

CROISSANCE BACTERIENNE

PLAN :

I- Définition

II -Mesure de la croissance

1. Techniques directes :

1.1 Dénombrement direct des bactéries

1.2 Mesure automatique

1.3 Méthode d'épifluorescence

1.4 Dénombrement des bactéries par la méthode de dilution

1.5 Détermination du poids sec

1.6 Mesure du trouble

2. Mesures indirectes :

2.1 Réactions de bioluminescences

2.2 Autres marqueurs indirects

III. Paramètres de la croissance

1. Taux de division ou taux de croissance

2. Temps de génération

IV. Courbe de croissance :

1. Phase de latence :

2. Phase exponentielle :

3. Phase maximale stationnaire :

4. Phase de déclin :

V. Autres modes de croissance

1. La diauxie

2. Croissance synchrone :

3. Croissance continue :

I- Définition : La croissance se définit comme l'accroissement ordonné de tous les composants d'un organisme. Chez les bactéries elle conduit à une augmentation du nombre d'individu. Toutes les 30 minutes environ, E. Coli donne naissance, par division à deux nouvelles bactéries

II -Mesure de la croissance : Les techniques de mesure de la croissance peuvent être directes, basées sur l'évaluation du nombre de microbes ou de leur masse par unité de volume ou de poids du milieu ; Ou indirectes fondées sur la mesure d'un paramètre lié à l'activité métabolique.

1. Techniques directes :

1.1 Dénombrement direct des bactéries. La méthode la plus simple est la lecture au microscope à l'aide d'une cellule quadrillée (hématimètre) .cette technique est moins sensible.

1.2 Mesure automatique (compteur de particules).Le dispositif de mesure est constitué par un tube cylindrique percé d'un orifice de part et d'autre duquel sont disposées deux électrodes, reliées à un générateur de courant électrique. Lorsqu'une cellule traverse l'orifice, elle déplace un volume de solution conductrice égal à son propre volume et produit une augmentation de la résistance, laquelle se traduit au dessus d'un certain seuil par une impulsion qui est enregistré par un compteur électronique. L'inconvénient de la méthode est de compter indistinctement cellules ou particules de même taille

1.3 Méthode d'épifluorescence. Les bactéries sont colorées par un fluorochrome comme par exemple l'acridine orange et observées au microscope à fluorescence.

1.4 Dénombrement des bactéries par la méthode de dilution.Un volume fixe de la suspension ou de la dilution est étalé à la surface d'un milieu gélosé ou incorporé au milieu avant sa solidification. Après incubation à une température convenable, le nombre de colonies apparues correspond au nombre de bactéries présentes dans le volume analysé de la suspension. Les résultats sont exprimés en unité formant une colonie (UFC).

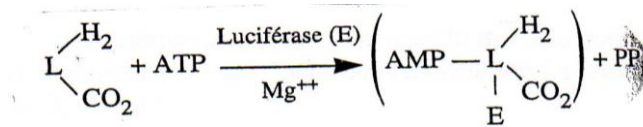
1.5 Détermination du poids sec. Les bactéries du culot de centrifugation sont lavées, séchées et pesées. Le résultat est exprimé en gramme de matières sèches par litre, c'est une technique délicate et particulièrement longue.

1.6 Mesure du trouble .C'est le procédé le plus simple, le plus rapide et le plus utilisé pour évaluer la masse microbienne. Il consiste à déterminer l'absorbance d'une solution qui est proportionnelle à la concentration cellulaire.

2. Mesures indirectes :

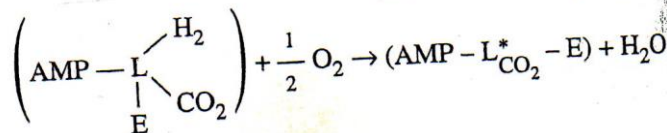
2.1 Réactions de bioluminescences. Ces réactions permettent de quantifier à l'aide du couple luciférine- luciférase selon la réaction suivante.

(1) Activation de la luciférine



(2) Oxydation de la luciférine ; la dehydroluciferine

est à l'état excité



(3) Décarboxylation de la dehydroluciferine ; Retour à l'état fondamental de la decarboxyluciferine, émission de lumière.



2.2 Autres marqueurs indirects. Tels que le dosage de la FAD, FMN, les mesures de PH, impédance et potentiel redox

111. Paramètres de la croissance. La croissance des bactéries peut être étudiée en mesurant le nombre de cellules en fonction du temps ou encore la masse que représente la population bactérienne.

Les bactéries se multiplient par division binaire, leur accroissement s'effectue selon une progression géométrique $1 \ 2^1 \ 2^2 \ 2^3 \dots\dots\dots 2^n$. Ce qui correspond à 1, 2, 4, 8, 16 cellules.

Soit :

N_0 ; Nombre de cellules par unité de volume au temps (t_0)

N ; Nombre de cellules par unité de volume au temps (t)

Au temps $t \quad N = N_0 \times 2^n$

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

Le nombre de division cellulaire (n) sera :

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

Le nombre de division par heure, appelé taux de division (V) est :

$$V = \frac{n}{t} = \frac{\text{Log } N - \text{Log } N_0}{\text{Log } 2 (t-t_0)}$$

1. Taux de division ou taux de croissance est le nombre de division par unité de temps

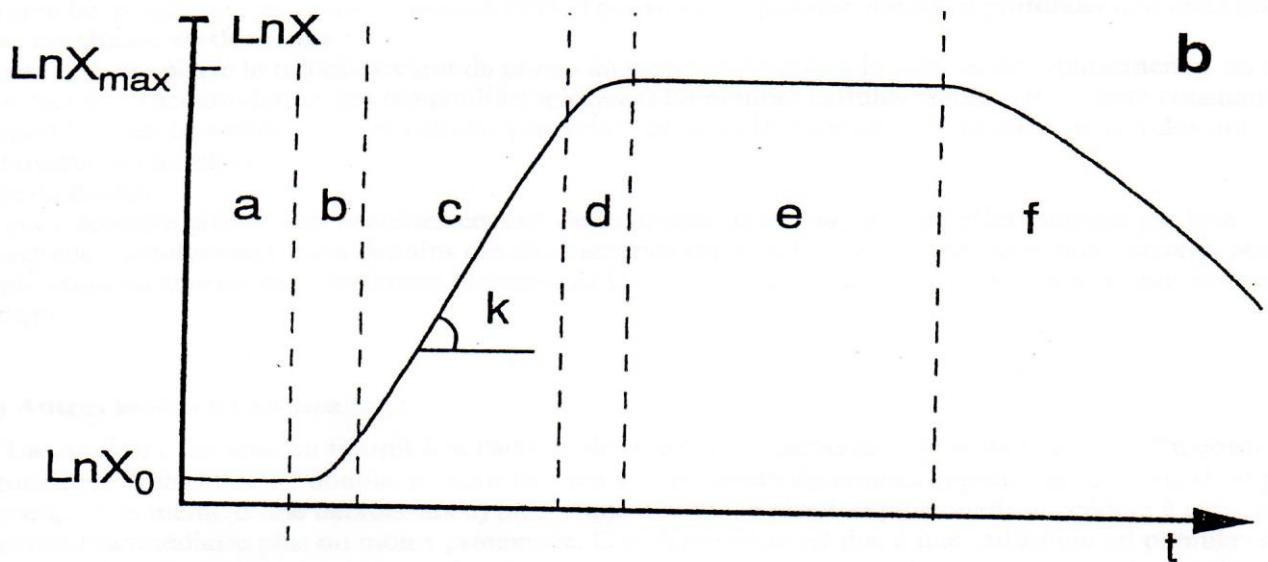
2. Temps de génération est le temps entre deux divisions successives ou celui nécessaire au doublement de la population.

$$G = \frac{t}{n} = \frac{1}{v}$$

Le temps de génération est différent selon les espèces bactériennes ; Il est d'environ 20 minutes pour *E.coli* , 80minutes pour *Lactobacillus acidophilus* et 800 minutes pour *Mycobacterium tuberculosis*. Le taux de division sera respectivement pour ces bactéries de 3,0,75 et 0,075.

IV. Courbe de croissance :

La culture de *E.coli* dans un milieu de culture liquide non renouvelé, dans les conditions optimales de croissance ; permet d'obtenir une courbe de croissance qui reflète l'évolution de la concentration cellulaire (N) ou la biomasse (X) en fonction du temps.



Courbe de croissance en coordonnées semi-logarithmiques

Phase 1 : Phase de latence avec un taux de croissance ($\mu=0$)

Phase 2 : Phase d'accélération au cours de laquelle μ s'accroît régulièrement

Phase 3: Phase de croissance exponentielle pendant laquelle μ devient constant et atteint une valeur Max

Phase 4: Phase de ralentissement avec une valeur de μ qui régresse

Phase 5: Phase maximale stationnaire au cours de laquelle la croissance s'arrête et $\mu = 0$

Phase 6: Phase de déclin avec un taux de croissance négatif ($\mu < 0$)

1.Phase de latence :

Au cours de cette phase il n'y a pas de division cellulaire. $X = \text{constant} = X_0$ (X = concentration cellulaire à t) La durée de cette phase varie en fonction de plusieurs facteurs.

→ **Age des bactéries :** Lorsque des cellules jeunes sont introduites dans un milieu neuf ; La phase de latence peut être extrêmement courte, elle est au contraire prolongée avec des bactéries provenant d'une culture en phase stationnaire ou en phase de déclin.

→ **Composition du milieu :** Des bactéries en phase exponentielle prélevées et introduites dans un milieu neuf, de composition identique se multiplient sans aucune phase de latence, en revanche si elles sontensemencées dans un milieu pauvre on observe une phase de latence, cette dernière correspond au temps nécessaire pour la bactérie de synthétiser des enzymes supplémentaires afin d'utiliser les nouveaux substrats.

2.Phase exponentielle :

C'est la phase physiologique par excellence, pendant laquelle la vitesse de division des bactéries est à son maximum. Les conditions physico-chimiques (pH, Température) peuvent modifier profondément cette phase.

3.Phase maximale stationnaire :

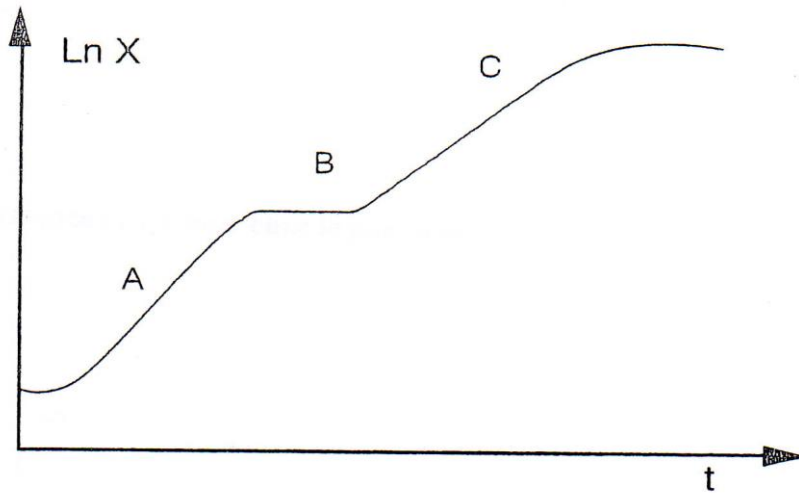
Au cours de cette phase le milieu devient de moins en moins favorable à la croissance (épuisement d'un aliment indispensable ou accumulation des métabolites toxiques). Le nombre de cellules viables (UFC) reste constant, il peut correspondre à un équilibre entre les cellules provenant de la multiplication et le nombre de cellules qui disparaissent par autolyse.

4.Phase de déclin :

Dans cette dernière phase ; Les bactéries cessent de se diviser, beaucoup d'entre elles meurent par lyse enzymatique (autolysines), dans certains cas des bactéries survivantes peuvent amorcer une nouvelle phase de multiplication au dépend des substances libérées par la lyse. Ce phénomène est connu sous le nom de croissance **cryptique**

V. Autres modes de croissance :

1.La diauxie : Lorsque on fournit à la bactérie deux substrats carbonés (aliments limitants). On observe une croissance diphasique ou double, caractérisée par une première croissance exponentielle suivie d'un plateau (quelquefois même d'une décroissance) puis d'une deuxième phase exponentielle succédant à une phase de latence intermédiaire plus ou moins prononcée. Ce phénomène est dû à une utilisation en premier du substrat A (voir figure), ce n'est que lorsque'il est épuisé totalement que la bactérie assimile le substrat B à son tour. Les enzymes qui dégradent le substrat A sont constitutifs, ceux du substrat B sont adaptatifs.



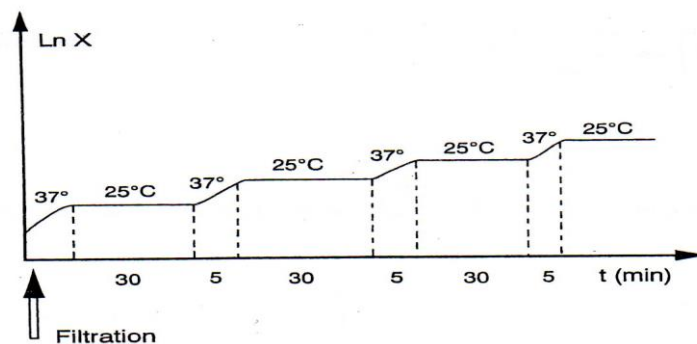
Phénomène de diauxie chez *Escherichia coli*

A : Utilisation du fructose seul ; B : Phase d'adaptation à l'arabinose ; C : Utilisation de l'arabinose

2. Croissance synchrone :

Les bactéries en phase exponentielle de croissance se multiplient à la même vitesse, mais avec un décalage dans le temps dû à une inégalité des réserves initiales des bactéries ; Cela se traduit par des temps de latence différents d'où l'asynchronisme de la croissance. Si toutes les cellules se divisaient au même instant ; La courbe de croissance montrerait des paliers successifs exprimant le doublement de la population.

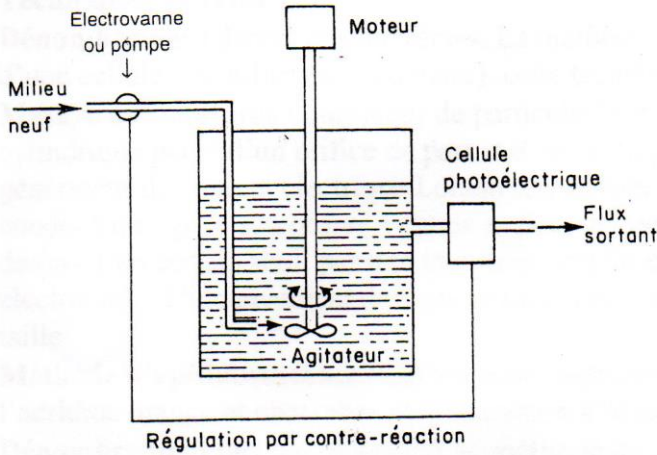
La synchronisation de la croissance peut être obtenue par différents procédés comme la filtration sélective et le choc thermique.



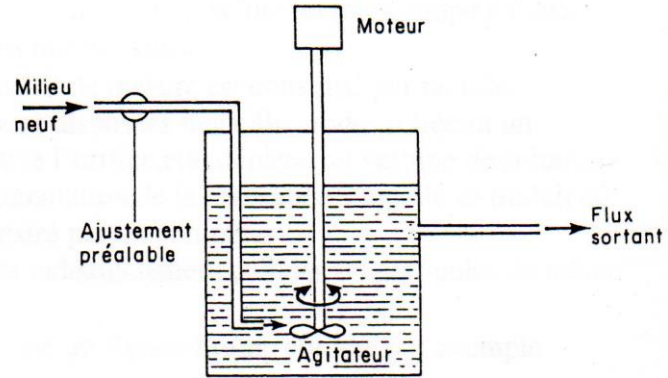
Croissance synchrone chez le pneumocoque

3. Croissance continue :

La phase exponentielle de croissance ne peut durer que quelques heures dans les conditions habituelles, en milieu non renouvelé. Si le milieu où se multiplient les bactéries est constamment renouvelé et que en même temps les produits du métabolisme sont éliminés ; Dans ces conditions il est possible de maintenir les microorganismes indéfiniment en phase exponentielle de croissance. Parmi les techniques permettant une telle croissance, on peut citer le **Turbidostat** et le **Chemostat**



Turbidostat.



Chémostat.