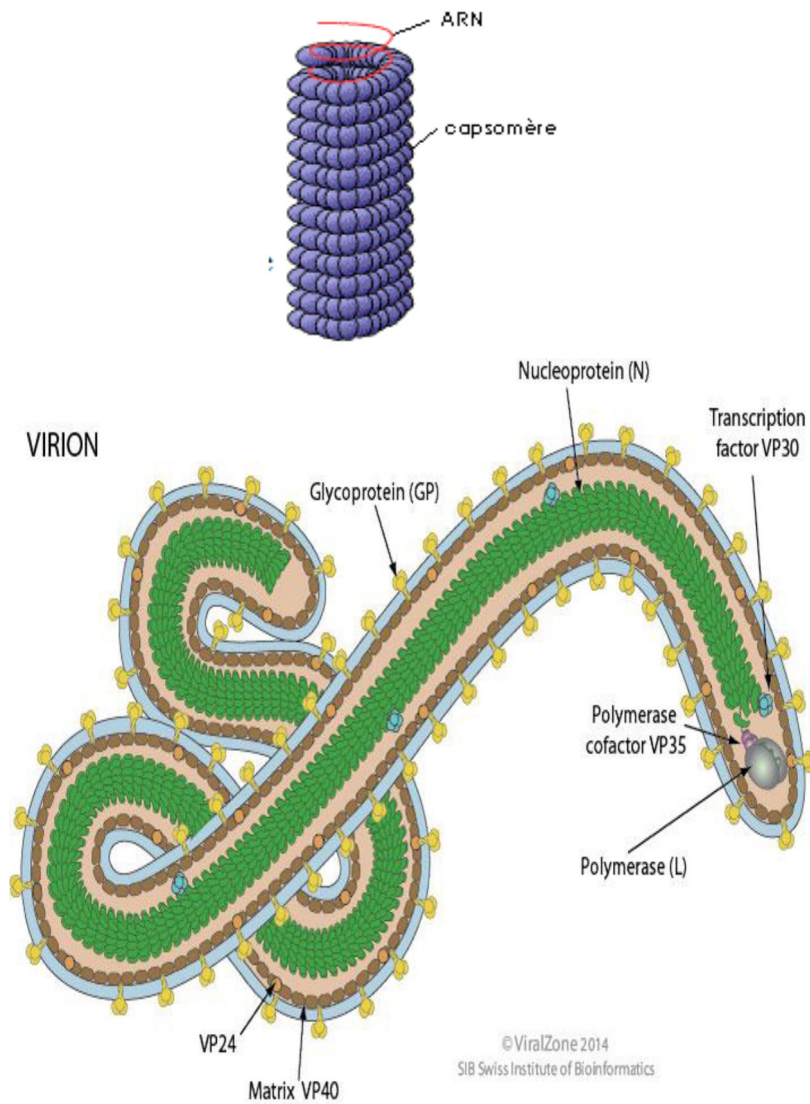


Fig. 68 : Types de virus

Virion VMT

Virion Ebola

➤ *Les virus enveloppés*

Parfois la capside est entourée d'une enveloppe. Chez les virus des animaux, cette enveloppe provient d'une portion de la membrane plasmique de la cellule hôte. Le virus y rajoute des glycoprotéines et des récepteurs viraux. Lorsque le virus possède une

enveloppe, **il est dit enveloppé**, s'il n'en a pas, **il est dit nu**. Un exemple de virus enveloppé, le virus de la grippe.

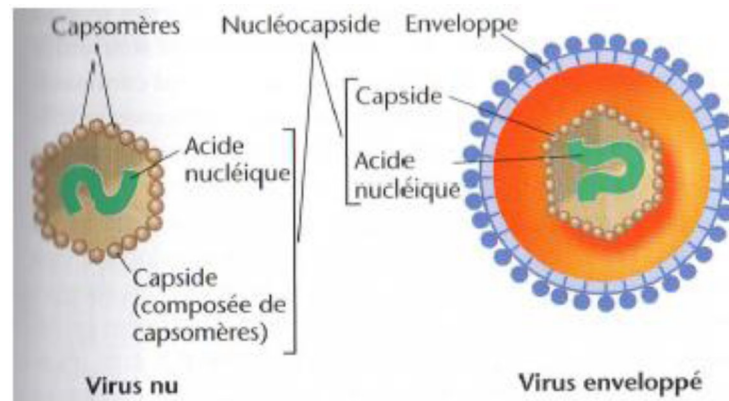


Fig. 69: Comparaison d'un virus nu et d'un virus enveloppé

➤ Les virus complexes

Retrouvé chez certains **bactériophages comme le T4 d'*E.coli***. Il possède **une tête à symétrie icosaédrique** renfermant l'acide nucléique et **une queue à symétrie hélicoïdale**.

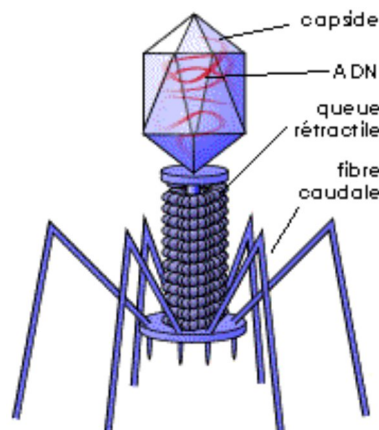


Fig. 70: Bactériophage à symétrie complexe

2-5- Différents types de virus

Les bactériophages et les virus animaux sont classés selon système de la classification de Baltimore qui se base sur le type de génome et le mode de reproduction. On distingue 07 classes de virus (classe I, II, III ...à VII).

Classe I : Génome à ADN double brin. (Bactériophages Lambda et T4 ; virus de l'herpès, poxivirus).

Une enzyme **cellulaire** transcrit l'ADN viral dans le noyau en ARNm (+) positif.

Une enzyme **virale** transcrit l'ADN viral dans le cytoplasme pour donner des virus.

Classe II : Génome à ADN simple brin. (Bactériophage Φ 174 et virus de l'anémie du poulet, *Parvoviridae*).

Une enzyme **cellulaire** transcrit l'ADN viral dans le noyau en ARNm (+) positif.

Classe VII : Génome à ADN double brin possédant une reverse transcriptase, se répliquant avec un intermédiaire à ARN. (*Hepadnavirus*, l'agent de l'hépatite B).

Une enzyme **cellulaire** transcrit l'ADN viral dans le noyau en ARNm (+) positif.. Une transcriptase inverse fabrique de l'ADN viral à partir de l'ARNm.

Classe III : Génome à ARN double brin. (Bactériophage Φ 6, *Reoviridae*, comme le rotavirus qui provoque des diarrhées chez les enfants).

L'enzyme virale copie dans le cytoplasme le brin négatif de l'ARN viral double brin, pour fabriquer ARNm (+) positif.

Classe IV : Génome à ARN simple brin à polarité positive. (Bactériophage MS2, entérovirus, poliovirus).

Le **brin positif** sert de matrice pour la synthèse de l'**enzyme ARN polymérase ARN dépendante (ARN replicase)**. Cette enzyme va servir à fabriquer des ARN négatifs complémentaire de l'ARN positif, pour ensuite les utiliser pour synthétiser de nombreux ARN positifs qui seront incorporés dans les capsides.

Classe V : Génome à ARN simple brin à polarité négative. (virus de la grippe, virus de la rage.

L'ARN viral (-) ne peut pas servir de messager. L'ARNm doit être fabriqué en premier. Les cellules de l'hôte n'ont pas cette enzyme. Donc cette enzyme doit être apportée par le virion. Elle va faire de l'ARNm qui servira pour la synthèse des protéines virales et servira également comme matrice pour la transcription des ARN à polarité négative, qui seront incorporés dans les capsides.

Classe VI : Génome à ARN simple brin se répliquant par un intermédiaire à ADN. (Rétrovirus, HIV agent du SIDA, Le Virus du Sarcome de Rous une forme de cancer).

L'ARN (+) de ce type de virus ne peut être utilisé comme ARNm. L'enzyme clé **est la transcriptase inverse** qui permet de synthétiser de l'ADN simple brin à partir de l'ARN positif du rétrovirus. Cet ADN simple brin va servir de matrice pour synthétiser un double brin qui sera intégré dans le génome de la cellule hôte. L'ADN double permettra la

transcription d'ARNm viral qui servira pour la traduction des protéines virales et l'assemblage de nouveaux virions.

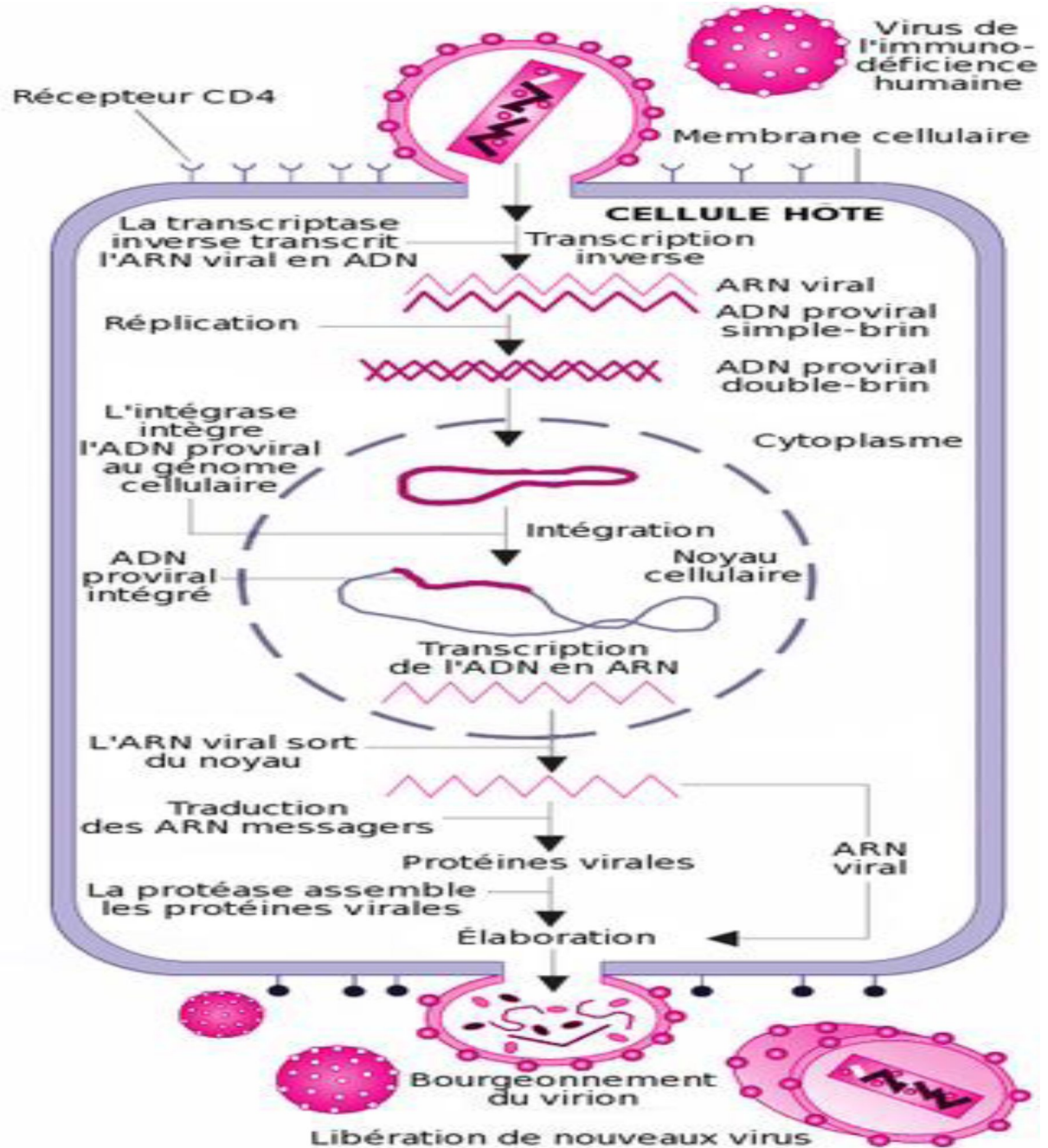


Fig. 71: Réplication du rétrovirus VIH

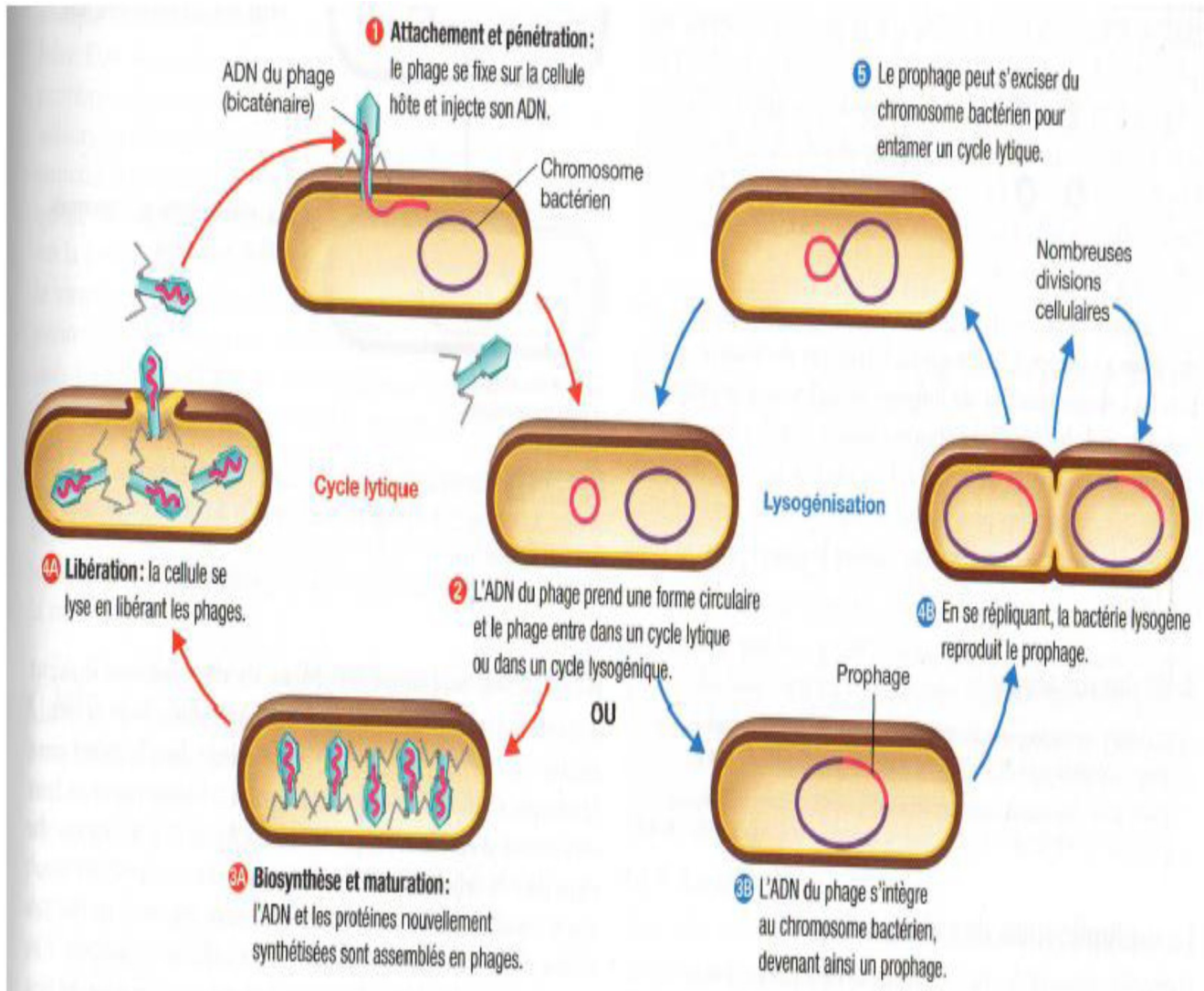


Fig. 72: Cycle lytique et lysogénique du bactériophage lambda dans *Escherichia coli*

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1- **Boulahsa A. (2017)**. Cours de Microbiologie, département des Sciences Agronomiques, université de Skikda, Algérie.
- 3- **Brock T.D. (1970)**. Biology of Microorganisms. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey.
- 4- **Burdon K.L., et Williams, R.P. (1968)**. Microbiology, the Macmillan Co., New York.
- 5- **Fasquelle R. (1970)**. Eléments de bactériologie médicale, Flammarion, Paris.
- 6- **Fasquelle R. (1971)**. Eléments de virologie médicale, Flammarion, Paris.
- 7- **Golvan Y. J. (1969)**. Eléments de parasitologie médicale, Flammarion, Paris.
- 8- **Javillier M., et al. (1972)**. Traite de biochimie générale, Tome III, fasc. III, Masson et Cie, Paris.
- 9- **Lambin S., et Germain A. (1969)**. Précis de microbiologie, Masson et Cie, Paris.
- 10- **Larpent J.P., et Larpent-Gourgaud M. (1970)**. Microbiologie pratique, Hermann, Paris.
- 11- **Leclerc H. (1969)**. Microbiologie, Doin, Deren et Cie, Paris.
- 12- **Burrows W., Moulder J.W., Lewert R.M., et Rippon J.W. (1968)**. Textbook of Microbiology, W.B. Saunders Co., Philadelphia.
- 13- **Busch A.W. (1971)**. Aerobic Biological Treatment of Waste Waters, Oligodynamics Press, Houston, Texas.
- 14- **Carpenter P .L. (1967)**. Microbiology, W. B. Saunders Co., Philadelphia.
- 15- **Cruickshank R. (1972)**. Medical Microbiology, A Guide to the Laboratory Diagnosis and Control of Infection, Churchill; Livingstone, Edinburgh et London.
- 16- **Frobisher M. (1969)**. Fundamentals of Microbiology, W. B. Saunders Co., Philadelphia.
- 17- **Frobisher M., Sommermeyer L., et Fuerst R. (1969)**. Microbiology in Health and Disease, W.B. Saunders Co., Philadelphia.

- 18-Le Guyon R. (1961).** Précis de bactériologie, G. Doin et Cie, Paris.
- 19- Lehninger A.L. (1973).** Biochimie, Flammarion, Paris.
- 20-Moustardier (1972).** Bactériologie medicale, Maloine, Paris.
- 21-Pillet P .E. (1968).** La Cellule: structure et fonctions, Masson et Cie, Paris.
- 22-Polonovski M. et al. (1972).** Biochimie medicale, Masson et Cie, Paris.
-
- 23-Prevot A. R. (1961).** Traite de systématique bactérienne, Tomes I et 11, Dunod, Paris.
- 24-Gaden E.L. (1969).** Global Impacts of Applied Microbiology, Biotechnology and Bioengineering Symposium, Interscience. Publishers, New York
- 25-Gebhardt L.P., et Anderson D.A. (1965).** Microbiology, The C.V. Mosby Co., Saint Louis.
- 26-Jawetz E., Melnick J .L. et Adelberg E.A. (1972).** Review of Medical Microbiology, Lange Medical Publications, Los Altos, California.
- 27-Lamanna C., et Mallette F. (1965).** Basic Bacteriology, The Williams & Wilkins Co., Baltimore.
- 28-Laskin A.I., et Lechevalier H.A. (1973).** Handbook of Microbiology, Press Division of Chemical Rubber Co., Cleveland.
- 29-Schapira G. (1970).** Eléments de biochimie générale, Flammarion, Paris.
- 30-Senez J .E. (1968).** Microbiologie générale, Doin, Deren et Cie, Paris.
- 31-Stanier R.Y., Doudoroff M., et Adelberg E.A. (1966).** Microbiologie générale, Masson et Cie, Paris.
- 32-Well J. H. (1972).** Biochimie générale, Masson et Cie, Paris.
- 33-Pelczar M.J., et Reid R.D. (1972).** Microbiology ,Mc Graw-Hill Book Co., New York.
- 34-Salle A.J. (1967).** Fundamental Principles of Bacteriology, McGraw-Hill Book Co., New York.
- 35-Silver I.H. (1970).** Aerobiology, Academic Press, New York et London.
- 36-Smith D.T., Conant N.F., et Overman J .R. (1964).** Microbiology, Appleton-Century Crofts, Inc., New York.
- 37-Swatek F .E. (1967).** Textbook of Microbiology, the C.V. Mosby Co., Saint Louis.

- 38- **Sykes G., et Skinner, F .A. (1971).** Microbial Aspects of Pollution, Academic Press, New York et London.
- 39- **Walter W.G., et Mc Bee R.H. (1962).** General Microbiology, D. Van Nostran Co., Inc., New York.
- 40- **YAHIAOUI B. (2015).** Cours de Microbiologie générale. Université de Sétif, Algérie.

WEBOGRAPHIE

- 41- <https://archives.uness.fr/sites/campus-unf3s-2014/microbiologie/liste-1.html>
Consulté le 10 février 2019.
- 42- <https://archives.uness.fr/sites/campus-unf3s-2014/microbiologie/polymicrobiologie.pdf> Consulté le 15 février 2019.
- 43- <https://www.biodeug.com/category/cours/courslicence1/l12-microbiologie/>
Consulté le 5 mars 2019.
- 44- <https://www.studocu.com/row/document/universite-med-cherif-messaadia-de-souk-ahras/microbiologie/microbiologie-le-monde-microbien/78099249>
Consulté le 20 janvier 2020.