

PHYSIOLOGIE

BACTERIENNE

Ôi[ã•æ &^Á c} dãā } Áæ&c.i.ã } } ^Á
G^ÁO} } ...^Á&@Eä^} c
H^ÁÔ[~ !•

La physiologie bactérienne consiste à étudier:

- La Nutrition.
- La croissance.
- Le Métabolisme des bactéries.

En fonction des variations du milieu dans lequel elles vivent.

II- NUTRITION :

Pour qu'une bactérie puisse vivre et se reproduire elle doit trouver dans son environnement de quoi satisfaire ses besoins nutritifs.

La Nutrition bactérienne étudie les besoins:

- ✓ élémentaires.
- ✓ Energétiques.
- ✓ Spécifiques.



nécessaires au fonctionnement et à la croissance de la bactérie , ainsi que des

✓ Facteurs physico-chimiques susceptibles de les influencer .

1. Besoins élémentaires:

➤ L'eau : Besoin majeur.

- Entre dans la composition de tous les milieux de culture.

- C'est une source d'**H₂** et d'**O₂**.

➤ Le Carbone: éléments constitutif le + abondant de la bactérie.

- Le plus simple des composés carbonés: **CO₂**.

- On distingue:

- ✓ Les bactéries capables de se développer en milieu inorganique contenant le CO₂ comme seule source de Carbone: **Bactéries AUTOTROPHES**.



✓ Les bactéries Exigent des composés organiques comme source de carbone (ex : polysaccharides) **bactéries HETEROTROPHES.**

➤ L'Azote: entre dans la composition des protéines bactériennes.

➤ Les éléments minéraux:

○ Phosphore: Il entre dans la composition des acides nucléiques, de nombreux coenzymes et de l'ATP.

○ Soufre: Il entre dans la composition de certains acides aminés et des protéines.

○ D'autres éléments minéraux sont apportés en plus faible quantité

○ **Na, K, Mg et Cl :** interviennent dans l'équilibre physico-chimique de la cellule:



- D'autres constituent les enzymes ou les coenzymes: **Fer des cytochromes.**
- Certains ions métalliques sont indispensables pour la synthèse d'un métabolite : ex: **le Fer pour la synthèse de la toxine diphtérique.**
- D'autres à l'état de traces, souvent apportés par l'eau «oligoéléments»: **Ca, Mn**

2. BESOINS ÉNERGÉTIQUES :

Ils couvrent les dépenses engagées dans les processus catabolisme et de biosynthèse.

- ❖ Les bactéries peuvent utiliser comme source d'énergie
- ✓ Soit l'énergie lumineuse **⇒ bactéries Phototrophes.**
- ✓ Soit l'énergie fournie par les processus d'oxydo-réduction **⇒ bactéries Chimiotrophe.**



- ❖ Les bactéries Phototrophes:
 - Si le substrat oxydable est minéral, la bactérie est dite **→ Photolithotrophe** (bactérie capable de se développer dans un milieu purement minéral)
 - ✓ Si le substrat oxydable est organique, la bactérie est dite **→ Photoorganotrophe**.

- ❖ Les bactéries Chimiotrophes utilisent des composés minéraux ou organiques comme "donneurs ou "accepteurs d'électrons".
 - ✓ Si le donneur d'électrons est un **corps minéral**, la bactérie est dite **Chimiolithotrophe**.
 - ✓ Si le composé est **organique**, la bactérie est dite **Chimioorganotrophe** (bactéries pathogènes d'intérêt médical, de contamination alimentaire, d'usage industriel ...)



3. SUBSTANCES SPÉCIFIQUES:

OU « FACTEURS DE CROISSANCE »

- ❖ Métabolites essentiels dont certaines bactéries ont besoin et qu'elles sont incapables de synthétiser par défaut enzymatique.
- ❖ Ca peut être des Acides aminés, des bases puriques et pyrimidiques ou des vitamines.

- Les bactéries exigeant des facteurs de croissance sont appelées → **Bactéries Auxotrophes**.

Exemples : E.coli n'exigeant aucun facteur de croissance, elle se multiplie sur milieu minimum.

- Les bactéries non exigeantes sont dites:
→ **Bactéries Prototrophes**.

Exemple : Haemophilus influenzae ne peut cultiver que sur milieu enrichi au sang.



→ Les facteurs de croissance présentent des caractères communs:

- ✓ Sont actifs à concentration infime.
- ✓ Sont étroitement spécifiques.



LES DIFFÉRENTS TYPES NUTRITIONNELS OU TROPHIQUES

Classe du besoin	Nature du besoin	Type trophique
Source d'énergie	Lumière	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	Non nécessaire	Prototrophe
	nécessaire	Auxotrophe

4. FACTEURS INFLUENÇANT LA CROISSANCE :

A/- Les facteurs physiques: les nutriments doivent être apportés à la bactérie dans les conditions d'environnement qui lui conviennent, sinon, ils peuvent l'inhiber.

1. La Température: Selon le comportement de la bactérie vis à vis de la température, on distingue:

○ Les bactéries mésophiles: T° Optimale de croissance = 20°C -40°C (Bactéries pathogènes. Exemples, bactéries des cavités naturelles..)

Les bactéries thermophiles: T° Optimale de croissance =45°C -65°C (bactéries des sources thermales) ex. Bacillus et Clostridium.

Les bactéries psychrophiles: T° Optimale de croissance = 0°C. T° de réfrigération (bactéries contaminent les



produits laitiers, les produits biologiques (sang et dérivés)..etc

ex .Pseudomonas, Acinetobacter

- Les bactéries cryophiles: T° Optimale de croissance < à 0°C (bactéries des océans et des glaciers)

2. PH :

✓ Les bactéries préfèrent un pH neutre ou légèrement alcalin (7 –7.5).

Exemples : E.coli cultive entre pH 4.4 et pH8.

✓ Solutions Tampons : Sont inclus dans les milieux de culture afin d'éviter les brusques variations de pH dues aux modifications chimiques résultant de la dégradation de substrats.



→ Les tampons phosphates sont les plus utilisés parce qu'ils:

- Permettent de garder le pH dans une large zone autour de 7.
- Ne sont pas toxiques.
- Représentent une source de phosphore.

3. La Pression Osmotique :

- ✓ Les bactéries tolèrent des variations de concentrations ioniques grâce à leur paroi.

Exemple: Staphylococcus aureus tolère une concentration de NaCl élevées : 7.5%.

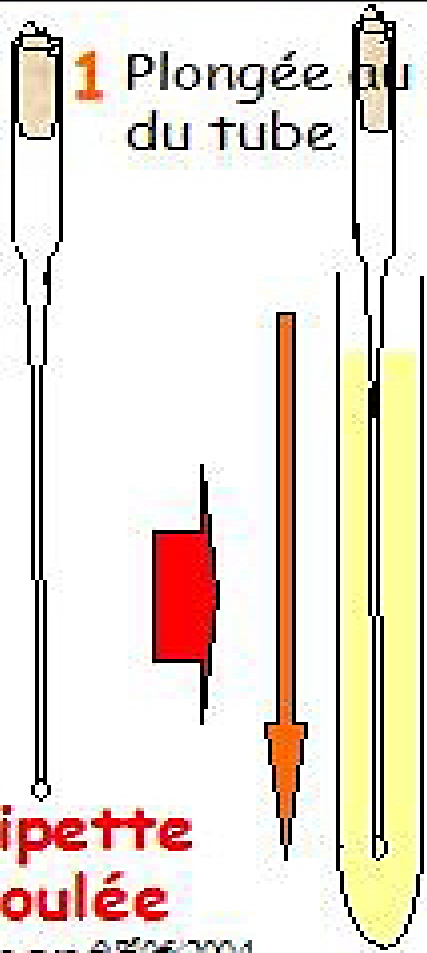
4. La Pression partielle d'Oxygène :

Etude des types respiratoires :

On utilise le milieu viande-foie (VF) régénéré et coulé en tube profond.

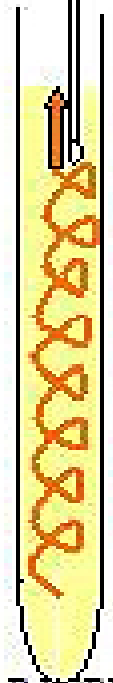


1 Plongée au fond du tube



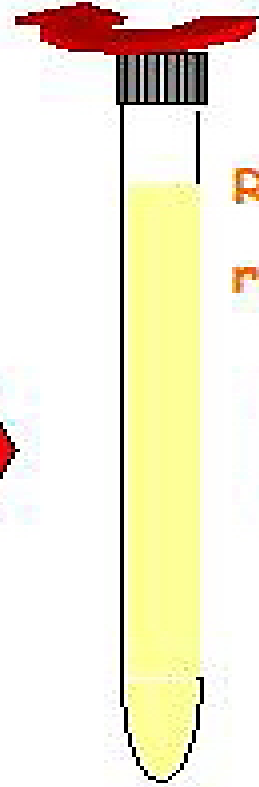
**Pipette
boulée
chargée**

2 Remontée en spirale



R.FERRY (c)1998-2004 déposé [v]

Bouchon à bloquer



**Refroidir
rapidement**

10

- Les bactéries aérobies ont obligatoirement besoin d'oxygène libre lors de leur métabolisme énergétique (utilisent l'oxygène moléculaire comme accepteur final d'électrons).

ex : *Pseudomonas aeruginosa*

- Les bactéries anaérobies ne peuvent se multiplier et survivre qu'en l'absence d'oxygène (O₂ toxique).

ex: *Clostridium botulinum*.

Les bactéries aéro-anaérobies peuvent croître aussi bien en présence qu'en absence d'oxygène.

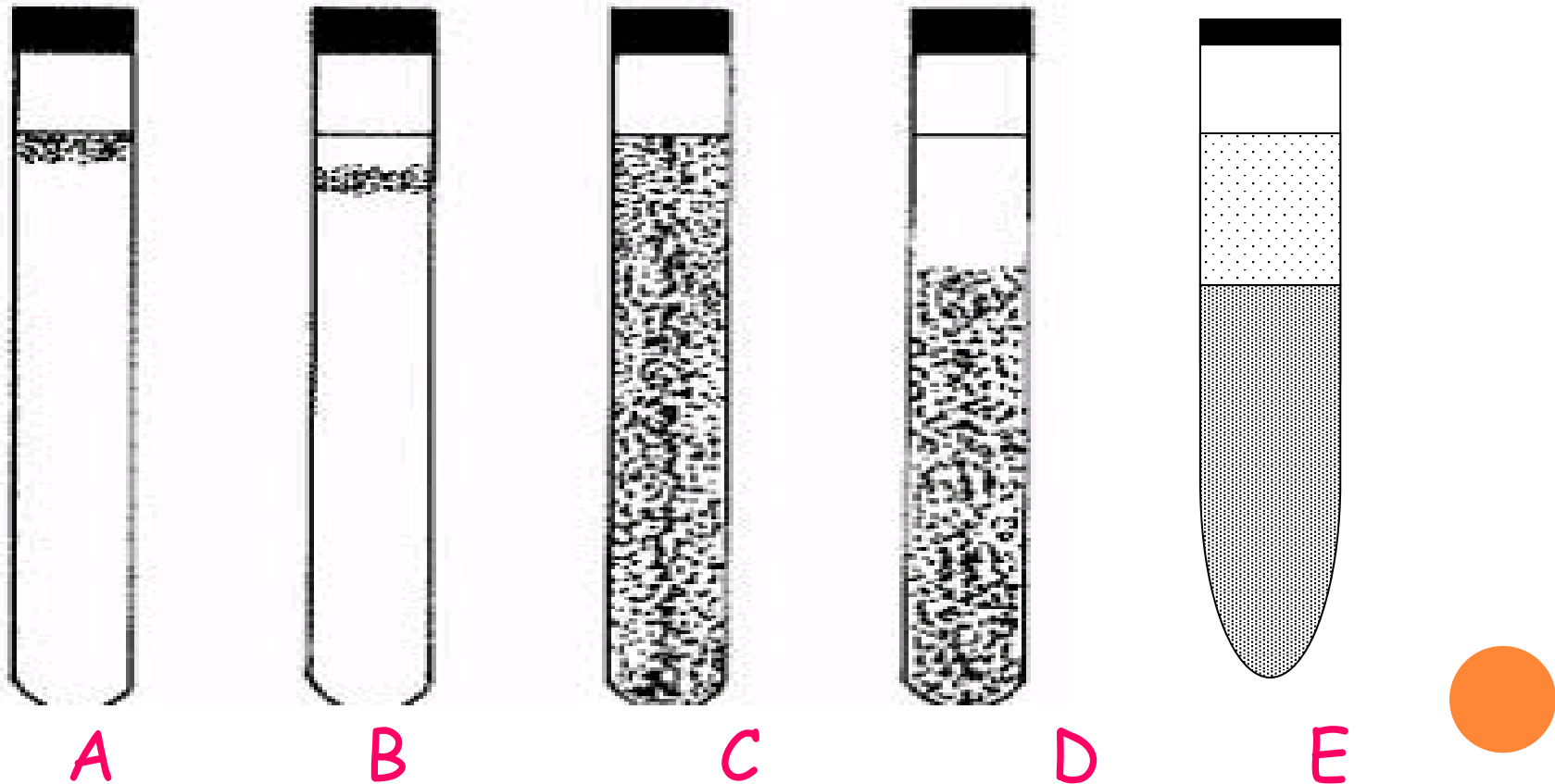
ex. les Entérobactéries

- Les bactéries anaérobies-aérotolérantes tolèrent l'oxygène mais leur croissance est meilleure en anaérobiose. ex: *Streptocoque*.

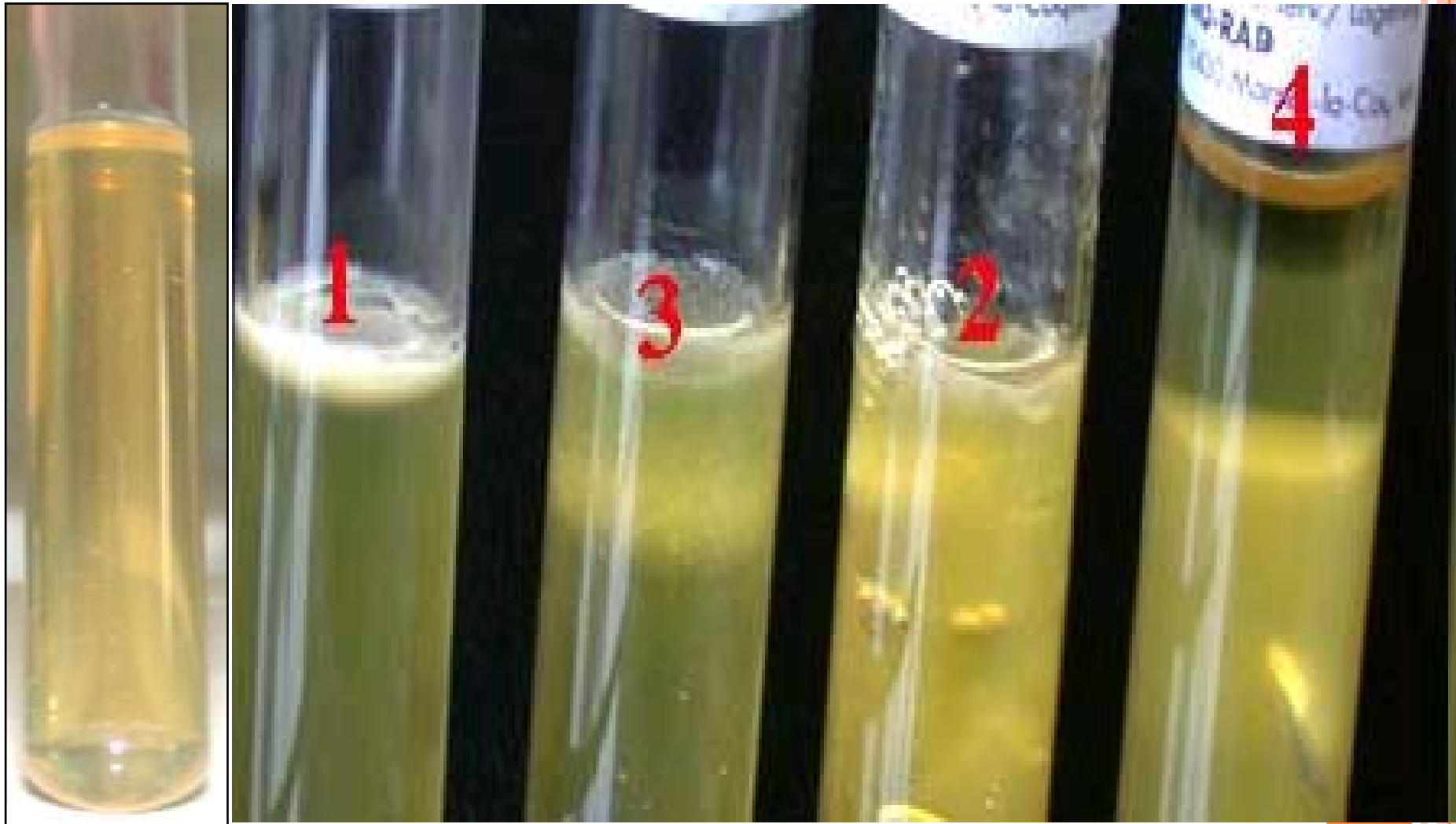


- Les bactéries micro-aérophiles ont besoin d'une faible tension d'oxygène, elles ne supportent pas une tension en oxygène équivalente à celle de l'air. ex: *Campylobacter jejuni*.

TYPES RESPIRATOIRES



TYPES RESPIRATOIRES



5. MILIEUX DE CULTURE

- ❖ Connaissant l'ensemble des besoins nutritifs de la bactérie, des milieux de culture ont été mis au point, afin d'isoler et d'identifier les bactéries pathogènes.
- ❖ Ces milieux de culture doivent donc apporter à la bactérie un mélange équilibré de tous les nutriments nécessaires, à des concentrations qui permettent une croissance optimale, c'est à dire:
 - ✓ Ni trop faible, sinon le milieu s'appauvrit vite et la bactérie cultive mal.
 - ✓ Ni trop forte sinon le milieu devient vite toxique.
- ❖ Les milieux de culture peuvent être : naturels, complexes, semi-synthétique ou synthétiques.
- ❖ Ils sont classés selon leur :

1- Consistance : Le 1/2 peut être liquide ou solidifié par addition d'Agar (substance extraite d'algues marines et qui possède la propriété de fixer une grande quantité d'eau d'où gélification). On a les:

- milieux liquides (ex. bouillon de Clark Lubs)
- milieux solides ou gélosés par addition d'agar (ex. gélose Chapman)
- milieux semi-liquides ou faiblement gélosés (ex. milieu Mannitol-mobilité).

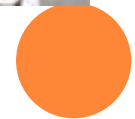


2- Utilisation : en

- les milieux usuels ou de base (ex. gélose nutritive, bouillon nutritif)
- les milieux enrichis (ex. gélose au sang, Bouillon pour Hémoculture)
- les milieux sélectifs (ex. gélose Hektoen)
- les milieux d'identification (ex. milieu TSI)
- les milieux de conservation.
- les milieux de transport (milieu T.G.V.)



GÉLOSE NUTRITIVE



MILIEU HEKTOEN

MILIEU SELECTIF POUR ENTEROBACTERIES



MILIEU AVANT
UTILISATION



MILIEU APRES
UTILISATION



GÉLOSE AU SANG



BOUILLON D'HÉMOCULTURE



MILIEU D'IDENTIFICATION « TSI »



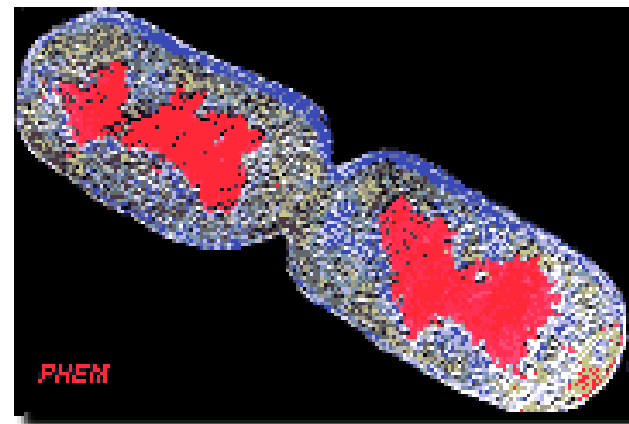
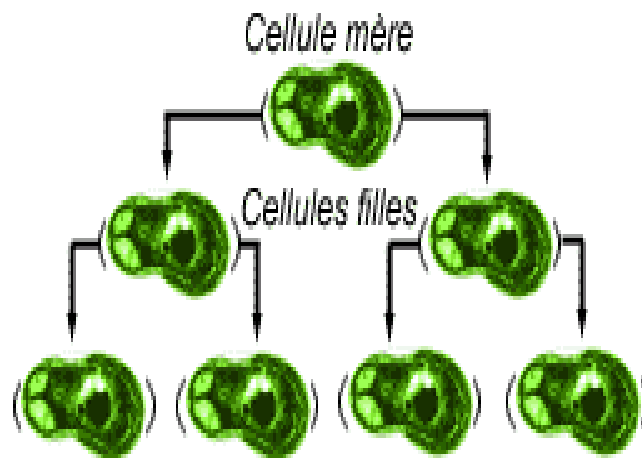
MILIEUX DE TRANSPORT



II- CROISSANCE BACTERIENNE

Accroissement ordonné de tous les composants de la bactérie.

- ✓ Se manifeste par une augmentation numérique des cellules bactériennes et non pas une augmentation de taille comme chez les organismes supérieurs (homme, animal, plante).
- ✓ La multiplication d'une bactérie, donne naissance par scissiparité, à 2 nouvelles bactéries identiques.



- ❖ On définit le Temps de génération « **TG** » comme le temps requis pour un dédoublement du nombre de bactéries. ex. E.coli: TG= 20mn, M.tuberculosis: TG= 20 h.

TG = t (temps connu) / n (nombre de division)

- ❖ On définit le Taux de croissance « **μ** » comme le nombre de divisions par unité de temps (ex. 3 pour E.coli). **μ = n / t (1h)**

- ❖ Au cours de la croissance, le milieu s'appauvrit en éléments nutritifs disponibles et s'enrichit en produits du catabolisme, souvent toxique.

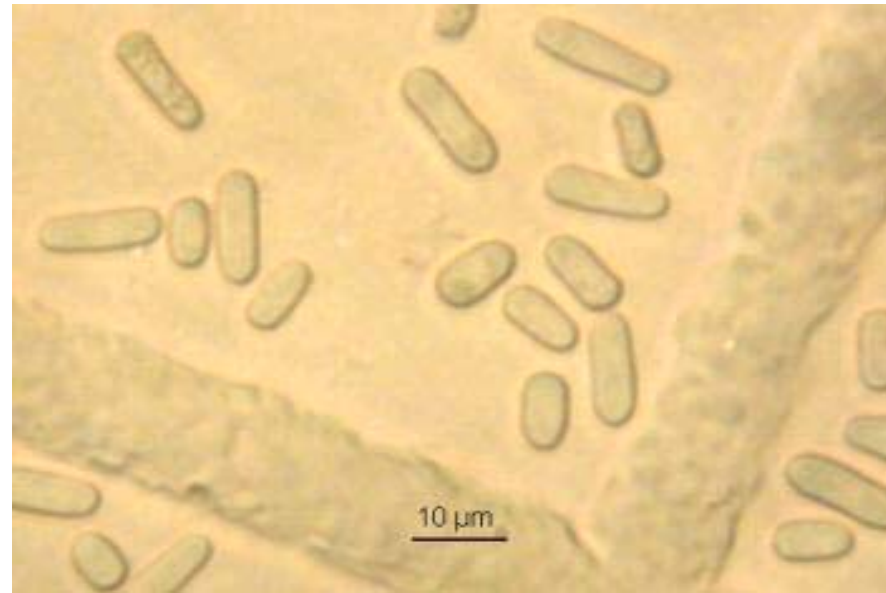
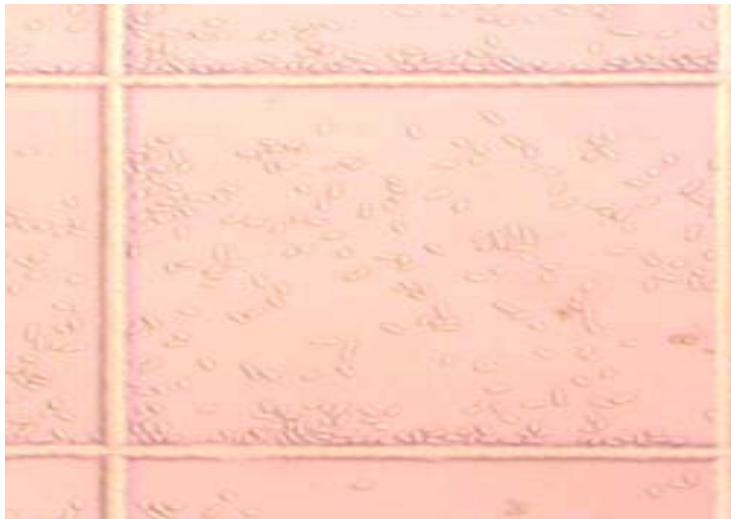


1- TECHNIQUES DE MESURE DE LA CROISSANCE BACTÉRIENNE :

a-Dénombrement direct des bactéries:

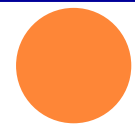
1-Numération totale:

- Examen au microscope à l'aide d'une cellule hématicimétrique.

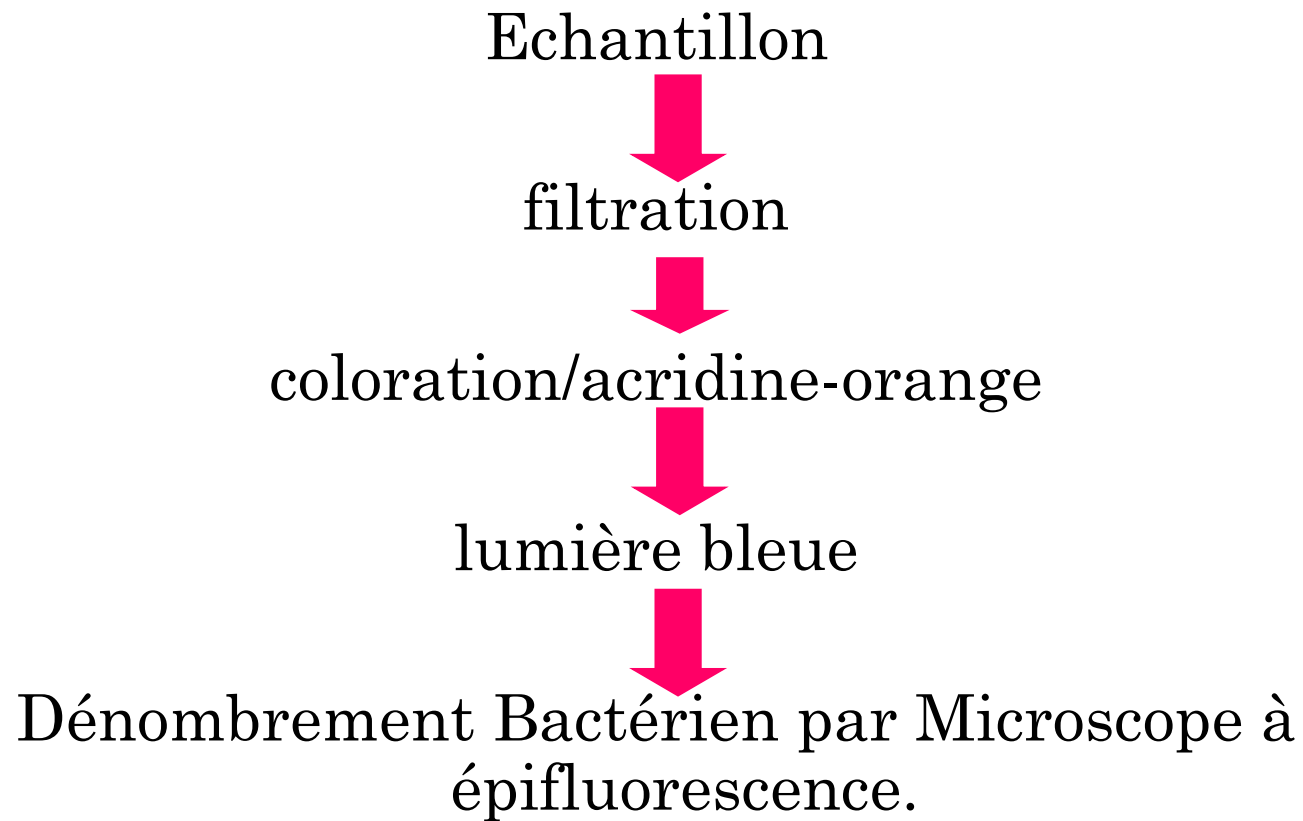


- Mesure automatisée avec un compteur de particules.

COMPTEUR DE PARTICULES



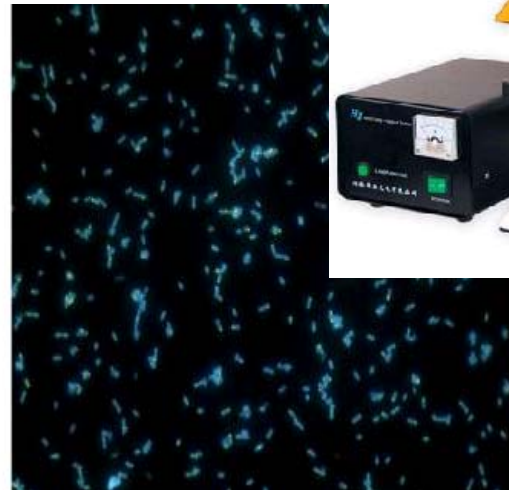
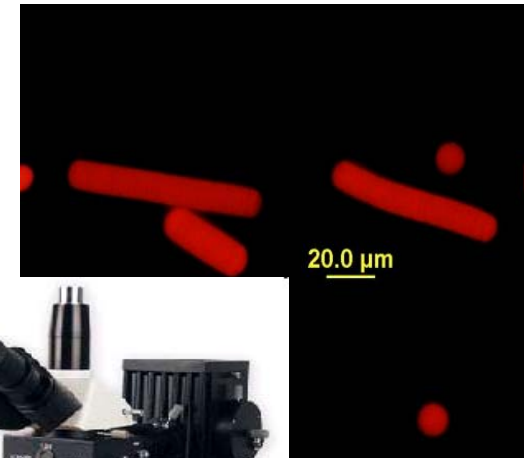
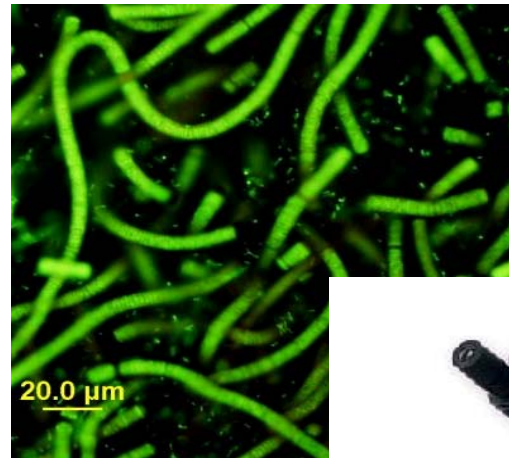
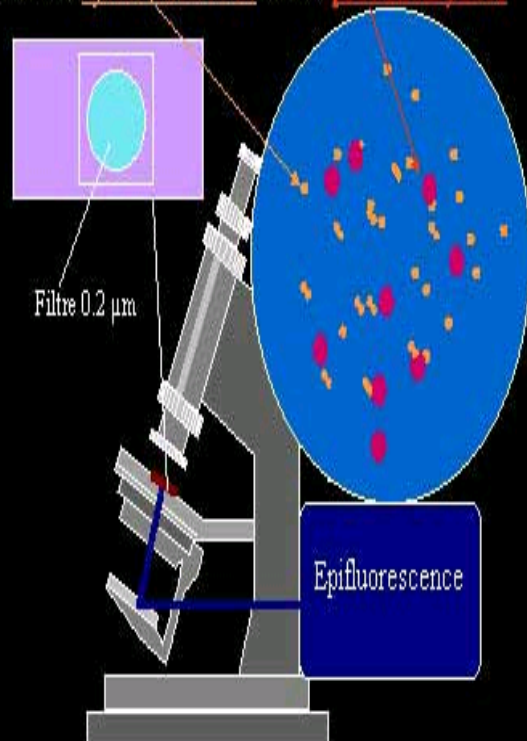
- Méthode d'épi fluorescence :



EPIFLUORESCENCE

Microscope en épifluorescence

On n'observe pas les *Prochlorococcus* mais on peut dénombrer les *Synechococcus* et les picoeucaryotes

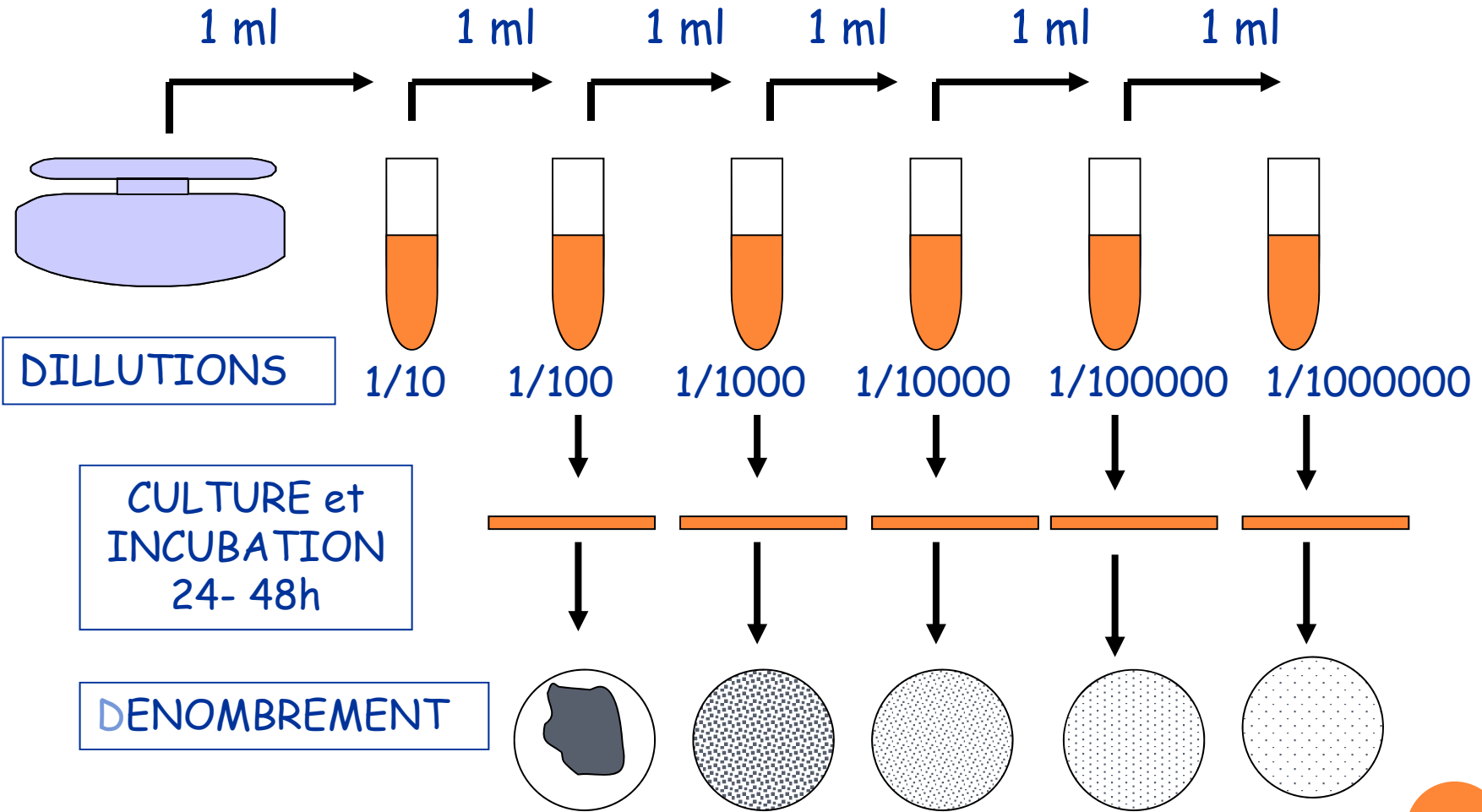


2-Numération des cellules viables:

- Les bactéries cultivables forment des colonies sur un milieu de culture approprié.
- On compte les colonies apparues sur un milieu gélosé inoculé avec un volume connu d'une suspension bactérienne.
- Chacune de ces colonies est supposée dérivée d'une seule bactérie appelée :unité formant colonie « **UFC** »



NUMÉRATION DES CELLULES VIABLES



COMPTEUR DE COLONIES



b-Mesure de la biomasse:

a /1-détermination du poids sec:

Technique longue et délicate.

Microorganisme récolté par Centrifugation ou par
filtration sur membrane



Lavage



culot desséché



Poids sec.



a/2-Mesure de la Densité optique (DO): On évalue la DO du milieu de croissance en fonction du temps, à une longueur d'onde donnée.



c-Marqueurs chimiques: Dosage des protéines, DNA, ATP, peptidoglycane.



2- CINÉTIQUE DE LA CROISSANCE BACTÉRIENNE :

L'étude de la croissance bactérienne dans le temps peut être représentée sur un graphique en portant:

- * En ordonnée, les valeurs des **logs de la D.O du milieu de culture.**
 - * En abscisse, **le temps (en heures).**
 - La courbe de croissance obtenue montre alors **5 phases:**
 - ✓ **Phase A:** Phase de latence (Accoutumance des bactéries à leur environnement, synthèse des premières enzymes)
- Elle dépend de la nature du milieu de culture et de la taille et la nature de l'inoculum.



✓ Le temps de latence est long dans un 1/2 minimal synthétique inoculé avec des bactéries provenant d'un milieu riche contenant de nombreux composés organique (il correspond au temps nécessaire à la bactérie pour la synthèse d'enzymes supplémentaires nécessaires à la biosynthèse)

✓ Phase B: Phase de croissance exponentielle : Le taux de croissance est constant, il atteint la valeur maximale.

Il est influencé par la T°, le PH, la nature et la [] des aliments.

✓ Phase C: Phase de ralentissement (épuisement du 1/2 de culture et accumulation des déchets)

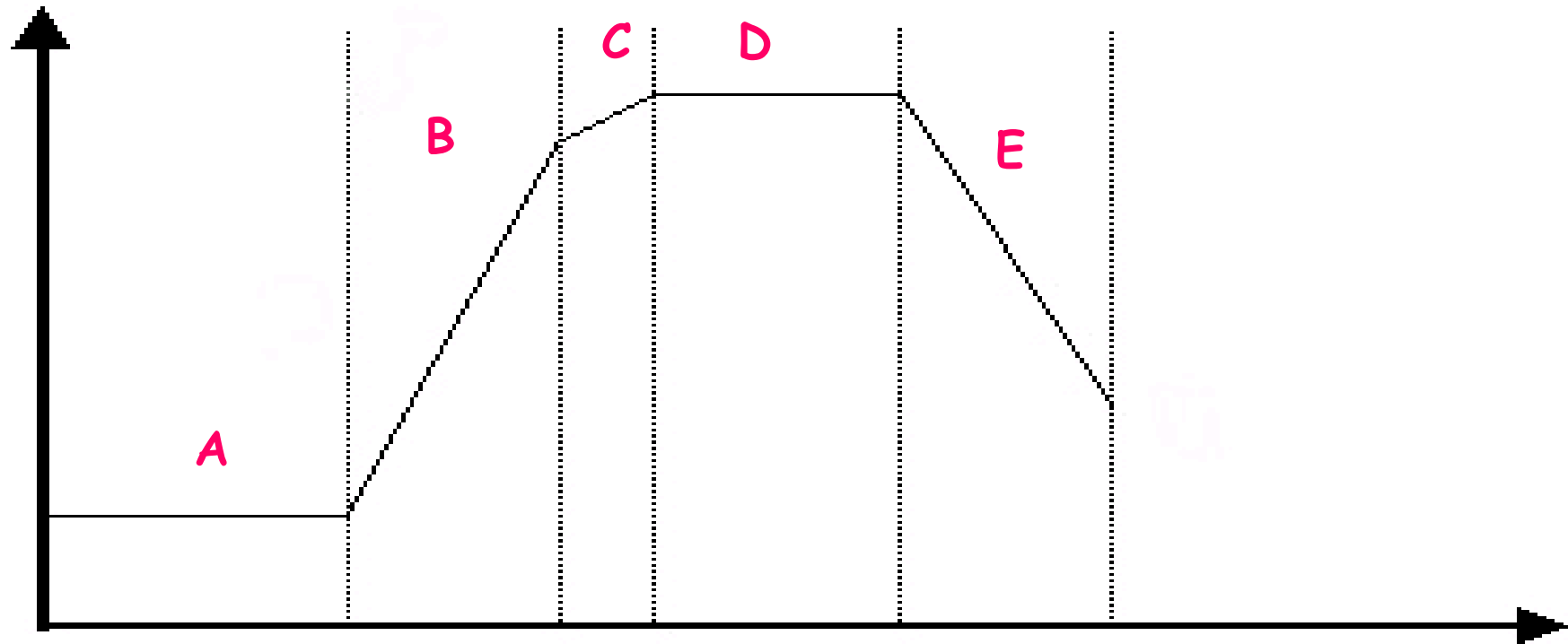
✓ Phase D: Phase stationnaire: masse bactérienne maximale (les bactéries vivent sur leurs réserves) sa durée est variable souvent courte en 1/2 synthétique.

✓ Phase E: Phase de déclin: La masse bactérienne décroît du fait de la lyse des bactéries.



COURBE DE CROISSANCE BACTERIENNE

Log de la D0



Temps (h)



3- MODIFICATIONS DE LA COURBE DE CROISSANCE :

a-Croissance continue:

- ❖ Dans un milieu non renouvelé, la phase exponentielle de croissance ne peut durer que quelques heures.
- ❖ Dans un but industriel (préparation de vaccins, d'anatoxines, vitamines...etc) il peut être nécessaire de prolonger cette phase en renouvelant constamment le milieu de culture et en éliminant le produits du métabolisme(déchets).

b- La diauxie: Se traduit par une courbe de croissance diphasique.

- ❖ on fournit à la bactérie 2 sources de carbone et d'énergie.



Exemple : Milieu contenant du glucose et du lactose.

- ❖ La bactérie utilise le glucose en premier, lorsqu'il sera épuisé et après un certain temps de latence, les enzymes nécessaires à la dégradation du lactose seront mises en jeux.

une courbe de croissance diphasique

