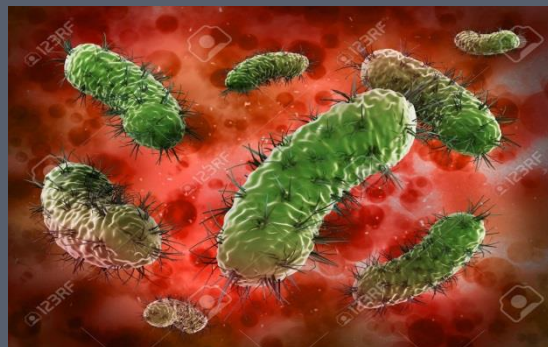




Université Mohammed Seddik Ben Yahia- Jijel  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

# COURS DE MICROBIOLOGIE

Préparés par Dr. Ouahiba BENHAMADA



## OBJECTIF DE L'ENSEIGNEMENT

- L'étudiant en 2<sup>ème</sup> année TC doit acquérir les notions du monde microbien, les techniques utilisées pour observer les microorganismes, la croissance et la classification bactérienne.



# CHAPITRE 01

## LE MONDE MICROBIEN



# *Introduction*

---

## *Microbiologie?*

*Microbiologie:* est une sous-discipline de la biologie basée sur l'étude des micro-organismes et des relations avec leur environnement. (du grec : mikros= petit ; bios = vie; logos: loi).


## *Microorganismes?*

*Microorganismes:* constitue un groupe extrêmement diversifié d'organismes microscopiques. Ils se distinguent les uns des autres par leur forme, leur taille et leur mode de vie.





# HISTORIQUE

- Robert Hook (1655) 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.
- 

## ❖ Premières descriptions de micro-organismes



« Animalcules » décrits par van Leeuwenhoek dans le tartre dentaire

Extrait de la 18<sup>ème</sup> lettre (9 octobre 1676)

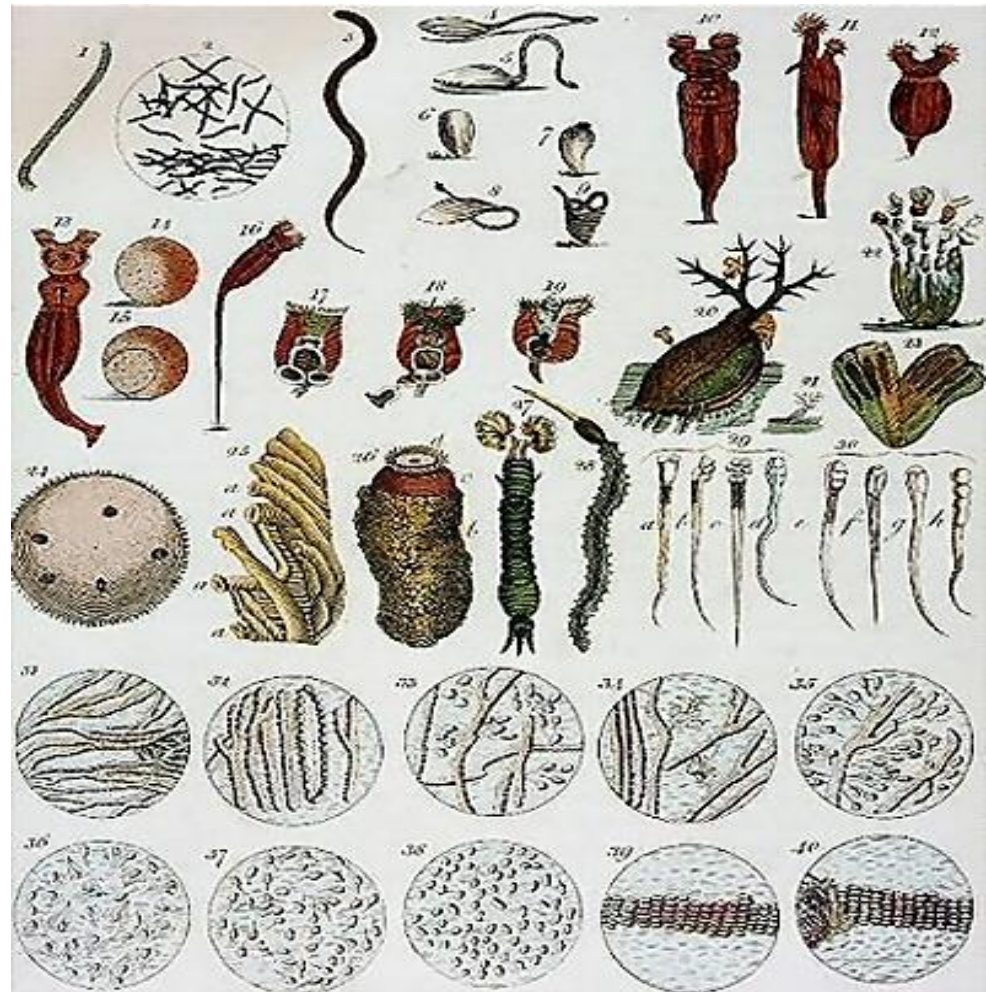
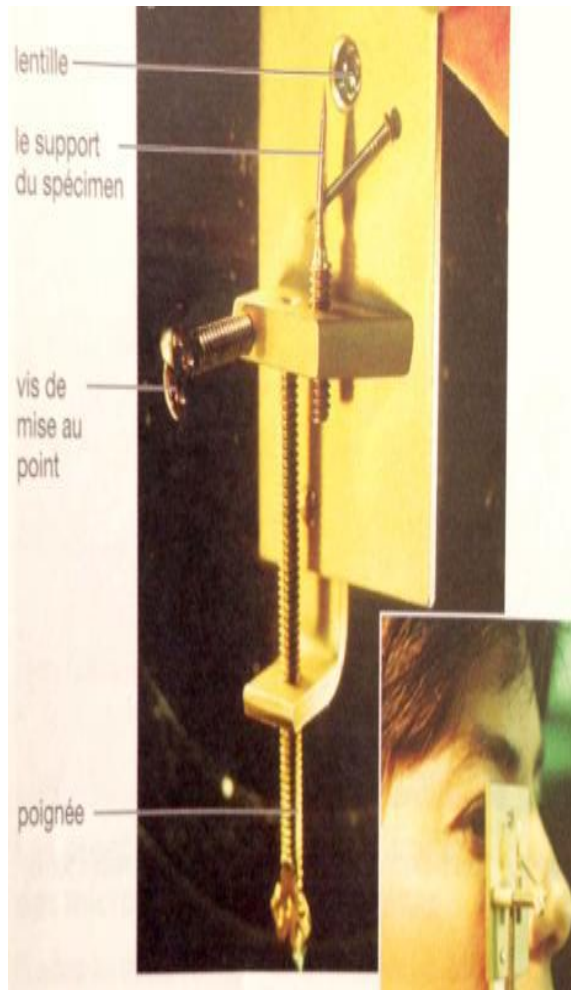
“ De vierde soort van diertgens die ick ook sag bewegen, waren soo klein, dat voor mijn geen figuer te geven sijn, dese diertgens waren als 1000 mael cleijnder als het oog van en volwassen Luijs (...)”

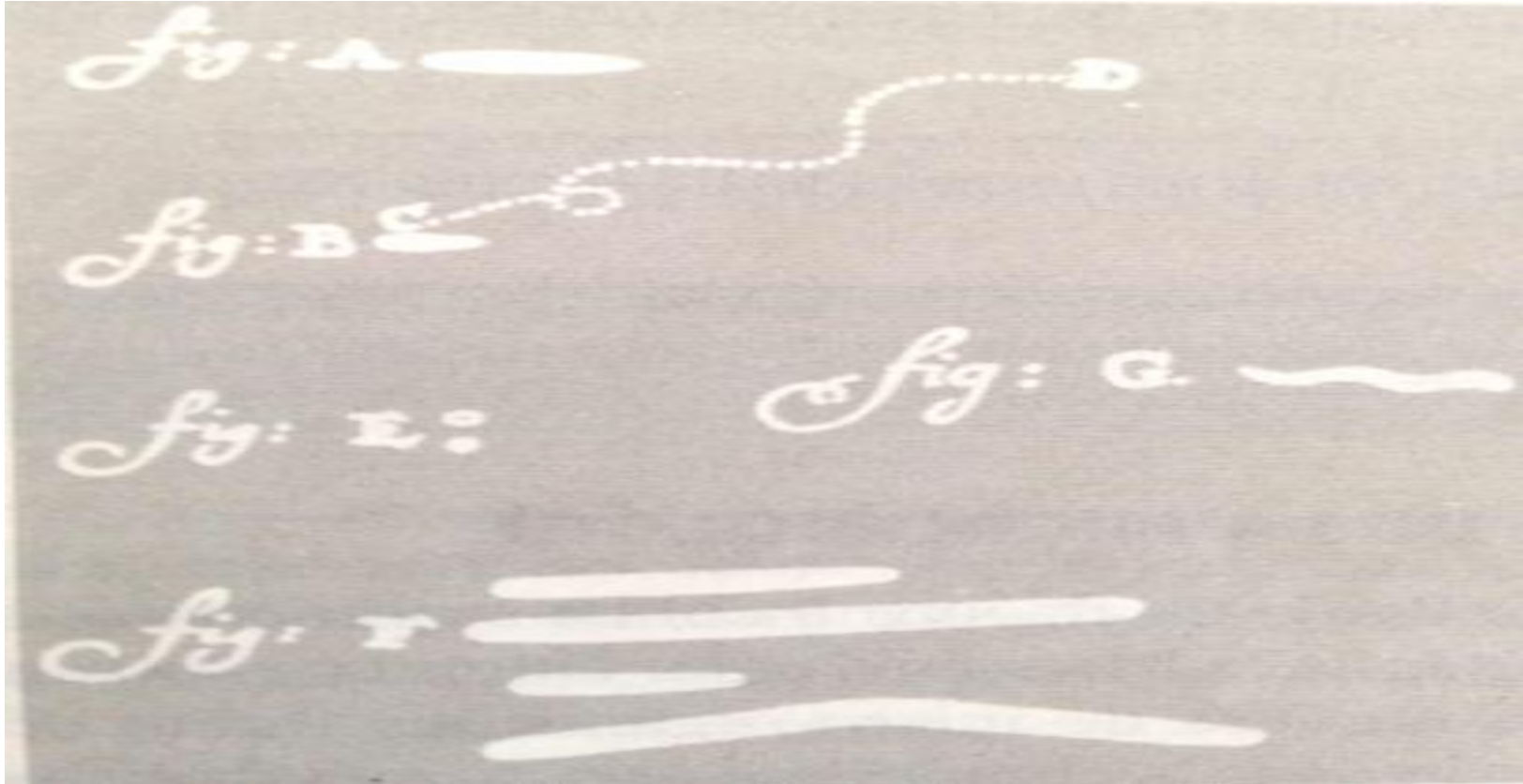
"La quatrième espèce de mésange animale qui bouge aussi doucement était si petite que pour moi aucun chiffre à donner, ces mésanges animales étaient aussi 1000 fois plus petites que l'œil des Luijs adultes (...)"

Antoni van Leeuwenhoek  
(1632-1723)



# Le microscope dont s'est servi Leeuwenhoeck et quelques-uns des "animalcules" qu'il lui a permis d'observer.



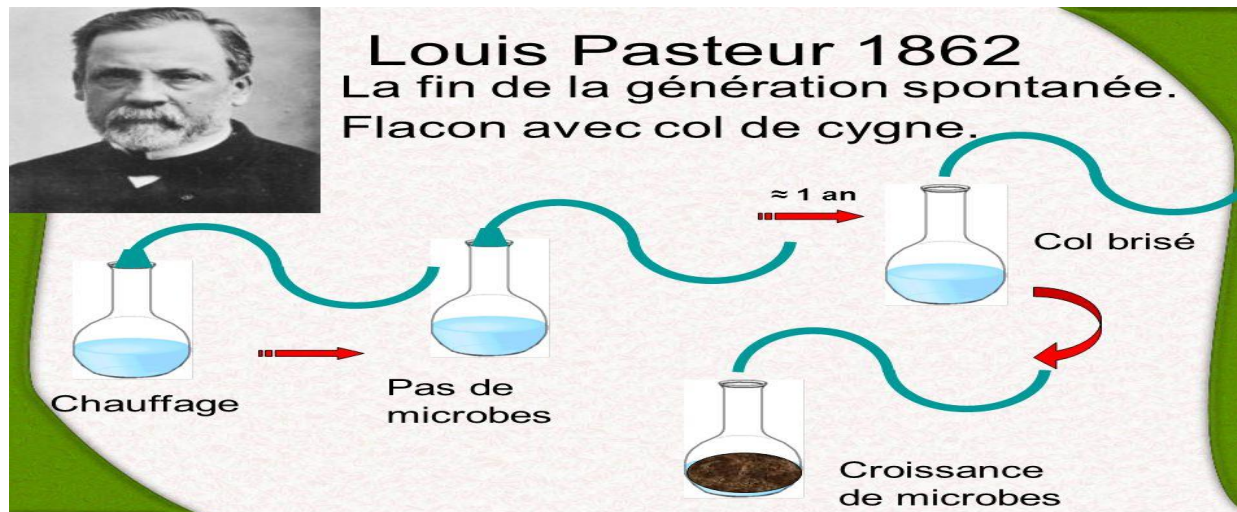


**Bactéries de la bouche dessinées  
par A. Van Leeuwenhoek**





- 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.
- Le chimiste **Louis Pasteur (1862)**, montre que la génération spontanée n'existe pas. Il affirma la biogenèse



**Expérience de Pasteur qui acheva la théorie de la génération spontanée**

## ➤ Pasteur et les fermentations (1857-1877)

- ➔ 1857: f. lactique:      sucre  $\xrightarrow[\text{plus petit qu'une levure}]{\text{Micro-organisme globuleux}}$  Acide lactique
- ➔ 1860: f. alcoolique:      sucre  $\xrightarrow{\text{levures}}$  Ethanol, glycérol + CO<sub>2</sub>
- ➔ 1861: f. butyrique:      sucre  $\xrightarrow[\text{anaérobiose}]{\text{Vibrions (-O}_2\text{)}}$  Acide butirique
- ➔ 1866-1876: Maladies du vin et de la bière  $\longrightarrow$  pasteurisation

## ➤ La bactériologie médicale

Louis Pasteur et Robert KOCH (1843-1910)

Maladie du charbon

*Bacillus anthracis*

Mise au point des techniques d'isolement et d'identification sur milieu de culture solide

- 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 *Mycobacterium tuberculosis*.
- **Tyndall 1870**: autoclavage, tyndallisation
- **Tyndall 1877** : découverte des spores, leur thermorésistance 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.

- Robert Koch 1876 :
- microbes et infections
- Culture des bactéries
- Coloration des bactéries
- Découvertes des principales bactéries pathogènes





## ➤ La vaccination (1880 - 1885)

- 1880: choléra des poules,
- 1881: maladie du charbon,
- 1885: la rage (Joseph Meister : 1er être humain vacciné contre la rage)

## 2. L'époque actuelle

Il y a longtemps: microbiologie = étude des microbes

Actuellement: microbiologie = étude de tous les micro-organismes  
(les algues, les protozoaires, les champignons et les bactéries)

Reproduction rapide → populations énormes et homogènes

→ outil privilégié → {  
- études génétiques  
- études biochimiques



naissance de la génie génétique et des biotechnologies

# DÉCOUVERTE DES VIRUS

- 1892, 1899 Ivanowski
- 1898: Löffler et Frosch: fièvre aphteuse (bovins)
- 1901: Reed: fièvre jaune (singes se transmettent par des moustiques)
- 1915; Twort et Herelle : bactériophages
- 1930- 1940: microscope électronique
- 1935: Stanley: structure, composition chimique des virus



# DÉCOUVERTE DES ANTIBIOTIQUES

- **1929 : Fleming: pénicilline G**
- **1959: principales familles d'antibiotiques**
- **1959: antibiotiques semi synthétiques**



# DÉBUT DE GÉNÉTIQUE BACTÉRIENNE ET MOLÉCULAIRE

- **1928 : Griffith: transformation**
- **1943 : mutations**
- **1946 : conjugaisons**



## *II. Place des microorganismes dans le monde vivant*

### **Classification contemporaine**

Le monde du vivant peut être classé en:

Règne animal,

Règne végétal,

Règne des Protistes.

**Les protistes: englobent tous les microorganismes:**

les algues,

les protozoaires,

les champignons,

les bactéries.

**Selon l'organisation cellulaire, les protistes se subdivisent en :**

**protistes supérieurs, cellules eucaryotes :** organisation cellulaire **complexe**  
l'existence d'un **noyau** : algues (sauf les algues bleu-vert), champignons, protozoaires,

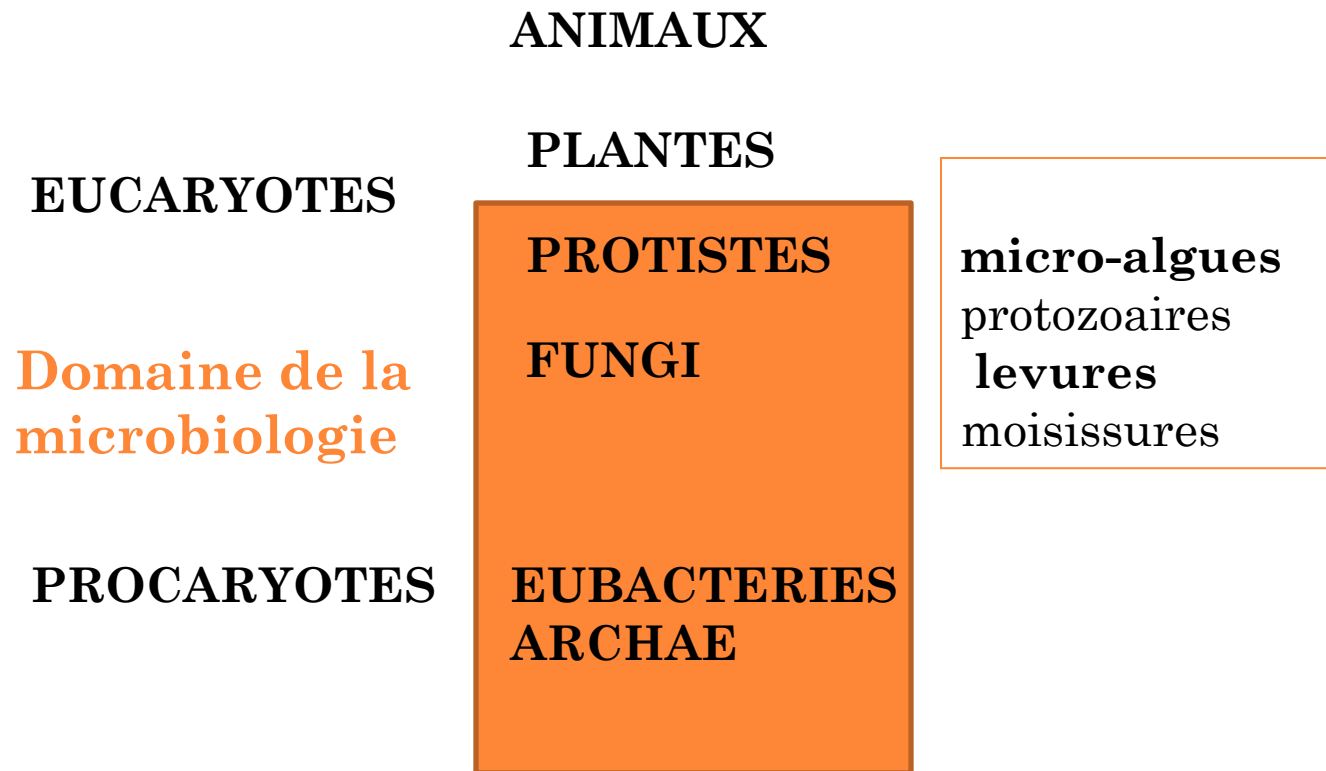
**protistes inférieurs, cellules procaryotes:** cellule **unique dépourvue de noyau:**

- les algues bleu-vert ou Cyanobactéries,

- les bactéries.

Les virus: organismes acellulaires —————> **parasites obligatoires**

# ❖ COMPARAISON PROCARYOTES-EUCARYOTES

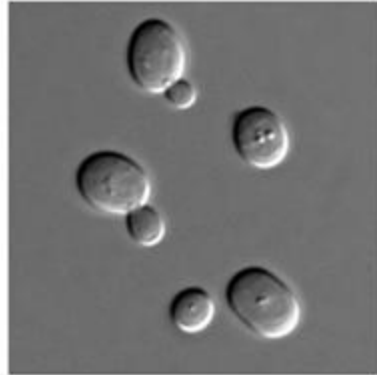


- Cette classification est donnée par Chatton 1937 qui reconnaît 2 types de cellules à l'intérieur du règne des protistes
- Alors que le règne des protistes a été proposé par Haeckel 1886





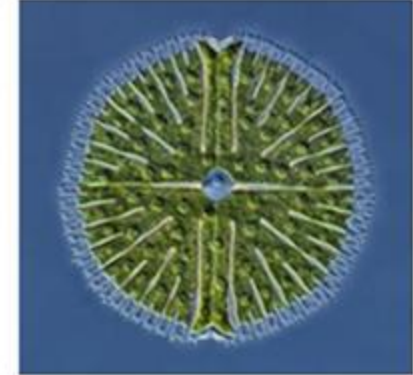
**Bactérie  
unicellulaire**



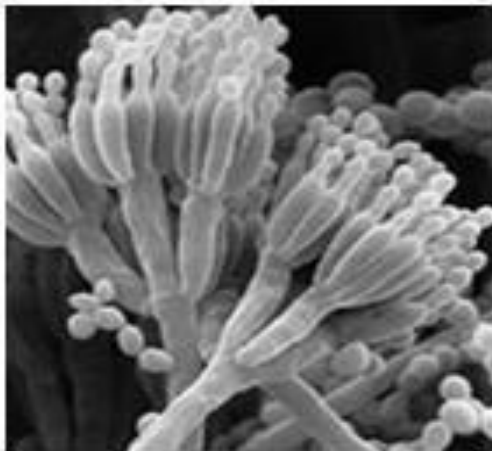
**Levures**



**Protozoaire**



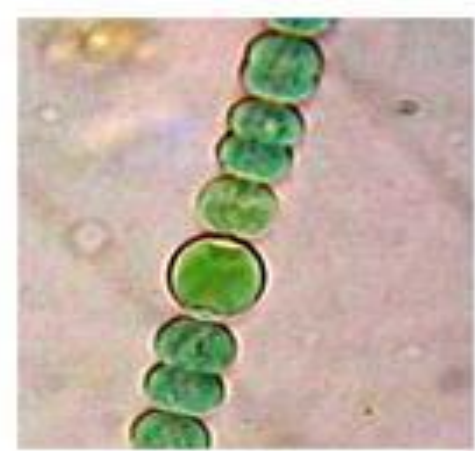
**Algue**



***Penicillium camemberti***



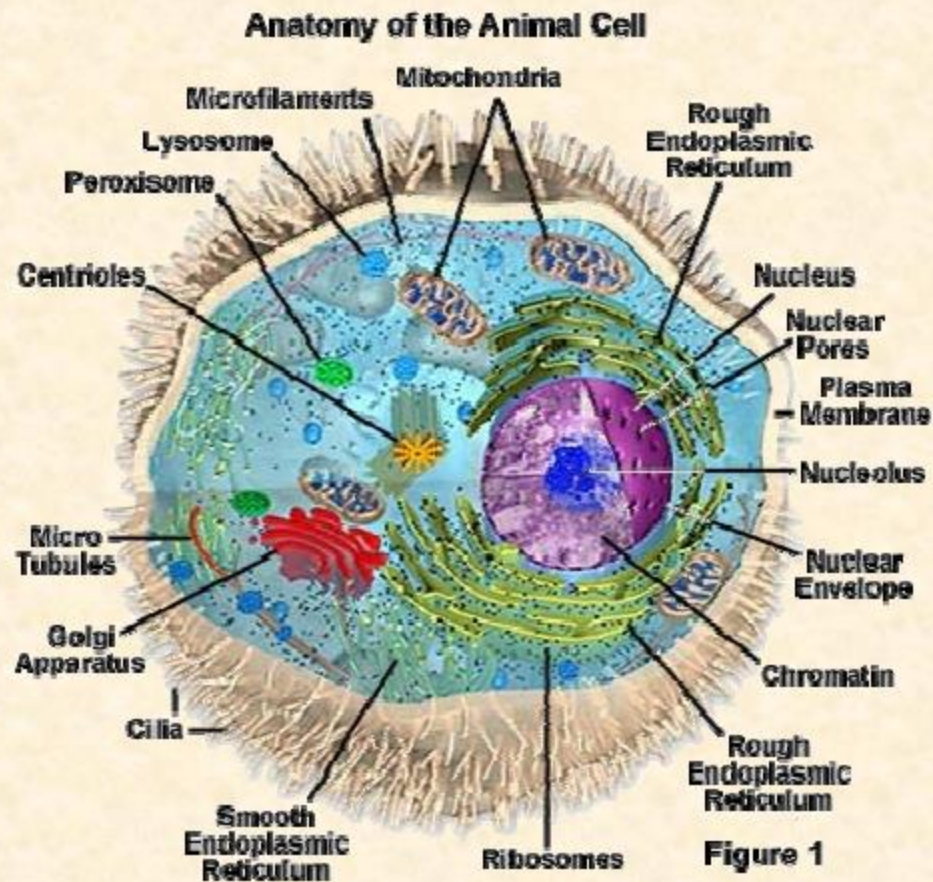
***Penicillium notatum***



**Algue bleu**



## 2. Comparaison entre cellules eucaryote et procaryote



## Anatomy of the Plant Cell

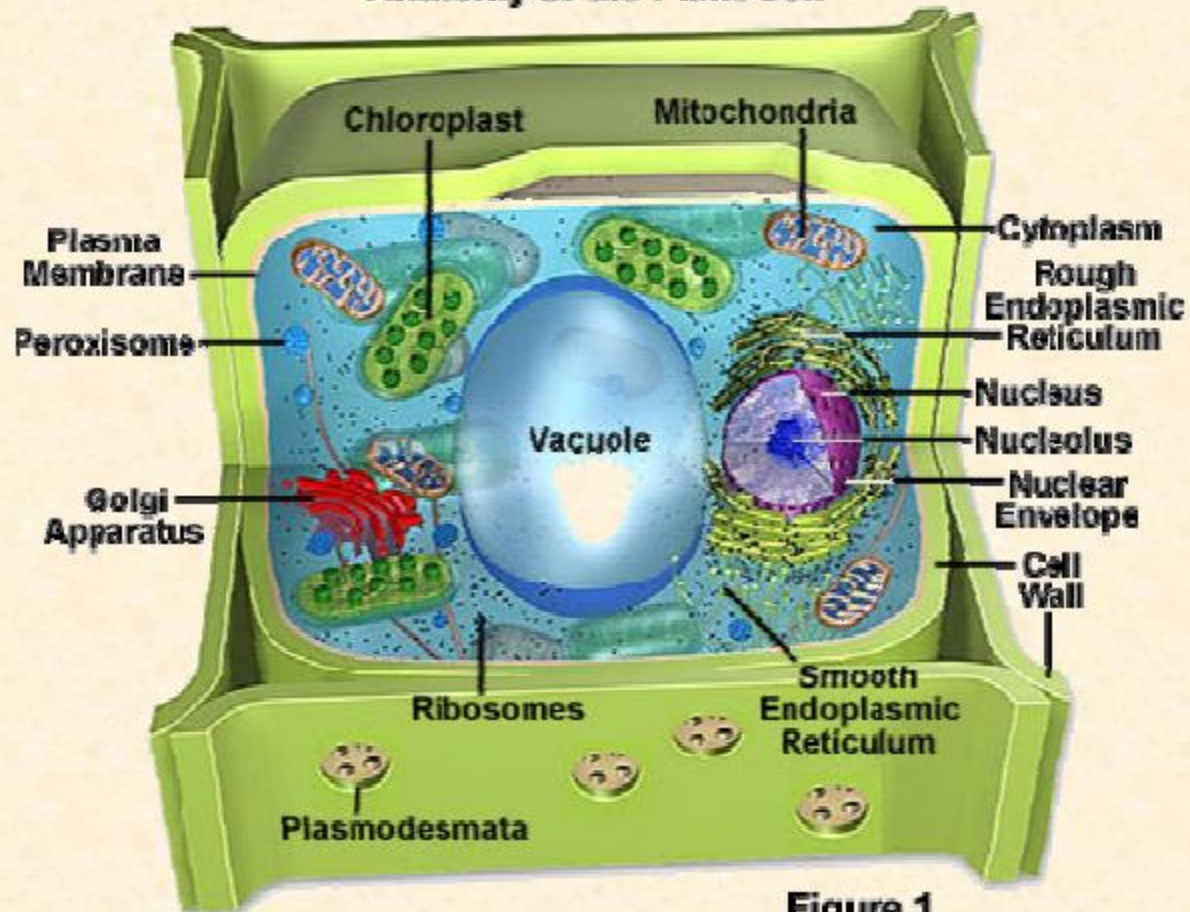


Figure 1

# Prokaryotic Cell Structure

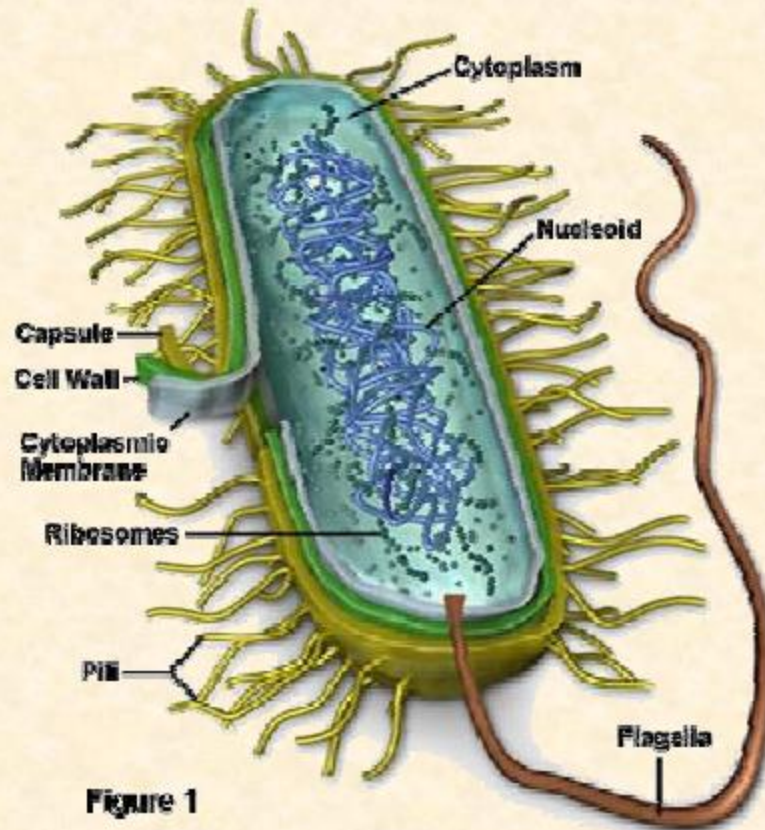
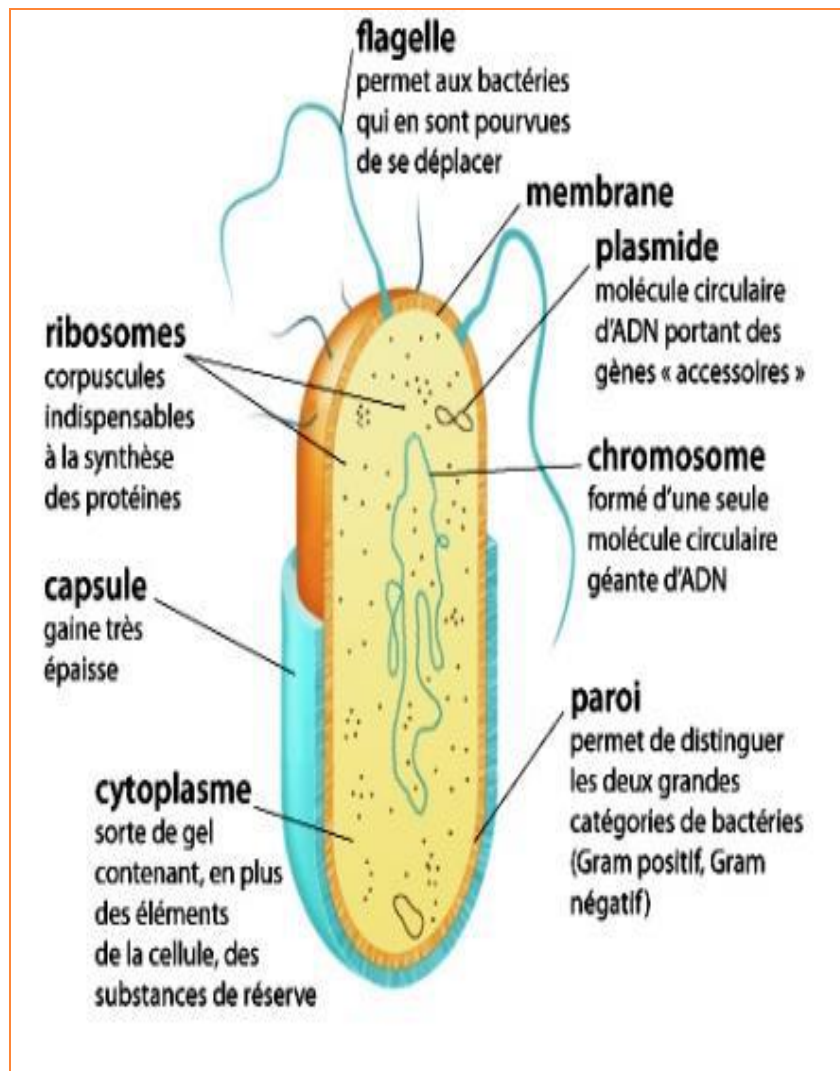


Figure 1

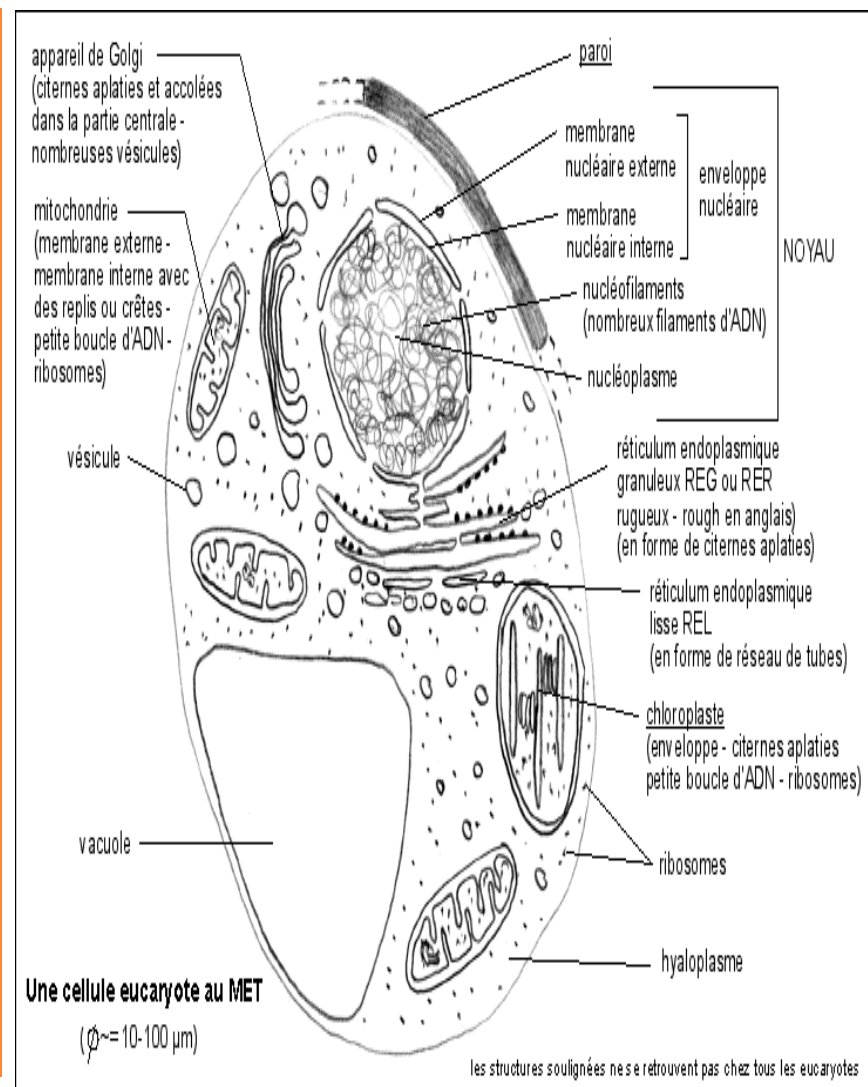


<b>Structure cellulaire</b>	<b>Procaryote</b>	<b>Eucaryote</b>
<b>Taille typique</b>	diamètre < 2 µm	2 µm < diamètre < 100 µm
<b>Type de noyau</b>	nucléoïde (pas de véritable noyau)	vrai noyau avec double membrane
<b>Présence d'organites intracellulaires</b>	Aucun	Habituellement présents (mitochondries, chloroplastes, app. De Golgi)
<b>Ribosomes</b>	oui	oui
<b>Membrane nucléaire</b>	Non	oui
<b>Nombre de chromosomes</b>	1 chromosome (Haploïde)	Plusieurs chromosomes (Diploïde)
<b>Chromosome circulaire</b>	Oui	non
<b>Histones</b>	Non	oui
<b>Nucléole</b>	Non	oui
<b>ARN et synthèse des protéines</b>	couplé au cytoplasme	synthèse d'ARN dans le noyau synthèse de protéines dans le cytoplasme

Propriétés	Procaryotes	Eucaryotes
- Paroi	Présente (composée de peptidoglycane)	- Absente chez animaux et protozoaires; - Présente chez plantes, champignons et algues (polysaccharides)
Système respiratoire:	Membrane cytoplasmique	Membrane mitochondriale
Photosynthèse:	chromatophores ou chlorosomes (système membranaire interne)	chloroplastes
Mobilité	- pas de mouvement amiboïde (paroi rigide). - mouvement flagellaire	- Mouvement amiboïde (eucaryotes sans paroi). - Mouvement flagellaire.



## Organisation cellulaire d'une bactérie



## Organisation d'une Cellule Eucaryote

## ➤ Organisation comparée Protistes et virus

	Protistes	Virus
Unité de structure	Cellule	Virion = particule virale
Acides nucléiques	2 types ADN et ARN	1 type: ADN ou ARN
Systèmes enzymatiques De biosynthèse	+ Vie autonome <sup>x</sup>	- Parasitisme intracellulaire obligatoire
Reproduction	Division à partir de tous les constituants cellulaires	Réplication à partir du seul matériel génétique
Croissance	+ Augmentation harmonieuse de tous les constituants	- Structure définitivement organisée après synthèse des constituants

<sup>x</sup> Sauf les Chlamydiae et Rickettsies



# Chapitre 2: la cellule bactérienne





# 1. TECHNIQUES D'OBSERVATION DE LA CELLULE BACTÉRIENNE

- **Observation sans coloration: à l'état frais**
- **Observation après coloration**
- **Coloration simple (coloration au bleu de méthylène)**
- **Coloration complexe: coloration de Gram**
- **Coloration à l'ancre de chine (capsule)**
- **Coloration Zielh Neelson (acido alcoolo résistants)**
- **Coloration de Scheffer Fulton (coloration de l'endospore)**
- **Coloration de Leifson (flagelle): mordant ensuite la fuchsine.**

# • Observation sans coloration : état frais

1 Prélever une goutte de la suspension bactérienne et la déposer sur une lame propre



2 Poser la lamelle.



3 Observer à l'objectif  $\times 40$  avec un diaphragme quasiment fermé pour augmenter le contraste

- Ciliature polaire : la bactérie possède un ou plusieurs cils tous situés à un pôle ou aux deux pôles de la cellule

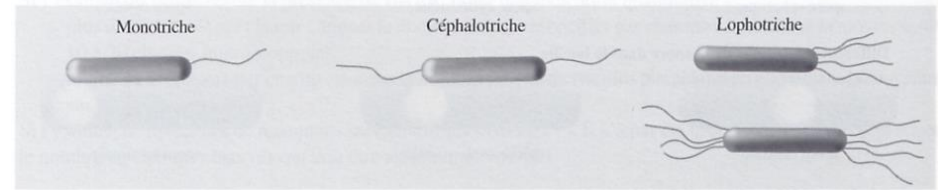


Fig. 5 – Les différents types de ciliature polaire

- Ciliature péritrice : la bactérie possède des cils régulièrement répartis tout autour de la cellule.

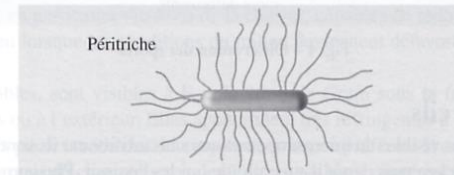
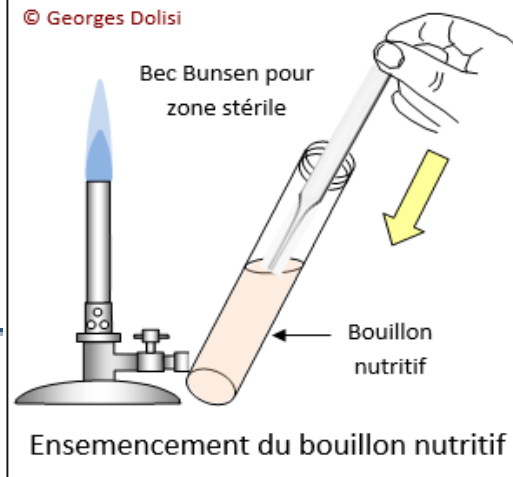
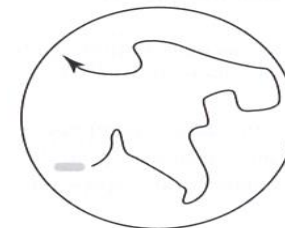


Fig. 6 – Ciliature péritrice

© Georges Dolisi



Ciliature probablement péritrice



Ciliature probablement polaire

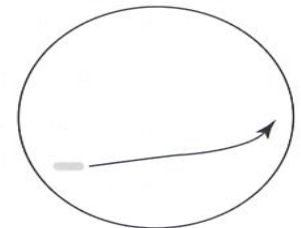
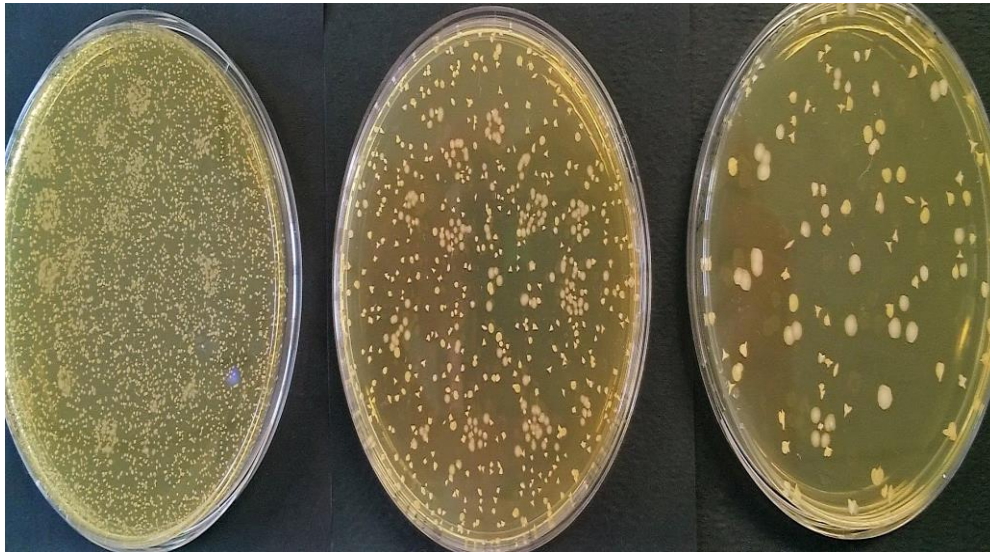


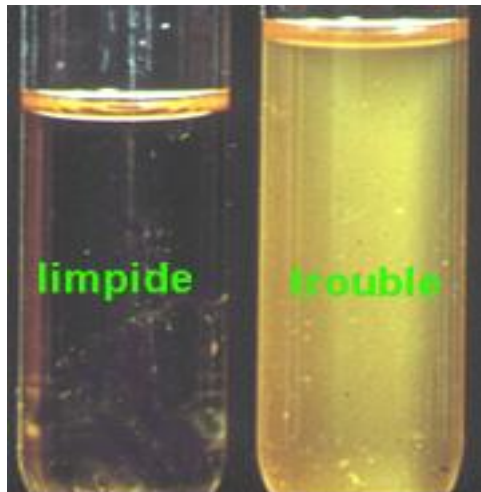
Fig. 2 – Déplacement des bactéries en fonction de leur ciliature



**Bactéries ensemencées en  
boîtes pétri**



**Champignons ensemencés  
en boîtes pétri**



**Bactéries ensemencées en  
bouillons**



- **Observation après coloration**

**Coloration  
simple**

**Coloration  
de la paroi**

**Coloration de  
la capsule**

**Coloration  
des  
flagelles**

**Bleu de  
méthylène**

**Coloration  
de Gram**

**Coloration à  
l'encre de  
chine**

**Méthode  
de  
Rhodes**

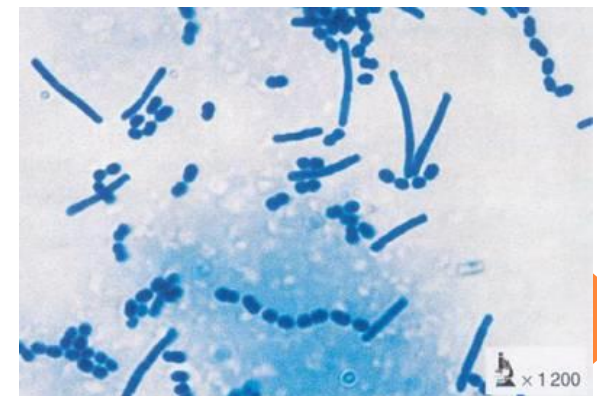
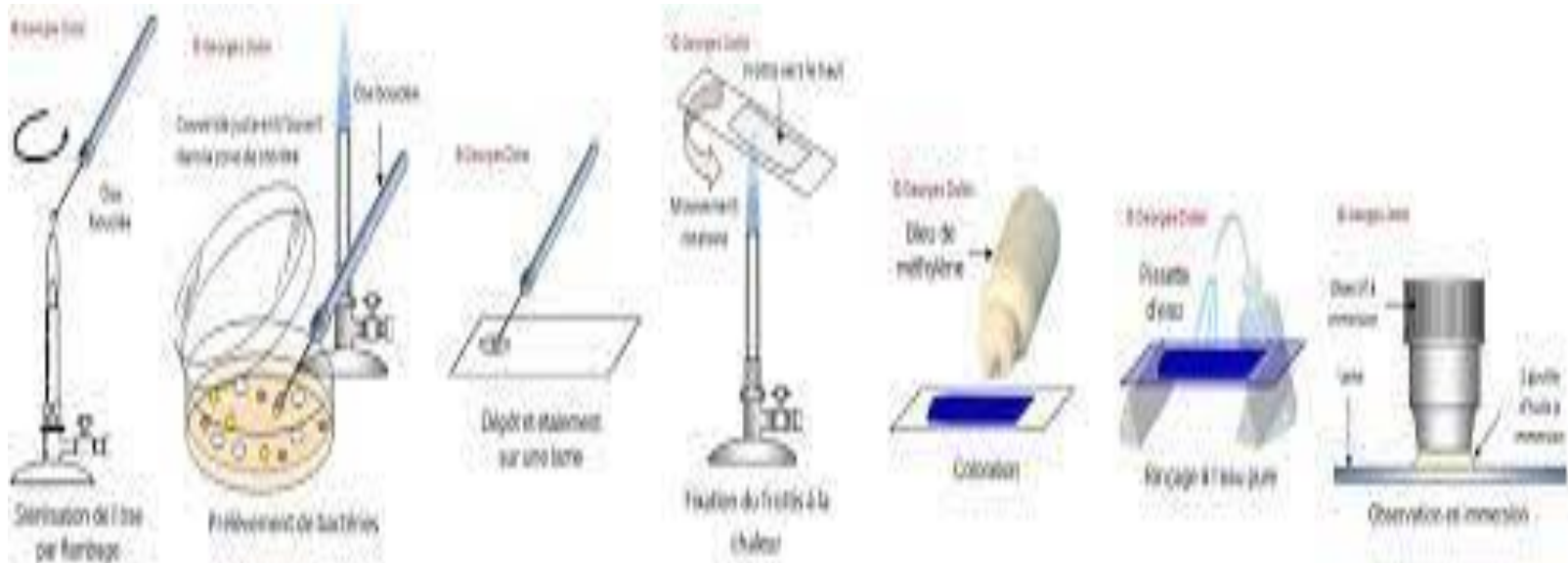
**Coloration de  
l'endospore**

**Coloration de  
Zielh Neelson**

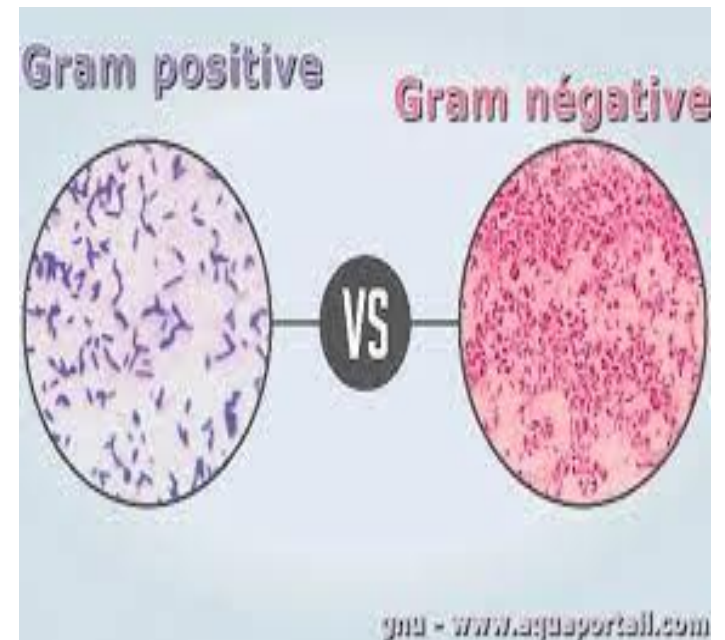
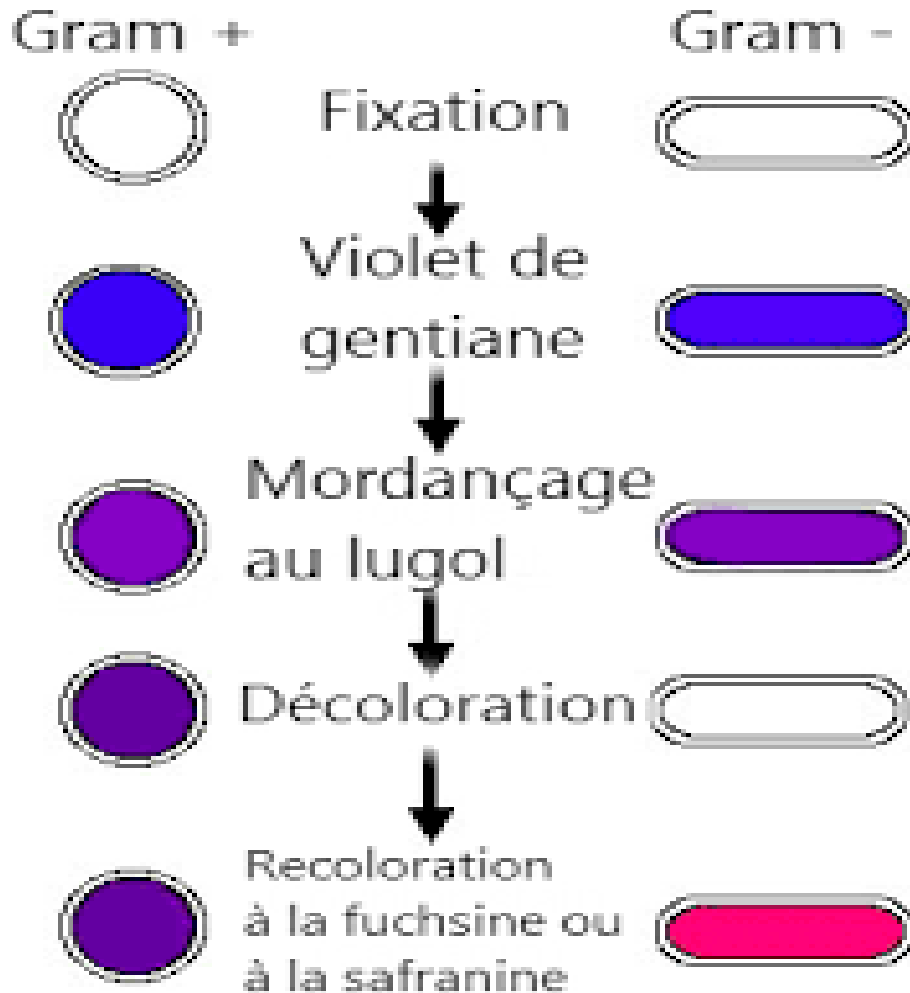
**Coloration  
Scheffer  
Fulton**

**Acido-  
alcoolo-  
résistants**

- **Coloration simple:  
Bleu de méthylène**

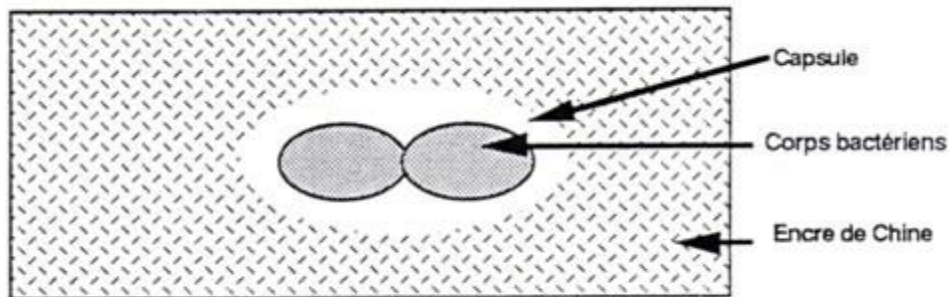
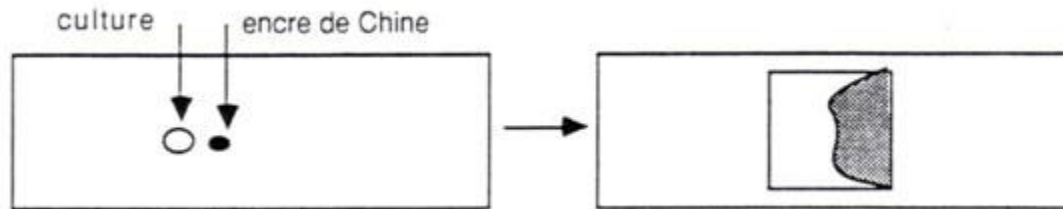


- Coloration de la paroi : coloration de Gram

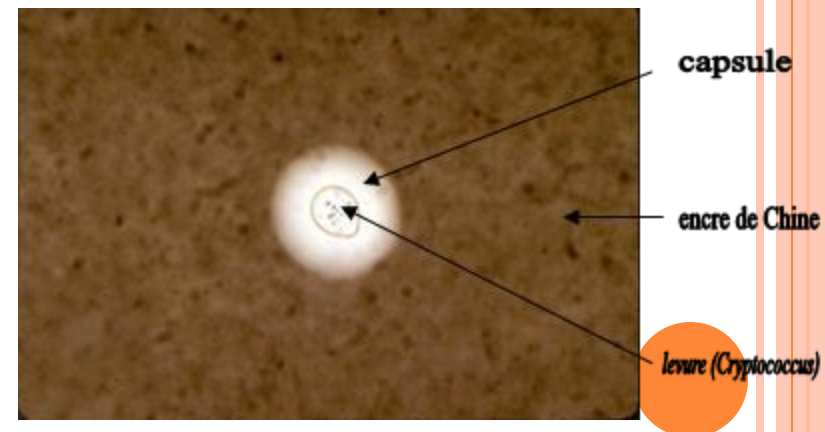




- **Coloration de la capsule:  
coloration à l'encre de chine**



**La capsule apparaît comme  
un halo clair autour des  
corps bactériens**



# • Coloration des flagelles : méthode de Rhodes

## Principe :

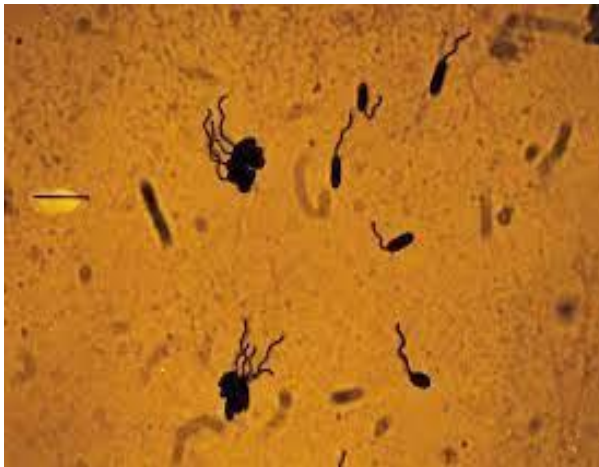
Epaississement des flagelles en utilisant

- **Un mordant** : facilite la coloration
- **Un colloïde** : épaissit les flagelles et les rend visibles.

Recouvrir la lame par  
le mordant



Recouvrir de nitrate d'argent  
ammoniacal chauffé presque à  
ébullition, et laisser agir 3 à 5  
minutes.

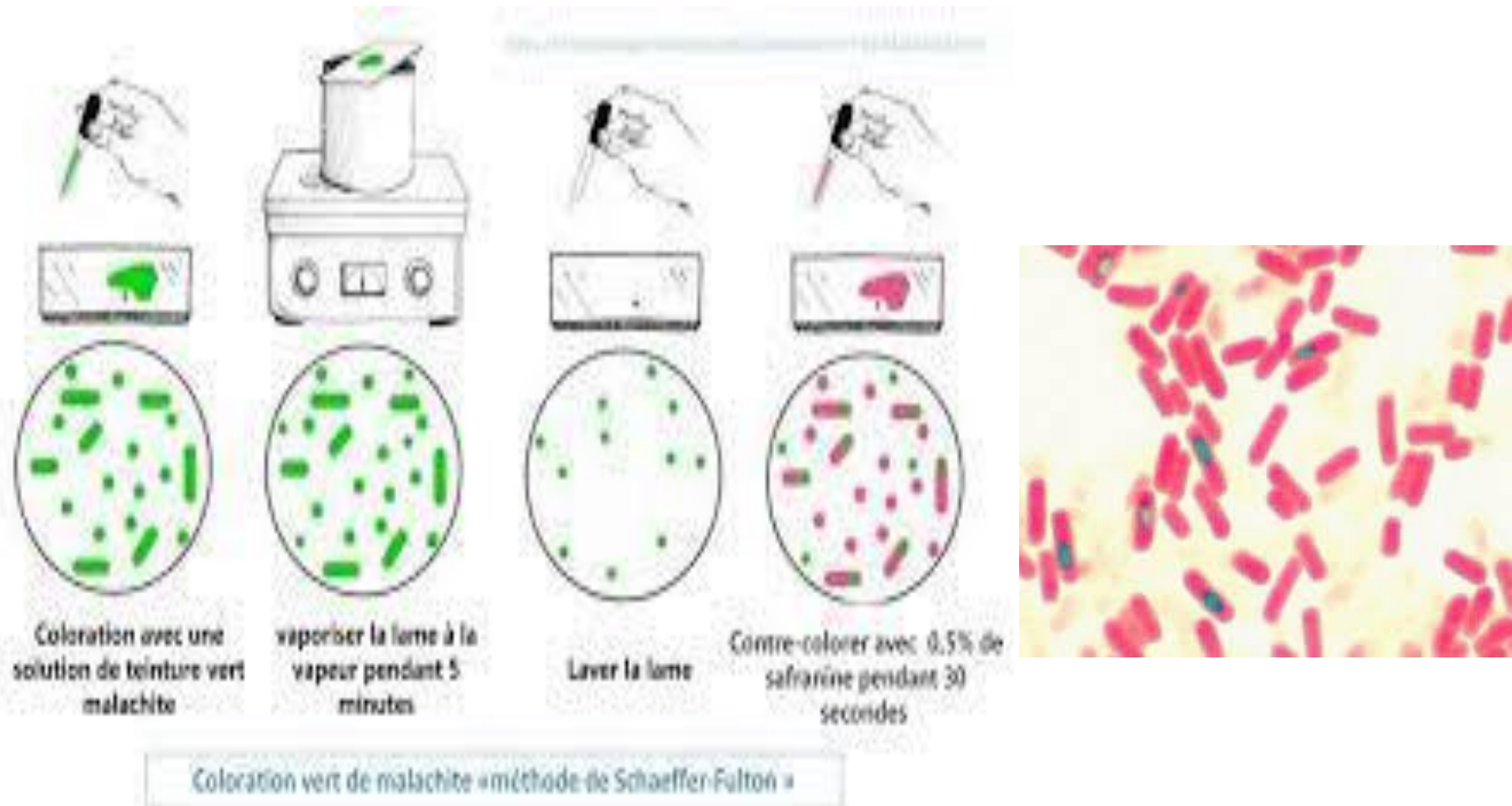


Les corps bactériens apparaissent  
presque noirs, les flagelles sont teintés  
en brun plus ou moins foncé





- **Coloration des spores : Coloration Scheffer Fulton**



**Le vert de malachite est soluble dans l'eau et a une faible affinité pour le matériel cellulaire, de sorte que les cellules végétatives peuvent être décolorées avec de l'eau**



# LA COLORATION DE ZIEHL-NEELSEN

**La coloration de Ziehl-Neelsen comprend 3 étapes principales :**

**Première étape : application d'un colorant énergétique à chaud ou à froid**

**Deuxième étape : décolorations successives par un acide fort puis à l'alcool à 90°C**

**Troisième étape : recoloration de contraste**

**La coloration de Ziehl-Neelsen est requise en cas de suspicion clinique ou histologique de tuberculose, d'infections par mycobactéries atypiques chez des sujets atteints de SIDA (bacilles incurvés et perlés).**

**Voici quelques exemples de colorations obtenues avec la coloration de Ziehl-Neelsen :**

**Bacille acido-alcool résistants : Rouge**

**Globules rouges : Jaune**

**Fond : Bleu pâle**



# ETAPES EN DÉTAIL

chauffer la lame à 65-75°C sur une plaque chauffante pendant 5 min ;  
pendant le chauffage, rajouter régulièrement de la solution de fuchsine  
phéniquée sur le buvard pour l'empêcher de sécher ;  
laisser refroidir la lame avant de passer à l'étape suivante.

## **Décolorer :**

faire couler le décolorant acido-alcoolique sur la lame jusqu'à ce que le  
liquide n'emporte plus de colorant ;  
rincer une nouvelle fois délicatement à l'eau distillée.

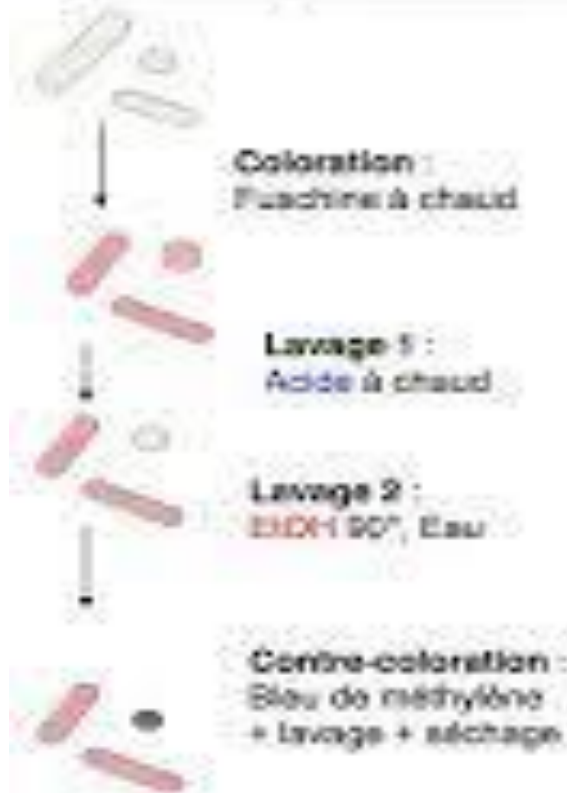
## **Procéder à la contre-coloration et observer :**

immerger le frottis dans la solution de bleu de méthylène pendant 1  
min ;  
rincer à l'eau distillée puis sécher le frottis par tamponnement (ne pas  
frotter) avec une feuille de buvard sec ;  
observer à l'objectif à immersion : les Mycobactéries apparaissent en  
rose-rouge sur fond bleu.

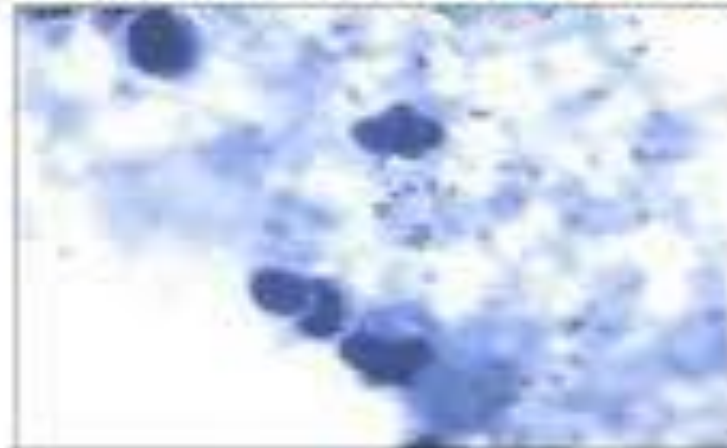


- Coloration de Ziehl Neelsen : Acido-alcoolo-résistants

### Technique de coloration de ZIEHL NEELSEN



*Mycobacterium tuberculosis* (acido-alcoolo-résistante)



*Neisseria meningitidis* (non acido-résistante)



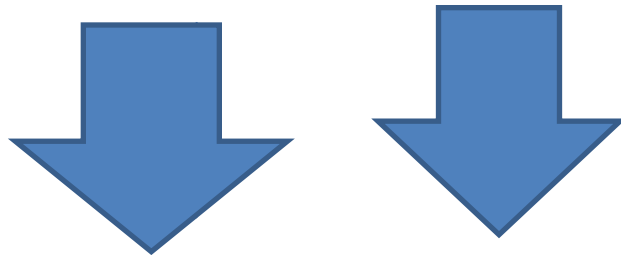
# La taille des bactéries

- La taille 0,1 à 2  $\mu\text{m}$
- Le diamètre 0,5 à 5  $\mu\text{m}$



# Le nom des bactéries

- Le genre (première lettre en majuscule)
- L'espèce
- Le nom s'écrit en italique
- exemple: *Escherichia coli*



*Genre*      *espèce*



# Le genre correspond à:

- Caractère commun des sp qui appartiennent au même genre. EX: *Lactobacillus*
- La forme des sp. qui appartiennent au même genre. Ex: *Streptococcus*
- Présente le nom du chercheur. Ex:

*Escherichia*  Escherich

*Neisseria*  Neisser

*Pasteurella*  Pasteur

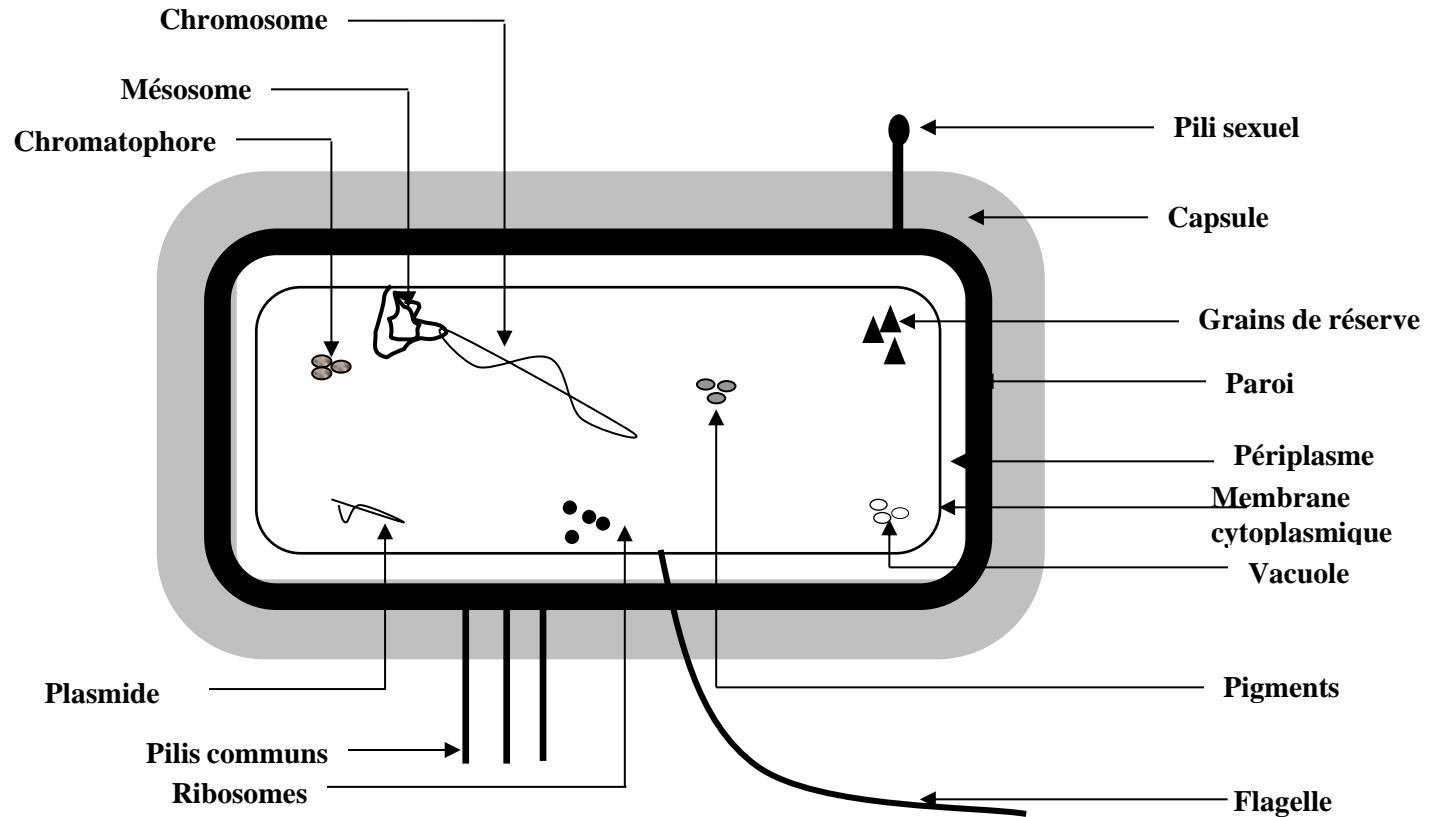
# L'espèce représente:

- Un caractère particulier.
- Ex: *Streptococcus lactis*: lactis qui se dvp dans le lait
- *Streptococcus feacalis*: feacalis qui se dvp dans les matières fécales



# Structure de la cellule bactérienne

Une bactérie est un micro-organisme unicellulaire "procaryote", de morphologie différente et qui se reproduit par scissiparité. Certaines bactéries sont pathogènes pour l'Homme, d'autres sont bénéfiques.

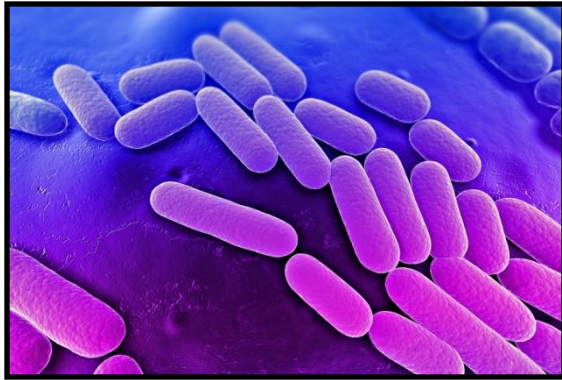


# *Structure de la cellule bactérienne*

## *Morphologie bactérienne*

**Dimension:** est de l'ordre du micromètre; on doit donc utiliser un microscope pour les observer.

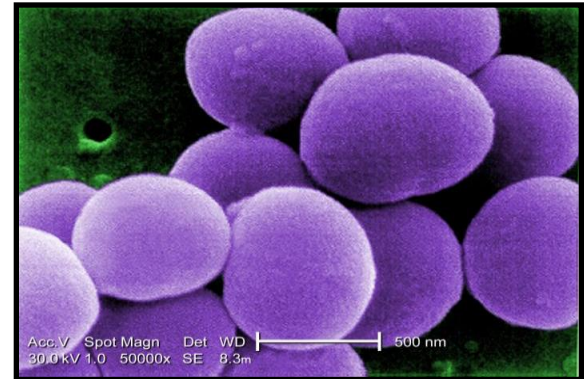
**Formes:**



*Bacille*



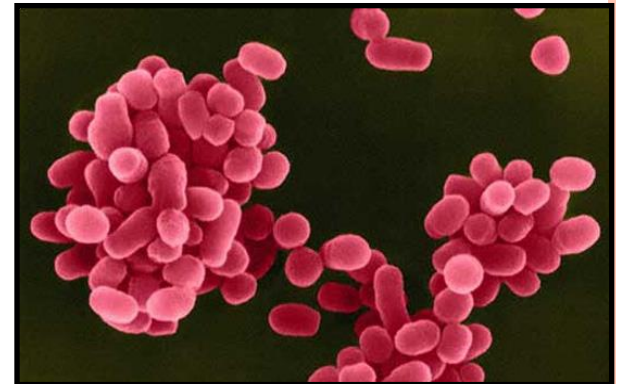
*virgule*



*Cocci*



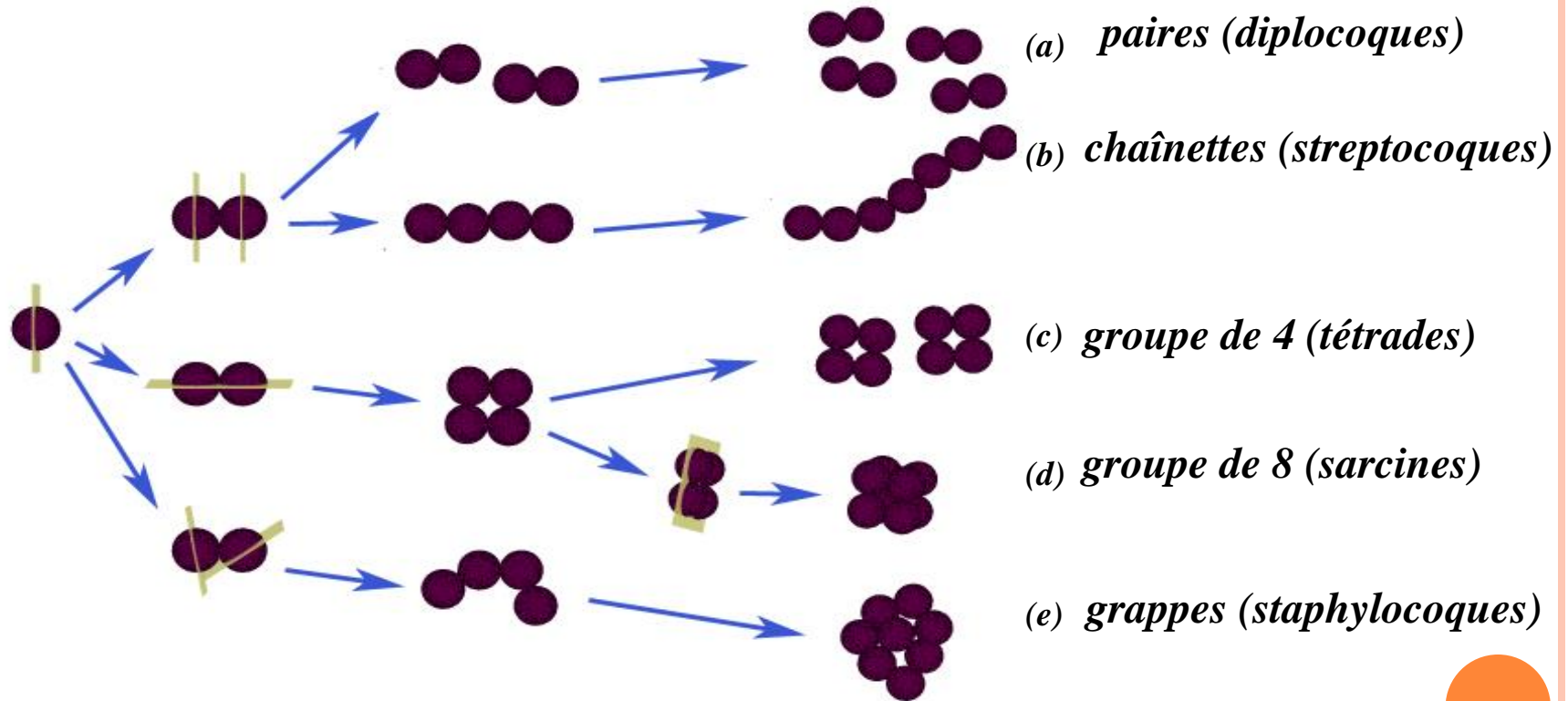
*hélicoïdale*



*coccobacille*

# Structure de la cellule bactérienne

## Groupement : *1- les Cocci*



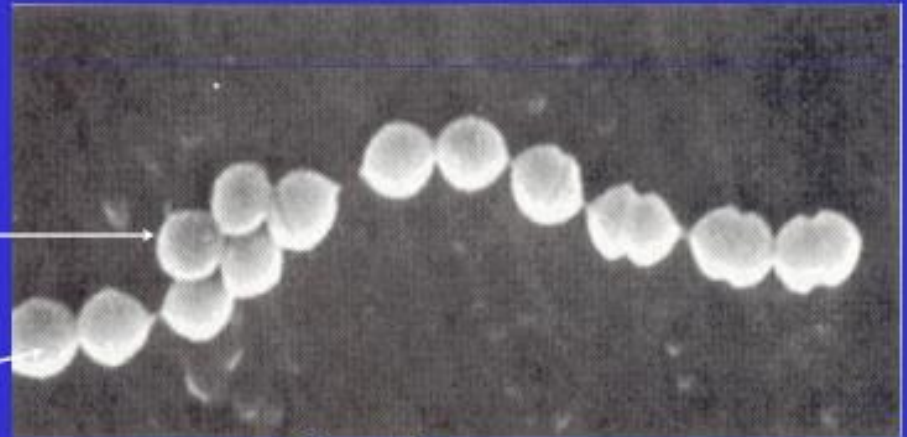
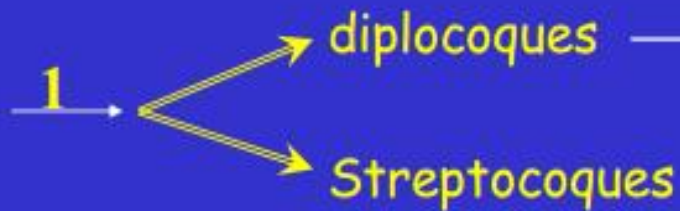
# La cellule bactérienne

## I. Morphologie bactérienne

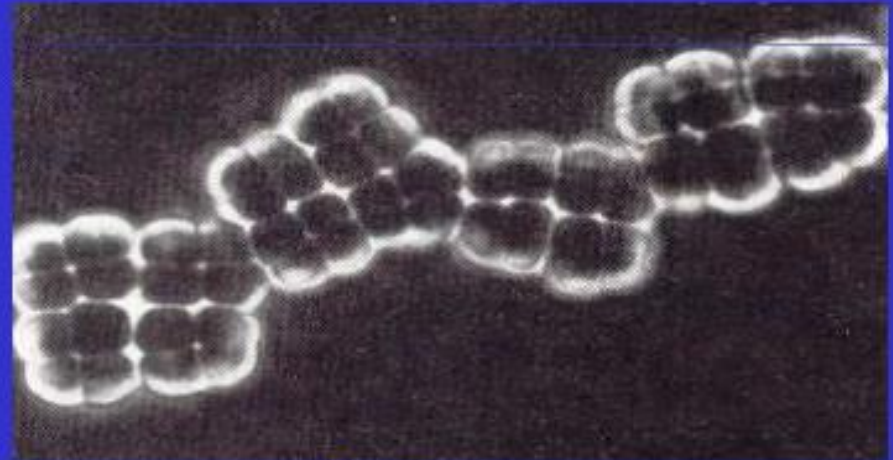
### 1. Les coques (Cocci):



Selon le plan de division:

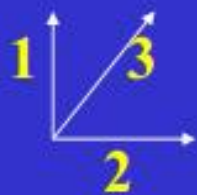


*Streptococcus*

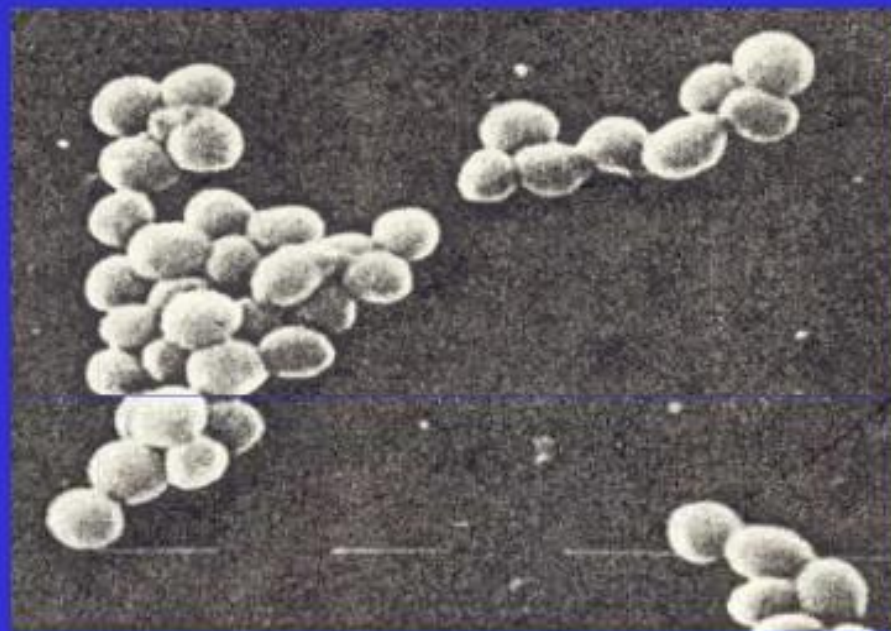


*Corynebacterium*

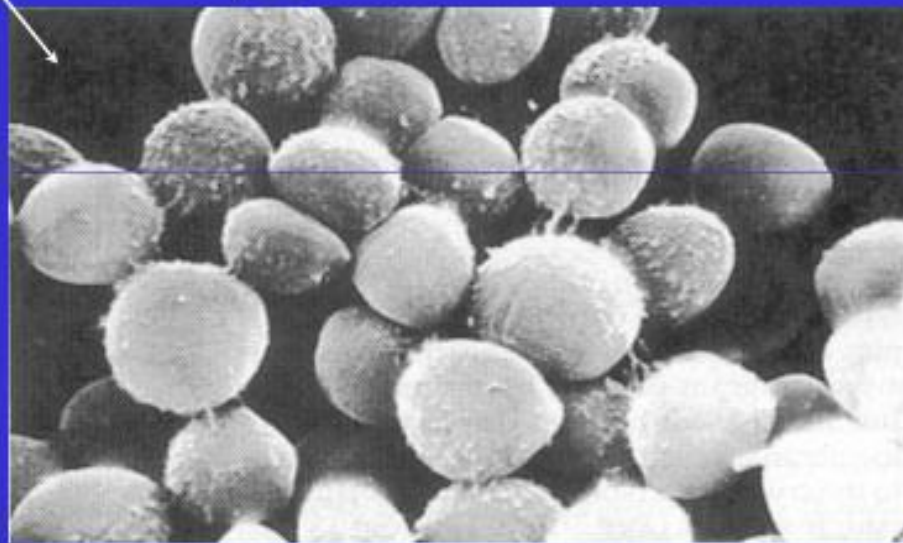




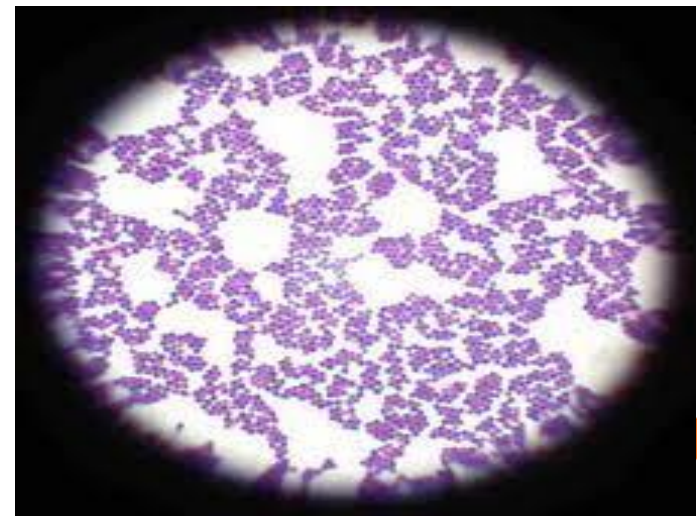
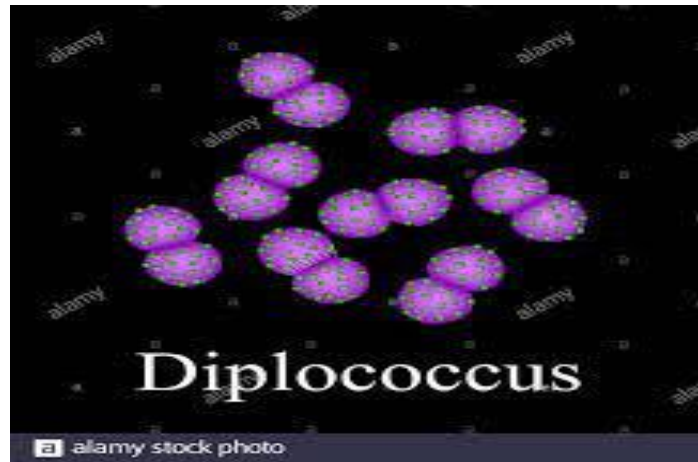
Grappes  
de  
raisin



*Staphylococcus aureus*



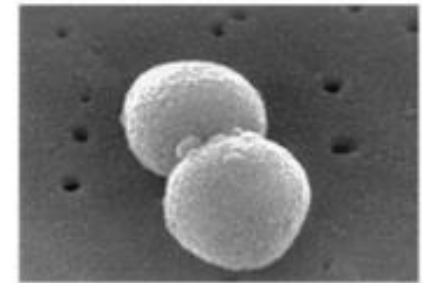
*Staphylococcus*



# Remarque

**Les diplocoques peuvent être présentés sous forme de:**

- Flamme de bougie comme pneumocoque  
(EX. *Diplococcus pneumoniae*)



- Grain de café comme méningocoque  
(EX. *Neisseria meningitidis*)





## 2. Les bâtonnets:

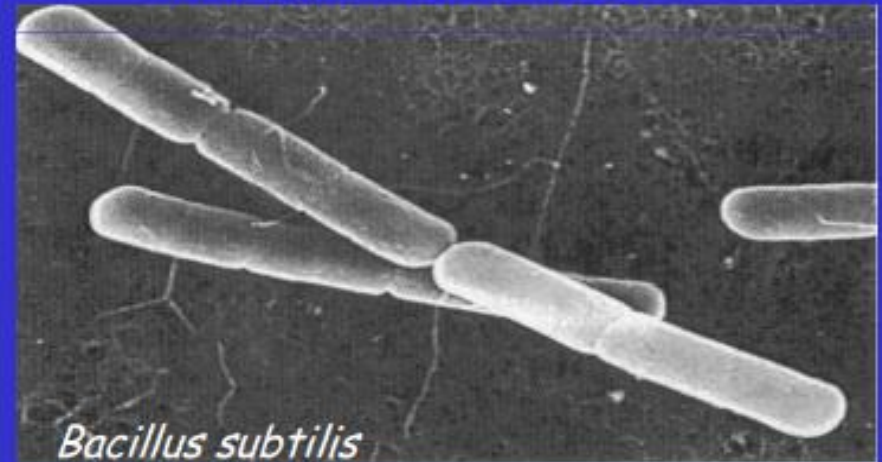
- Bâtonnets droits =  
Bacilles

### Regroupements:

Bacilles isolés



Diplobacilles



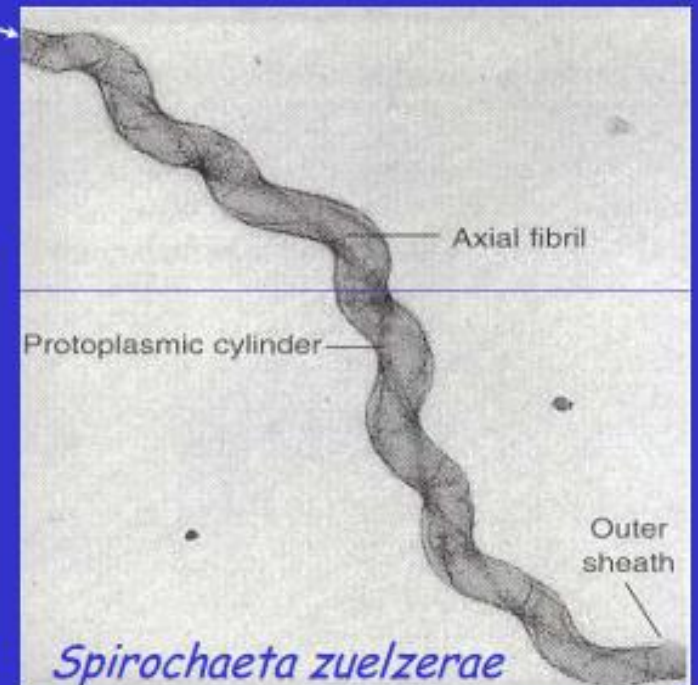
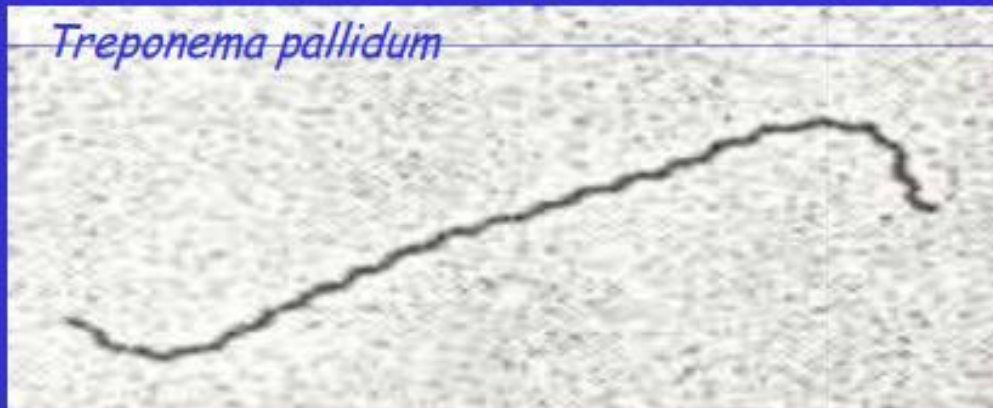
Streptobacilles



- Bacilles incurvés:



3. Les formes spiralées:



# *Structure de la cellule bactérienne*

## o Les structures fondamentales

- ✓ la paroi
- ✓ membrane cytoplasmique
- ✓ Cytoplasme
- ✓ ribosomes
- ✓ chromosome.

## o Les structures particulières

- ✓ Capsules
- ✓ Flagelles
- ✓ pili
- ✓ Spores
- ✓ plasmides





# *Structure de la cellule bactérienne*

## Éléments obligatoires :

- chromosome
- cytoplasme
- ribosomes
- membrane cytoplasmique
- paroi

## Éléments absents :

- \* véritable noyau
- \* mitochondrie
- \* réticulum endoplasmique
- \* appareil de Golgi

## Éléments inconstamment présents :

- plasmides
- vacuoles, substances de réserve
- capsule
- flagelles
- pili (pilus commun et pilus sexuel)
- spore



# LA PAROI BACTERIENNE



# Enveloppe caractéristique des procaryotes

Rigide  $\equiv$  "exosquelette"

Maintient de la forme

Division cellulaire

Résistance à la forte P.O.i

Perméable à l'eau et aux  
petites molécules

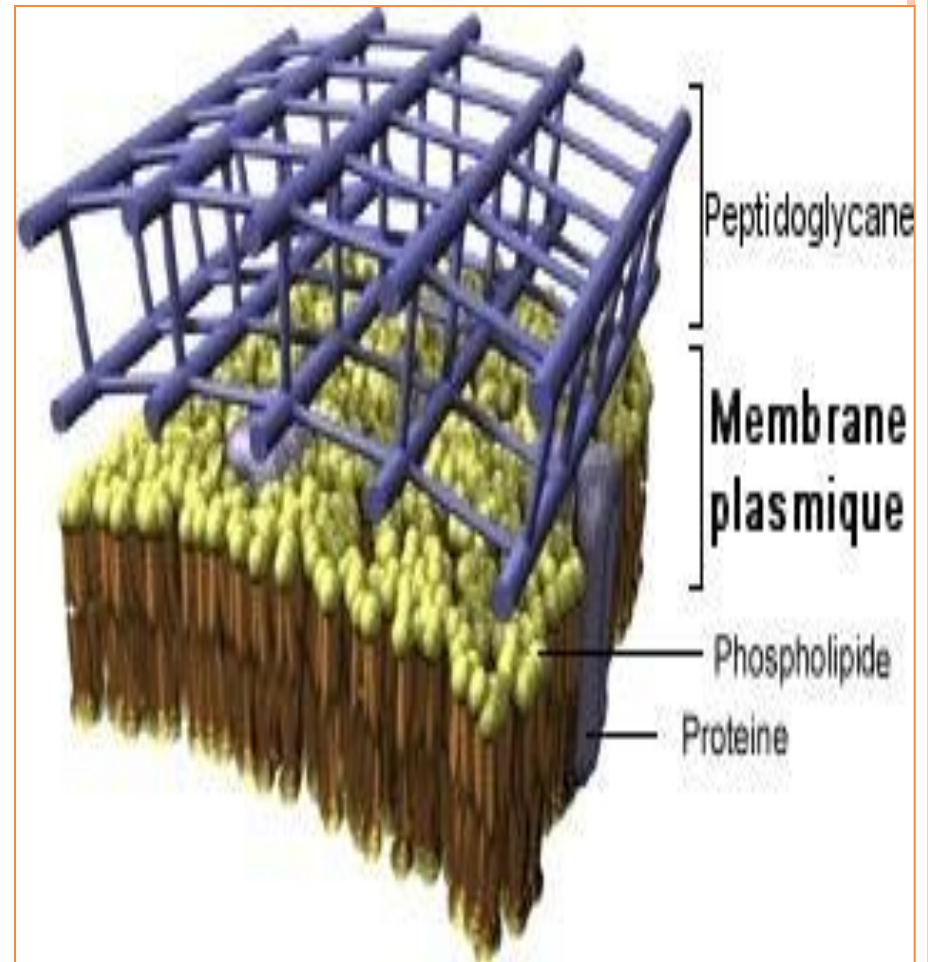
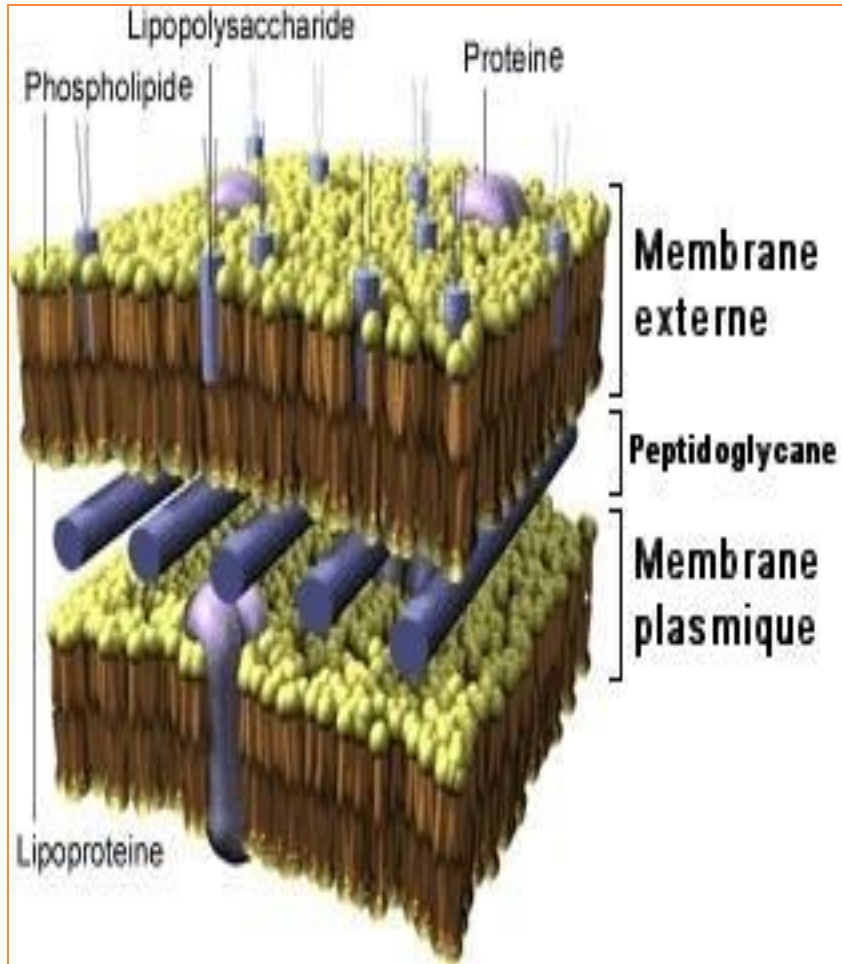
Support de nombreux  
antigènes

Peptidoglycane

Gram <sup>+</sup>

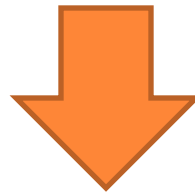
Gram <sup>-</sup>

## ○ Différences structurales entre les paroi des Gram - et Gram +



# Support de cette différence de Gram: **pépdicoglycane**

(muréine= mucocomplexe= mucopeptide)



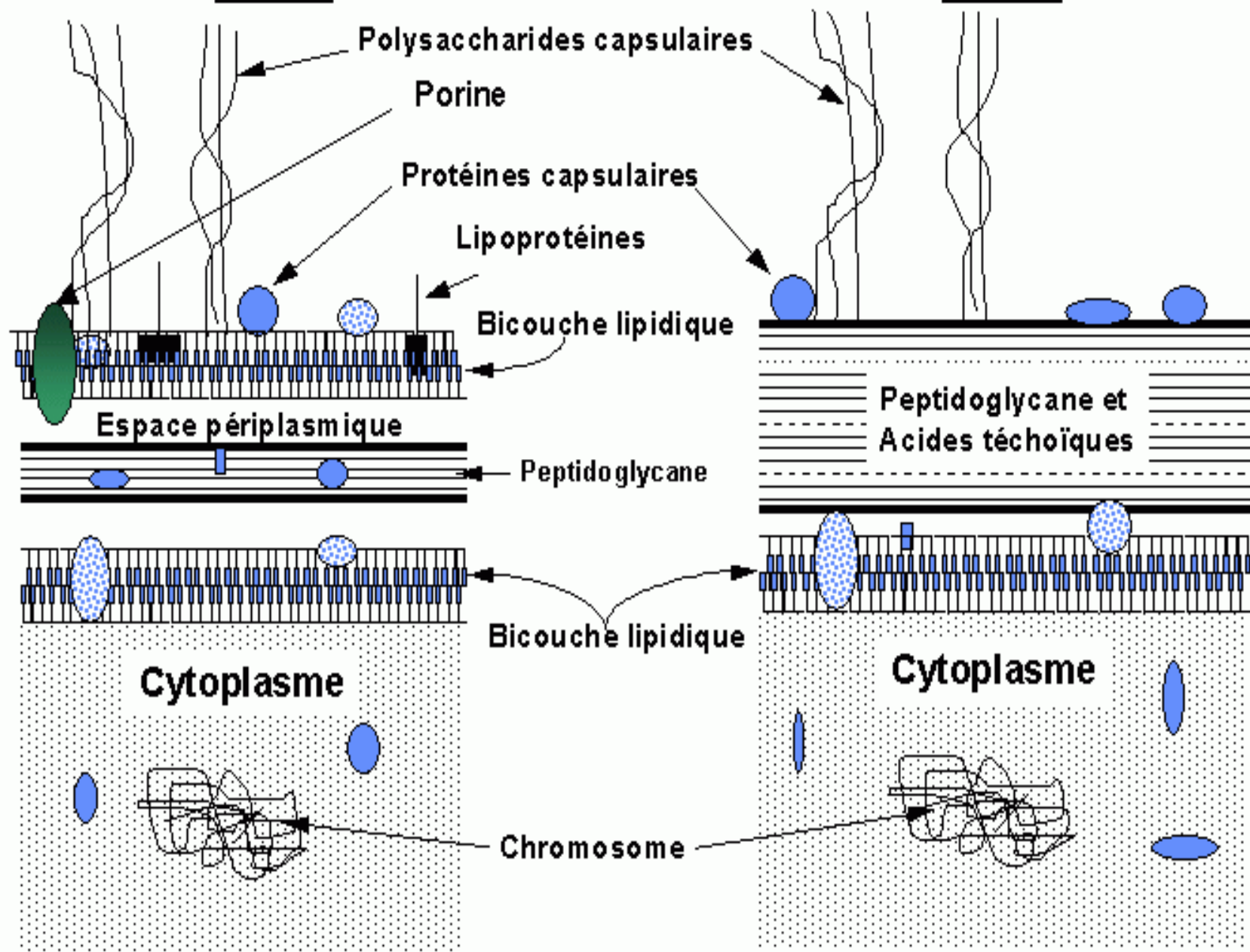
Le **constituant fondamental** de la paroi  
(spécifique des procaryotes )

Très épais pour les bactéries  
à Gram Positif (30 à 50 nm)  
(constituant majeur: 30%  
du poids sec)

Fin chez les bactéries à Gram  
négatif (mince (3-5 nm) (<  
15% du poids sec)

Gram<sup>-</sup>

Gram<sup>+</sup>





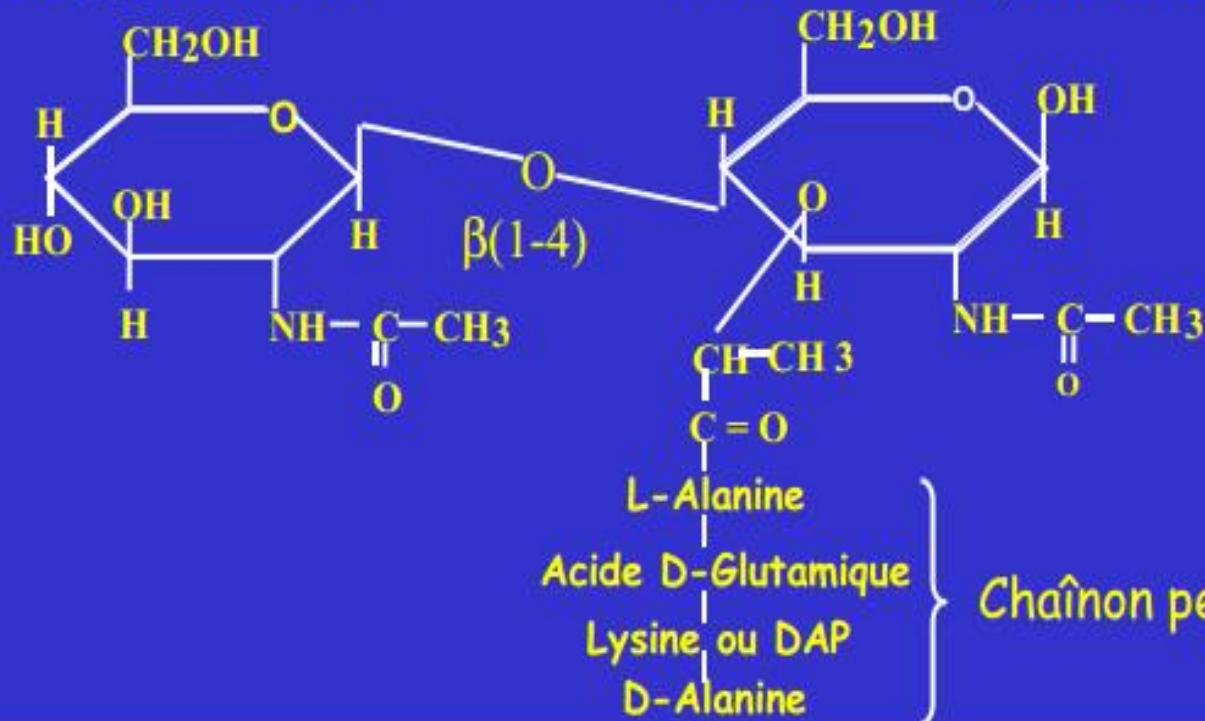
*Le peptidoglycane* {

- Muréine
- Mucocomplexe
- mucopeptide

L'unité structurale du peptidoglycane, un glucosaminopeptide  
Glycane

La N-acétylglucosamine

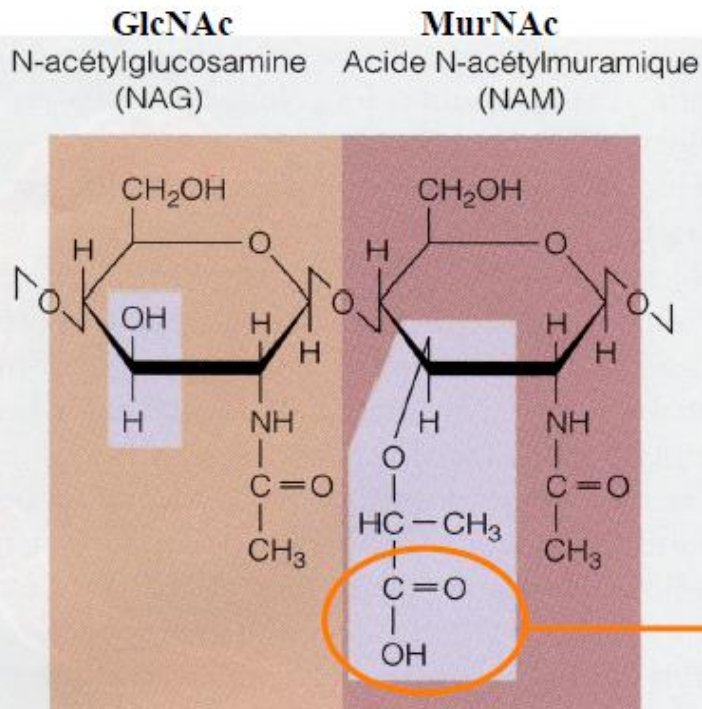
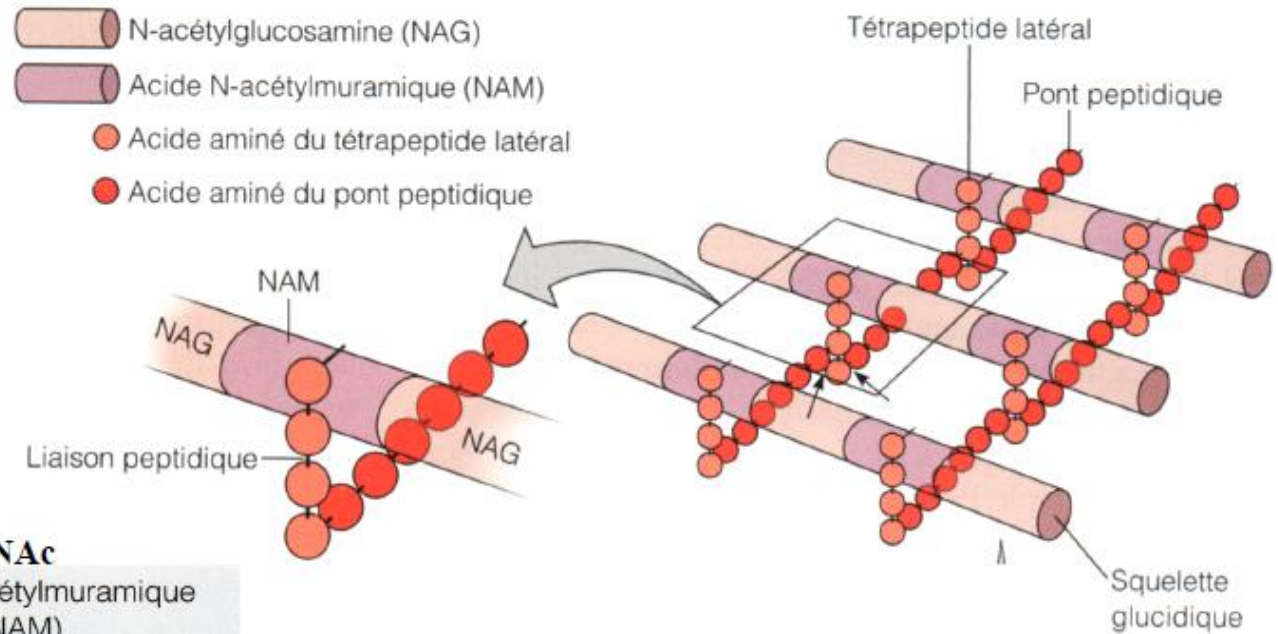
L'acide N-acétylmuramique



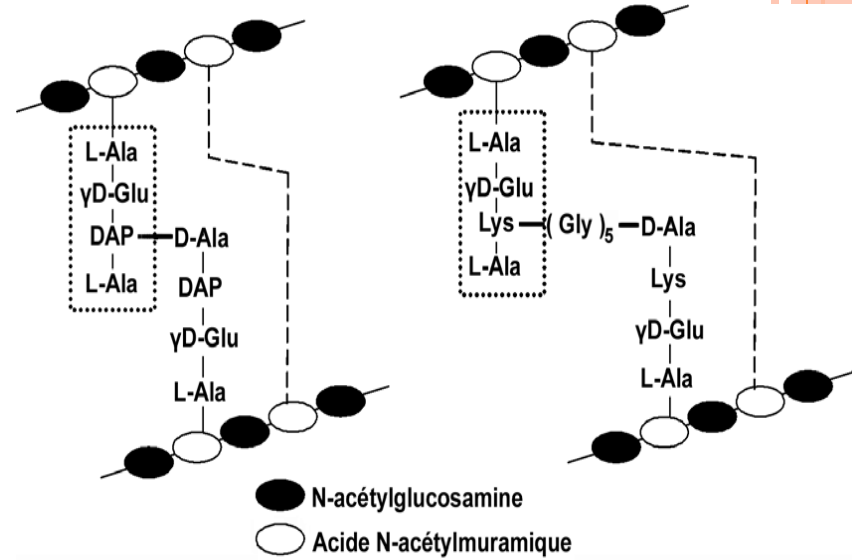
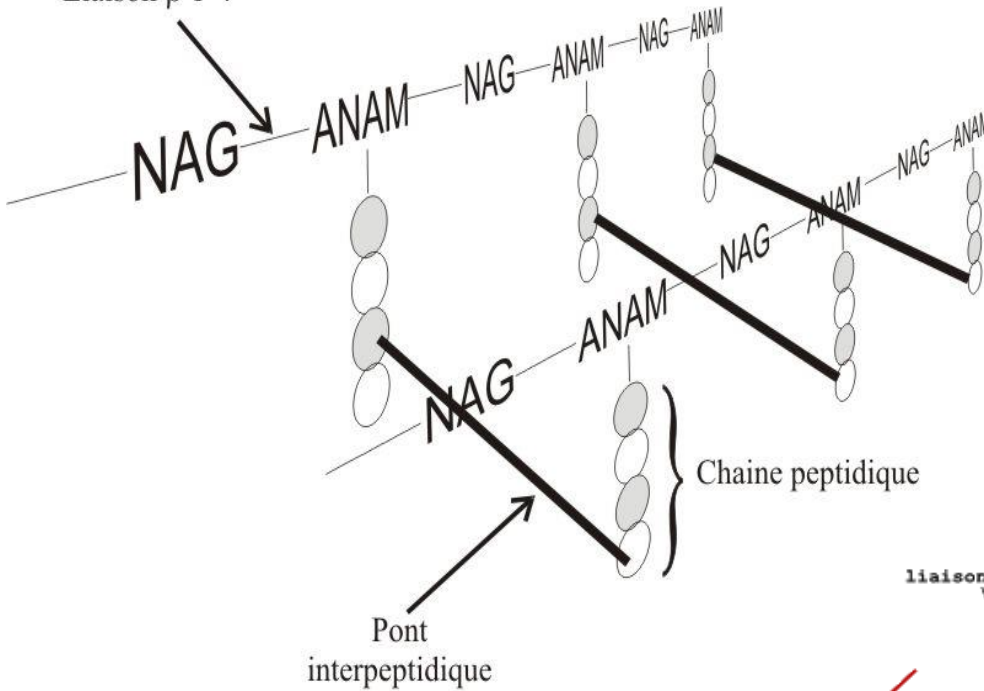
- ✓ La chaîne polysaccharidique est fait de l'alternance de N-acétyl -glucosamine (AcGN) et d'acide N-acétyl-muramique (AcMUR).
- ✓ Sur les acides muramiques sont branchées des tétrapeptides
- ✓ Les tétrapeptides sont reliés entre eux soit directement, soit par l'intermédiaire de ponts de pentaglycine, Glyc(5).
- ✓ C'est probablement grâce à sa **structure en réseau** que le peptidoglycane confère à la paroi sa **rigidité** et sa **résistance mécanique**.



# Structure générale du peptidoglycane

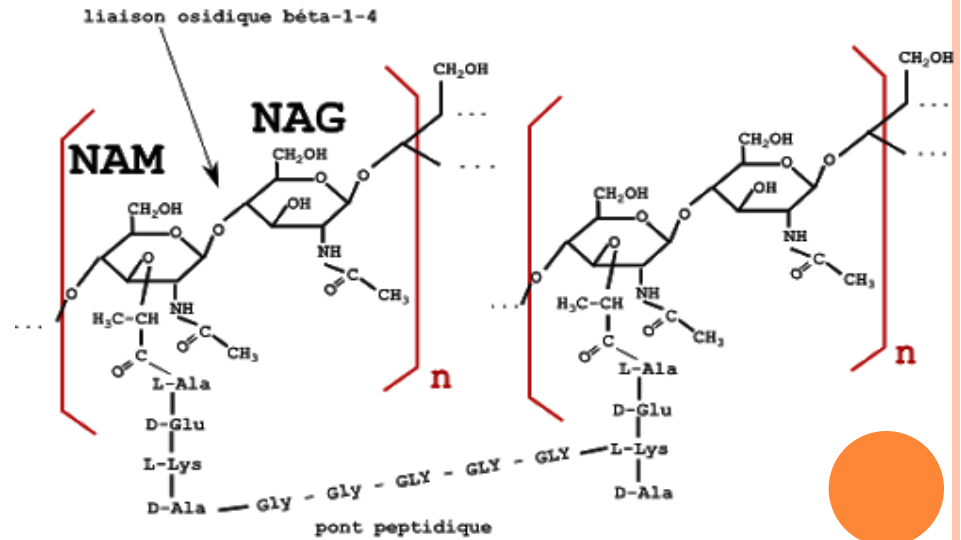


<p>NAG : N-acétyl glucosamine</p> <p>ANAM : acide N acétyl muramique</p>
--

Liaison  $\beta$  1-4

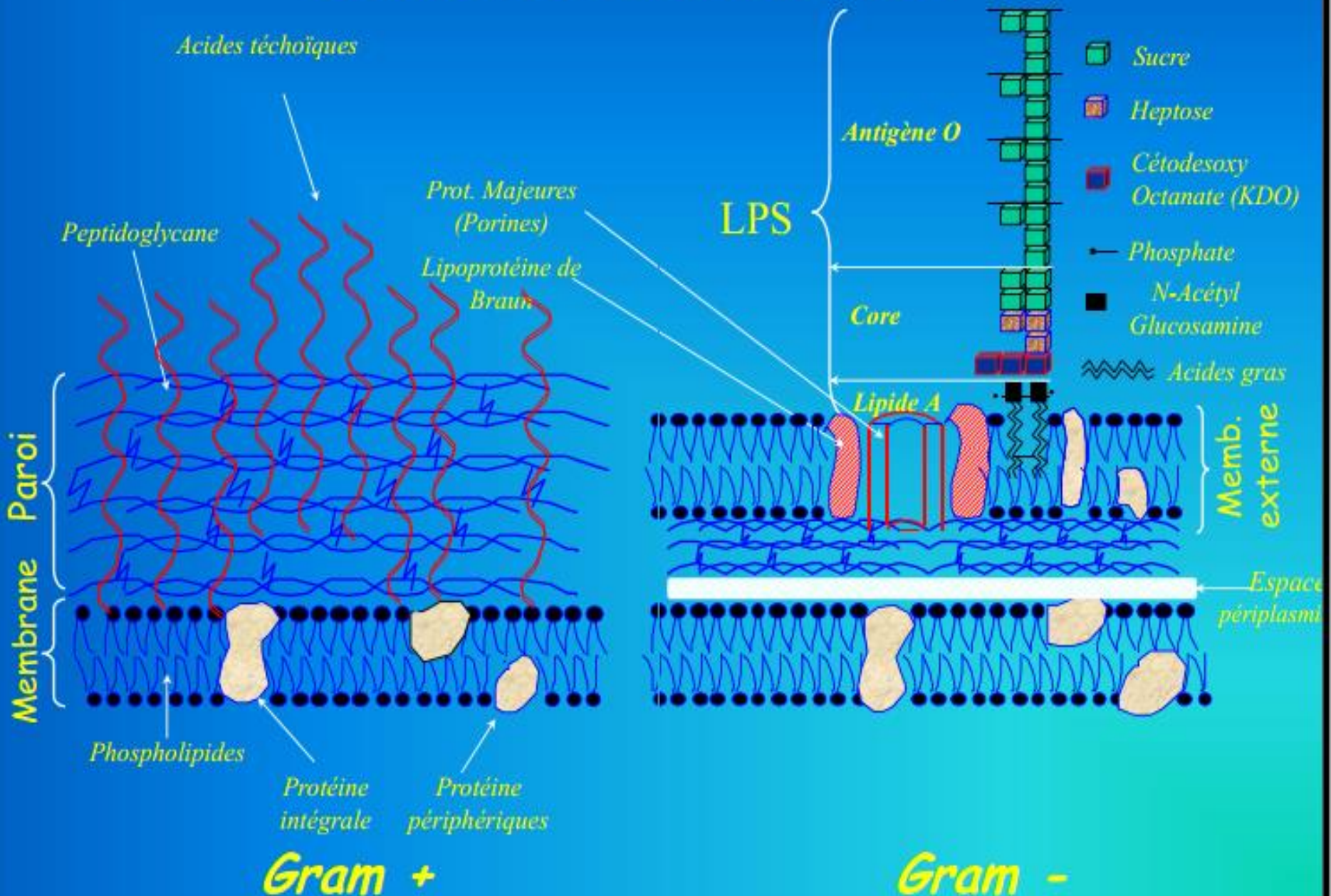
Le peptidoglycane.

R. Moreda Lycée Lacroix Narbonne





# Différences structurales entre les parois des bactéries Gram<sup>+</sup> et Gram<sup>-</sup>



### 3. Différences structurales entre les parois des bactéries Gram + et Gram -

En microscopie électronique:

Nette différence structurale entre les parois des bactéries Gram + et Gram -

Chez Gram + : paroi épaisse (15 à 80 nm), aspect homogène.

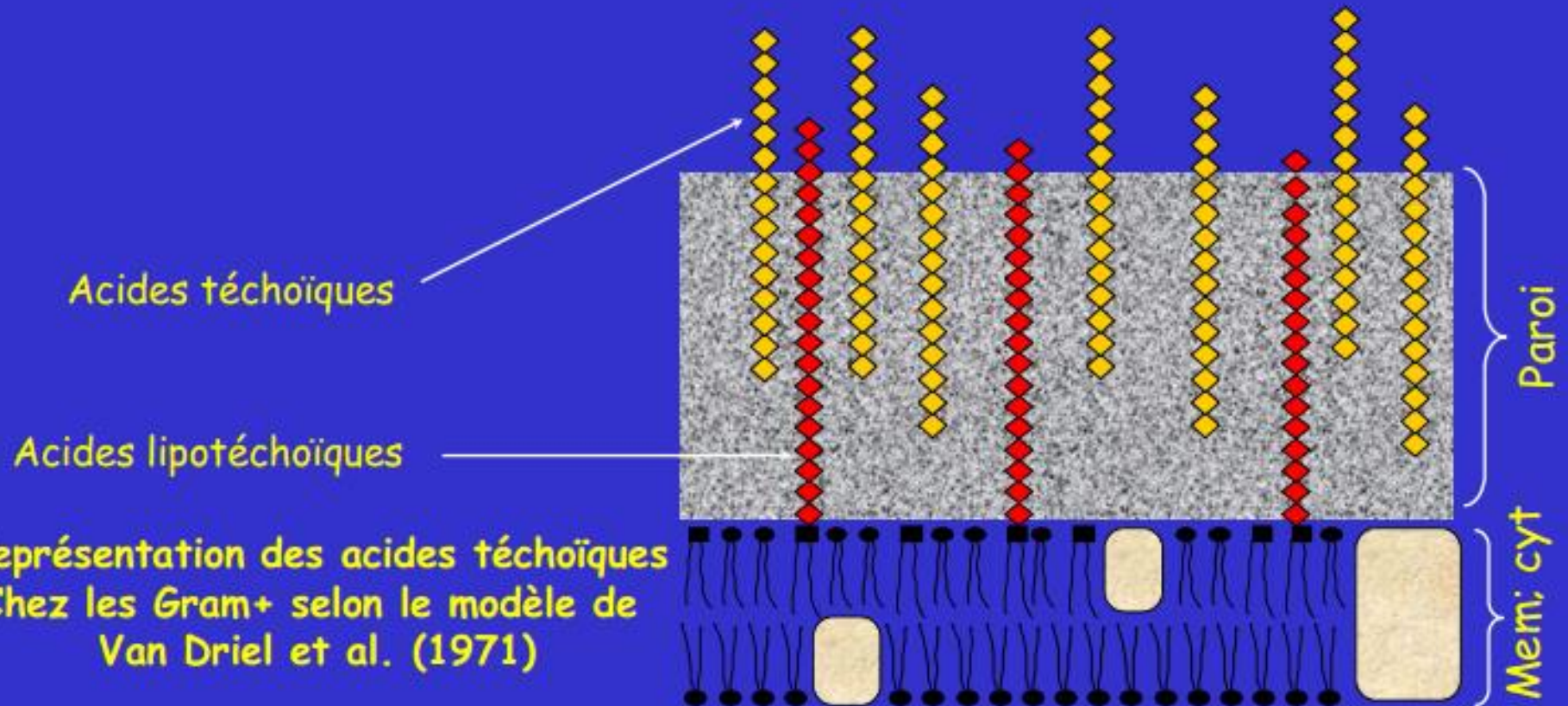
Chez Gram - : paroi fine (6 à 15 nm), aspect stratifié et hétérogène.



# PAROI DES GRAM POSITIF

Les acides teichoïques : deuxième composant essentiel de la paroi des bactéries Gram+ ( 50% du PS de la paroi et 10% du PS de la cellule totale).

Leur localisation exacte au niveau des enveloppes est mal connue.

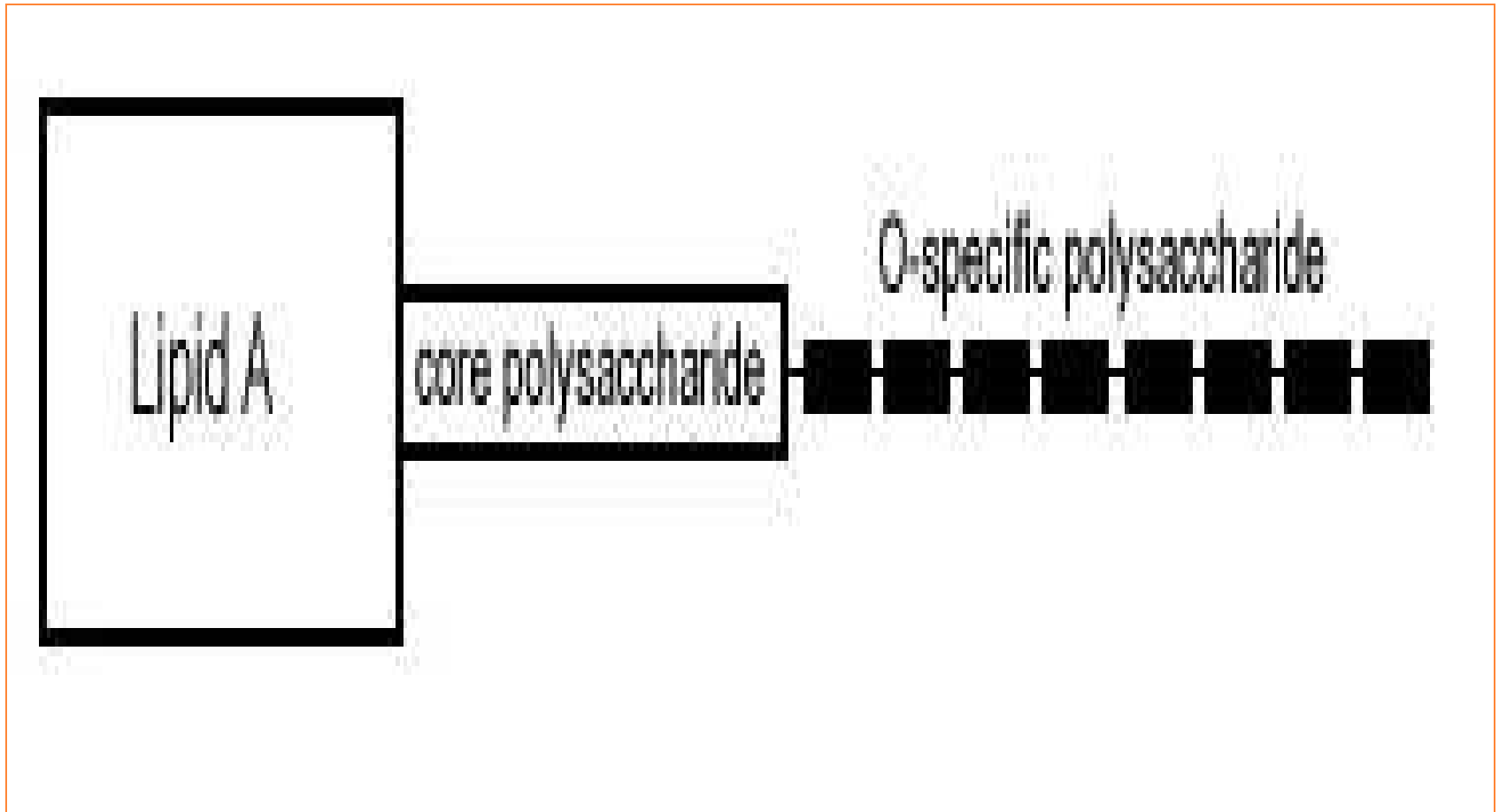




# Paroi des GRAM NEGATIF :

## 1- Membrane externe

- Elle est liée à la couche de peptidoglycane par la lipoprotéine de Braun.
- Elle est formée d'une bicouche dont seule la partie inférieure est phospholipidique. La partie supérieure est constituée de LPS (lipopolysaccharide). *Celui-ci comprend :*
  - **une partie lipidique (lipide A)** qui comporte une activité toxique
  - liée à un **polysaccharide central** (le « **core** »)
  - qui porte des chaînes de 3 à 6 sucres tournées vers l'extérieur (appelées « **l'antigène O** » car très antigénique)
- A cause du pouvoir toxique du lipide A, le **LPS** est appelé une « **endotoxine** ».



Mb externe des Gr-: le **LPS** (endotoxine = Ag O)

- Composé de 3 parties:

-Lipide A

-Polysaccharide central

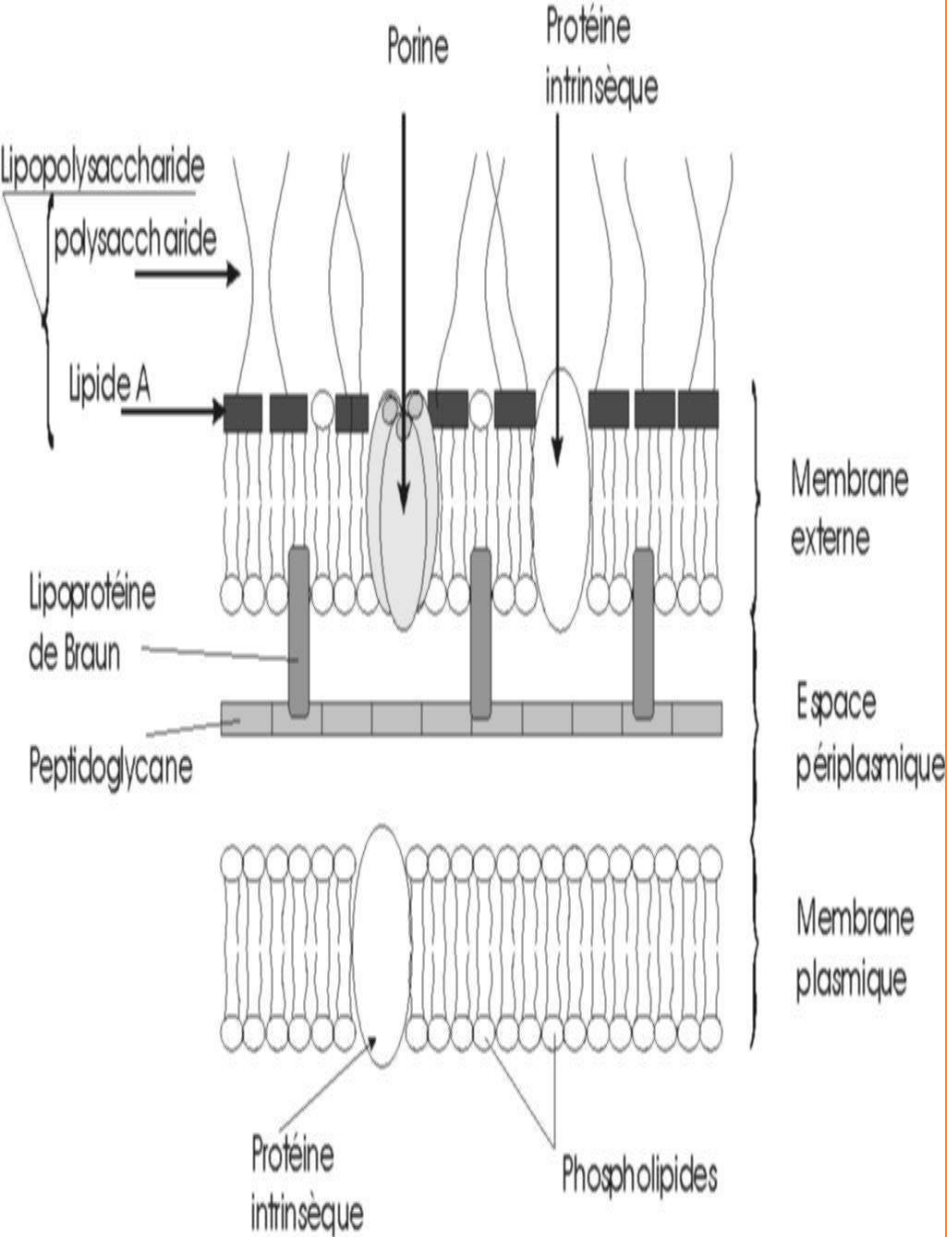
-Chaîne O



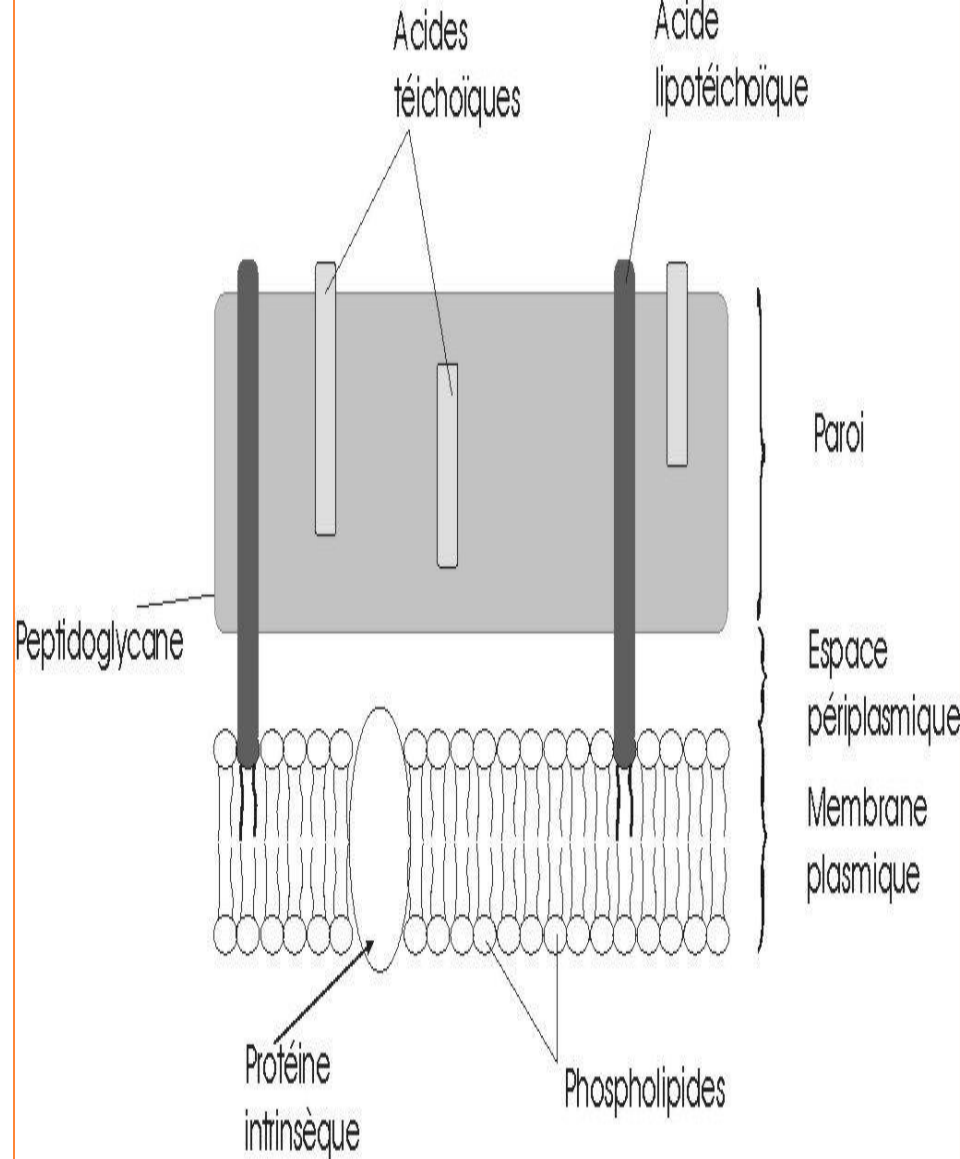
## 2- L'ESPACE PÉRIPLASMIQUE

- il 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 « exo-enzymes ».
- Certaines protéines peuvent être impliqués dans la chimiotaxie





Paroi d'une bactérie Gram négatif.



Paroi d'une bactérie Gram positif.

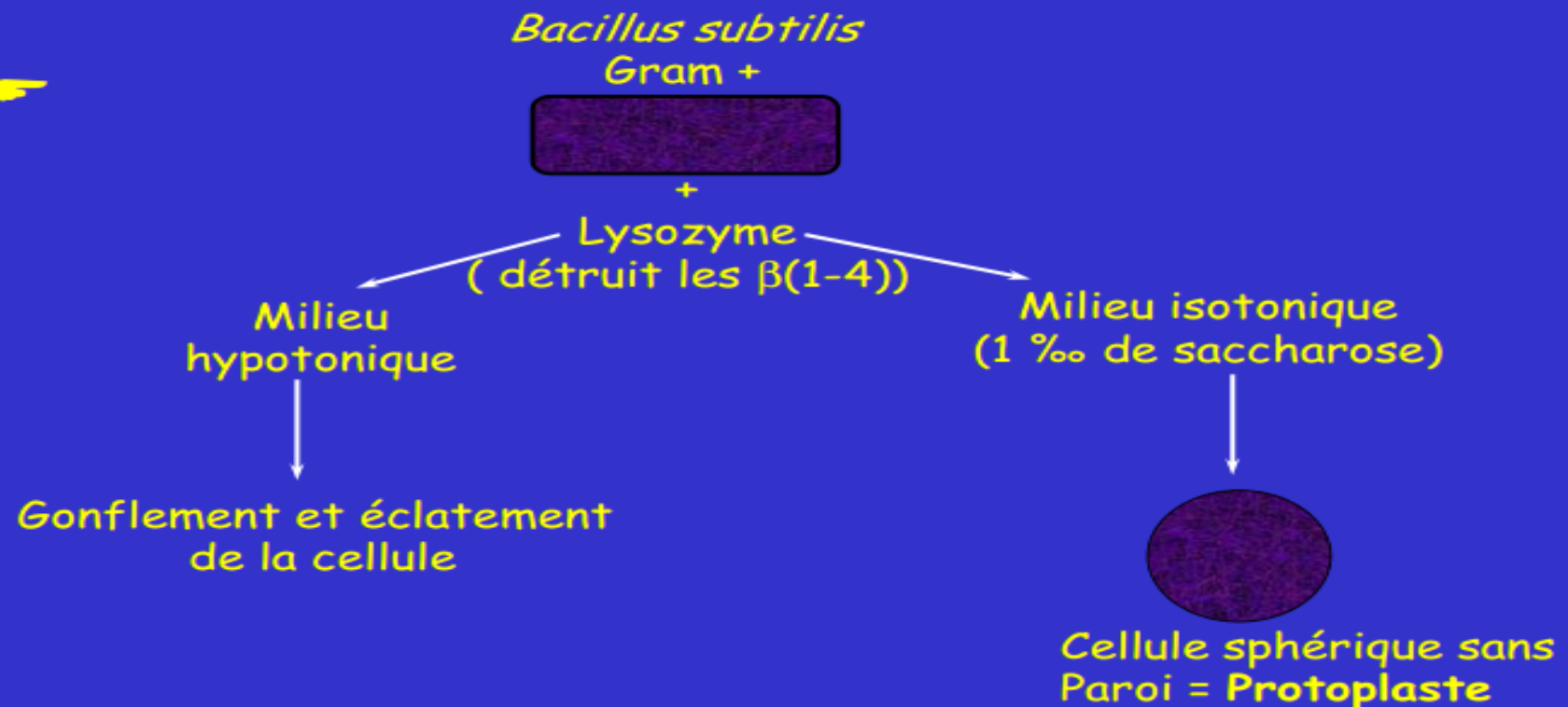
# COMPOSITION CHIMIQUE DE LA PAROI

	Gram+	Gram-
Peptidoglycane	++	+
Acides aminés	24 à 35%	50%
Nombre des acides aminés	4 à 10	16-17
Acides téichoïques	+++	-
Oses	20-60%	20-60%
lipides	1 à 2.5%	10 à 22%

# FONCTIONS DE LA PAROI

La paroi bactérienne confère à la bactérie plusieurs «originalités»:

A- Maintien de la forme et la résistance à la pression osmotique,



*NB. le protoplaste a perdu ses propriétés antigéniques, ne fixe plus les bactériophages et ne se divise plus*

*Régénération*



*Escherichia coli*  
Gram -



+

Lyzosyme  
(détruit les  $\beta(1-4)$ )

Milieu  
hypotonique



Gonflement et éclatement  
de la cellule

Milieu isotonique  
(1 ‰ de saccharose)

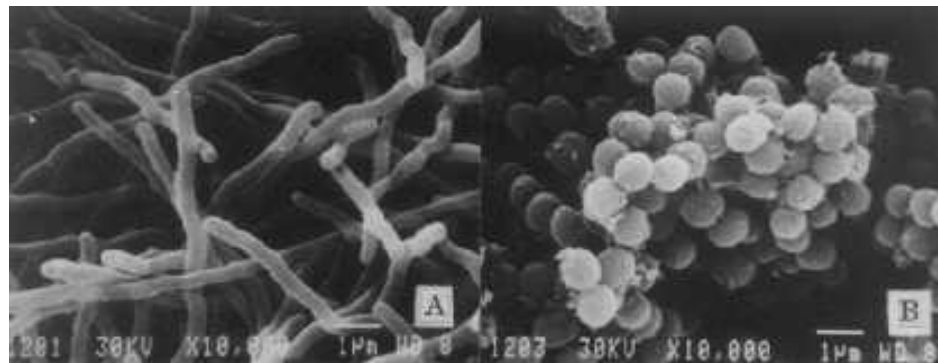


Cellule sphérique avec fragments  
de paroi = **Sphéroplaste**

*NB. le sphéroplaste conserve toutes les propriétés de la cellule initiale.*

# Bactéries en forme L

- Ce sont des bactéries qui ont une paroi anormale;
- Ce sont des bactéries polymorphes à gram négatif;
- Lorsque le peptidoglycane est altéré ou absent, la paroi bactérienne perd sa rigidité et la bactérie tend à se lyser en raison de la forte pression osmotique intracytoplasmique;
- la bactérie peut survivre en milieu hypertonique. Elle prend alors une forme L;
- Les bactéries dépourvues d'enveloppes extérieures sont les « formes L » et les protoplastes, suite à l'action des antibiotiques ( $\beta$ -lactamines).



## B- PROPRIÉTÉS ANTIGÉNIQUES:

**Les bactéries possèdent différents antigènes:**


- ✓ antigène commun dénommé **ECA** (pour Enterobacterial Commun Antigen)
- ✓ antigène **O** ou somatique chez les Gram (-)
- ✓ antigène **R** correspond au polysaccharides de la core centrale (moins pathogène)



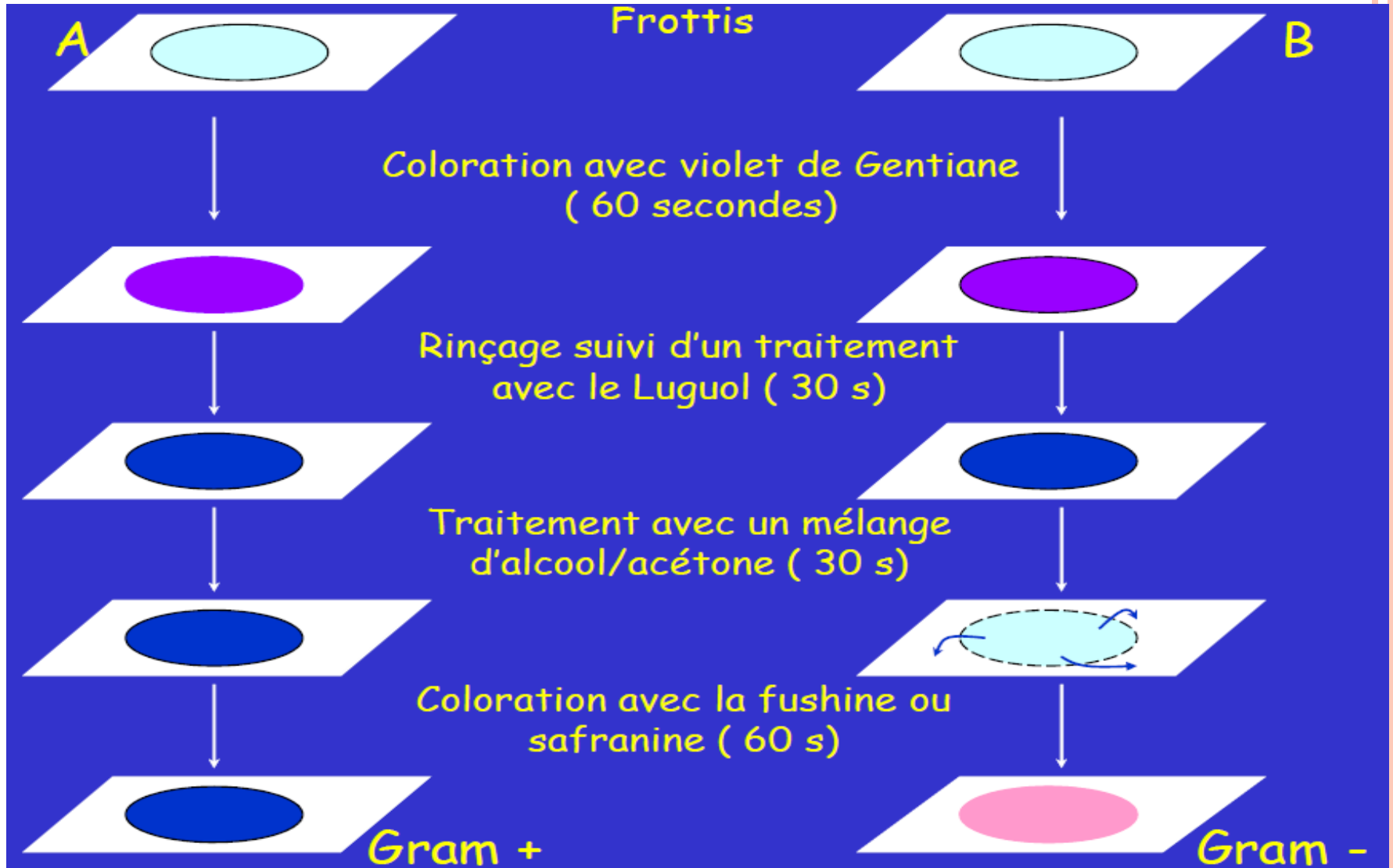
## C- Fixation des bactériophages (identifier des lysotypes)

- ✓ Propriété liée à la paroi où sont localisés les récepteurs spécifiques
- ✓ Chez les bactéries Gram (-), les récepteurs sont en majorité des protéines mineurs de la membrane externe
- ✓ Chez les bactéries Gram (+), récepteurs localisées au niveau des acides teichoïques
- ✓ Fixation des phages est une propriété pour identifier des lysotypes

**N.B:** Un **lysotype** est groupe de bactéries capables de fixer le ou les mêmes phages

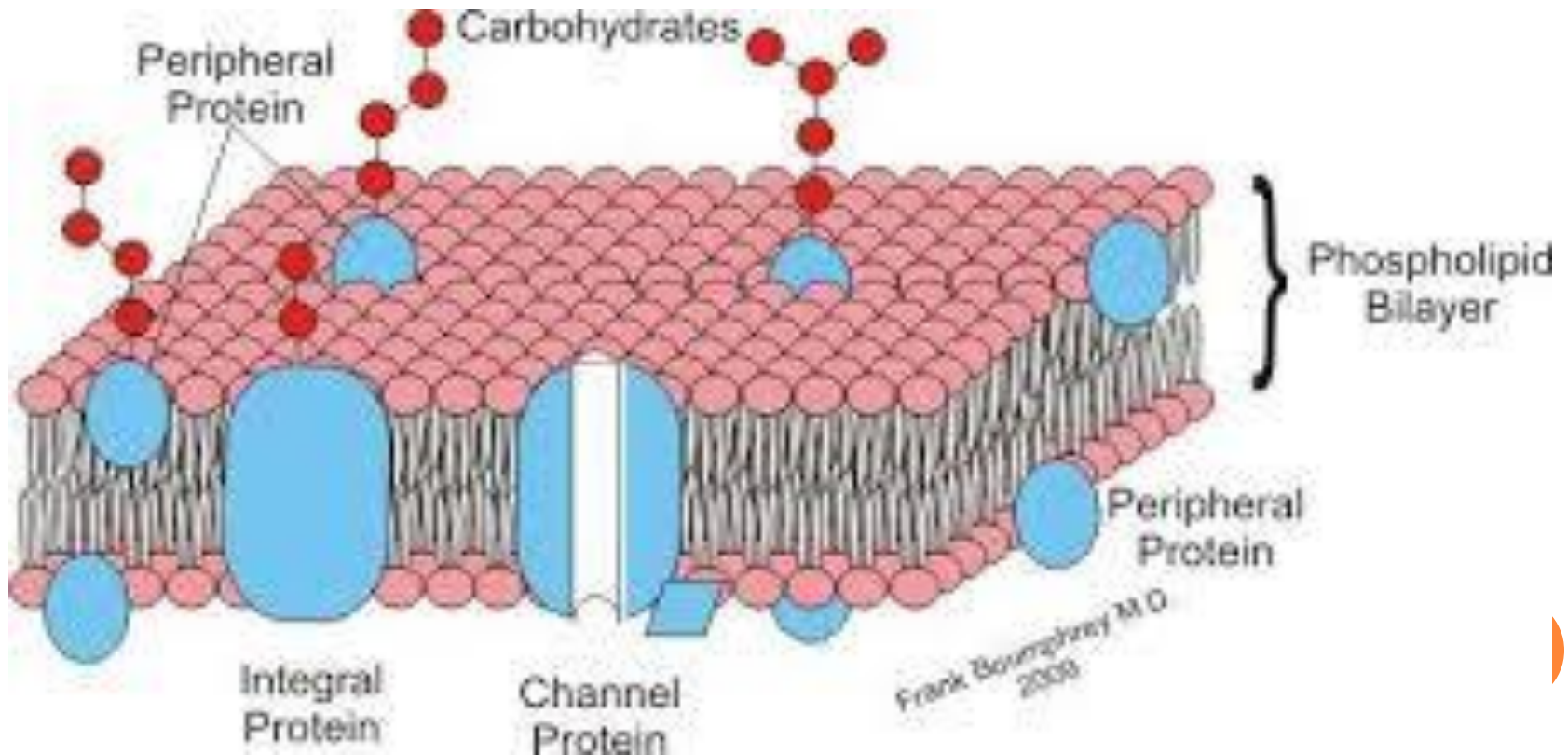


## D- rôle de la paroi dans la différentiation entre bactéries Gram<sup>+</sup> et Gram<sup>-</sup>



# MEMBRANE CYTOPLASMIQUE

C'est une membrane trilamellaire formée d'une double couche de phospholipides dont les pôles hydrophobes sont face à face, associée à des protéines.





# COMPOSITION CHIMIQUE

## **Les phospholipides (30 à 40%)**

- Phosphatidyl -glycérol
- Phosphatidyl-éthanolamines

## **• Les glucides (2 à 12%)**

- Particulièrement glucose et glucosamine

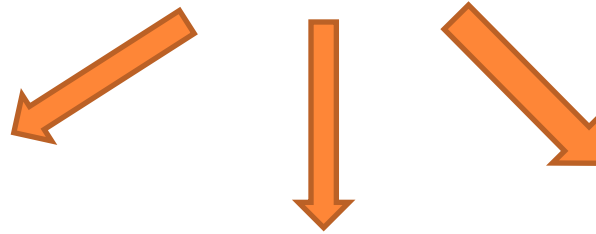
## **• Les protéines (60 à 70%)**

- Protéines extrinsèques (périphériques)
- Protéines intrinsèques (intégrales)

## **• Les enzymes**

- Enzymes de la chaîne respiratoire  
déshydrogénases et  
coenzymes associés au  
NAD, FAD, cytochrome  
oxydase

# ROLES DE LA MEMBRANE



**Fonction  
respiratoire**



**Par transport  
d'électrons et de  
phosphorylation  
oxydative pour les  
bactéries aérobies**

**Excrétion  
d'enzymes  
hydrolytiques**

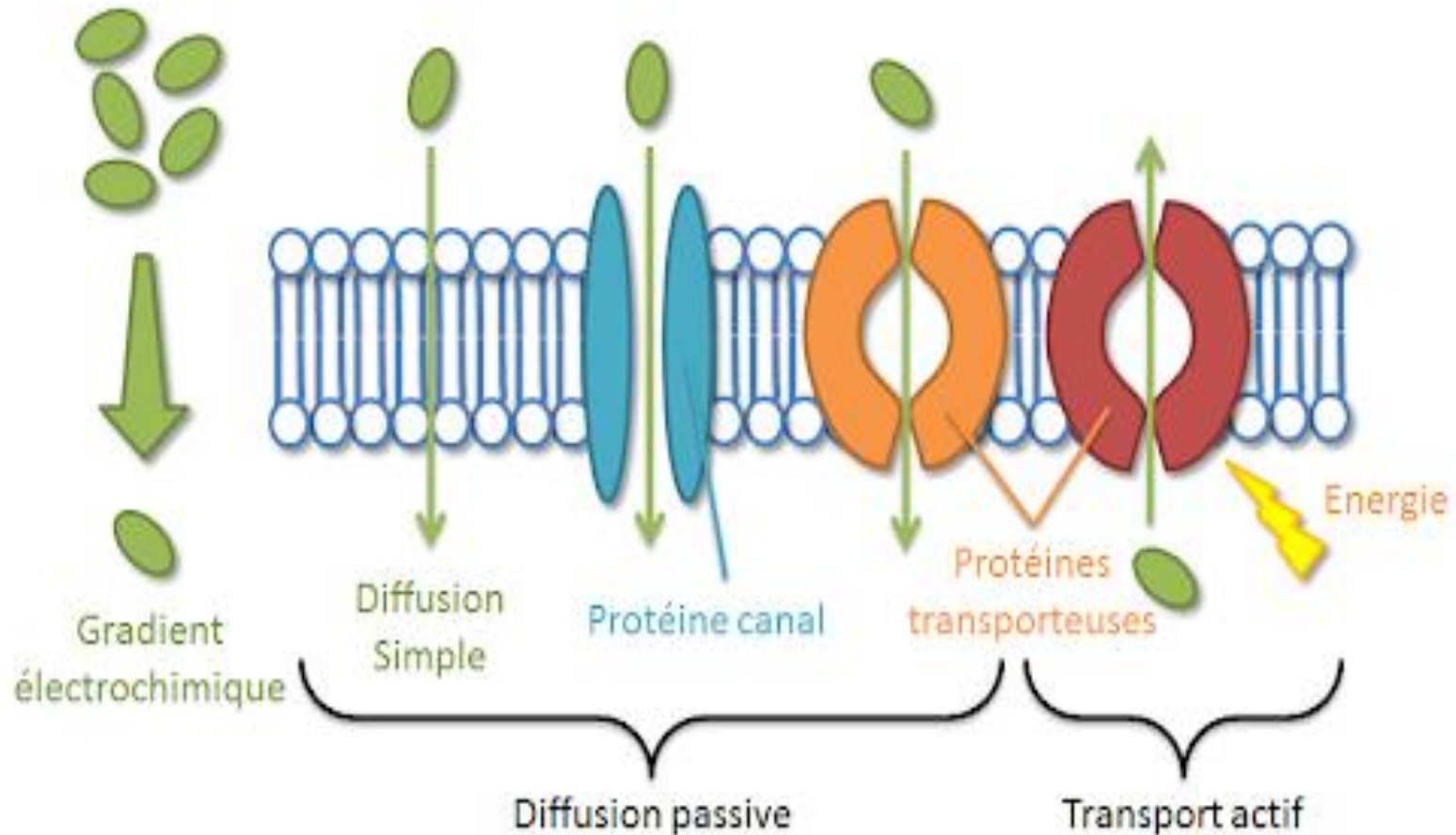
**Perméabilité  
sélective et  
transport des  
substances solubles**



**Rôle de barrière  
osmotique et de  
transport grâce  
aux perméases.**



# LE TRANSPORT MEMBRANAIRE



**Petites molécules  
sucres A. aminés et  
certains ions**

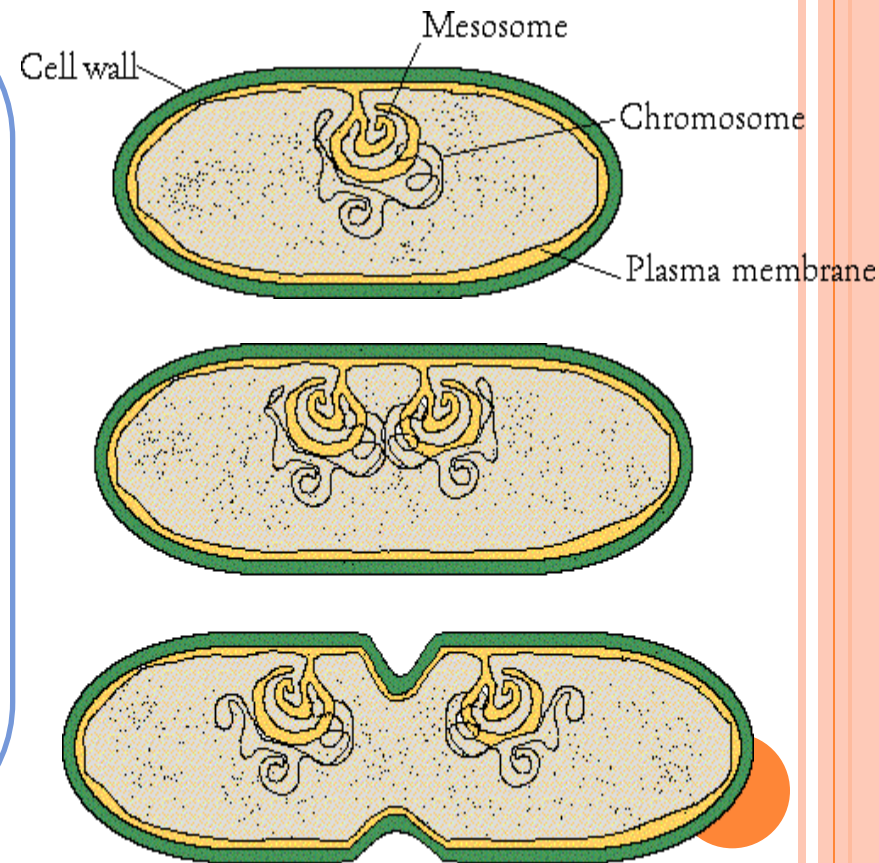


# LES MÉSOSOMES

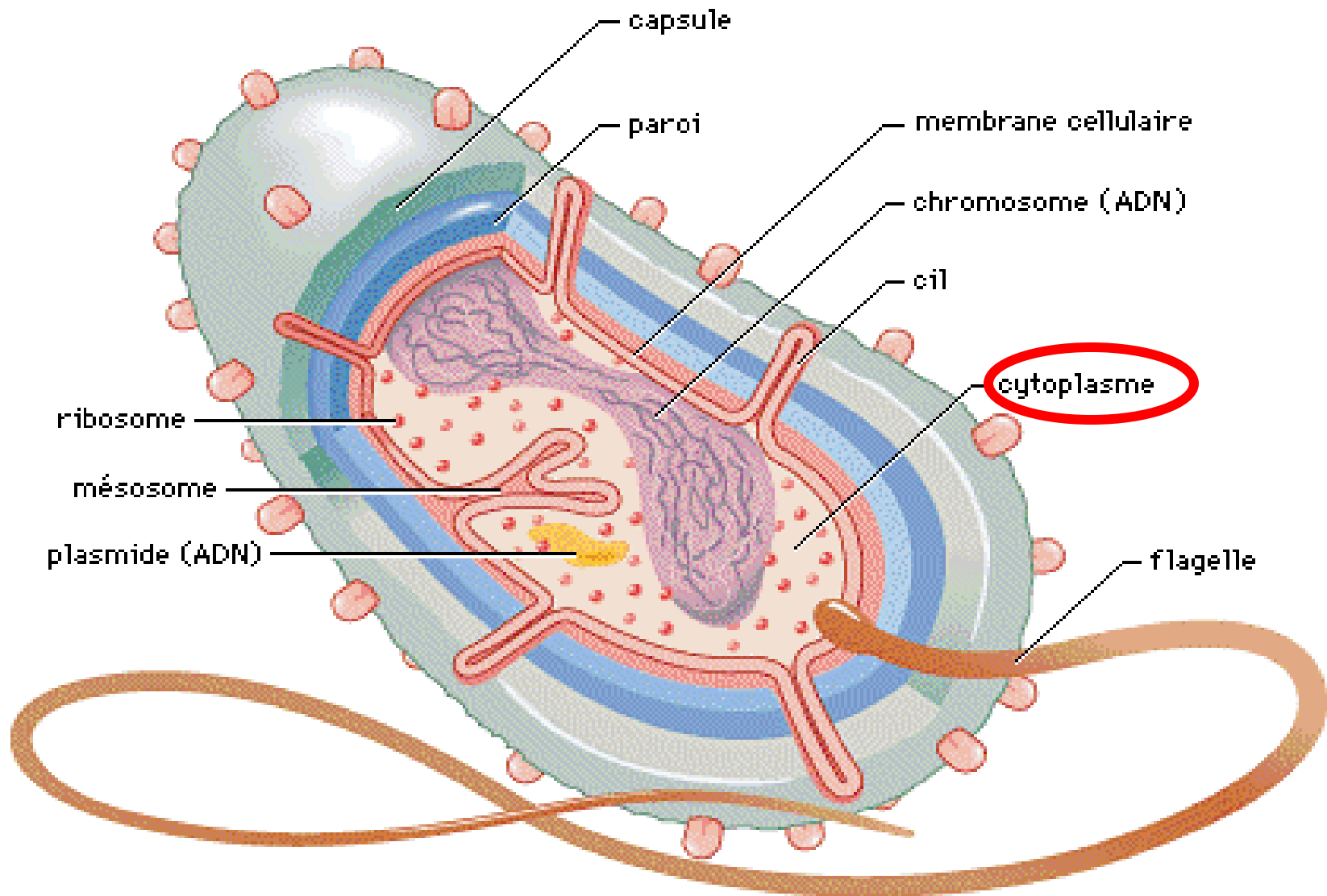
Les **mésosomes** sont des invaginations de la membrane plasmique en forme de vésicule, de tube ou de lamelle

## Rôles

- Rôle incertain dans la respiration
- Division cellulaire
- Réplication de l'ADN vue que ce dernier est toujours lié au mésosome



# LE CYTOPLASME



# Caractéristiques et composition

Son pH est situé entre 7 et 7,2.

Hydrogel colloïdal composé d'une solution de sels minéraux et de composés solubles de nature lipoprotéique, de nucléoprotéines et de lipides

Les principaux constituants du cytoplasme

Les ribosomes et  
les acides ribonucléiques

Substances de réserve

Certains organites spécialisés

Matériel héréditaire





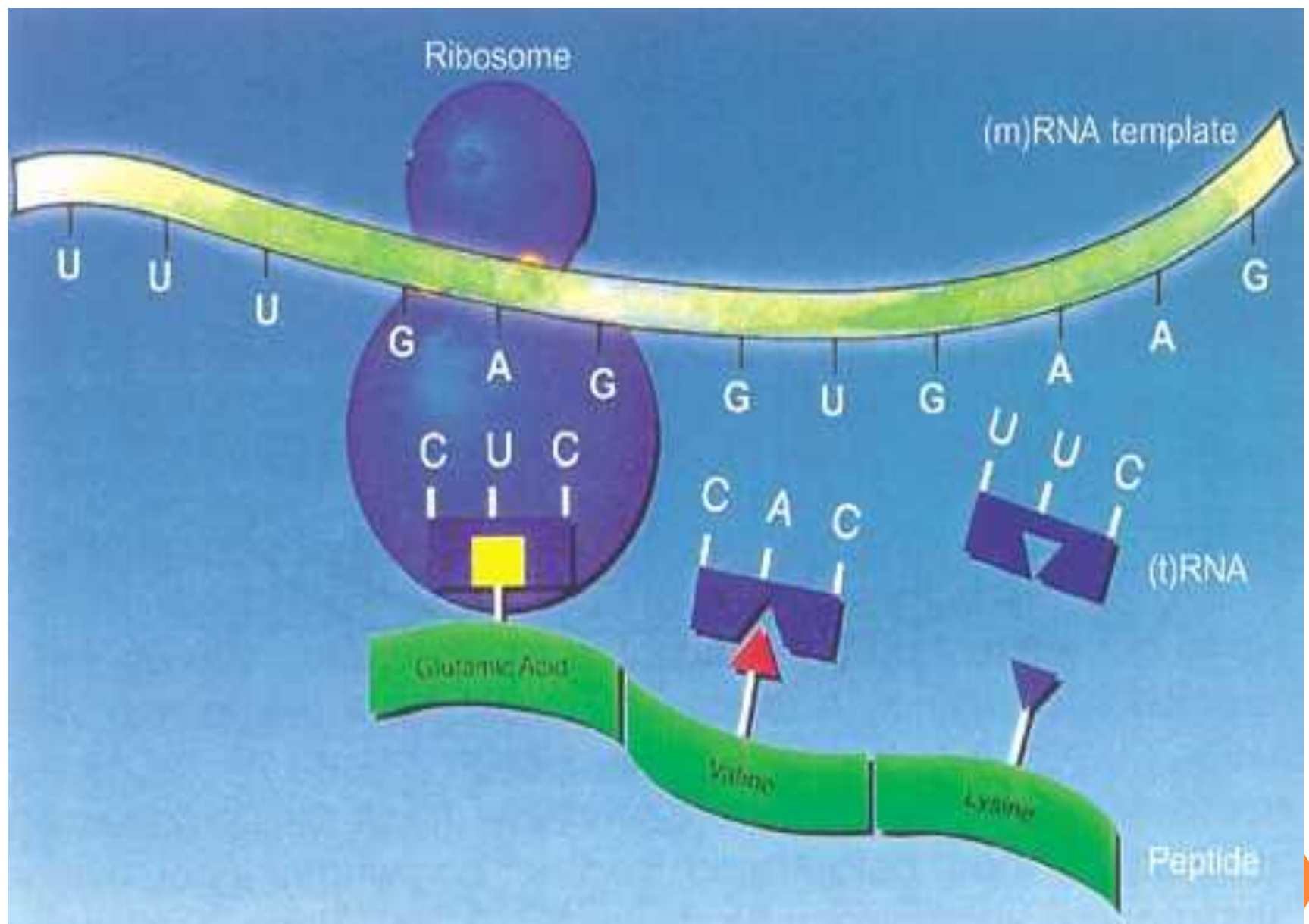
- La structure du cytoplasme bactérien est beaucoup **plus simple** que celle du cytoplasme des cellules eucaryotes.
- Le cytoplasme **ne contient pas en effet de mitochondries** : les enzymes transporteurs d'électrons sont localisés dans la membrane cytoplasmique.
- En revanche, il est particulièrement **riche en ARN solubles** (ARN messenger et ARN de transfert) et **surtout en ARN particulaire ou ribosomal.**



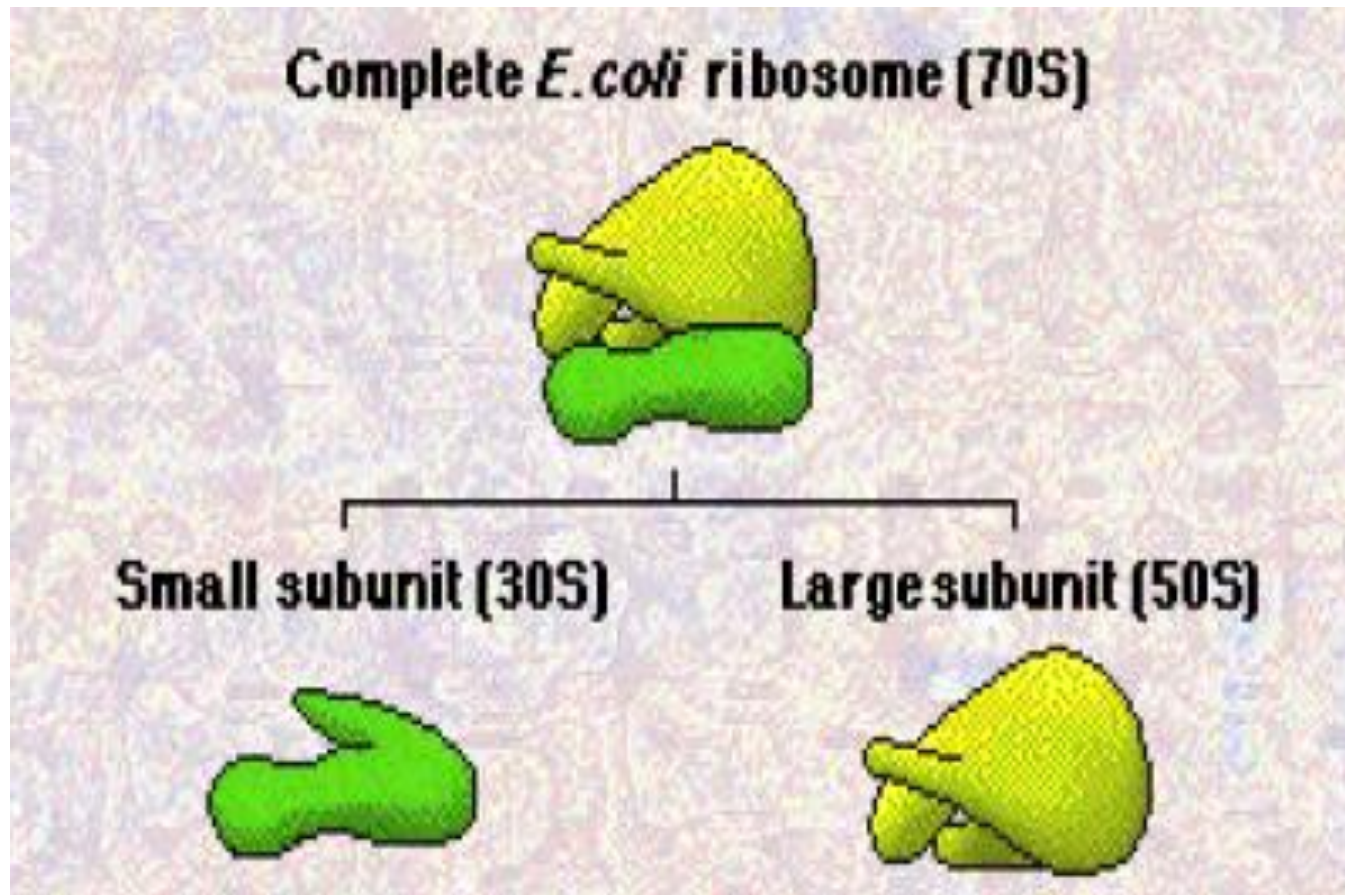
## A- LES RIBOSOMES

- Les ribosomes, au nombre de 15000 environ par bactérie, représentent 40 % du poids sec de la bactérie
- Ils sont de petites granulations sphériques de 10 à 30 nm de diamètres occupant tout le cytoplasme
- Ils sont constitués d'ARN (63%) et de protéines (37%).
- Il interviennent dans la synthèse des protéines.
- Ils sont associés en chapelets sur l'ARNm sous forme de polysomes.






- Chez les bactéries, les ribosomes ont des coefficients de sédimentation de 70s, qui sont composés de deux sous-unités de 50s et 30s.



## **B-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,
    - ✓ des minéraux (fer, soufre)
    - ✓ Granulations métachromatiques (*Corynebacterium diphterieae*)
- 

- ✓ Inclusions de —————> Soufre chez les thiobactéries
- > Fer chez les sidérobactéries
- > Oxyde de fer chez les bactéries magnétiques





## C- Organites spécialisés

- **Les chromatophores** (organites spécialisés dans la photosynthèse),
- **Les vacuoles à gaz** (permettant aux bactéries aquatiques de flotter à la surface de l'eau).

## D- Pigments

Sont des molécules colorées, On trouve

- **Des bactériochlorophylles** (couleur verte)
- **Des caroténoïdes** (couleur jaune de l'espèce *Staphylococcus aureus*)



## E- MATÉRIEL HÉRÉDITAIRE

- Les bactéries possèdent un appareil nucléaire formé d'acide désoxyribonucléique qui se différencie des noyaux vrais des cellules eucaryotes par:
  - ✓ l'absence de mitose,
  - ✓ l'absence de nucléole
  - ✓ l'absence de membrane nucléaire.



## E1- Le Chromosome bactérien

### Morphologie et structure

- La majorité des bactéries possèdent un chromosome formé d'une double chaîne d'ADN, très longue (environ 1000 fois plus longue que la bactérie), unique, circulaire (à l'exception de *Vibrio cholerae* qui en possède deux).
- $PM = 3.10^9$  da avec environ  $5.10^6$  paires de bases
- Dans la cellule, la molécule d'ADN est formée de boucles resserrés et finement entrelacées, donnant une structure compacte mais fragile: **nucléotide**

## *Rôles du chromosome bactérien*

- Il est le support des caractères héréditaires, de l'information génétique.
- Il va se répliquer à l'identique pour que une cellule fille hérite du même potentiel génétique que la cellule mère
- Par le processus de la transcription, le message est copié fidèlement sous forme d'un ARN messenger puis exprimé, par le processus de la traduction, en séquences polypeptidiques qui formeront les protéines de structure et les enzymes



**L'information  
génétique au niveau de  
l'ADN peut changer  
spontanément (faible  
fréquence) ou  
artificiellement par  
mutagénèse**

Agents chimiques  
(acide nitreux)

Physique (UV)

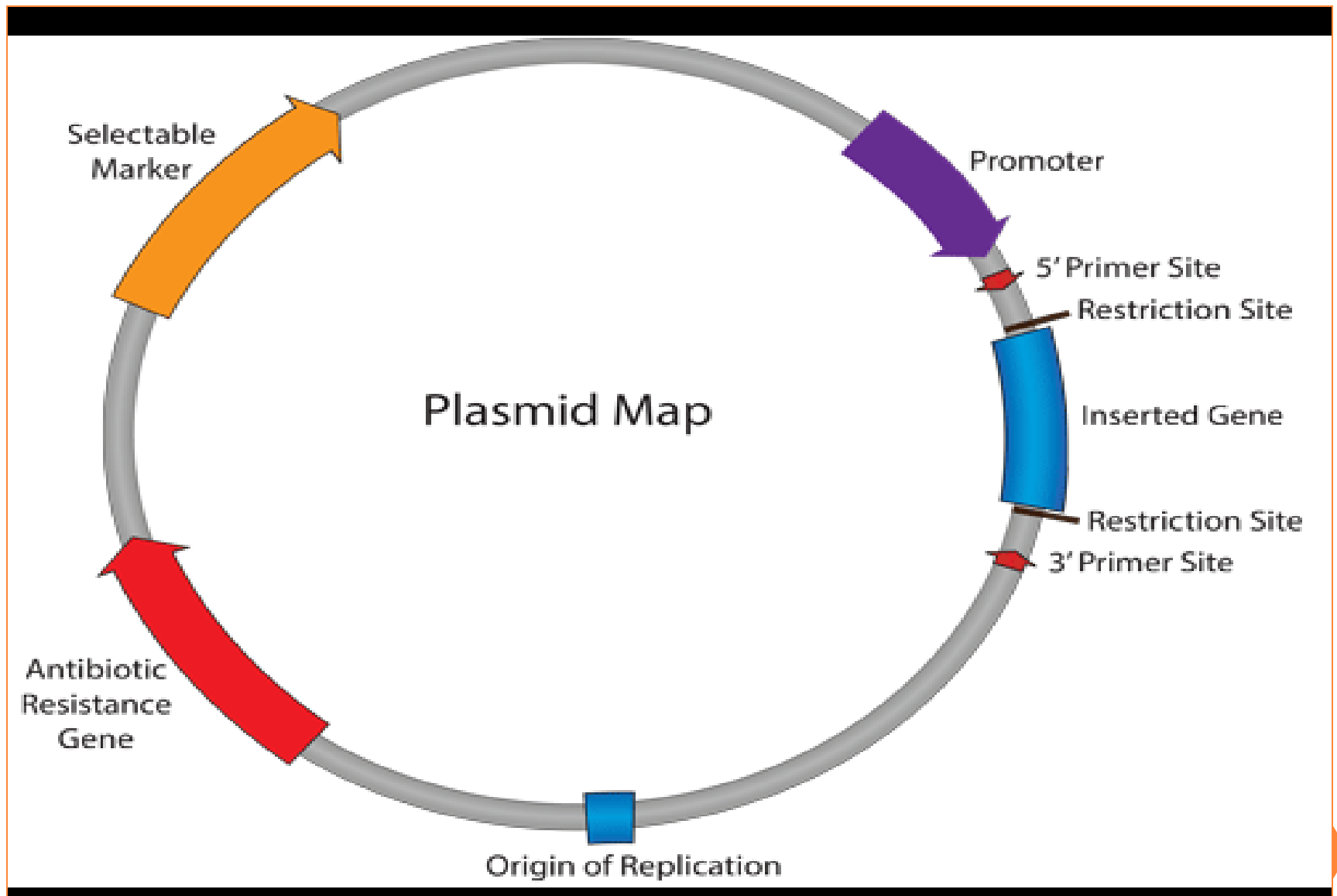


## E2- PLASMIDES

- éléments génétiques extra chromosomiques, capables d'autoréplication.
- Petite taille (1/100<sup>ème</sup> de la taille du chromosome)
- Ils portent très peu de gènes, moins de 30.
- Structure torsadée (super enroulée)
- Certaines bactéries possèdent plusieurs plasmides différents
- Certains plasmides peuvent s'intégrer au chromosome bactérien : on les appelle des **épisomes**.
- Ils sont transmissibles aux cours des générations mais pas de façon équitable comme pour le chromosome.
- La perte d'un plasmide est dite **curage**.







## **Rôles des plasmides (Propriétés )**

- Les plasmides permettent à la bactérie une meilleure adaptation à son environnement
- Résistance aux antibiotiques (90% plasmidique, les 10% restant chromosomique).
- Résistance aux métaux lourds (mercure, sels de cadmium, de plomb...)
- intervention dans la production de substances à rôle pathogène.
- intervention dans la production de bactériocines
- Caractères métaboliques : un grand nombre de caractères biochimiques des bactéries sont d'origines plasmidiques.



## Remarque :

- Importance des plasmides portant des gènes de résistance aux antibiotiques dans l'augmentation des cas d'infections nosocomiales.
- Les plasmides sont des outils très utiles en génie génétique : on introduit dans une bactérie des gènes non bactériens portés par des plasmides, afin de lui faire acquérir de nouveaux caractères (exemples : synthèse d'insuline, d'hormone de croissance, vaccin...).



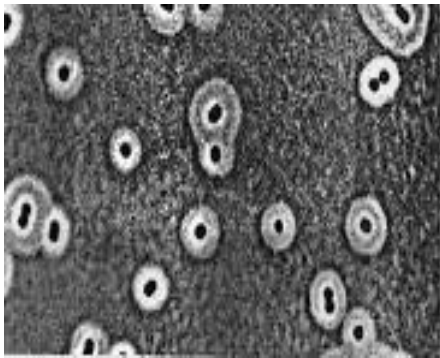
# Les éléments inconstants



# 1. LA CAPSULE

On appelle capsule l'enveloppe qui peut entourer la paroi de certaines bactéries. La capsule ne se forme que dans les milieux en seriques liquides ou dans les organismes vivants.

## Composition chimique



Capsule de *Streptococcus pneumoniae* visualisée à l'encre de Chine

nature  
polysaccharidique

nature  
protéique



# NATURE DE LA CAPSULE

Couche organique visqueuse souvent polyholosidique et quelque fois polypeptidique

- Polyholosidique chez les Gram – (*E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*)
- Polypeptidique chez les Gram + (*Bacillus anthracis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*)





# ROLES DE LA CAPSULE

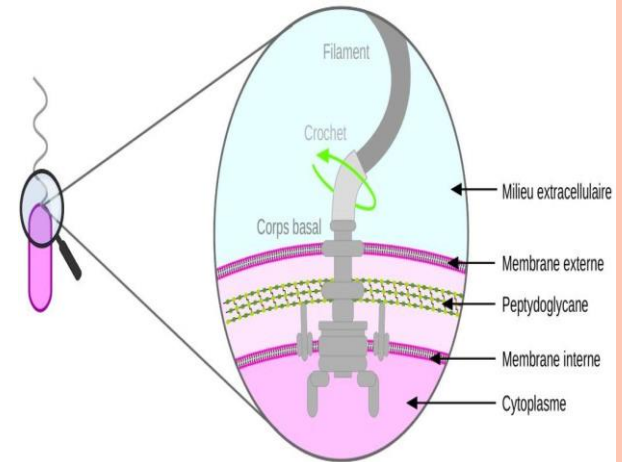
Facteur de résistance et de virulence

- protègent la bactérie contre la phagocytose et contre le pouvoir agressif des agents chimiques et physiques
- Role antigénique . Les antigènes capsulaires sont dénommés antigène K
- Empêche la fixation des bactériophage sur la bactérie
- Action d'adhérence
- Protège la bactérie contre la dessiccation



## 2. LES FLAGELLES OU CILS

Ce sont de fins fils ondulés (appendices filamenteux) insérés au corps bactérien. Cils, ou flagelles, sont des structures inconstantes chez les bactéries. Ils constituent les organes de locomotion pour les bactéries qui en possèdent

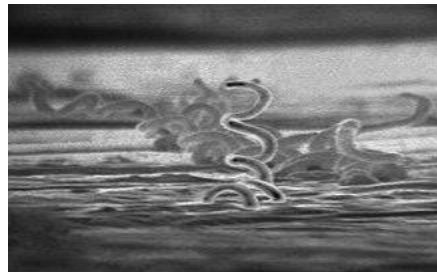


### Les bactéries mobiles se déplacent

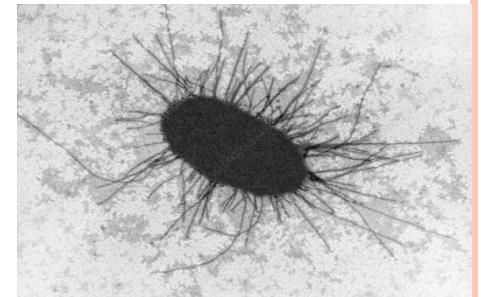
Glissement  
(cyanobactéries)



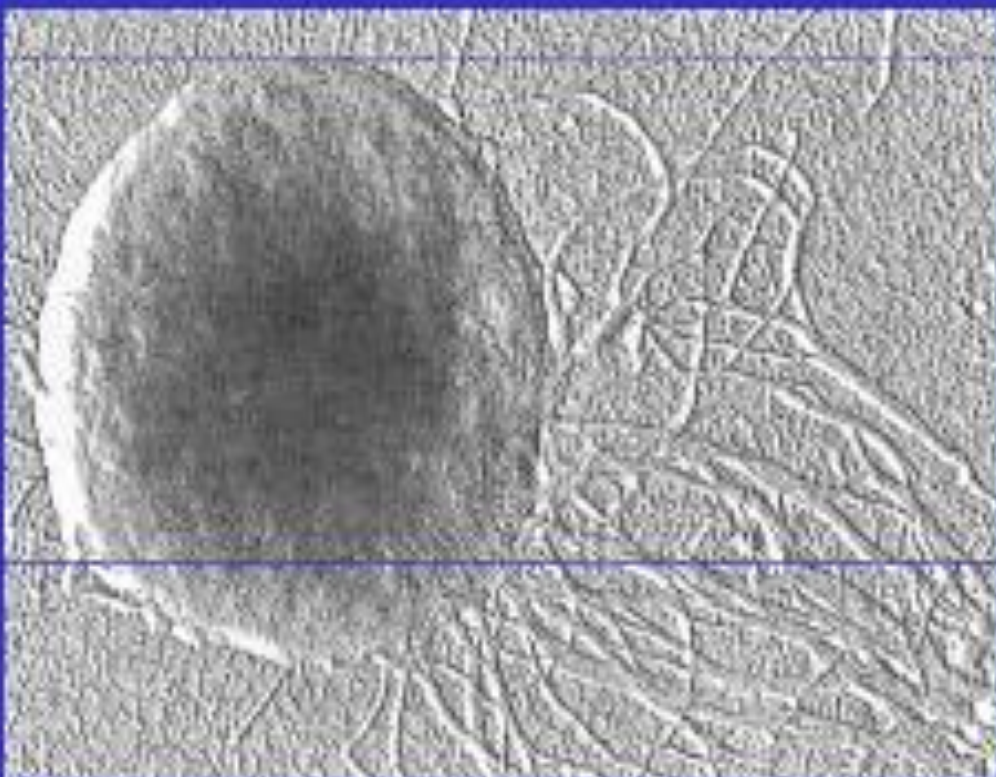
Rotation autour  
d'un axe central  
(spirochètes)



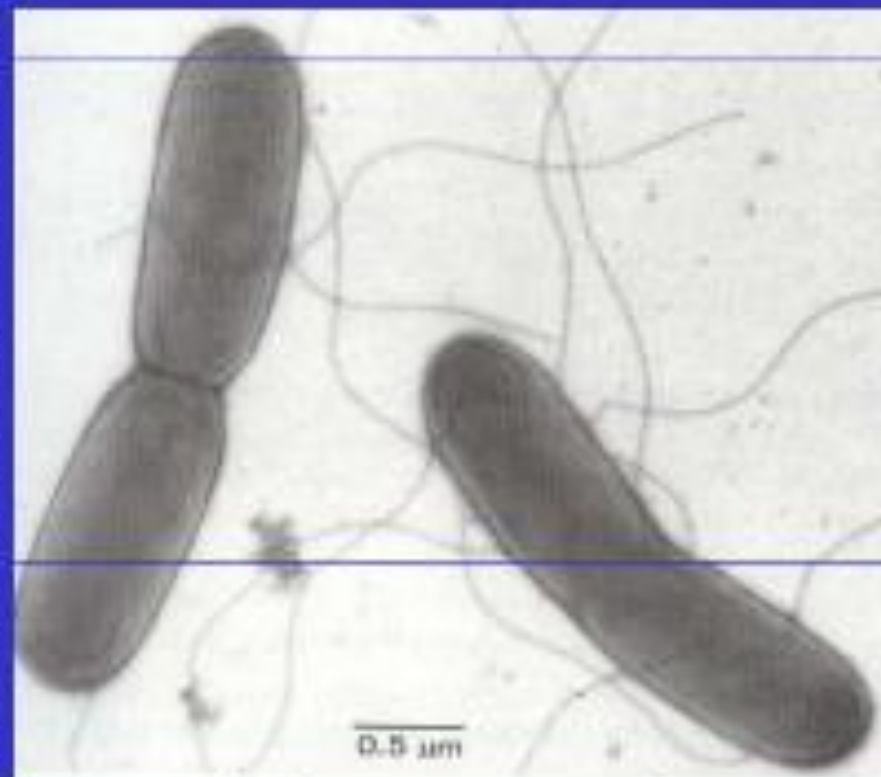
Cils ou flagelles



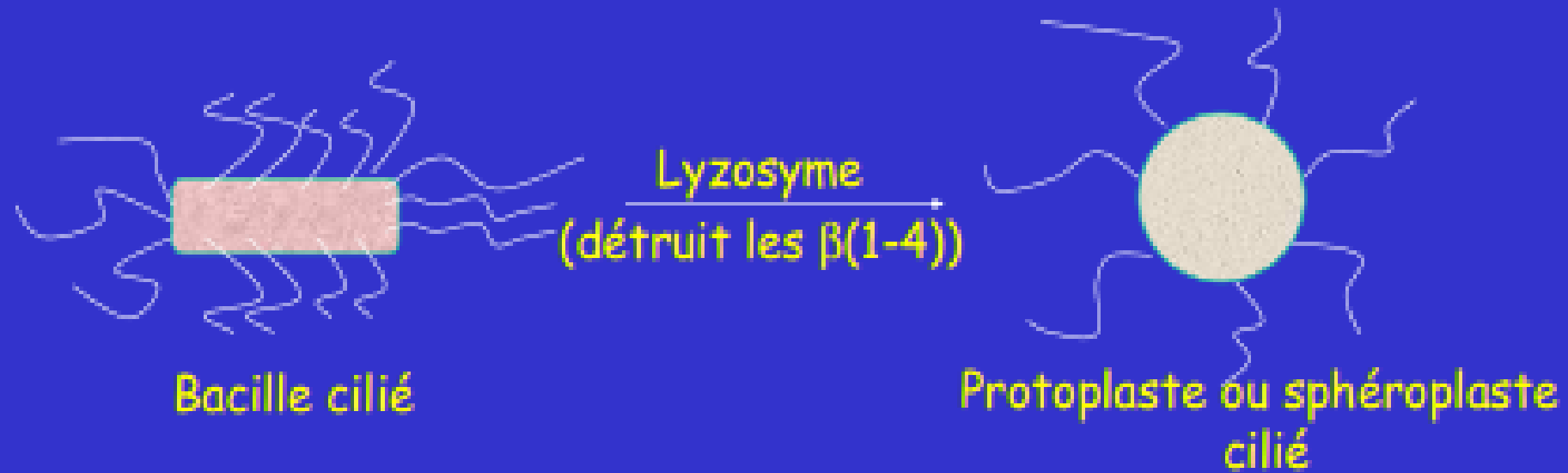
En microscopie électronique, ils apparaissent sous forme d'organites simples, filamenteux, sinueux, généralement plus long que la bactérie elle-même, de l'ordre de 6 à 20  $\mu\text{m}$ .



*Methanococcus jannaschii*



*Alcaligenes eutrophus*

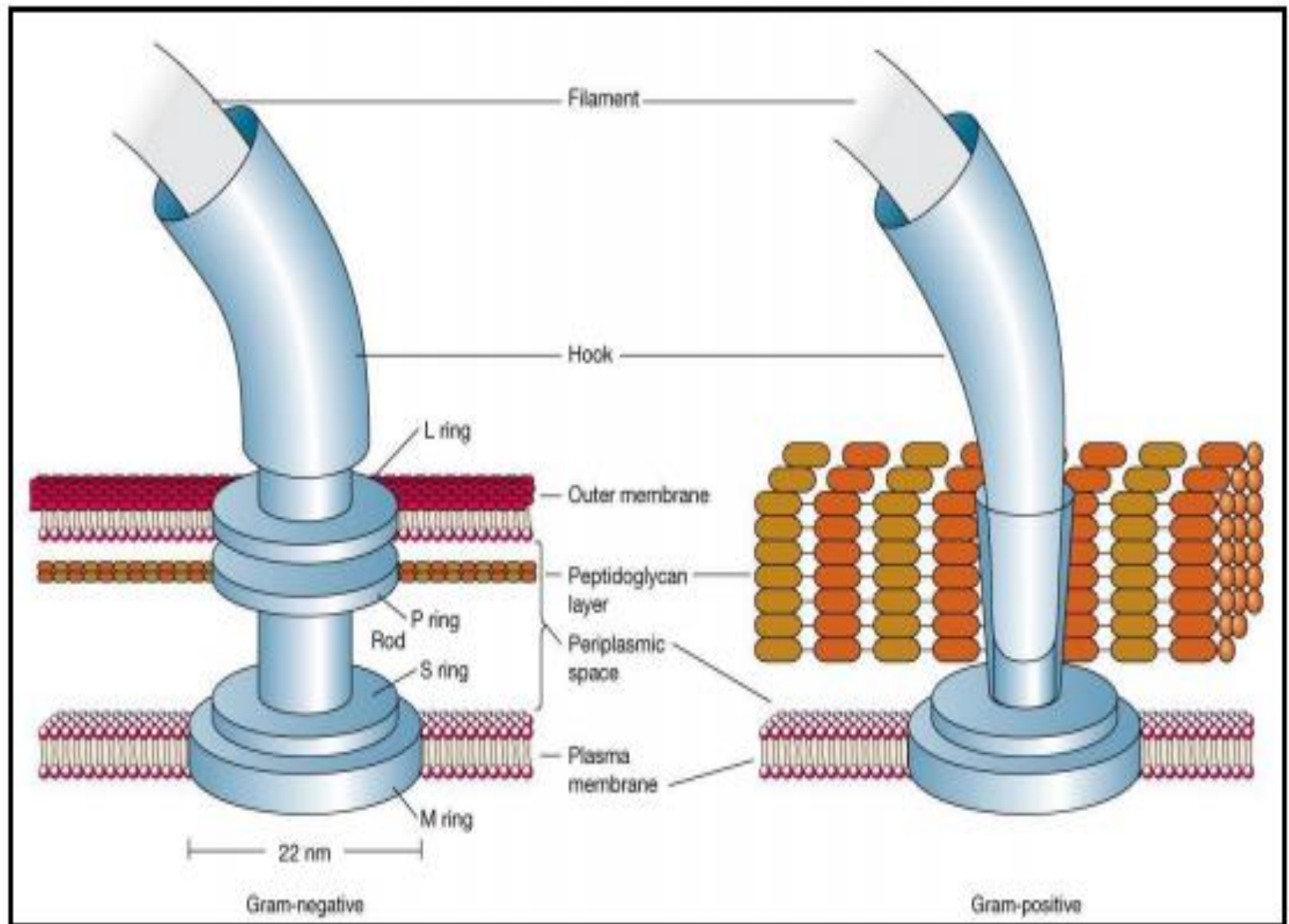


✓ Origine du cil est au niveau du cytoplasme et non pas la paroi.

✓ Microscopie électronique montre que le flagelle traverse la paroi et prend racine dans le cytoplasme au niveau d'un granule basal de structure complexe, lié à l'enveloppe bactérienne.

☛ Ce corps basal comprend deux anneaux protéiques, le plus interne est lié à la membrane cytoplasmique, le plus externe visible surtout chez les bactéries Gram<sup>-</sup>, est lié aux LPS et au peptidoglycane.



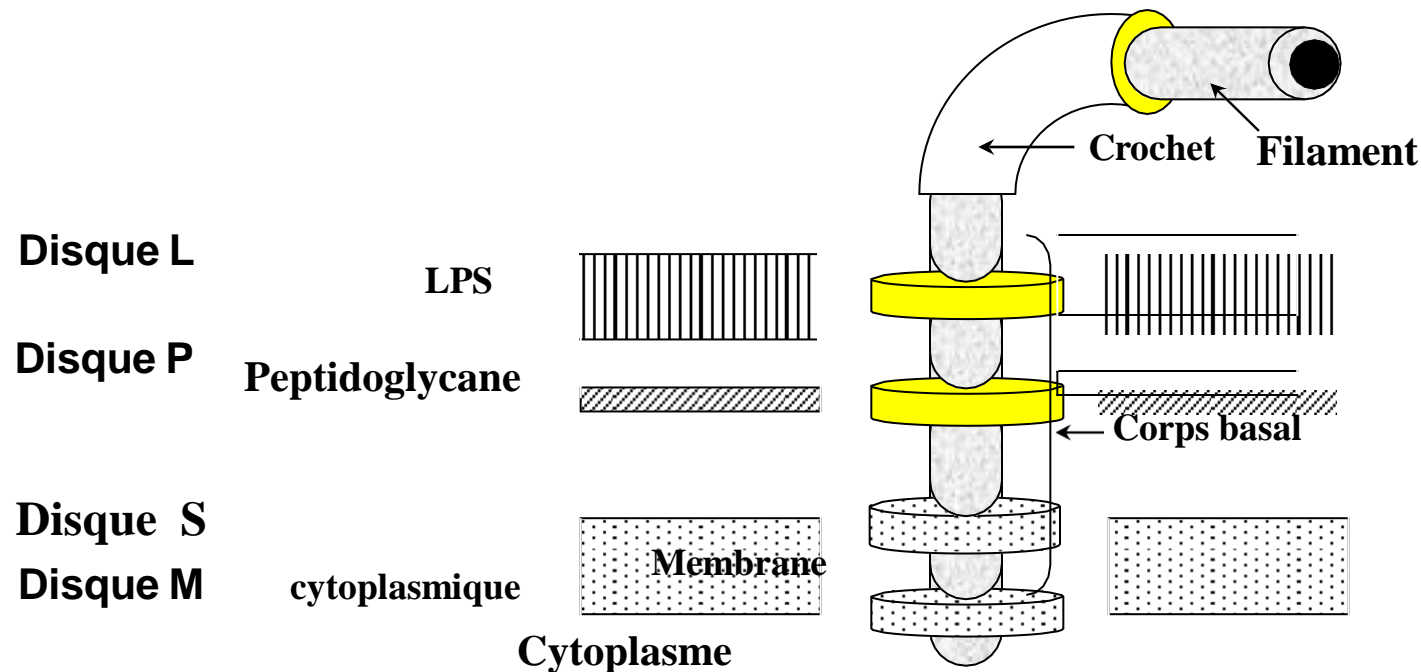


**Structure du flagelle de bactéries Gram négatives et positives**

# STRUCTURE

Les flagelles sont constitués de trois parties:

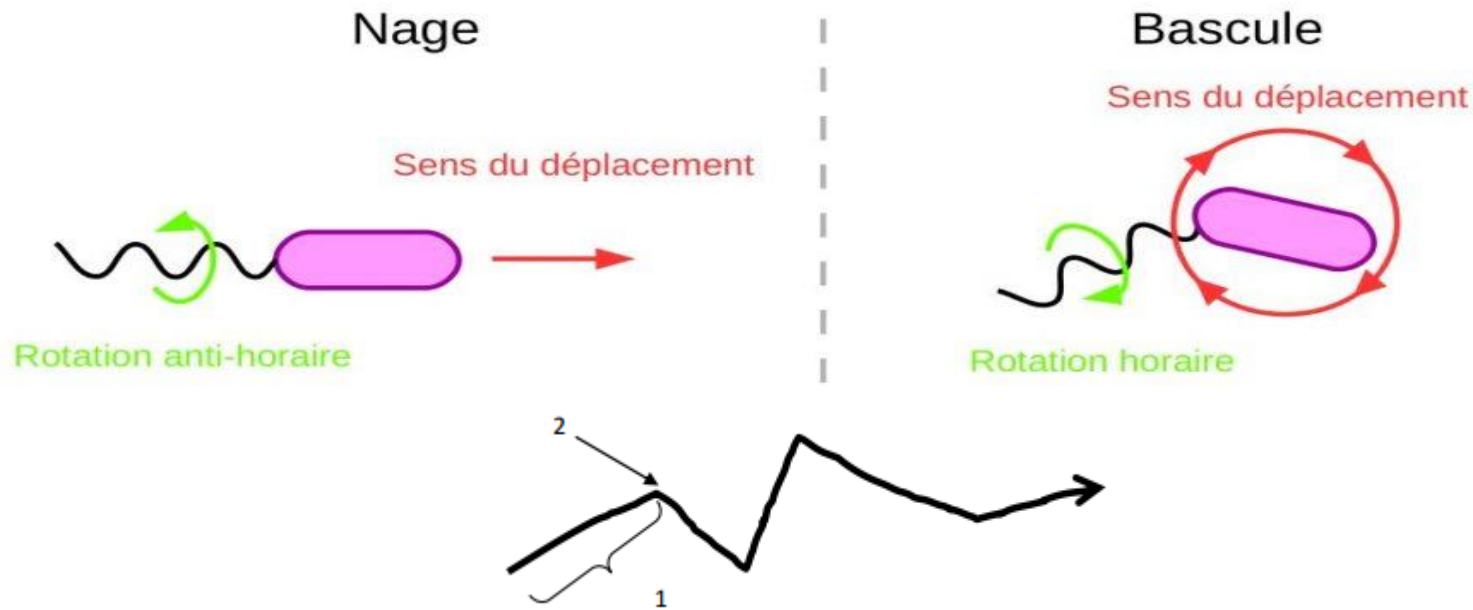
- 1/ Un filament hélicoïdal; long  $\leq 10$  mm, de nature: protéine (flagelline)
- 2/ Un crochet; incurvé et flexible
- 3/ un corpuscule basal: Les disques S, P et L fixes et le disque M mobile



Structure du corps basal du flagelle



# MODE DU MOUVEMENT PAR LES FLAGELLES



Dans le sens inverse des aiguilles d'une montre (CCW), la bactérie avance en tournant légèrement sur elle même

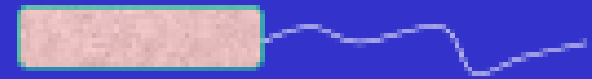
Dans le sens des aiguilles d'une montre (CW), la bactérie culbute et change alors de direction pour repartir en avant avec les flagelles tournant CCW.

➤ Le nombre et le mode d'insertion des flagelles sur la bactérie, constituent un critère de classification.

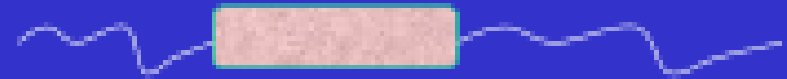
on distingue deux principaux types d'insertion:

➤ *Insertion polaire:*

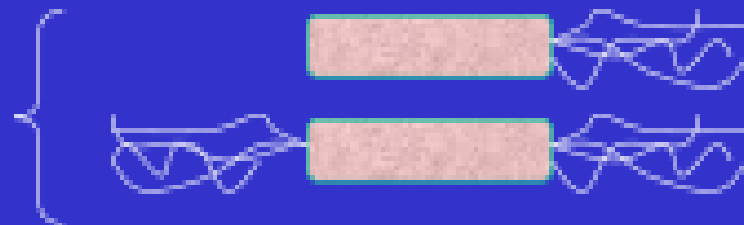
Monotriche



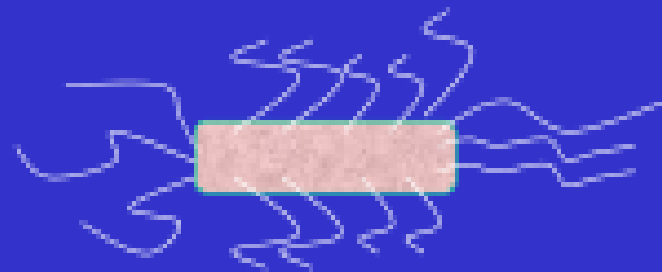
Amphitriche



Lophotriche



➤ *Insertion péritriche :*



## Remarque :

Pour les ciliatures péritriches : En mouvement, tous les flagelles sont regroupés à l'arrière du corps bactérien (comme les tentacules d'un calamar). Pour changer de direction, les flagelles se dispersent autour du corps bactérien et la bactérie culbute.



# ROLES DES FLAGELLES

**1.Mouvement** : c'est le rôle essentiel qui permet à la bactérie d'échapper aux prédateurs ou aux mauvaises conditions et de rechercher la nourriture ou l'air.

**2.Attachement aux supports** : il n'est pas exclu que l'attachement au support puisse se faire par les cils.

**3.Rôle antigénique** : Les antigènes flagellaires (Ag H) déterminent différents sérotypes (exemple : sérotypage des Salmonella). En présence de l'anticorps correspondant à leur Ag H, les bactéries agglutinent et les bactéries s'immobilisent.

**4.Entrée des virus** : certains virus pénètrent dans la bactérie par le tube creux du cil.



### 3. PILI OU FIMBRIAE :

Les *pili* (au singulier : *pilus*) ou *fimbriae* (au singulier : *fimbria*) sont des structures protéiques (piline) trouvées à la surface de nombreuses bactéries. Les deux termes sont synonymes et correspondent à la même structure.

Ils ne sont visibles qu'en microscopie électronique. Ils sont plus fins, plus courts et plus rigides que les flagelles.



**Pili sexuels**

**Pili  
communs**

# PILI COMMUNS

Ils sont : **ténus, courts, rigides et donc cassants**

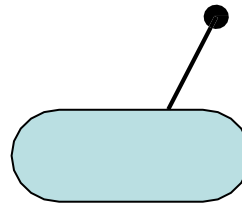
- **Nombre** : sont distribués en grand nombre autour de la bactérie (jusque plusieurs centaines)

- **Fonction:**

- **Adhésion** des bactéries à divers supports.
- Responsables de la **tendance** des bactéries, en formant une pellicule visqueuse ou **film bactérien** à la surface des milieux liquides

# PILI SEXUELS

Plus longs, atteignant  $20\mu\text{m}$  et se terminant par un renflement



**Nombre:** faible,  
varie de 1 à 4



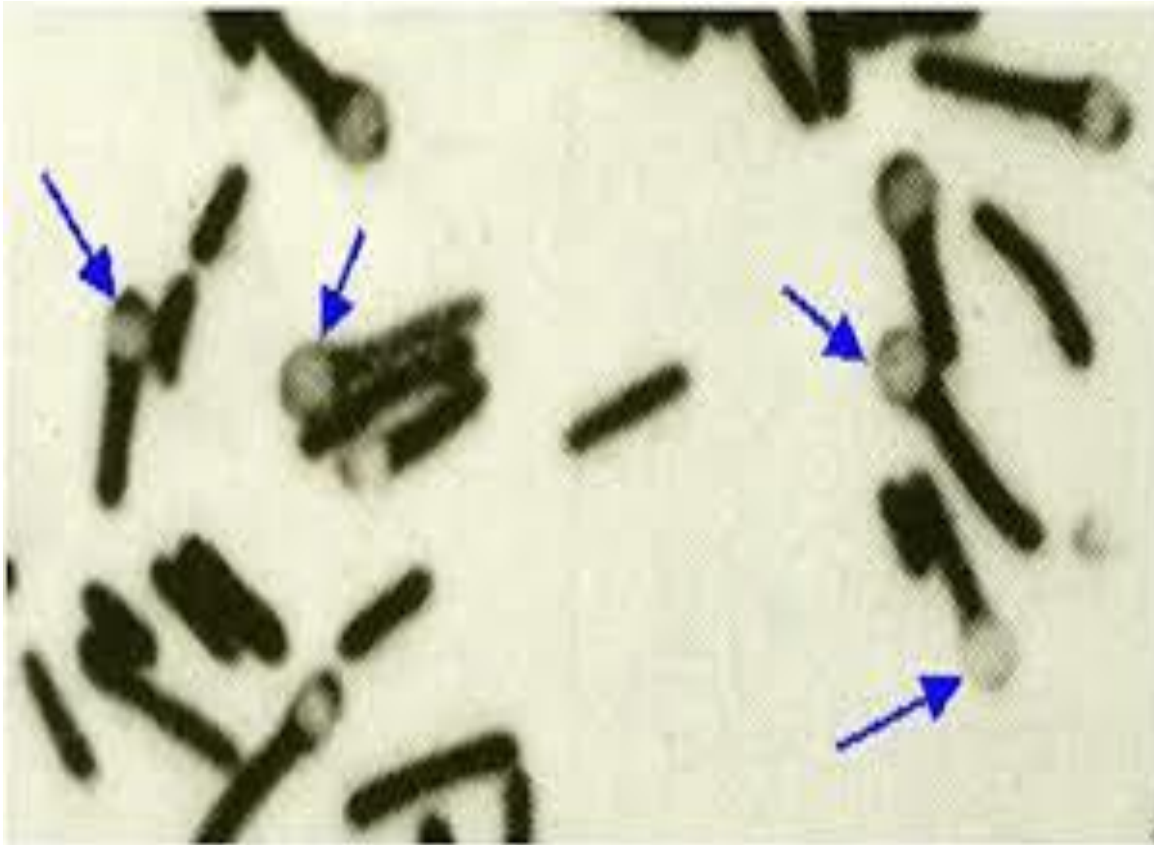


## **Fonction:**

- Relient deux bactéries (reconnaissance mâle, femelle)
- Voies d'échanges de matériel génétique
- Fixation : bactérie, phage.

**Rem:** Les bactéries capables de produire des pili sexuels sont dénommées bactéries "mâles" à l'opposé des autres qui sont dites "femelles".

## 4. LA SPORE BACTERIENNE



**Appelées aussi endospores, ce sont des structures de résistance formées par certaines bactéries lorsque les conditions deviennent défavorables.**



# I. GÉNÉRALITÉS SUR LA SPORE

## .1 Définition

spore ovoïde



spore sphérique



- Petite unité ovale ou sphérique (spore ou endospore)
- Caractérise 3 genres principaux: *Bacillus*, *Clostridium* et *Sporosarcina*
- Impliquée dans la pathologie infectieuse : Production de toxines  
*Clostridium perfringens* (gangrène gazeuse) *Clostridium botulinum* (botulisme) *Clostridium tetani* (tétanos)  
*Bacillus anthracis* (maladie du charbon ou anthrax)

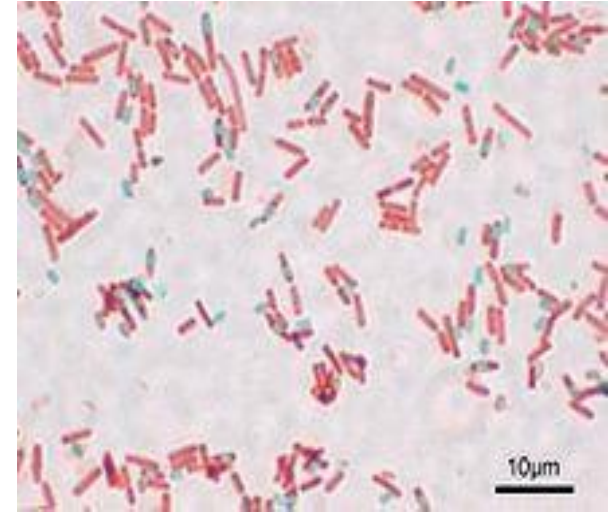


# MISE EN ÉVIDENCE

## Méthode de Benito-Trujillo : Coloration au vert de malachite

- Frottis fixé
- **Vert de malachite à 5%**
- Chauffer jusqu'à émission de vapeur et laisser pendant 3 à 6 min
- **Safranine 5%**

Les spores apparaissent comme des  
sphères **vertes** dans un corps  
bacillaire **rouge-rosé**



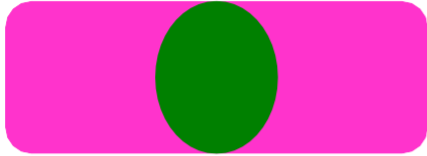
**NB :** 1- *Préciser la position de la spore :*  
*Centrale, terminale, ou sub-terminale*  
-2 Si elle est *déformante* ou non



# MORPHOLOGIE

## ➤ Forme de la spore

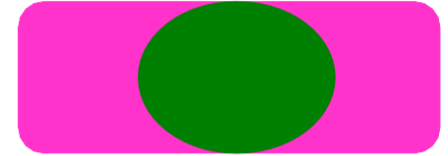
Sphérique



Cylindrique

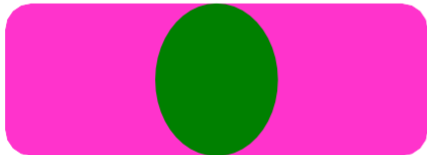


Ovoïde

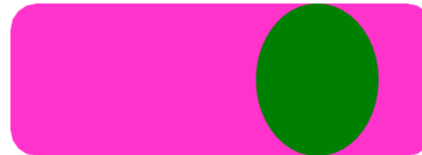


## ➤ Position de la spore

Centrale



Subterminale

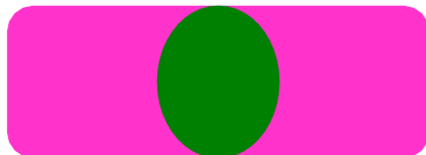


Terminale

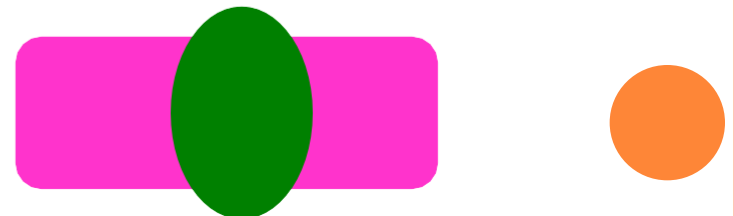


## ➤ Déformation de la spore

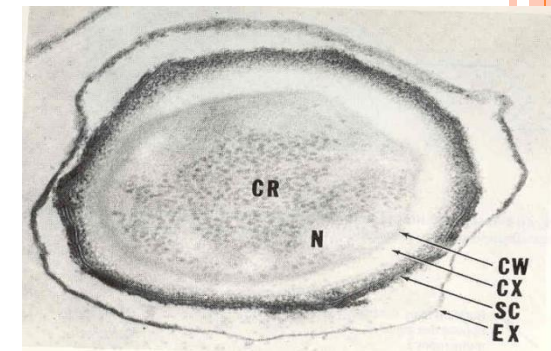
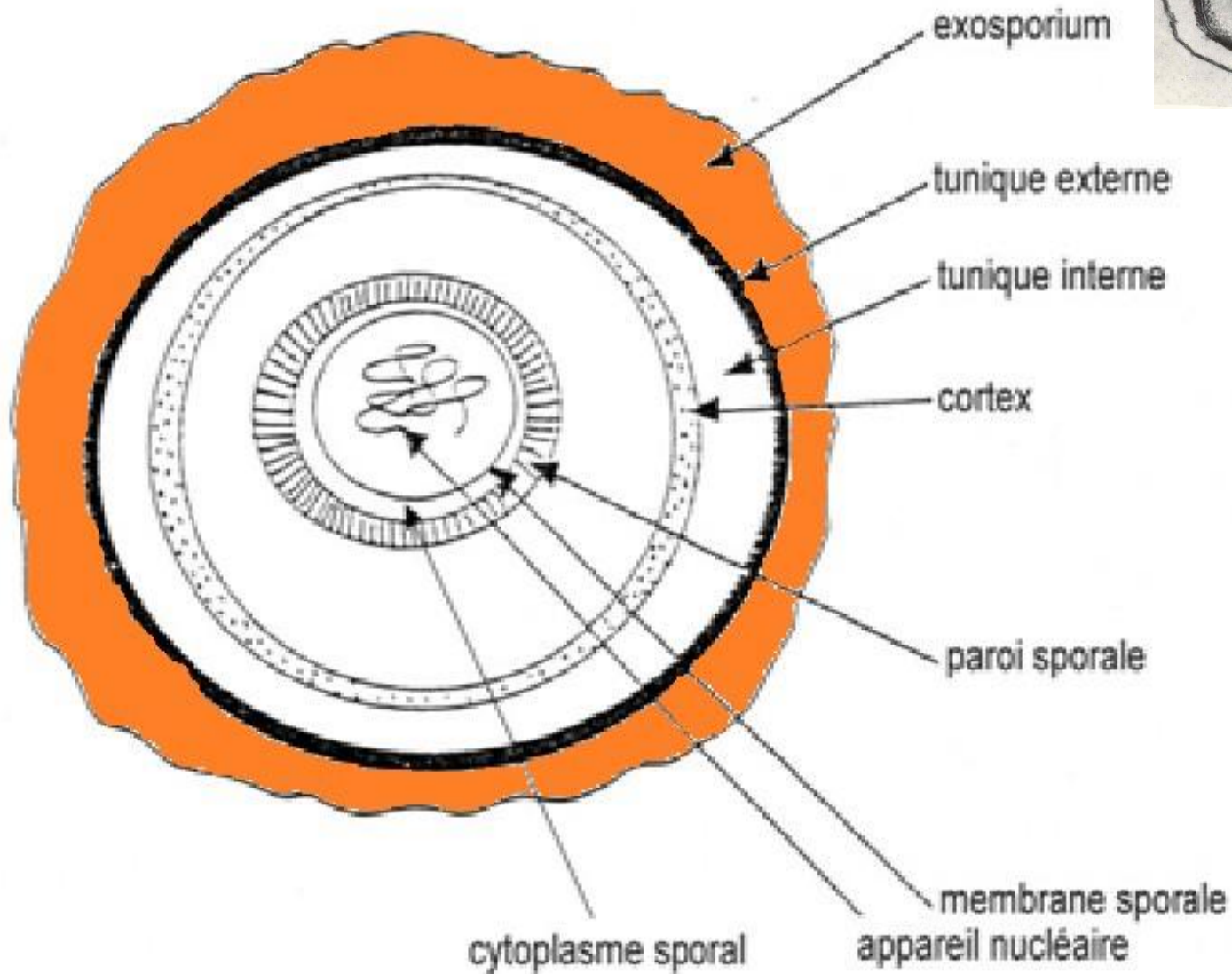
Non déformante



Déformante

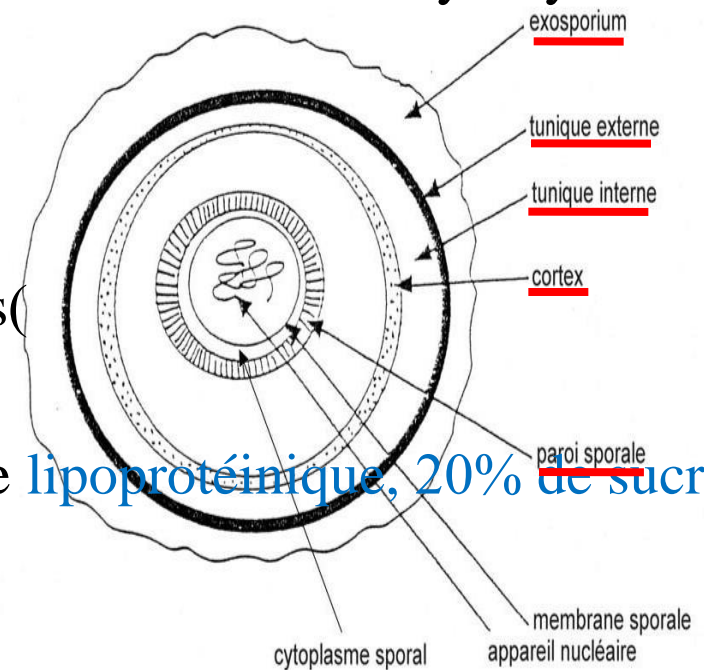


# STRUCTURE



# COMPOSITION DE LA SPORE

- **La paroi sporale:** peptidiglycane normal. Après germination devient la paroi de la cellule végétative
- **Le cortex:** 10 à 20% de la cellule, couche épaisse, aspect monomorphe  
Peptidoglycane inhabituel +/- des liaisons internes sensible au lysozyme + dipicolinate de calcium
- **Tuniques** interne et externe:  
20 à 35% de l'ensemble, **Protéines** (kératines)
- **L'exosporium:** le plus externe Membrane lipoprotéinique, 20% de sucre pas essentiel à la survie de la spore





# SPORULATION ET GERMINATION

## Cycle sporale



Les conditions défavorables sont:

- **Epuisement** du milieu en éléments nutritifs
- **Manque** d'eau
- **Température** défavorable
- **Pression** trop élevée
- **pH** défavorable.



# Phénomène de sporulation

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

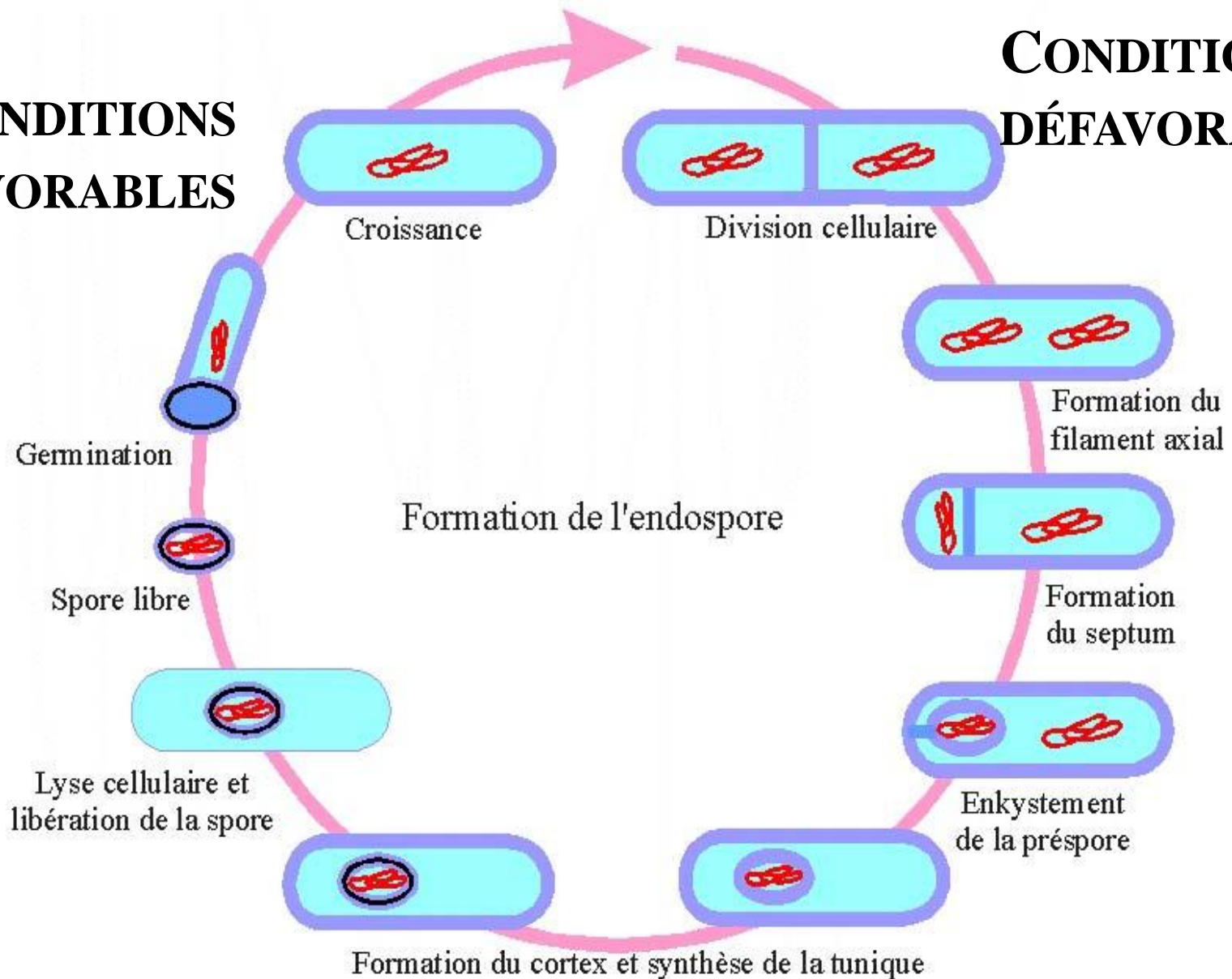
**Stades V and VI** : apparition des tuniques et après maturation.

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

# ETAPES DE SPORULATION

**CONDITIONS  
FAVORABLES**

**CONDITIONS  
DÉFAVORABLES**

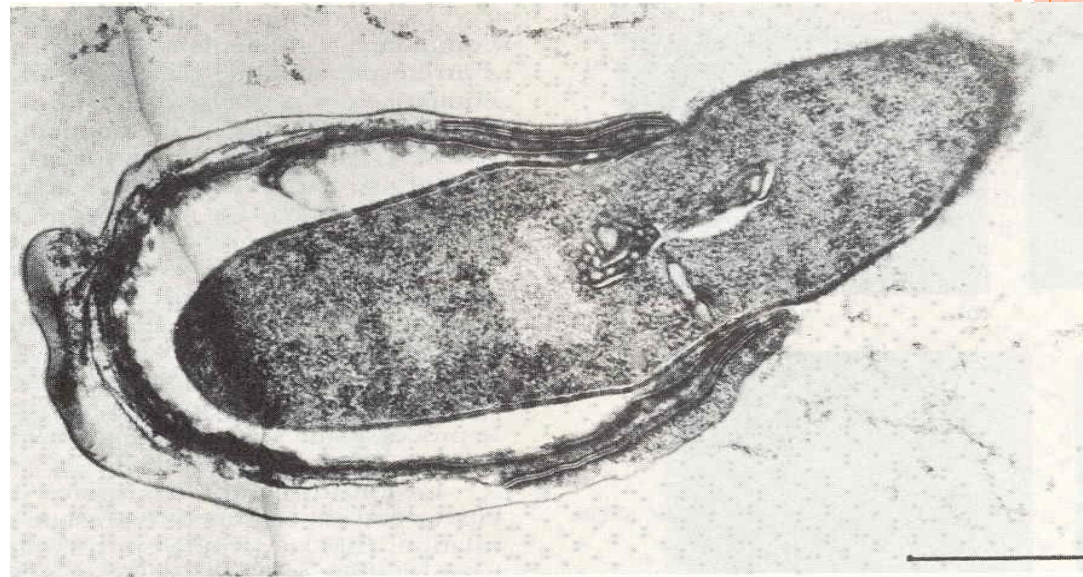


# LA GERMINATION



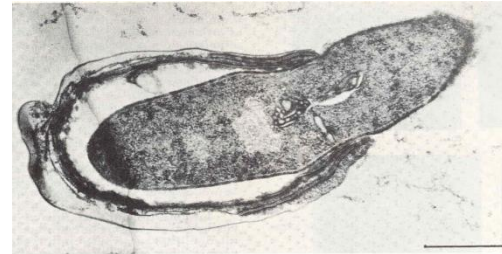
On distingue 3 stades dans le processus de germination :

- Activation
- Initiation
- Excroissance (éclosion)



## ➤ Activation

➤ Correspond à une **lésion** des enveloppes sporales par des agents : **physiques** (choc thermique ), **mécaniques** ( abrasion, choc ) ou **chimiques** ( acides , lysozyme... )



## ➤ Initiation

➤ Débute en présence de conditions favorables : **hydratation et métabolites** effecteurs (Ala, Mg, 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

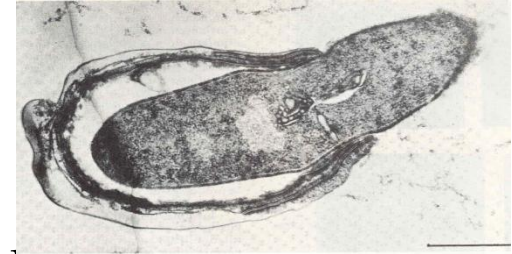
➤ Le **cortex se détruit** et la pore s'imbibe d'eau et gonfle





## ➤ Excroissance

- **Altération des cortex et téguments externes**: émergence d'une nouvelle cellule



- Phase active de **biosynthèse** et reprise graduelle de la croissance végétative, synthèse progressive d'ADN et de protéines
- La paroi sporale devient la **paroi bactérienne**
- La cellule double son volume initiale et se libère de la tunique sporale
- **Après sa réhydratation, la spore donne une nouvelle cellule végétative qui entre en phase active de biosynthèses : la synthèse de l'ADN reprend, la cellule double son volume, elle devient à nouveau capable de se multiplier**



# CHAPITRE 03

## LA TAXONOMIE BACTERIENNE



# *Principe*

- ✓ tout individu appartient à une espèce,
- ✓ les espèces proches sont groupées en un genre,
- ✓ les genres rapprochés sont réunis en une famille,
- ✓ les familles présentant des similitudes forment un ordre,
- ✓ les ordres apparentés sont rangés en une classe,
- ✓ les classes semblables sont réunies en une division ou phylum.

## **- TAXONOMIE:**

- 1. Classification**
- 2. Nomenclature**
- 3. Identification**

**TAXONOMIE** : c'est la science qui étudie la classification, la nomenclature et l'identification des microorganismes.

**1. CLASSIFICATION** : c'est le regroupement des microorganismes en groupes ou taxons selon leurs caractéristiques phénotypiques ou génotypiques.

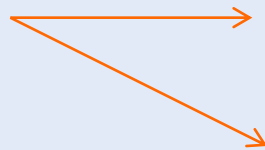
**2. NOMENCLATURE**: c'est l'ensemble des règles permettant de donner un nom à chaque taxon obtenu par la classification. Elle a pour but d'unifier le langage scientifique international en donnant aux taxons des noms identiques permettant de les connaître par n'importe quel microbiologiste du monde.

**2. IDENTIFICATION** : c'est l'attribution d'un individu inconnu à un taxon connu. La souche inconnue est comparée à des espèces déjà décrites (souches types) et le nom de l'espèce la plus similaire est proposé.

# La taxonomie permet de:

- Caractériser les bactéries
- Les classer sur la base de leur similitudes, en groupes ou en taxons (genres, espèce....)
- Appliquer le code international de la nomenclature bactérienne pour les nommer (Exp: *Escherichia coli*)
- Identifier les nouveaux organismes et déterminer leurs apparences ou non à l'une des espèces connues

**TAXONOMIE**



**Taxonomie classique**

**Taxonomie moléculaire**

# ① *La taxonomie classique*

## ➤ Critères morphologiques et structuraux

Insuffisants mais ➡ un premier regroupement simple et pratique,  
Cependant, certains caractères sont sujets à des variations:

Exp: les Gram+ âgés prennent l'aspect des Gram- (*Bacillus subtilis*)

## ➤ Critères biochimiques

✓ *Fermentation des glucides* / exp la Fermentation du glucose (test Voges Prauskauer)

✓ *Dégradation des protéines* / exp Dégradation de la peptone

✓ *Dégradation des lipides*

*Cas particuliers: catalases ( $H_2O_2$ ) et coagulases (plasma)*

## ➤ Critères immunologiques

L'établissement de la carte antigénique = **sérotypage**.

Chaque sérotype étant un groupe de souches présentant une réaction avec un même anticorps ou un groupe d'anticorps.

Les souches du même sérotype peuvent appartenir à la même espèce

## ➤ Critères de lysotypie

La fixation des bactériophages est liée à des sites sur la paroi bactérienne.

Le site de fixation est une protéine **spécifique** d'un phage.

Si phage virulent: lyse bactérienne (cycle lytique).

Deux souches capables de fixer les mêmes phages et développant des cycles lytiques appartiennent au même **lysotype** et peuvent appartenir à la même espèce.



## ② *La taxonomie moléculaire*

Dans la taxonomie classique, l'étude des phénotypes ne donne qu'une information incomplète: les caractères morphologiques, biochimiques, sérologiques etc... ne traduisent qu'une faible proportion du génome.

C'est pourquoi une approche génétique est nécessaire en taxonomie bactérienne. Elle concerne la nature physico-chimique du génome bactérien.

- *Le %GC ou le coefficient de Chargaff*
- *L'analyse et séquençage des ARN ribosomaux*
- *L'hybridation ADN / ADN*

## ➤ Principales règles de nomenclature •

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.**



## Exemple: taxonomie d'*E. coli*

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	<i>Escherichia coli</i> ,	<i>E. coli</i>	(ensemble de souches)

Malgré l'importance des caractères phénotypiques pour l'identification des microorganismes mais ils ne sont pas adaptés à certains types de bactéries comme les bactéries ayant une croissance lente ou difficile (*Chlamydia*, *Rickettsiae*) ou aux germes non cultivables (beaucoup d'espèces du sol et du microbiote intestinal humain et animal).




# Les bactéries intracellulaires

## Rickettsies

## Chlamydies



# Rickettsies

- Ce sont de très petites bactéries polymorphes, parasites intracellulaires obligatoires et pathogènes de l'homme. Elles sont transmises par les piqûres d'insectes, le pou, la puce et la tique.
  - Il est impossible de les cultiver avec des méthodes classiques de cultures.
  - L'un des agents infectieux le plus représentatif est *Rickettsia prowazekii*, agent du typhus épidémique, transmis par le pou (par piqure ou par les excréments de pou contenant les microbes à travers une blessure).
  - Les rickettsies sont capables de produire une partie de leur énergie par l'oxydation de quelques substrats tels que le glucose et le pyruvate.
- 

# Chlamydias

- Se sont des parasites intracellulaires obligatoires comme les rickettsies, mais ils sont incapables de produire seuls la moindre énergie.
- Ils dépendent entièrement de la cellule hôte. Ce qui explique la taille réduite de leur génome. Ils ont une forme coccoïde de 0.2 à 0.7  $\mu\text{m}$  de diamètre.
- L'agent infectieux le plus connu chez l'homme est *Chlamydia trachomatis* (Trachome). C'est une infection et une inflammation des conjonctives de l'œil.
- Il existe aussi une forme transmissible sexuellement et qui peut provoquer l'infertilité suite à l'infection.





## **Limites de la classification phénotypique**

- ✓ **Techniques non adaptée au diagnostic des bactéries dont la culture est lente ou difficile (Chlamidia, Rickettsiae...) ou aux germes que l'on ne sait pas cultiver. Il faut disposer d'une culture pure.**
- ✓ **Même en multipliant le nombre de tests (400 tests) on n'évalue que 5 à 20 % du potentiel génétique d'une bactérie (E. coli possède 3000 gènes)**
- ✓ **Les progrès réalisés dans la connaissance de l'ADN bactérien permettent des comparaisons plus fines et précises entre les bactéries et une classification plus juste**



## La Classification selon le manuel de Bergey

- ✓ 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.



# Le *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*



- Travail détaillé comportant des descriptions de toutes les espèces procaryotes actuellement identifiées.
- La **première édition** du *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*
  - Principalement phénétique.
- La **deuxième édition** du *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*
  - Principalement phylogénique plutôt que phénétique.

<https://www.bergeys.org/>



✓ Dans l'édition récente, avec l'utilisation de la classification polyphasique : Les procaryotes sont divisés en **deux domaines Eubacteria et Archaeobacteria**

Domaines	2	<i>Archaea</i>	<i>Eubacteria</i>
Phylums	34	5	29
Classes	57	9	48
Sous-Classes	6	0	6
Ordres	119	15	104
Sous-ordres	20	0	20
Familles	292	26	266
Genres	2100 environ	108	2000 environ
Espèces	7300 environ	250 environ	7000 environ
Sous-espèces	450 environ	0	450 environ



# CHAPITRE 03

## LA NUTRITION BACTERIENNE



- **Les bactéries se nourrissent :**

- ✓ **De substances organiques simples (AA, glucides, acides gras, vitamines, hydrocarbures, ect.) et**
- ✓ **De certaines substances inorganiques (phosphates, soufre, nitrates, ect.).**

- **Plusieurs types de bactéries sécrètent des enzymes digestives qui leurs permettent d'absorber certains constituants alimentaires plus ou moins complexes.**

### **Besoins nutritifs des bactéries**

- ✓ **Les bactéries se nourrissent à partir des composés ou substrats présents dans les milieux de culture et dans des conditions physico-chimiques bien précises**
- ✓ **Les besoins nutritifs des bactéries sont de deux types:**



## **1. Besoins élémentaires**

**(Besoins communs à toutes les bactéries)**



- ✓ Eau,
- ✓ Une source d'énergie,
- ✓ Une source de carbone,
- ✓ Une source d'azote et éléments minéraux .

## **2. Besoins spécifiques**

**(Besoins essentiels pour certains types de bactéries)**



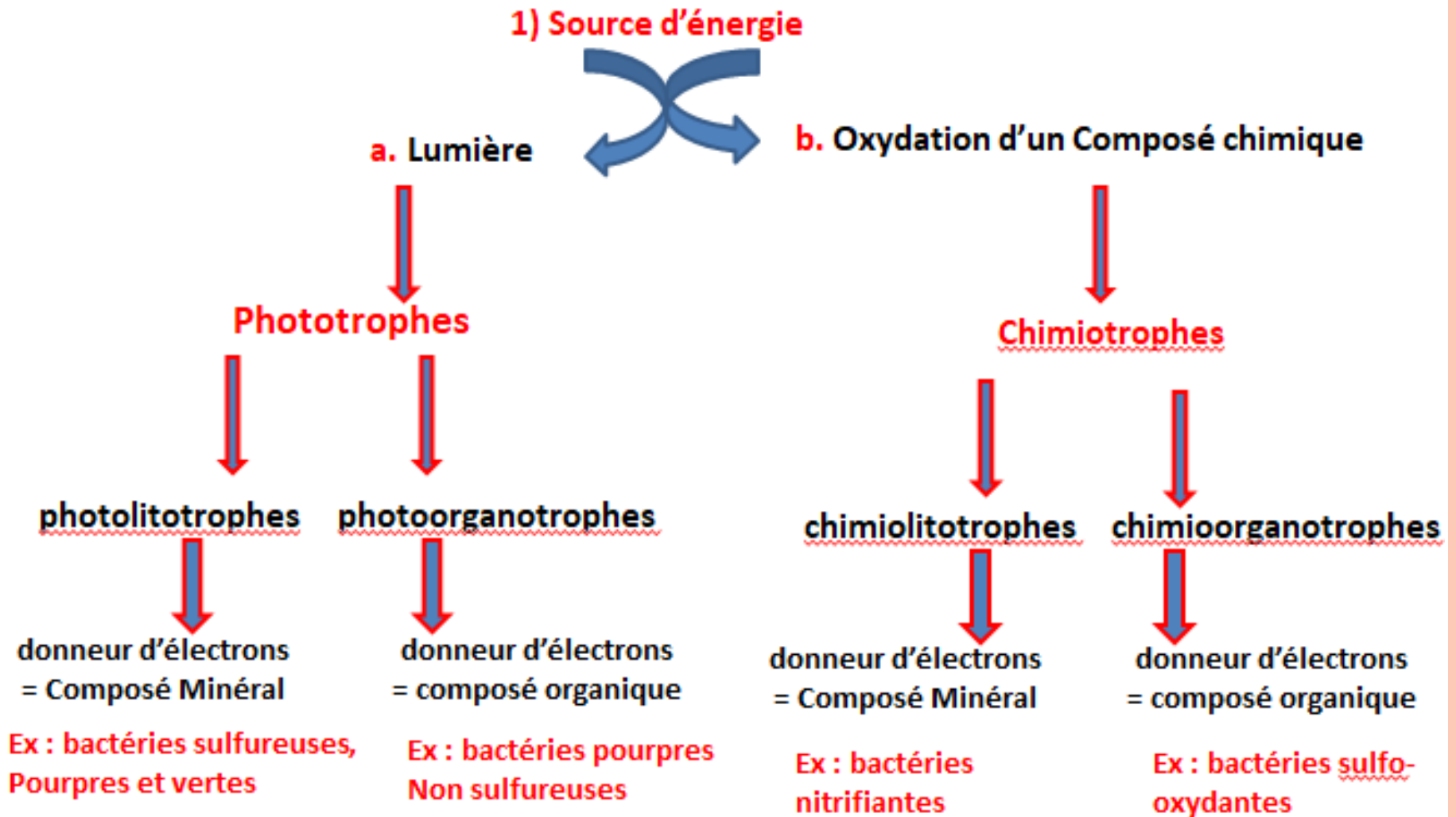
**Facteurs de croissance**





# 1. Besoins élémentaires

Selon la nature des besoins nutritifs, on définit différentes catégories de bactéries : ce sont **les types trophiques**



## 2) Source de carbone

Le carbone est l'élément constitutif le plus abondant chez les bactéries.

Selon la source de carbone on distingue :



**Autotrophes**

**hétérotrophes**

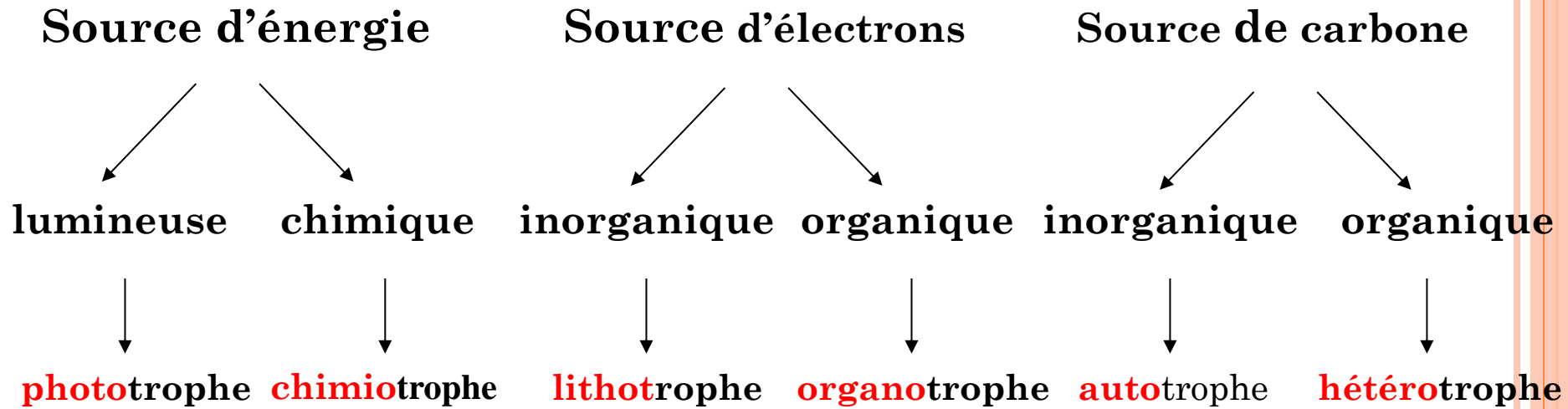


Se développent en milieu **inorganique**  
**CO<sub>2</sub> = seule source de carbone**



Exigent des **composés organiques**  
Pour croître et se reproduire

# Diversité de types trophiques



**NB: AUTO=LITHO et HETERO=ORGANO**

**Donc on peut tirer quatre grandes catégories selon le type trophique des bactéries:**

- 1. Photolithotrophe**
- 2. Photoorganotrophe**
- 3. Chimiolithotrophe**
- 4. Chimioorganotrophe**



**Les phototrophes ou photosynthétiques** utilisent la lumière comme source d'énergie.

En fonction de la source d'électrons, on distingue :

- **Les bactéries photolithotrophes**: utilisent la lumière comme source d'énergie et un composé minéral comme donneur d'électrons ( $H_2O$ ,  $H_2S$ ). Ces bactéries se développent dans un milieu purement minéral.

**Ex.** Bactéries sulfureuses pourpres (Thiorhodaceae) ou vertes (Chlorobacteriaceae).

- **les bactéries photoorganotrophes**  
Source d'électrons sont des composés organiques.

**Ex.** Bactéries pourpres non sulfureuses (Athiorhodaceae)



**Les chimiotrophes ou chiomiosynthétiques** utilisent l'énergie de l'oxydation de produits chimiques organiques ou minéraux. Il existe deux sous classes

- **Les bactéries chimiolithotrophes** : utilisent l'énergie chimique par oxydation d'un composé minéral ( $H_2$ ,  $H_2S$ ,  $S$ ,  $NO_2$ ,  $CO...$ ).

**Ex.** Bactéries oxydant l'hydrogène : *Hydrogenomonas*

Bactéries oxydant l'ammoniaque : *Nitrosomonas*

Bactéries oxydant les nitrates : *Nitrobacter*

- **Les bactéries chimioorganotrophes** : donneur d'électrons est organique.

**Ex.** Bactéries sulfo-oxydantes.

La grande majorité des bactéries appartient à ce groupe :

Bactéries pathogènes, bactéries de contamination alimentaire, bactéries utilisées dans l'industrie pour leur synthèse d'antibiotiques, de vitamines, d'acides aminés....

## REMARQUE

Il existe aussi les **paratrophes** :  
ce sont les bactéries  
intracellulaires (Rickettsies et  
Chlamydies) qui tirent leur  
énergie de leur parasitisme  
obligatoire.



### 3) Source d'azote

- L'azote est nécessaire pour la synthèse des protéines, il constitue environ 10% du poids sec de la cellule
- La source d'azote peut être :

**Minéral:**  $\text{NH}_4^+$  et  $\text{NO}_3^-$  utilisé par la plus part des bactéries

$\text{NO}_2$  utilisé par les bactéries du genre Nitrobacter

$\text{N}_2$  utilisé par les bactéries fixatrices d'azote comme Azotobacter et Rhizobium

**Organique :** groupements amines ( $\text{R-NH}_2$ ) des composés organiques (acides aminés et protéines)





### 3) Source des éléments minéraux dont les plus importants:

#### ☛ Le soufre et le phosphore

Le soufre se retrouve dans les protéines, précisément au niveau des groupements thiols (-SH) des AA soufrés (cystine et cystéine).

Il est incorporé sous forme de sulfates ou sous forme organique.

Le phosphore, incorporé sous la forme de phosphate inorganique, fait partie des acides nucléiques, de certains coenzymes et de l'ATP.

#### ☛ Autres éléments minéraux

##### *Macro-éléments:*

Na, K, Mg, Cl: rôle dans l'équilibre physicochimique

Fe: pour les Cytochromes      Mg: pour la Chlorophylle

##### *Micro-éléments:*

Co, Cu, Mo, Mn et autres: Cofacteurs ou activateurs d'enzymes.

## Eléments Chimiques

## Exemples d'utilisation

- Carbone**
- Constituant de toute molécule organique
  - Synthèse des glucides pour les autotrophes
  - Métabolisme énergétique (respiration ou fermentation) pour les hétérotrophes

- Hydrogène**
- Constituant de toute molécule organique
  - Agent de diverses réactions de réduction

- Oxygène**
- Produit terminal des réactions photosynthétiques pour les autotrophes
  - Accepteur d'électrons des réactions du métabolisme énergétique chez les hétérotrophes aérobies

- Phosphore**
- Synthèse des acides nucléiques
  - Cofacteur des transporteurs d'hydrogène
  - Composés énergétiques de transfert (ATP)

- Azote**
- Synthèse des acides nucléiques
  - Synthèse des protéines
  - Oxydé sous forme de nitrates au cours de la nitrification avant d'être assimilable

- Soufre**
- Source d'énergie  $\text{SH}_2$  pour quelques chimiotrophes
  - Accepteur d'électrons dans les chaînes respiratoires anaérobies
  - Biosynthèse des acides aminés soufrés

- Magnésium**
- Métabolisme de l'ATP
  - Élément capital de la molécule de chlorophylle

- Fer**
- Transporteur d'électrons dans les cytochromes de la chaîne respiratoire aérobie

- Calcium**
- Associé à l'acide dipicolinique, constituant majeur de l'enveloppe des endospores

## 2. Besoins spécifiques = facteurs de croissance

✓ les bactéries capables de croître en présence d'eau, d'une source d'énergie, d'une source de carbone, d'une source d'azote et d'éléments minéraux sont qualifiées de **prototrophes**.

✓ Les bactéries prototrophes peuvent croître sur un milieu de culture dit de **minimum**

✓ Le milieu minimum est composé de l'eau, source d'énergie, source de carbone, source d'azote et éléments minéraux

✓ Les bactéries nécessitant en plus, un ou plusieurs facteurs de croissance qu'elles sont incapables de synthétiser sont dites **auxotrophes**

✓ **Un facteur de croissance** est un élément indispensable à la croissance de la bactérie (**auxotrophe pour ce facteur**). Il doit être présent dans l'environnement car la bactérie est incapable de le synthétiser.

✓ Si une bactérie a besoin d'un facteur de croissance, ce dernier doit être introduit **dans le milieu de culture**



## Nature des facteurs de croissance

- ✓ des bases puriques ou pyrimidiques,
- ✓ des acides gras,
- ✓ des acides aminés,
- ✓ des vitamines (coenzymes, précurseurs de coenzymes, groupements prosthétiques de diverses enzymes)

## Propriétés des facteurs de croissance

- ✓ Action à très faible concentration:

25mg/l dans le cas des acides aminés

10mg/l pour les bases azotées

1 à 24µg/l pour les vitamines

- ✓ Spécificité stricte

Un simple changement de position d'un groupement ôte son rôle au facteur de croissance



# Phénomène de Syntrophie

Quelques fois les besoins en facteur de croissance d'une espèce bactérienne peuvent être satisfaits par la présence dans le milieu d'une autre espèce capable de synthétiser ce facteur : c'est le phénomène de Syntrophie

**Ex.** la culture sur la même boîte de :

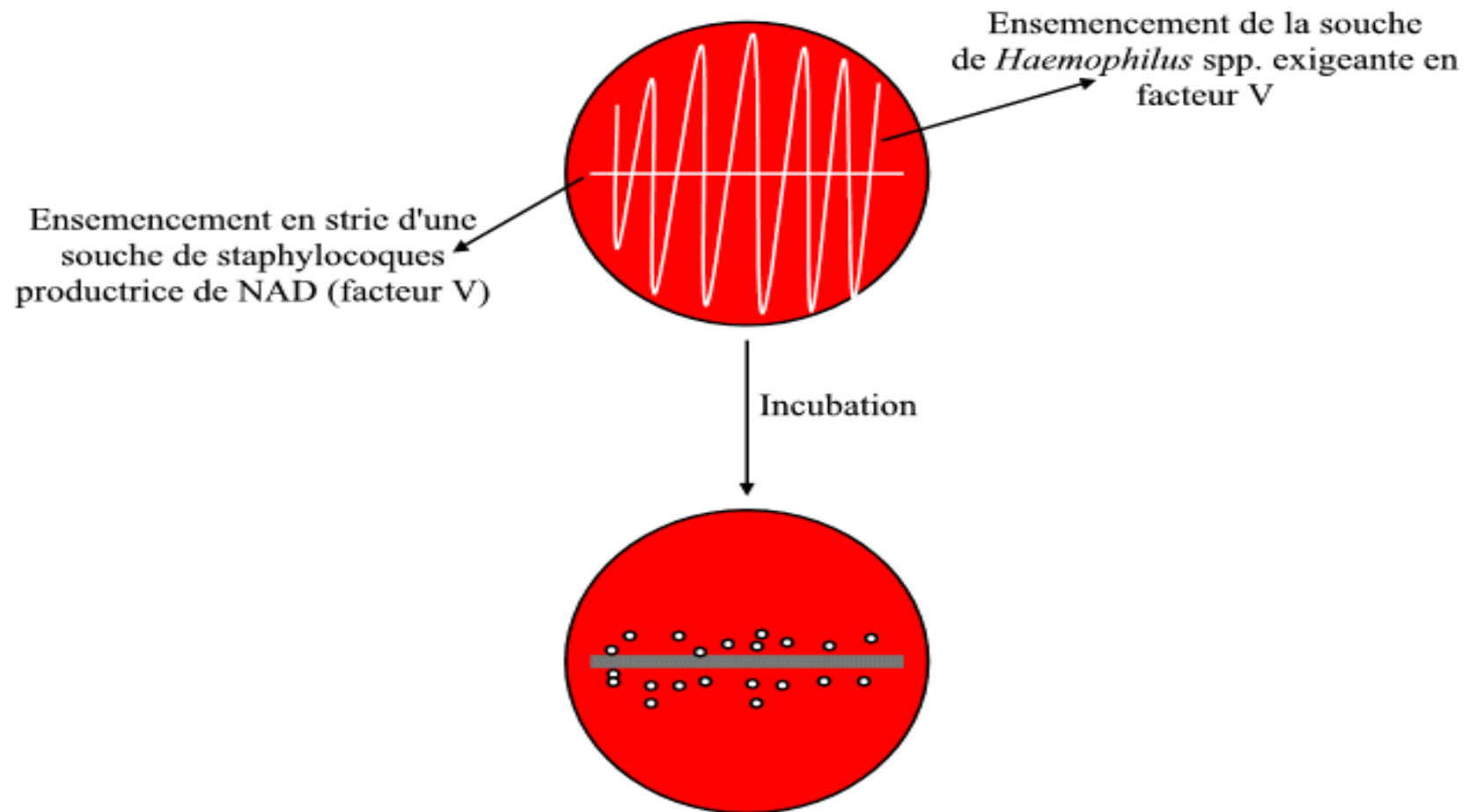
*Haemophilus spp.* = bactérie auxotrophe au facteur V (NAD)

*Staphylocoque* = bactérie productrice de NAD

Donne une culture en satellite de *Haemophilus spp.*



Croissance d'une souche de *Haemophilus* spp. exigeante en facteur V



Après incubation, la culture de la souche de *Haemophilus* spp. n'est observée qu'à proximité de la culture de la souche de staphylocoques

### 3. Milieux de culture

Un milieu de culture est **une préparation** au sein de laquelle des **micro-organismes peuvent se multiplier**. Il doit donc satisfaire **les exigences nutritives** du micro-organisme étudié et posséder **les propriétés physico-chimiques** convenant à cette culture

Un milieu de culture est composé:

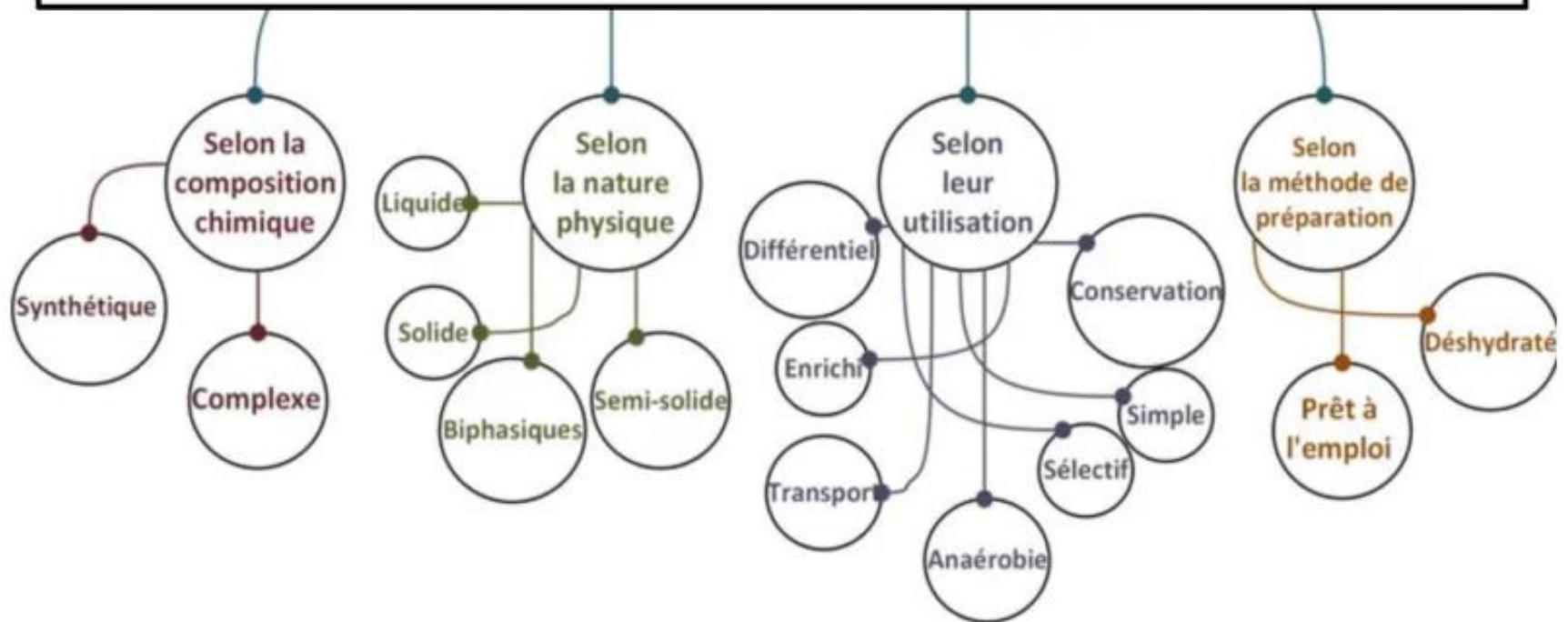
- ✓ d'un mélange de substrats nutritifs (acides aminés, peptides, bases nucléiques, sucres, etc),
- ✓ d'un système tampon pour éviter les variations importantes du pH,
- ✓ de sels minéraux et de vitamines.

Il est possible d'ajouter d'autres facteurs de croissance (sang, protéines, hémoglobine, vitamines)





# Classification des milieux de culture

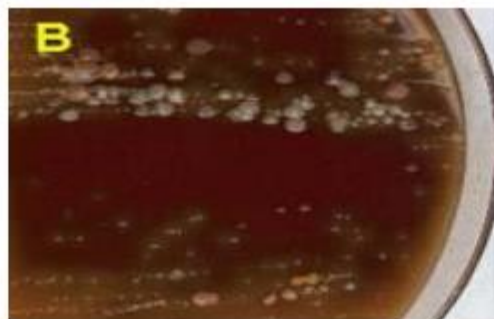


Parmi les milieux de culture, **on distingue les milieux** :

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

**Ex.** isolement d'une **aspiration bronchique** sur milieu:

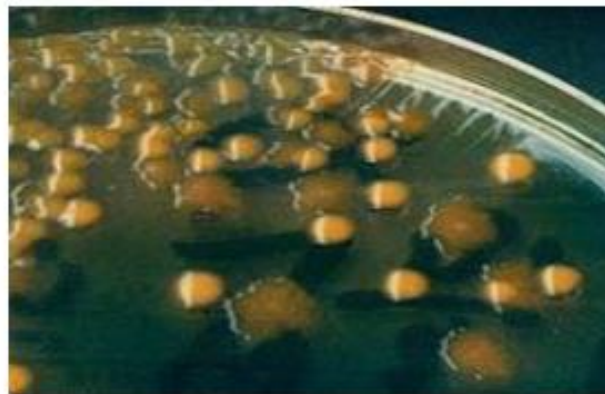
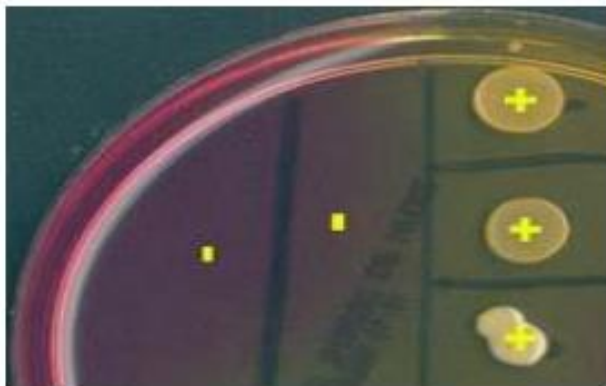
- ✓ **gélosé au sang frais (A),**
- ✓ **au sang cuit (B) ou**
- ✓ **contenant des substrats chromogéniques (C)**



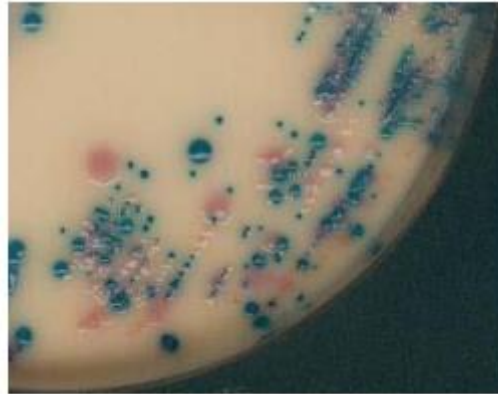
**2. M. sélectifs** qui favorisent artificiellement la croissance d'une espèce au détriment des autres tels le **Milieu de Chapman** (hypersalé + mannitol + indicateur de pH),

**Drigalski** (sels biliaires + cristal violet + lactose + indicateur de pH).....

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



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



**4. M. transport et M de conservation:** Milieux destinés pour le transport sans provoquer le stress bactérien et milieux destinés pour la conservation bactérienne tout en maintenant leur viabilité (sous régime du froid,...)



## **B. Apparences des colonies**

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

### **B1. facteurs intrinsèques à la bactérie :**

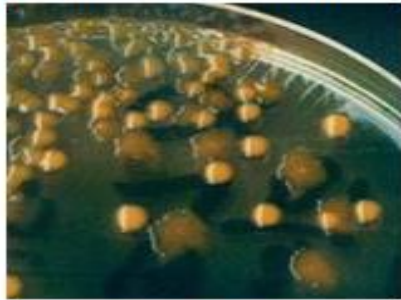
- ✓ mobilité,
- ✓ morphologie : taille, forme, contour, relief, surface
- ✓ production d'une capsule,
- ✓ production de matériel extracellulaire,
- ✓ pigmentation,
- ✓ présence de fimbriae

### **B2. facteurs extrinsèques :**

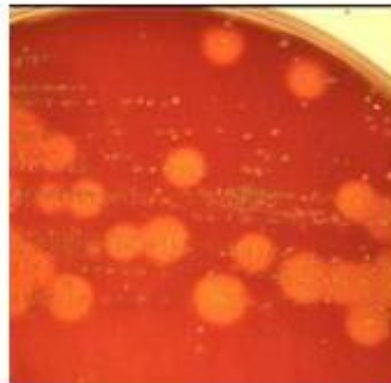
- ✓ gradients de solutés créés autour de la colonie
- ✓ présence de colorants dans le milieu de culture.



**Ex. Aspects de colonies bactériennes sur le milieu sélectif dénommé Drigalski**



**Autre exemple : Aspects de colonies bactériennes sur le milieu enrichi au sang**



# CHAPITRE 04

## LA CROISSANCE BACTERIENNE





# Définition de la croissance

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



# La croissance peut être étudiée en milieu liquide ou solide.

- Sur milieu liquide

Observation d'un  
« trouble »



Avant

Après

- Sur milieu solide

Observation de  
colonies

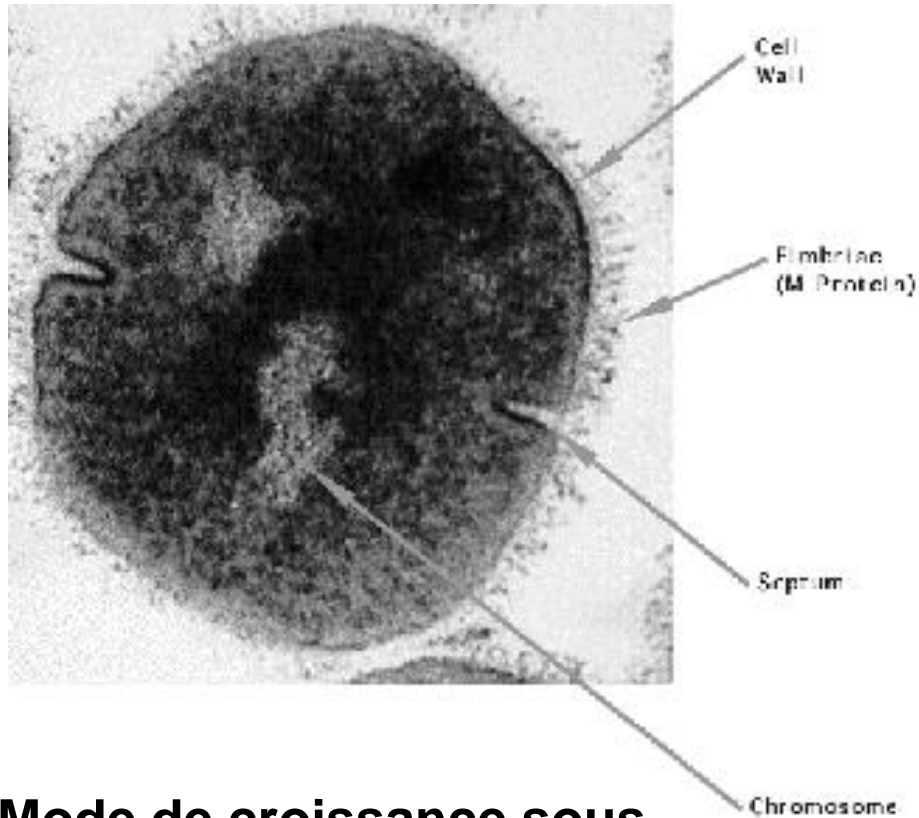


Avant



Après





**Mode de division**  
la division bactérienne  
s'effectue par:  
**scissiparité ou fission**  
**binaire**

**Mode de croissance sous**  
**microscopie électronique**

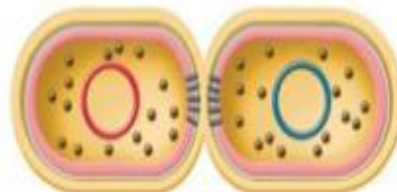


## Fission binaire

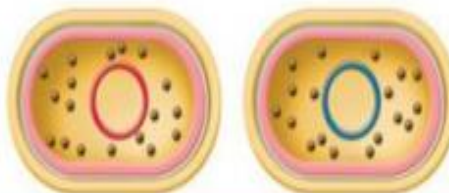
*Nutriments  
(Milieu de culture)*



**Augmentation des  
constituants cellulaires**



**Augmentation du  
nombre de cellules**



**Augmentation de  
la biomasse sèche**

*Déchets métaboliques, toxiques  
(Milieu de culture)*

# Courbe de croissance

Il existe 6 phases dont l'ensemble constitue la courbe de croissance

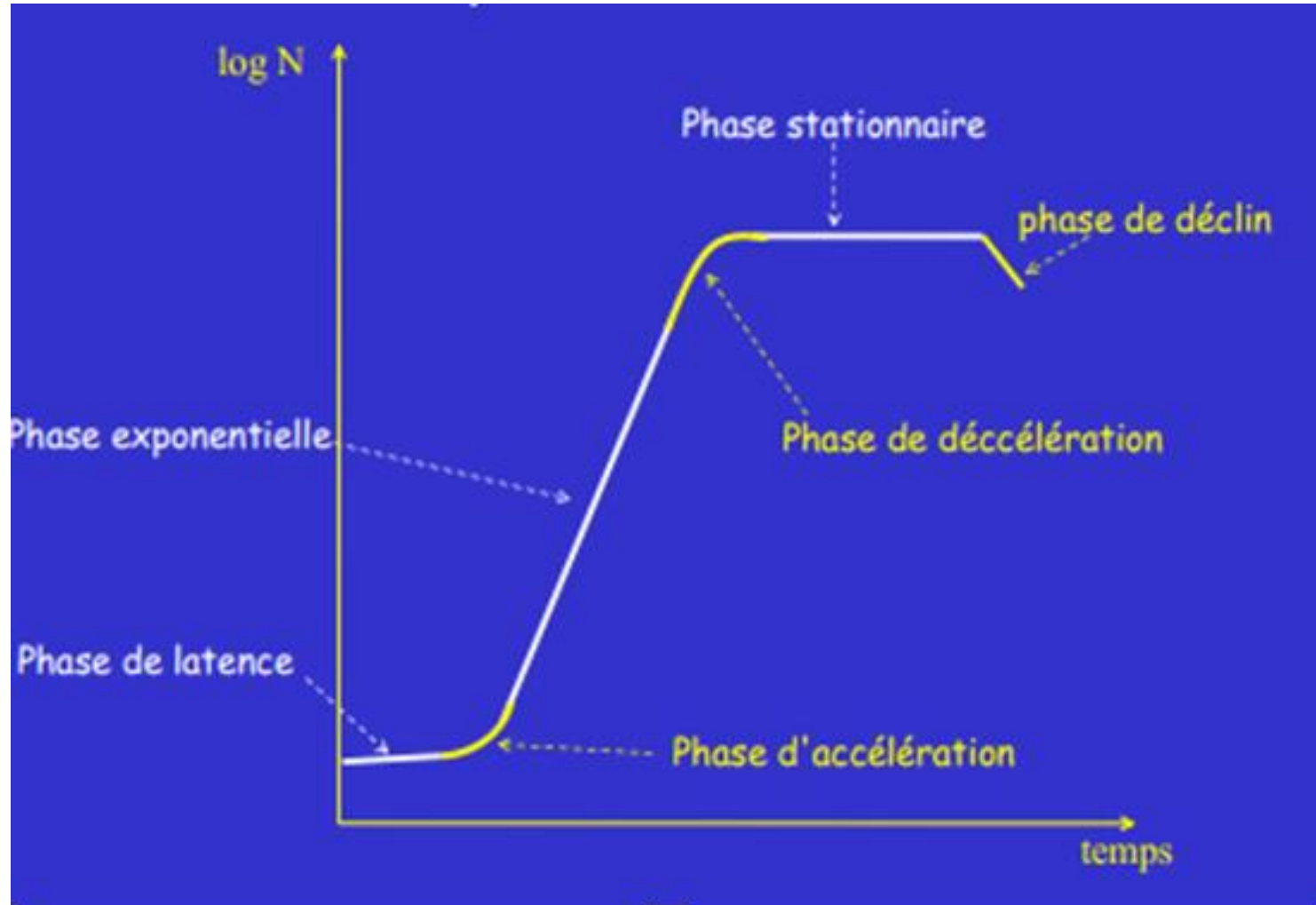
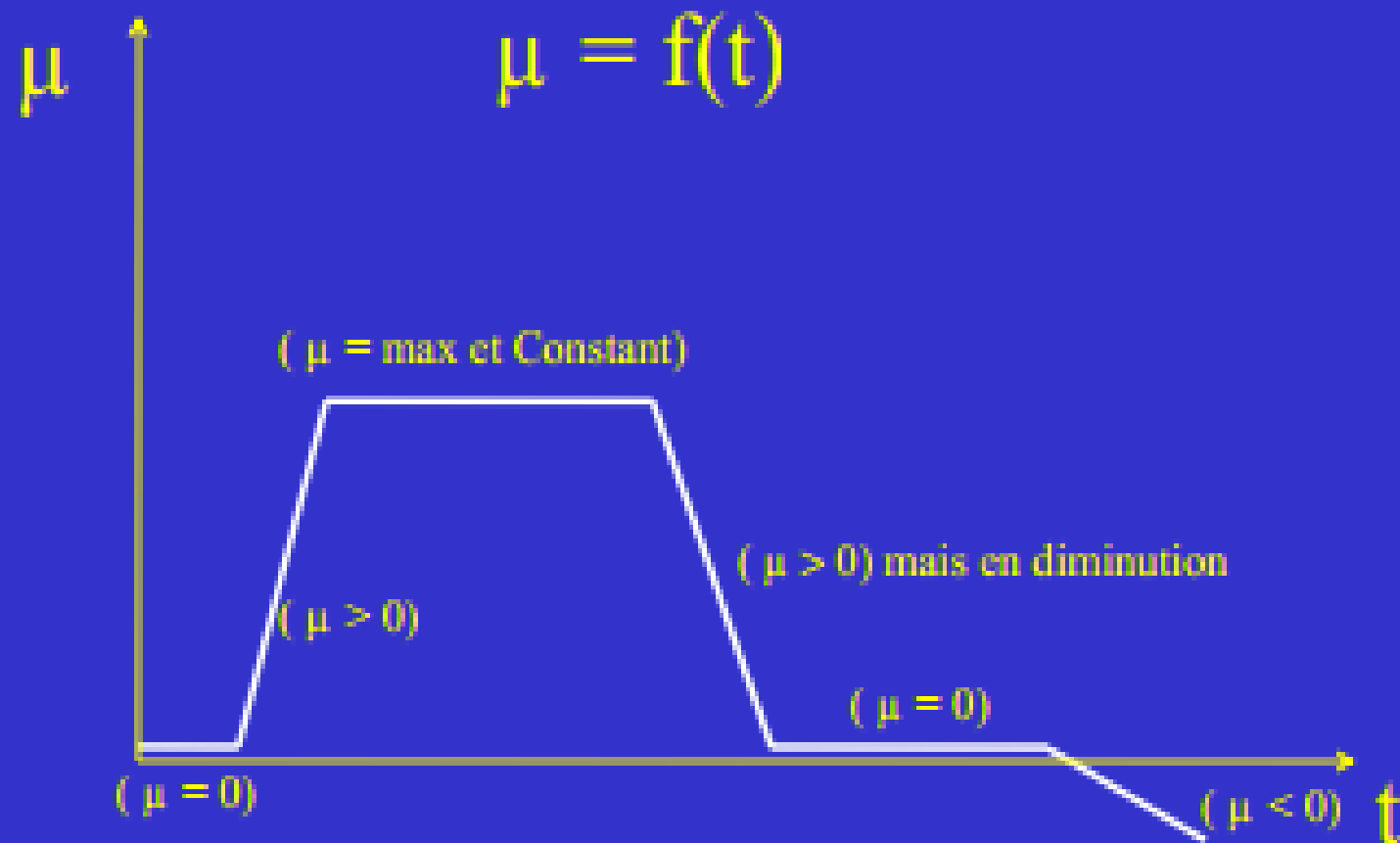


Fig. Les phases de la croissance

## ⑧ Variation de $\mu$ pendant les phases de croissance



# Phase de latence

- ✓ Le taux de croissance nul ( $\mu = 0$ ).
- ✓ Sa durée dépend de l'âge des bactéries, du taux d'inoculum et de la composition du milieu.
- ✓ C'est le temps nécessaire à la bactérie pour synthétiser les enzymes adaptées au nouveau substrat (pas de phase de latence si repiquage sur milieu identique au précédent).

# Phase d'accélération

Il se produit une augmentation de la vitesse de croissance.





# Phase exponentielle

- ✓ le taux de croissance atteint un maximum ( $\mu=\max$ ). Il est influencé par certains facteurs appelés paramètres d'action de la croissance (pH, température, la nature et la concentration des nutriments);
- ✓ Cette phase dure tant que la vitesse de croissance est constante;
- ✓ Le temps de doublement des bactéries est le plus court;
- ✓ La masse cellulaire est représentée par des cellules viables (mortalité nulle).



# Phase de ralentissement

- ✓ La vitesse de croissance régresse;
- ✓ Il y a un épuisement du milieu de culture et une accumulation des déchets;
- ✓ Il existe un début d'autolyse des bactéries.

# Phase stationnaire

- ✓ Le taux de croissance devient nul ( $\mu = 0$ );
- ✓ Les bactéries qui se multiplient compensent celles qui meurent.



## Phase stationnaire

- ✓ Le taux de croissance devient nul ( $\mu = 0$ );
- ✓ Les bactéries qui se multiplient compensent celles qui meurent.

## Phase de déclin

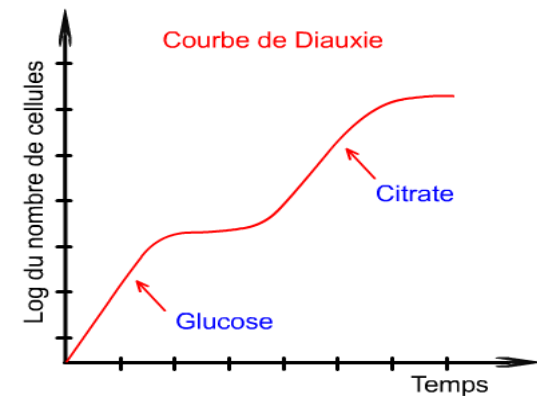
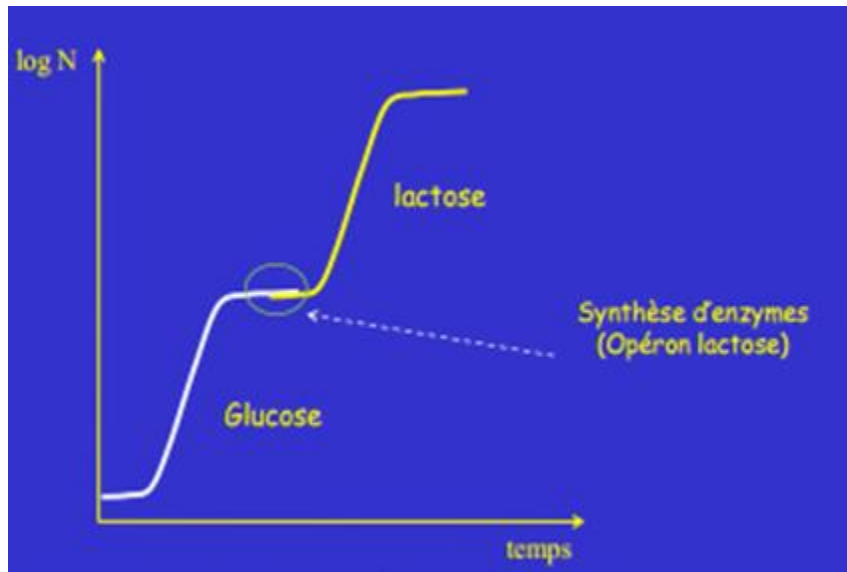
- ✓ Le taux de croissance est négatif ( $\mu < 0$ ):
- ✓ Toutes les ressources nutritives sont épuisées;
- ✓ Il y a accumulation de métabolites toxiques;
- ✓ Il se produit une diminution d'organismes viables et une lyse cellulaire sous l'action des enzymes protéolytiques endogènes;
- ✓ Cependant, il persiste une croissance par libération de substances libérées lors de la lyse (croissance cryptique).



# Cas particuliers de la croissance

## 1. Phénomène de Diauxie

- ✓ Il s'agit de la croissance des bactérie sur un milieu de culture synthétique contenant deux sources de carbone
- ✓ Deux phases de croissance exponentielle séparées par une phase de latence.
- ✓ Cette croissance est dite biphasique ou "diauxie", ou croissance double.
- ✓ La 1ère phase de croissance correspond à l'utilisation exclusive d'un des composés, elle est suivie d'une période d'adaptation et d'une deuxième phase de croissance où le deuxième composé est métabolisé.



# Cas particuliers de la croissance

## 2. Croissance synchrone

- ✓ On peut amener les bactéries à ce diviser en même moment, ce qui donnerait une croissance synchrone
- ✓ Par choc thermique chez *Salmonella typhimurium*, les bactéries sont incubées alternativement à une température 25°C pendant 28 minutes puis à 37°C pendant 8 minutes

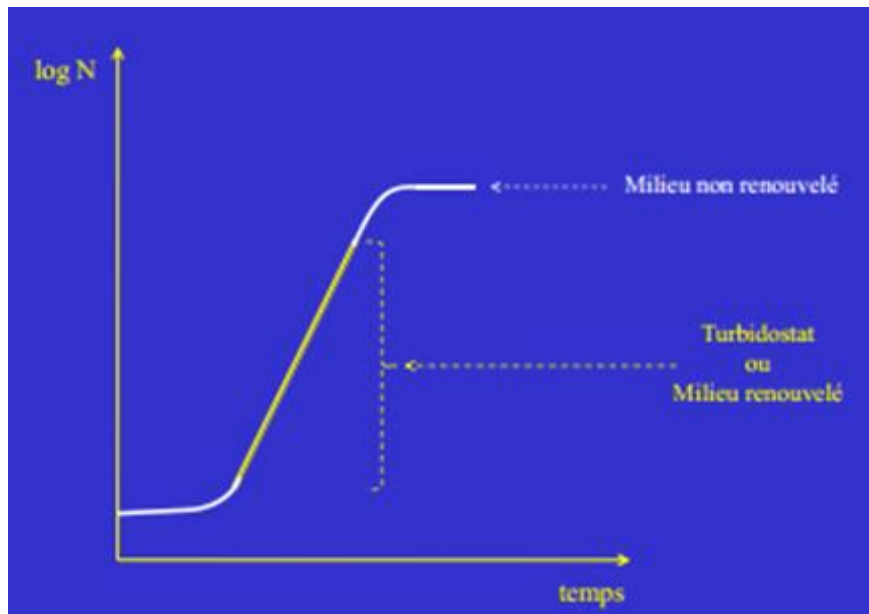


La courbe montre une série de paliers successifs  
correspond chacun à un doublement

# Cas particuliers de la croissance

## 3. Culture continue

- ✓ Dans les conditions habituelle de la croissance, la phase exponentielle ne dure que quelques heures
- ✓ Expérimentalement on peut maintenir une culture en croissance exponentielle pendant plusieurs heures voir plusieurs jours
- ✓ Pour cela il faut renouveler constamment le milieu de culture tout en éliminant les produits résultant du métabolisme cellulaire
- ✓ C'est le principe de fermentations industrielle
- ✓ Le système est donc ouvert et appelé chemostat



Courbe de croissance  
en milieu renouvelé



## Remarque

**Dans les conditions habituelle de la croissance (ni renouvellement de milieu de culture ni élimination des déchets de la croissance), le système de culture est fermé on dit que la culture est discontinue c'est la culture en batch**





# Expression mathématique de la croissance

La croissance d'une bactérie est caractérisée par deux constantes:

**1. Le temps de génération** : c'est le temps qui sépare deux divisions successive ou temps nécessaire au doublement de la population.

$$G = t/n$$

t: temps de croissance, n: nombre de divisions (génération)

Ex: chez *E. coli*:  $G = 20\text{mn}$

**2. Le taux de croissance bactérien**: C'est le nombre de divisions par heure

$$T \text{ ou } \mu = n/t = 1/G$$

Ex: chez *E. coli*:  $\mu = 3 \text{ divisions/h}$

1 cellule ---> 2 cellules ---> 4 cellules ---> 8 cellules ---> 16 cellules ---.



Soit une population bactérienne contenant un **nombre initial** de Bactéries  $X_0$

- Après une génération  $\longrightarrow X_1 = 2 X_0$
- Après deux générations  $\longrightarrow X_2 = 2 X_1 = 2 \times 2 X_0 = 2^2 X_0$
- Après trois générations  $\longrightarrow X_3 = 2 X_2 = 2 \times 2 \times 2 X_0 = 2^3 X_0$
- .
- .
- .
- Après n générations  $\longrightarrow X_n = 2^n X_0$

$n$  = nombre de divisions

$X_0$ : nombre initial des bactéries

$X_n$ : nombre final des bactéries

$$\text{Donc: } X_n = 2^n X_0$$

$$n = \frac{\log X_n - \log X_0}{\log 2}$$

**Ex :** Si le temps de génération est de **20 minutes**, que l'on part d'une bactérie et que l'on a, en conditions appropriées, une croissance exponentielle pendant une nuit de **8h00** alors on aura  $N = 1 \times 2^{8/0.333} = 2^{24} = 1.6 \times 10^7$  cellules.



# Facteurs influençant la croissance bactérienne

- A. Composition du milieu de culture
- B. Facteurs physicochimiques de la croissance
- C. Les agents antimicrobiens: les antibiotiques

## A. Composition du milieu de culture

**Le taux de croissance d'une bactérie dépend du milieu de culture**

**EX: *Bacillus subtilis*:  $\mu = 0,3$  divisions /h sur milieu synthétique**

**$\mu = 3$  divisions/h sur bouillon nutritif**



## B. Facteurs physicochimiques de la croissance

### 1. Effet de l'oxygène

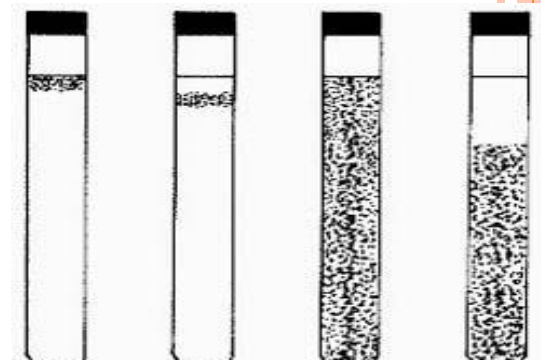
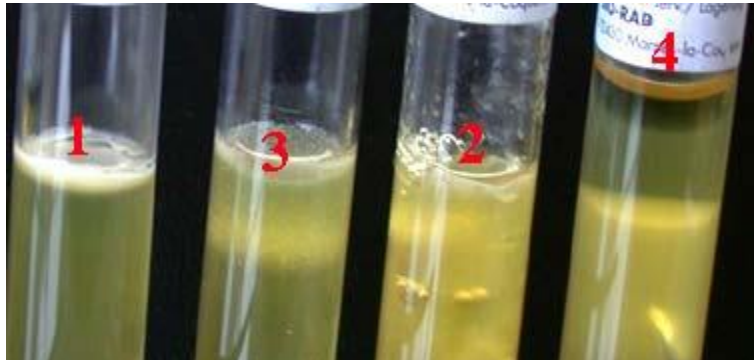
Selon leur comportement vis-à-vis de l'oxygène, les bactéries sont classées en quatre groupes

**1 - Les bactéries aérobies strictes** ne se développent qu'en présence d'air. Leur source principale d'énergie est la respiration. L'oxygène moléculaire, ultime accepteur d'électron, est réduit en eau (*Pseudomonas, Acinetobacter, Neisseria*).

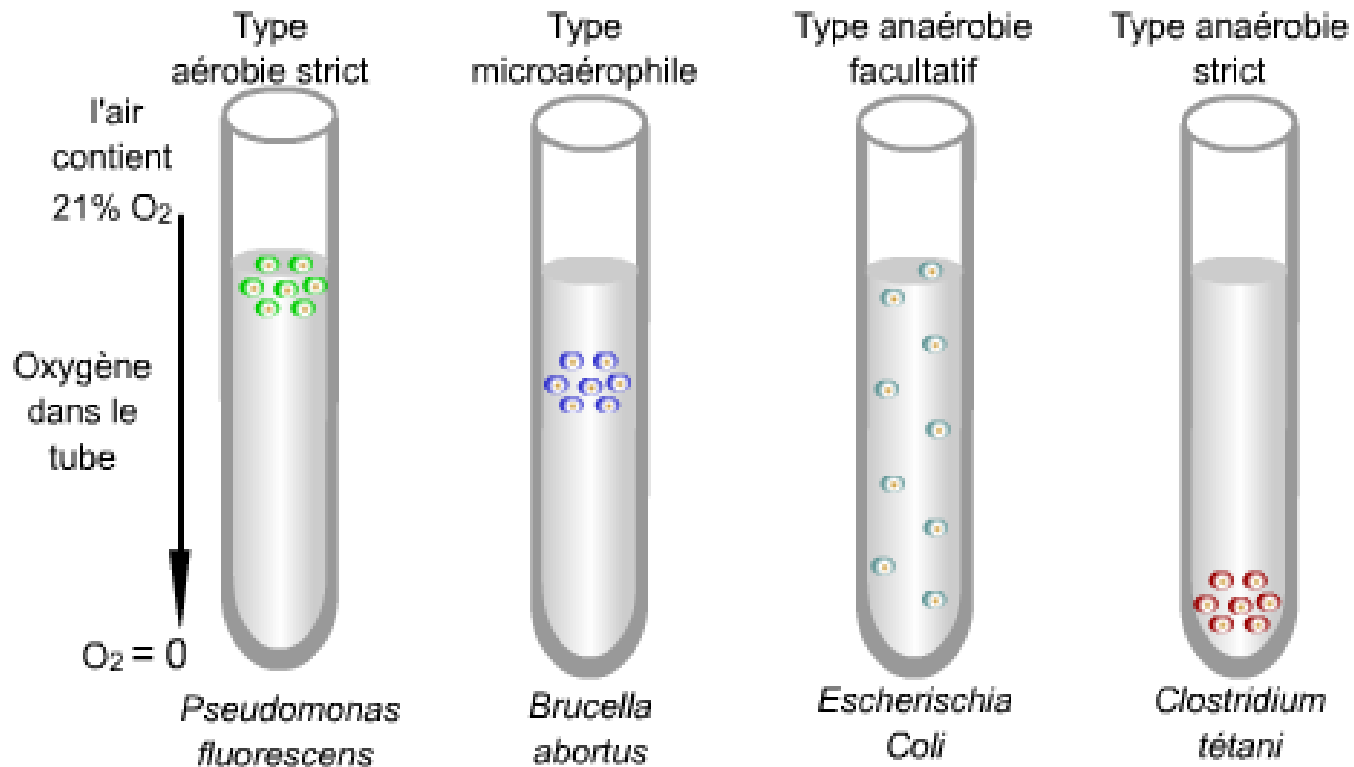
**2 - Les bactéries microaérophiles** se développent mieux ou exclusivement lorsque la pression partielle d'oxygène est inférieure à celle de l'air (*Campylobacter, Mycobacteriaceae*).

**3- Les bactéries aéro-anaérobies facultatives** se développent avec ou sans air. C'est le cas de la majorité des bactéries rencontrées en pathologie médicale : les entérobactéries (*Escherichia, Salmonella*), les streptocoques, les staphylocoques. L'énergie provient de l'oxydation des substrats et de la voie fermentaire.

**4 - Les bactéries anaérobies strictes** ne se développent qu'en absence totale ou presque d'oxygène qui est le plus souvent toxique. Ces bactéries doivent se cultiver sous atmosphère réductrice. La totalité de l'énergie est produite par fermentation. C'est le cas des bactéries intestinale (*Bacteroides, Fusobacterium, Clostridium*)



## Types de bactéries en fonction de la disponibilité en oxygène



Le milieu de culture dans les tubes contient du thioglycollate( le thioglycollate complexe l'oxygène et le rend inutilisable par les bactéries).

Le milieu dans le haut du tube contient une petite quantité d'oxygène qui provient de la diffusion de l'air. Le fond du tube ne contient pas d'oxygène.

Les bactéries aérobies se développent en haut du tube. Les bactéries anaérobies strictes sont au fond du tube.

## 2. Effet de la température

Les bactéries peuvent être classées selon leur température optimale de croissance.

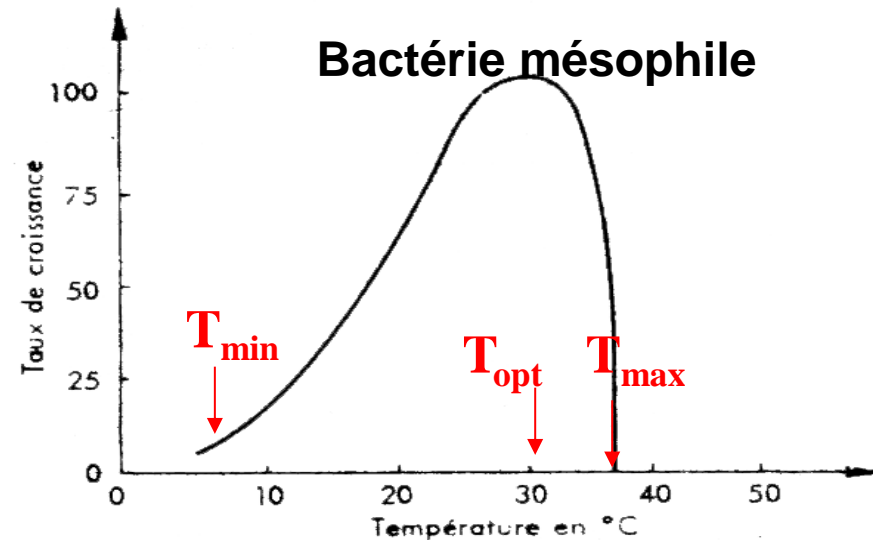
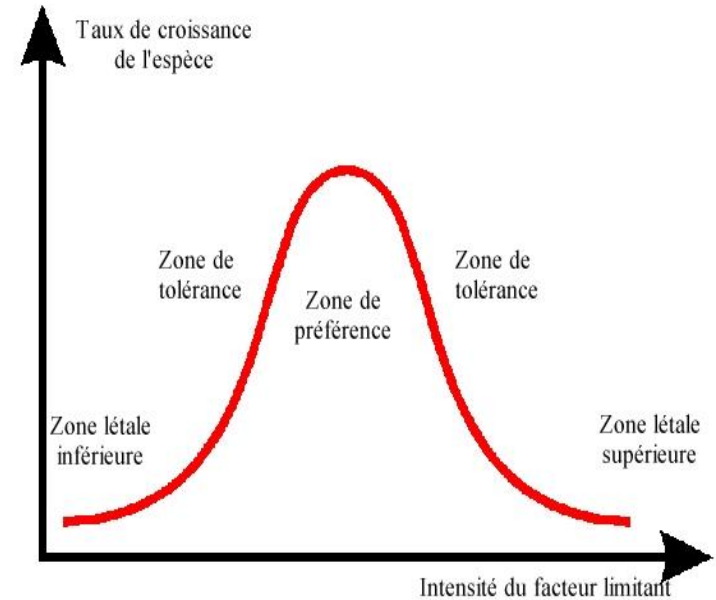
- **Bactéries mésophiles** (Ex. *Escherichia coli*) : T° de croissance proche de celle du corps humain (37°C).

- **Bactéries thermophiles** (Ex. *Thermus aquaticus*) : T° de croissance comprises entre 45°C et 70°C .

- **Bactéries hyperthermophiles** (Ex. *Archaea*) : T° de croissance supérieures à 80°C

- **Bactéries psychrophiles**: T° proches de 0°C (optimum à 10-15°C).

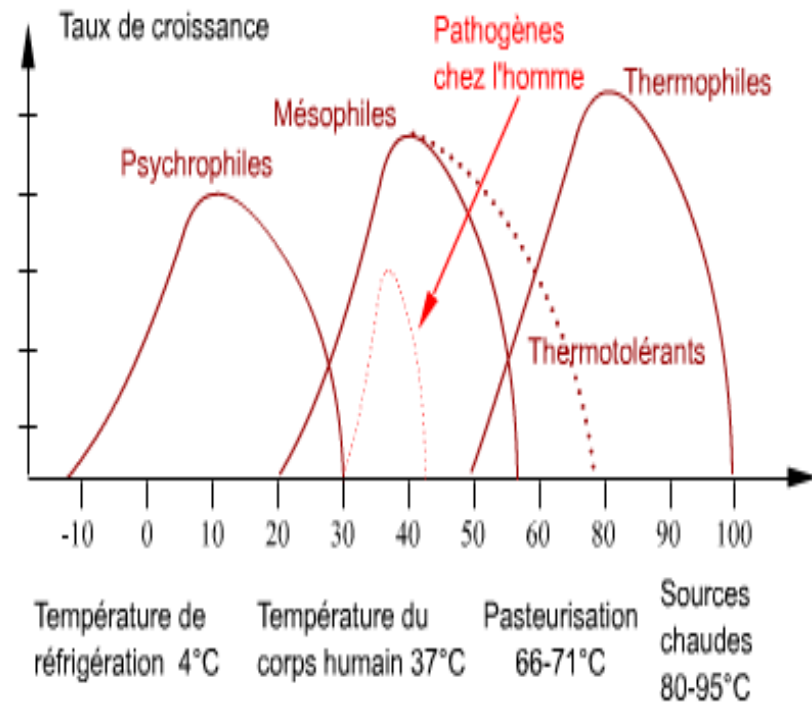
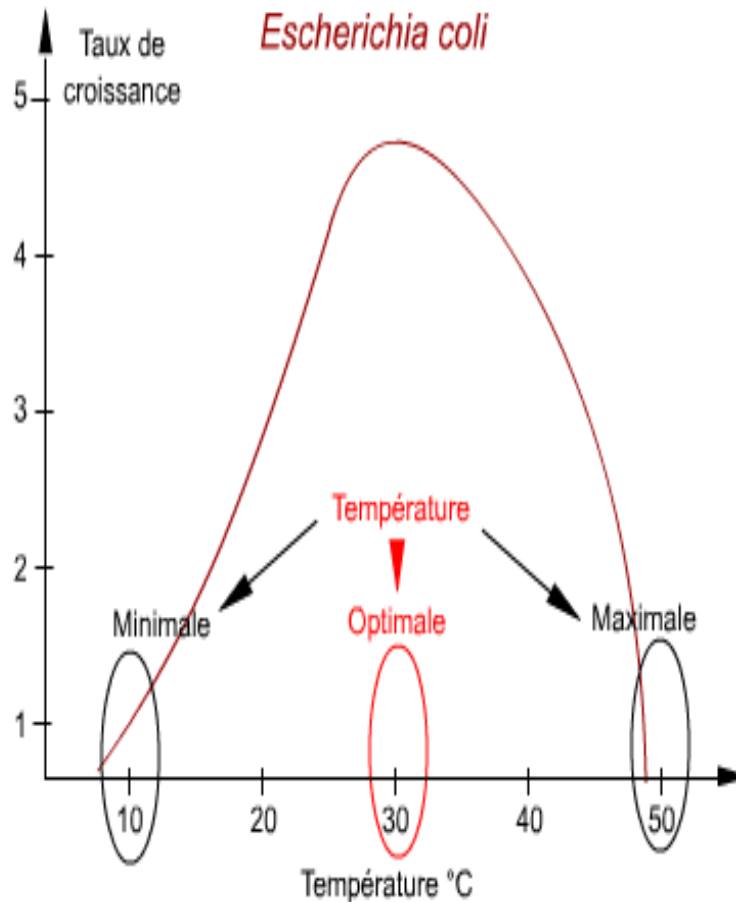
- **Bactéries psychrotrophes** (Ex. *Pseudomonas*): T° de croissance proches de 0°C avec optimum de croissance proche des bactéries mésophiles.



## Exemple : Température optimale de la croissance

Notion de température optimale  
de culture des bactéries

*Escherichia coli*

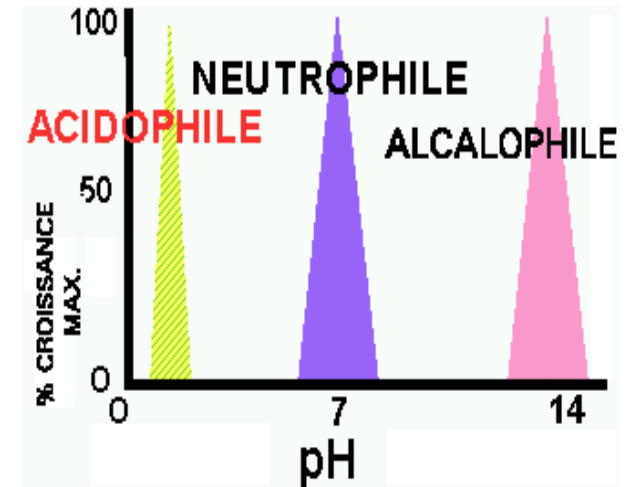
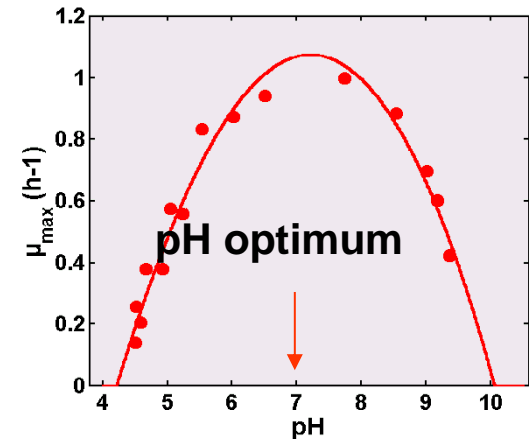


### 3. Effet du pH

Les bactéries pathogènes ou liées à l'écosystème humain se développent le plus souvent dans des milieux neutres ou légèrement alcalins

On distingue les bactéries:

- **Neutrophiles** : qui se développent pour des pH sont compris entre 5,5 et 8,5 avec un optimum voisin de 7. La plupart des bactéries médicalement importantes sont ainsi.  
Ex. isolement d'une souche de *E.coli* sur un milieu usuel
- **Alcalophiles (basophiles)** : qui préfèrent les pH alcalins: cas de *Pseudomonas* et *Vibrio*, donc milieux de culture particuliers
- **Acidophiles**: qui se multiplient mieux dans des milieux acides : cas des *Lactobacillus*.





## 4. Effet de la pression osmotique

Les bactéries sont assez tolérantes aux variations des concentrations ioniques. Certaines espèces sont osmotolérantes (*staphylocoques*, *Vibrio cholerae*). La bactérie accumule dans le cytoplasme une concentration élevée en substrats



$PO_{int} > PO_{ext}$

Si forte augmentation de l'osmolarité du milieu extracellulaire :



Risque d'efflux d'eau

La bactérie doit donc ajuster sa pression interne à une valeur supérieure à celle du milieu externe, c'est l'**osmorégulation**: accumulation de  $K^+$ , acides aminés, sucres .....

Lorsque la pression du milieu intérieur est égale à la pression du milieu externe, on dit que le milieu est **isotonique**, lorsque elle est supérieure on parle du milieu **hypotonique**, lorsque elle est inférieure on parle du milieu **hypertonique**



Selon ce pouvoir d'osmorégulation, on distingue quatre groupes de bactéries

Groupe	Exemple	[NaCl] tolérée
Non Halophiles	<i>E. coli</i>	0 à 4 %
Halophiles	<i>Pseudomonas marina</i>	0,2 à 5 %
Halophiles modérés	<i>Pediococcus halophilus</i>	2,3 à 20,5 %
Halophiles extrêmes	<i>Halobacterium</i>	5 à 36 %



## 5.Effet de l'eau libre (activité de l'eau)

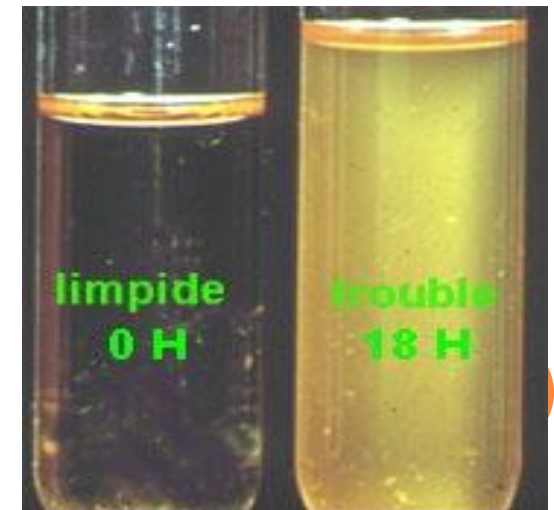
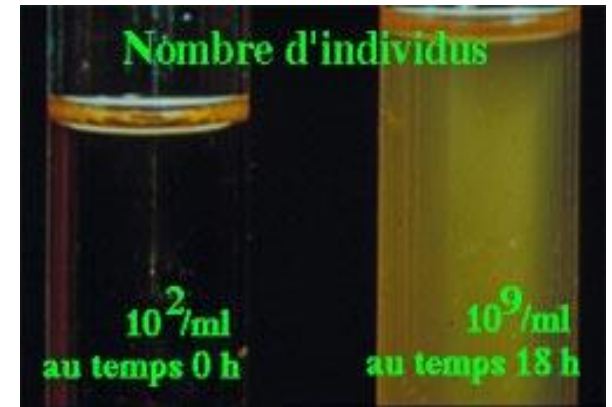
- ✓ L'activité de l'eau ( $a_w$ ) est inversement proportionnelle à la pression osmotique d'un composé.
- ✓ Elle est affectée par la présence plus ou moins importante de sels ou de sucres dissous dans l'eau.
- Présence de sels : Les bactéries **halophiles** nécessitent du sel (NaCl) pour leur croissance. Cette concentration peut varier de 1-6% pour les faiblement halophiles jusqu'à 15-30% pour les bactéries halophiles extrêmes (*Halobacterium*).
- Les bactéries **halotolérantes** acceptent des concentrations modérées de sels mais non obligatoires pour leur croissance (Ex. *Staphylococcus aureus*).
- Présence de sucres : Les bactéries **osmophiles** nécessitent des sucres pour leur croissance. Celles osmotolérantes acceptent des concentrations modérées de sucres mais non obligatoires pour leur croissance.
- Enfin les bactéries **xérophiles** peuvent se multiplier en l'absence d'eau dans leur environnement.

# Mesure de la croissance bactérienne

## 1. Mesure du trouble (ou absorbance)

**Les bactéries troublent les milieux liquides lors de leur croissance**

- Cette méthode consiste à suivre l'évolution de la population bactérienne en mesurant l'absorbance du milieu de culture grâce à un spectrophotomètre;
- C'est la méthode la plus utilisée pour évaluer la masse microbienne;
- C'est une méthode optique fondée sur la propriété que présente toute suspension de diffracter une partie de l'intensité d'un faisceau de lumière qui la traverse en ligne droite.



## Mesure du poids sec

La méthode est réalisée selon les étapes suivantes:

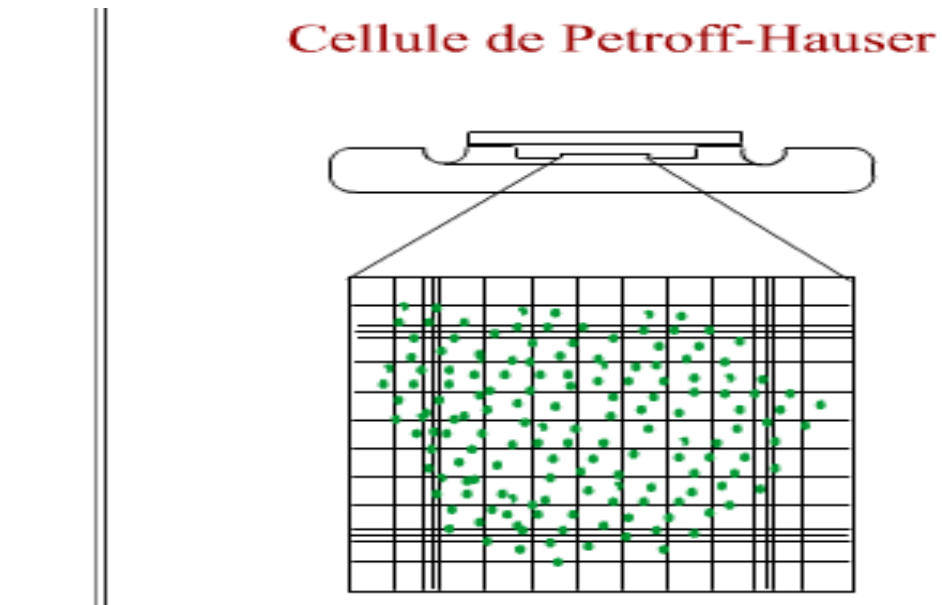
- Les bactéries d'une culture sont récoltées par centrifugation ou par filtration sur membrane (T0h, 2h, 4h, ... d'incubation);
- Le culot bactérien ou le filtre est desséché à 100-110°C jusqu'à avoir un poids constant puis pesée ( peser répétées jusqu'à avoir un poids constant);
- Le poids est généralement exprimé en grammes de matière sèche par litre de culture



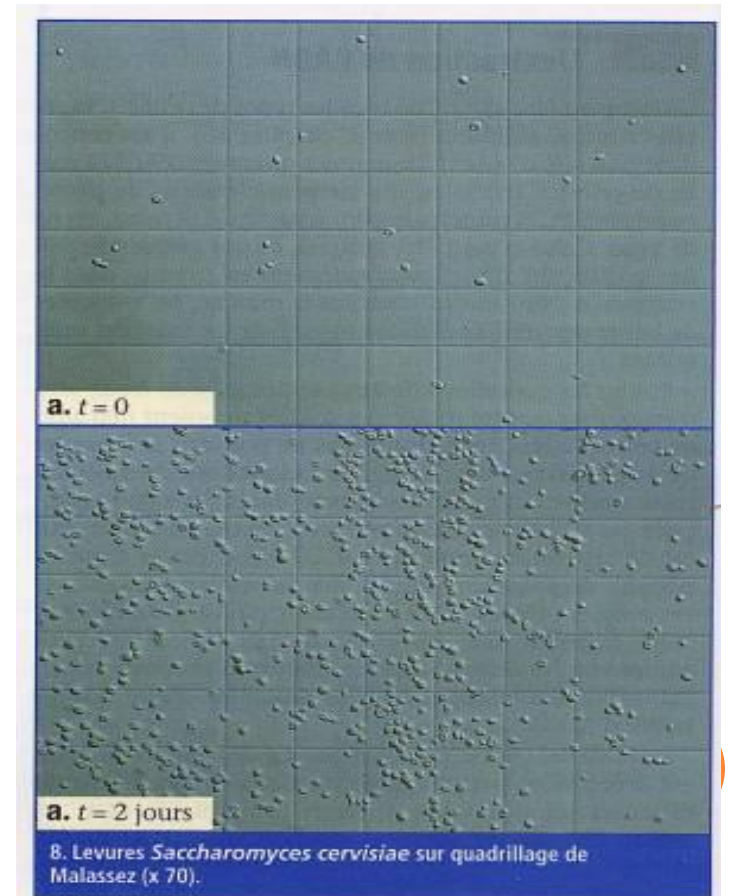
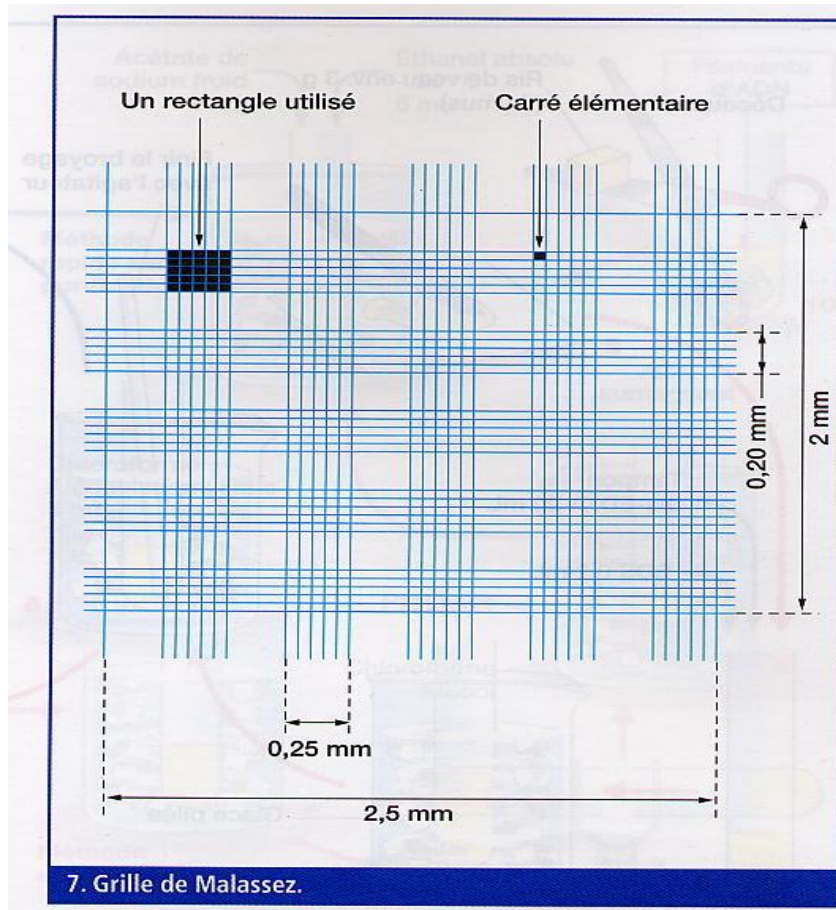
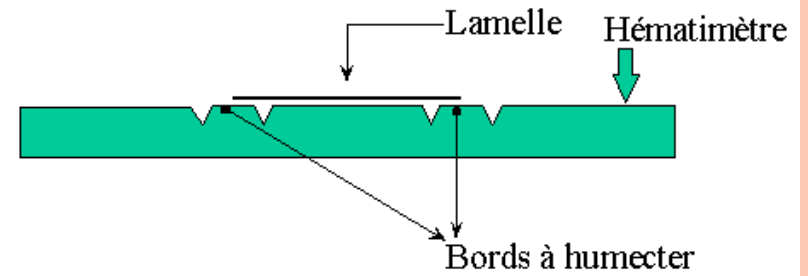
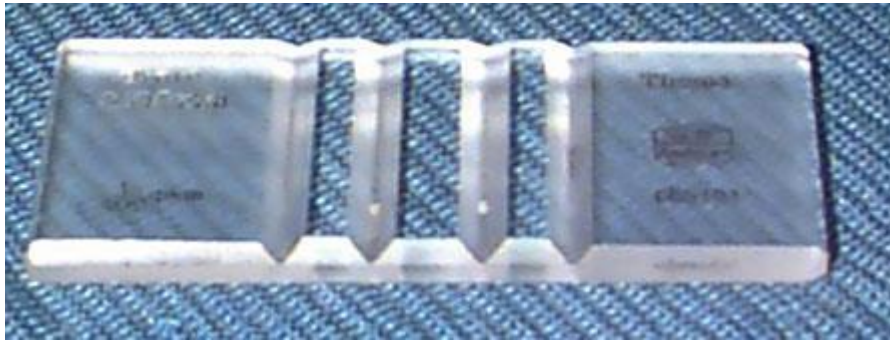
# Mesure du nombre des bactéries

## 1. Dénombrement direct (Lecture au microscope )

- Le comptage des bactéries se fait en utilisant un hématimètre (chambre de comptage de Petroff-Hausser, cellules de Thoma, cellules de Malassez...)
- Le microscope permet une numération totale des cellules
- Elle ne permet pas de distinguer facilement les cellules vivantes des cellules mortes.







$$N = nk / v$$

- N: nombre de cellules par litre ou ml
- n: nombre de cellules comptés sur microscope
- k: facteur de dilution
- v: volume de comptage (L ou mL)





## 2. Dénombrement indirect (Dénombrement après culture)

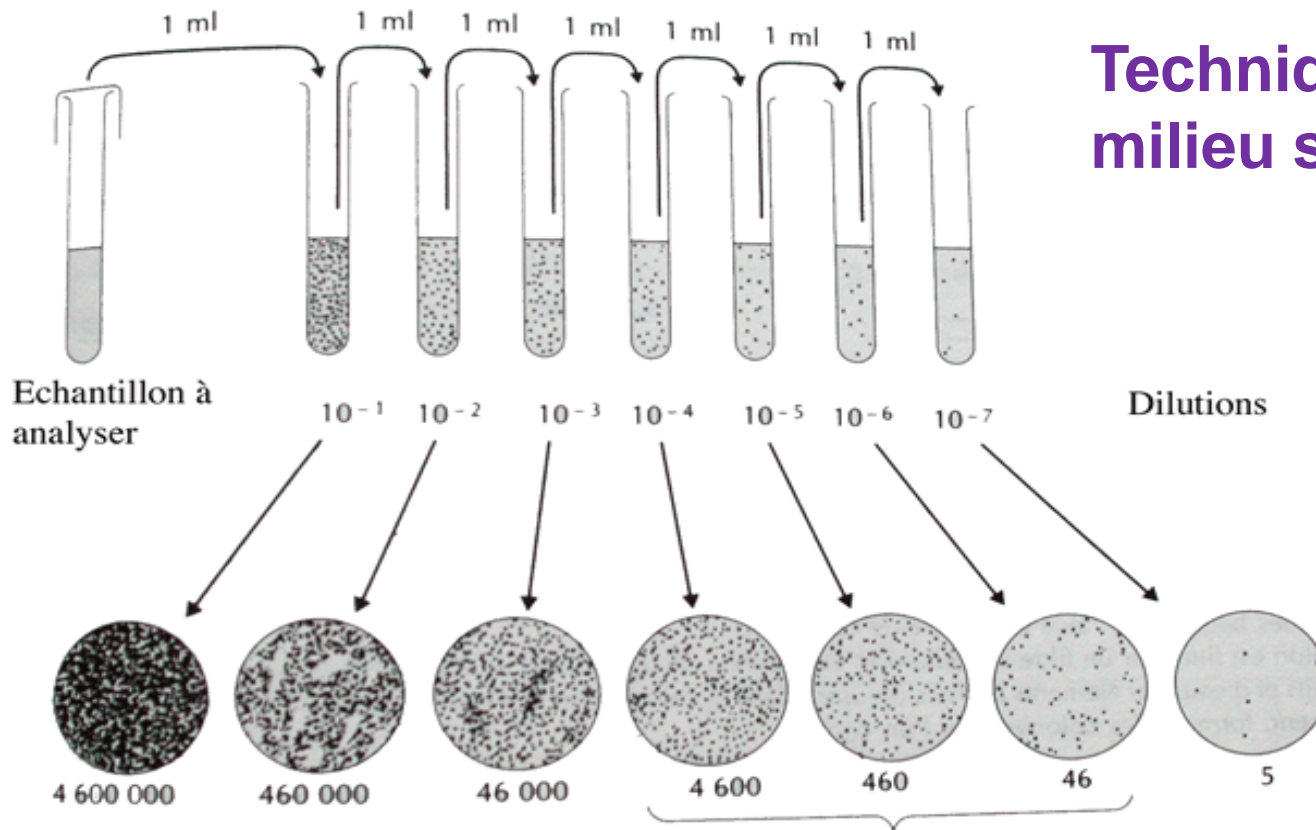
**C'est la méthode la plus utilisée, elle permet de compter les bactéries viables et cultivables;**

**Les techniques les plus utilisées:**

- Culture en boîte de Pétri**
- Méthode du nombre le plus probable (NPP)**
- Méthode de filtration sur membrane**



## a. La Numération sur Gélose en boîte de Pétri



- Après incubation on compte le nombre des colonies (choisir les boîtes contenant entre 30 et 300 colonies).
- Comme une colonie provient d'une seule cellule ou d'un amas de cellules, on exprime le résultat en UFC/ volume de l'échantillon.
- Le résultat final est multiplié par le facteur de dilution).

$$N = \sum C / (n_1 + 0,1n_2) dv$$

- N: nombre totale des colonies
- $n_1$ : nombre de boites de la 1<sup>ère</sup> dilution
- $n_2$ : nombre de boites de la 2<sup>ème</sup> dilution
- d: la dilution la plus faible
- v: volume d'inoculation

### Exemple

Dilution		10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>
<i>Coliformes</i>	Boite 1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	240	28
	Boite 2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	256	24

*Nombre de Coliformes = 2.49\*10<sup>9</sup> UFC/ml*



## b. Numération par le nombre le plus probable

### Technique sur milieu liquide

- Ce dénombrement se fait en milieu liquide
- Le calcul du nombre le plus probable utilise des dilutions de
- l'échantillon et pour l'interprétation fait appel à des calculs de probabilité
- La précision de cette méthode est nettement inférieure à la précédente

$$N = \frac{NPP}{V_{ensemencé}} \times Fd$$



## Table de Mac Grady

Dilution utile pour la lecture des résultats

-1      -2      -3  
 Exemple: + + +    + + -    + - -  
                  3        2        1

Sur la table 321: NPP= 15

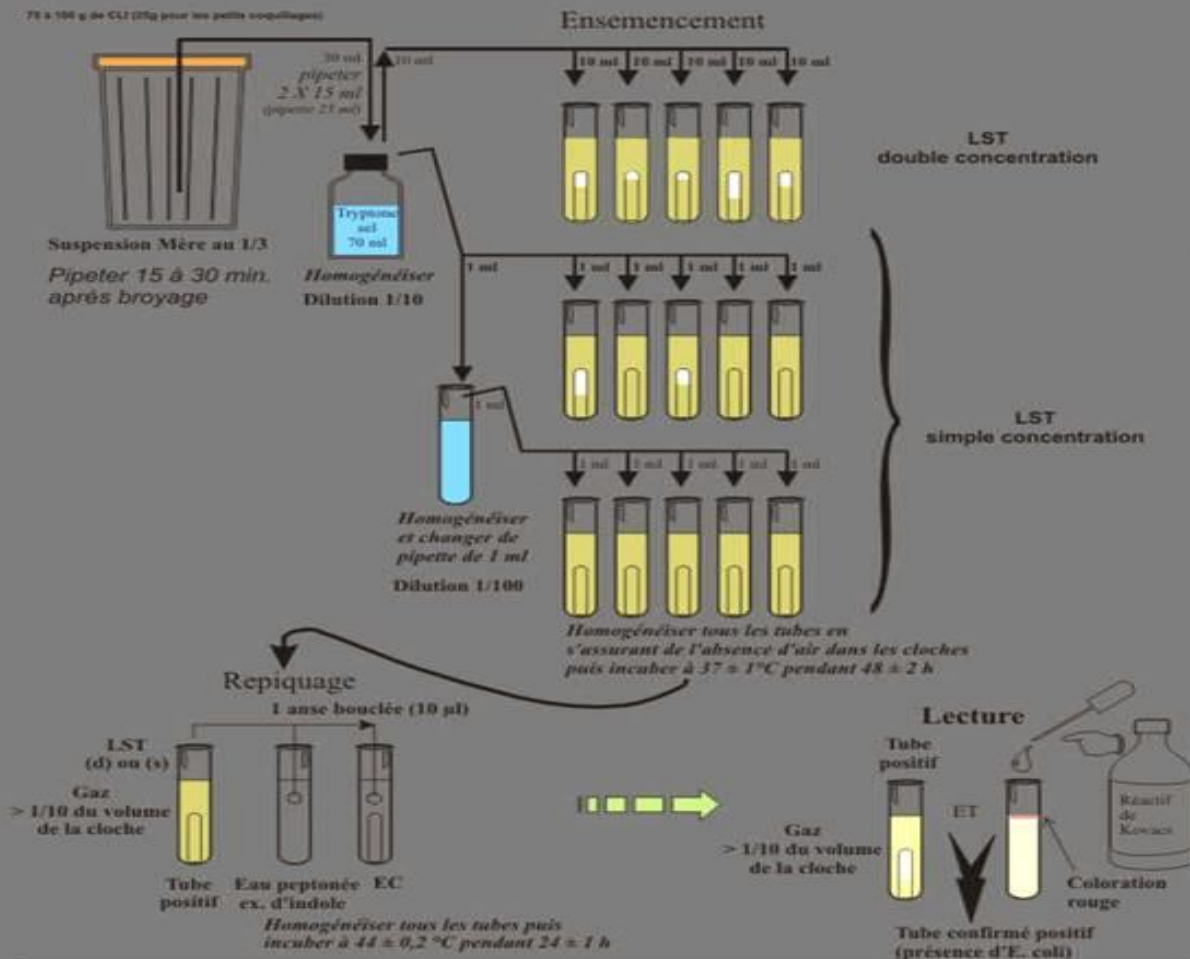
$N = (NPP / V \text{ ensemencé}) * F \text{ dilution}$

$N = (15 / 1) * 10 = 150 \text{ bactéries/ml}$

Nombre de tubes positifs au niveau des 3 taux de dilution retenus	NPP	Nombre de tubes positifs au niveau des 3 taux de dilution retenus	NPP
000	< 0,3	230	2,9
001	0,3	300	2,3
010	0,3	301	4
020	0,6	302	6
100	0,4	310	4
101	0,7	311	7
110	0,7	322	12
111	1,1	320	9
120	1,1	321	15
121	1,5	322	21
200	0,9	323	29
201	1,4	330	20
210	1,5	331	50
211	2,0	332	110
220	2,1	333	>110
221	2,8		



75 à 100 g de CLI (25g pour les petits roquillages)



### Choix des dilutions

Noter le nombre de tubes positifs par dilution. Il faudra retenir 3 dilutions consécutives.

Cas 1 : Au moins une dilution révèle 5 tubes positifs.

- Choisir la dilution la plus élevée révélant 5 tubes positifs et les 2 dilutions suivantes.
- Si toutes les dilutions révèlent 5 tubes positifs, choisir les 3 dilutions les plus élevées.

Cas 2 : Aucune dilution ne révèle 5 tubes positifs.

- Choisir les 3 dilutions les plus élevées de la série.

Cas particulier : plusieurs dilutions choisies ne révèlent pas de tube positif.

- Retenir la dilution la moins élevée ne contenant pas de tubes positifs ainsi que les 2 dilutions précédentes.

### Détermination du coefficient NPP

Lire sur la table NPP correspondant au volume de l'inoculum. Seuls les résultats de catégorie 1 et 2 seront acceptés.

### Calcul du NPP

NPP = coefficient NPP x 1 / première dilution choisie

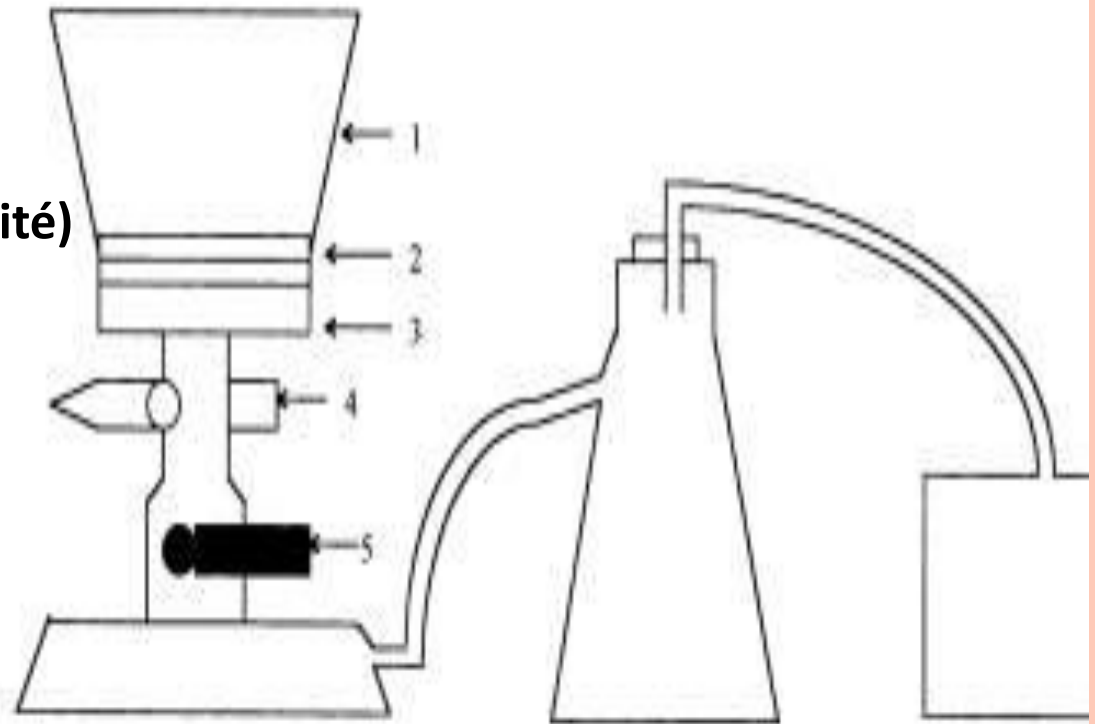
Si tous les tubes sont négatifs le résultat est : < 18 E. coli / 100 g de CLI

Les résultats > 1000 sont arrondis à la dizaine inférieure si l'unité < 5 et à la dizaine supérieure si l'unité > ou = 5.

## **b. Méthode de filtration sur membrane**

- **Méthode classique de dénombrement**
- **Elle consiste à filtrer un volume déterminé d'une suspension sur une membrane filtrante de cellulose qui est ensuite déposée sur un Milieu de culture solide.**

- 1 : entonnoir stérile (250ml)  
2 : membrane (0,45gm de porosité)  
3 : support en acier  
4 : levier (pour casser le vide)  
5 : vanne à vide



# CHAPITRE 05

## LES AGENTS ANTIMICROBIENS





# GÉNÉRALITÉS

Pour de multiples raisons, il est indispensable de contrôler le développement des microorganismes pour:

- Eviter les effets nuisibles de certaines bactéries sur l'homme et les animaux (Ex. bactéries pathogènes)
- Ou sur les produits de l'activité de l'homme :  
Altération des aliments, dégradations diverses.
- Les moyens de lutte sont nombreux, leurs buts est d'inhiber le développement des microorganismes nuisibles (microbiostatiques) mais le plus souvent de les détruire totalement (microbicides).



## Selon les différents types de microorganismes, on distingue

- **Algicides** : agents antimicrobiens actifs sur les algues
- **Fongicides** : agents antimicrobiens actifs sur les champignons.
- **Virucides** : Agents antimicrobiens actifs sur les virus
- **Antibiotiques** : Agents antimicrobiens actif sur les bactéries pathogènes.
- **Antiparasites** : Agents antimicrobiens actifs sur les protozoaires



# DÉFINITIONS

## ○ a) Stérilisation :

C'est l'opération qui a pour objet de tuer toutes formes de vie microbienne y compris les endospores contenues dans une préparation. Le matériel traité est dit **stérile** lorsqu' aucun microorganisme n'est revivifiable ou capable de se développer.

- Les agents utilisés pour assurer la stérilisation sont physiques ou chimiques.
- Il s'agit d'une oxydation totale de microorganisme)



## b) Désinfection :

- Les désinfectés sont des agents chimiques capables de détruire les germes pathogènes dans les milieux inanimés (extérieurs à l'homme) : Eau, Air, sol, objets et matériaux.
- Ils sont utilisés à fortes doses (concentrations élevées) et pendant des temps de contact prolongés.

Ex : Hypochlorite de sodium (eau de javel) est un désinfectant utilisé pour rendre l'eau potable ou pour traiter les surfaces en vue de les débarrasser des microorganismes.




### c) Antiseptie :

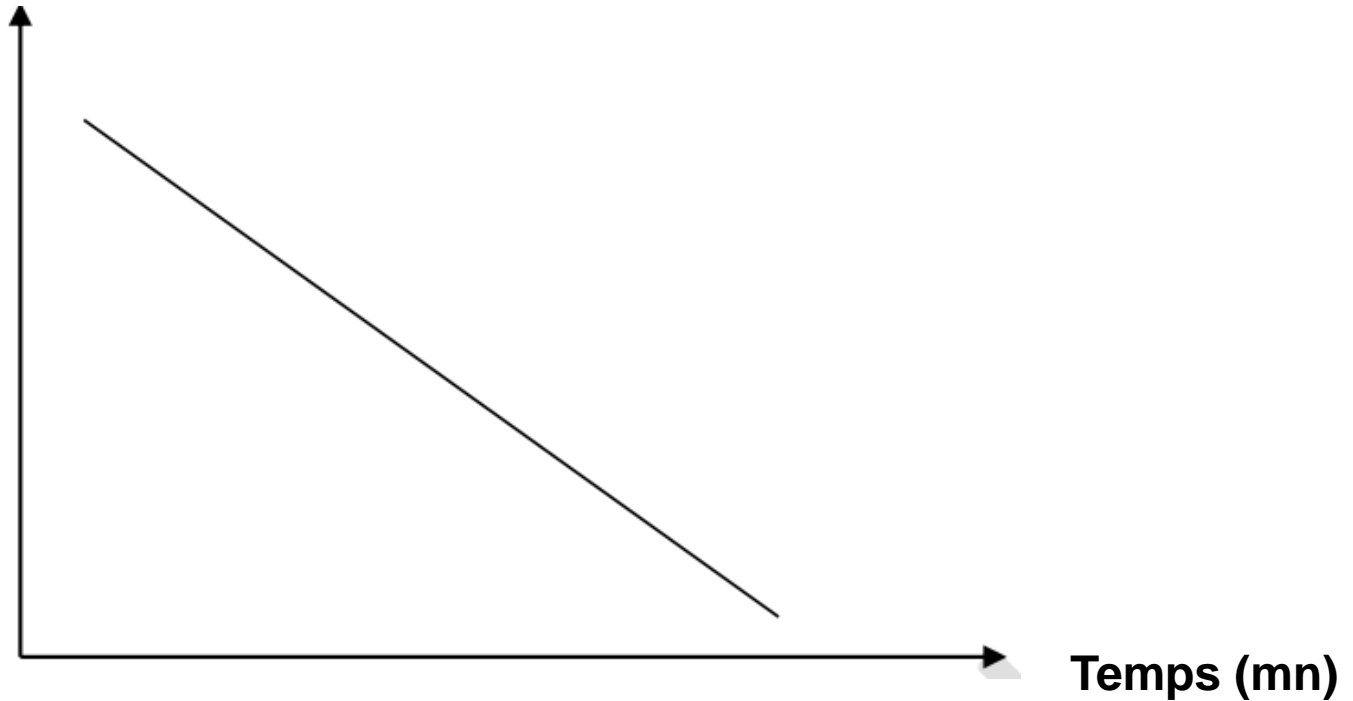
- Un milieu est dit septique, lorsqu'il contient des microorganismes, il est aseptique dans le cas contraire.
- L'asepsie rigoureuse est indispensable en milieu hospitalier, services à haut risque (chirurgie, réanimation).
- Les agents antiseptiques sont des substances chimiques capables de détruire les microorganismes ou d'arrêter leur développement ou leur action. Ils exercent une action locale chez les êtres vivants (au niveau d'une plaie, une muqueuse).

## II- ACTION ANTIMICROBIENNE

### a) Schéma d'inactivation

- Lorsque les bactéries sont mises au contact d'un agent antimicrobien, leur destruction suit des lois statistiques.
  - Si on a  $10^6$  bactéries en suspension dans un milieu donné, ces bactéries ont la même sensibilité vis-à-vis de la substance antimicrobienne. Après une minute, 90% de la population est détruite, il reste  $10^5$ , après deux minutes 90% de la population restante doit être aussi détruite, il reste  $10^4$ , après 3, 4 et 5 minutes, il reste  $10^3$ ,  $10^2$ ,  $10^1$  bactéries.
  - Le nombre de survivants décroît progressivement en fonction du temps
- 

**Log nombre  
des cellules**



**Courbe : Action d'un agent antimicrobien en fonction du temps**



## b) Facteurs influençant l'action antimicrobienne

L'action antimicrobienne dépend de certains facteurs qui la favorisent ou l'inhibent:

- **Microorganisme** : Toutes les espèces bactériennes ne sont pas également sensibles vis-à-vis d'une substance antimicrobienne. Au cours d'une infection, il faut définir une liste de produits actifs sur l'espèce responsable : **Antibiogramme** dans le cas d'étude des antibiotiques.

- **L'état physiologique influe sur la vitalité et la sensibilité** :

**Etat physiologique** : En phase exponentielle les microorganismes sont plus résistants aux agents antimicrobiens que ceux âgés de 24H et plus.

**Formes sporulées** ont une résistance particulières aux agents physiques et chimiques.

- **Nombre de germes** : plus il est élevé plus le temps exigé pour leur destruction est élevé.





# Historique

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.



## ○ **Agent antimicrobien :**

Pour chaque agent, on définit un **spectre d'activité** (liste des espèces vis-à-vis desquelles il exerce son pouvoir bactéricide ou bactériostatique).

Les désinfectants (formol..) ou les antiseptiques (alcool..) ont un spectre très large.

Les antibiotiques ont un spectre plus étroit. Ex. La pénicilline G n'agit que sur les bactéries Gram (+) (Streptocoque, Staphylocoque....).

### **Les facteurs influençant son efficacité :**

L'intensité pour les agents physiques : plus la T° ou la pression est élevée plus l'action est forte.

La concentration pour les agents chimiques : un antibiotique est bactériostatique à une concentration x et bactéricide à une concentration 2x.



## II- LES AGENTS ANTIMICROBIENS PHYSIQUES

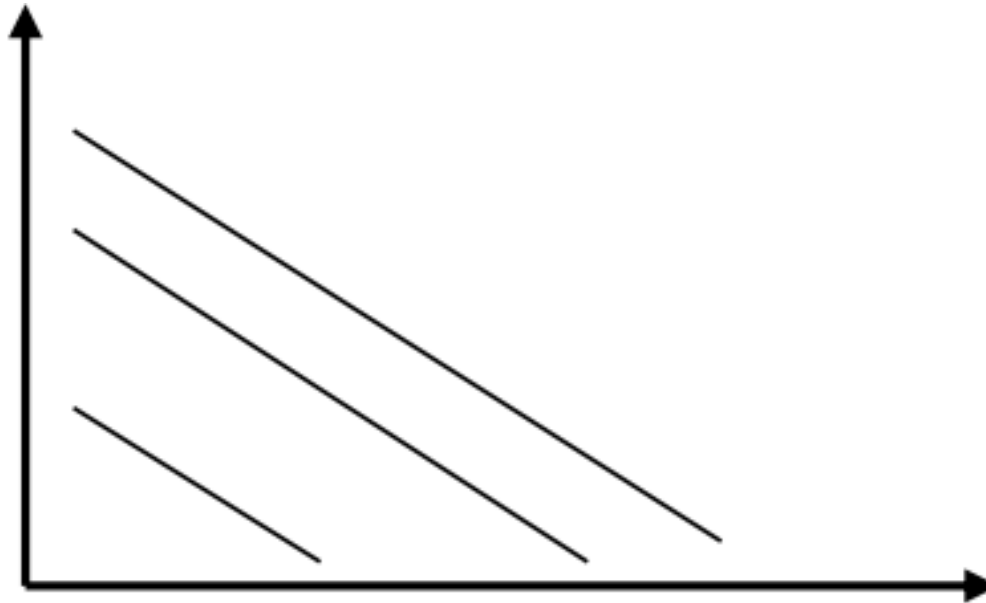
### 1- Température :

#### a) Action de la T° : Elle dépend de :

- **L'environnement** : En solution aqueuse, la plus part des microorganismes sous la forme végétative sont rapidement détruite à la température 100 °C, par contre, dans un milieu déshydraté, ils sont plus résistants.
- **L'état physicochimiques des cellules** : Formes végétatives inactivées à 50°C à 60°C pendant 30 mn, les formes sporulées sont thermorésistantes, T°>100°C pendant plusieurs dizaines de mn.
- **Nombre de cellules présentes dans le milieu à stériliser** : nombre élevé, temps élevé



**Log n**



**Temps (mn)**

**Relation entre le nombre des cellules et le temps de stérilisation**



## b. Procédés

**1. La chaleur humide :** tue les microorganismes en provoquant la coagulation des protéines.

- La stérilisation par la chaleur humide doit se faire à une température supérieure au point d'ébullition, la méthode la plus courante pour obtenir des températures de cet ordre est l'utilisation de vapeur sous pression dans un autoclave. Ce dernier est une enceinte métallique hermétiquement fermée, dans laquelle l'eau est chauffée et la vapeur d'eau s'élève et atteint  $121^{\circ}\text{C}$  pour tuer les microorganismes y compris les endospores entre 15 à 20mn et la pression 103,42K pa ou 1 bar.
- La stérilisation par chaleur humide dans l'autoclave est très utilisée pour stériliser la verrerie et les milieux de culture, elle est très employée en industrie alimentaire surtout lors de la préparation des conserves alimentaires.

## Types de chaleur humide

- **La pasteurisation** : c'est une forme de stérilisation par la chaleur humide, elle a pour rôle d'éliminer les microorganismes pathogènes et de diminuer les microorganismes non pathogènes. Elle est utilisée pour certains produits naturels (lait, jus de fruits, certaines conserves). La pasteurisation élimine les microorganismes sans altérer la valeur nutritionnelle des produits alimentaires.
- **L'ébullition** : utilisée en cuisine pour faire cuire les aliments et donc tous les microorganismes sont détruits.
- **La tyndallisation** : relative à Tyndall, elle a pour objectif la destruction des microorganismes dans les matières sensibles à la température. Le principe de cette méthode repose sur le chauffage de la matière à traiter à 60-70°C pendant 30mn à 1 heure trois répétitions successives à 24H d'intervalle.

## **b2. La chaleur sèche :**

- détruit les microorganismes par oxydation, mais dont l'utilisation est très limitée puisque elle nécessite une température et un temps de contact très élevés.  
Ex : Flambage direct (anse de platine), stérilisation par air chaud (four Pasteur : 170°C pendant 2H.
- Généralement, les formes végétatives sont détruites à une température 100°C pendant 1h, alors que les formes sporulées 160 à 170°C pendant 1h, les spores des champignons 115°C à 1h.



## 2. Les radiations :

- Les rayons ultraviolets sont utilisés pour nettoyer les surfaces par exemple. Ils agissent au niveau des acides nucléiques et des protéines
- Ces rayons UV ont une action sur l'oxygène qui est transformé en ozone ( $O_3$ ) ou une action sur l'eau qui est transformé en eau oxygénée ( $H_2O_2$ ), ces deux produits sont toxiques pour les bactéries





### 3. Les agents mécaniques:

- **a. La filtration :** Généralement utilisée pour stériliser des solutions contenant des substances thermolabiles telles que les protéines, les vaccins, les milieux de culture.
- **b. La centrifugation :** elle permet de sédimenter les microorganismes (présents dans le lait par Ex), elle n'est pas suffisante et doit être complétée par une pasteurisation.



# III- LES AGENTS ANTIMICROBIENS CHIMIQUES

## Mode d'action :

- **Altération de la membrane cytoplasmique :**  
L'altération de sa structure entraîne une fuite de substances, une désorganisation du métabolisme et donc la mort. Ex. savons et phénols.
- **Dénaturation des protéines :** Ex. Alcools, solvants organiques, l'eau oxygénée, les sels et les métaux lourds qui coagulent les protéines.
- **Action sur le métabolisme bactérien :**  
Les cyanures, les fluorures sont des poisons respiratoires. Les colorants basiques comme le bleu de méthylène, le violet de gentiane agissent au contact des acides nucléiques. D'autres molécules telles que le mercure, le cuivre et les métaux lourds ont une action sur les groupements prosthétiques des enzymes en provoquant leur inactivation

## IV- LES AGENTS CHIMIOTHÉRAPEUTIQUES :

**1- Définition :** Ce sont des substances capables d'agir sur les microorganismes, tout en étant dépourvues de pouvoir toxiques. Ces agents chimiothérapeutiques sont :

- **Les antibiotiques :** dérivés chimiques élaborés par des microorganismes vivants.
- **Les sulfamides** sont des agents chimiques obtenus par synthèse.  
Ils agissent à des concentrations très faibles de l'ordre du  $\mu\text{g/ml}$  in vitro. Ils inhibent la croissance (**Bactériostatiques**) ou entraînent la destruction des bactéries (**Bactéricides**).



## 2- MÉCANISMES D'ACTION DES ANTIBIOTIQUES :

Un antibiotique agit dans la bactérie, à un niveau précis qui lui est propre et qu'on appelle site d'action ou cible moléculaire.

- **2.1. Action sur la paroi cellulaire :** plusieurs classes d'antibiotiques prennent pour cible des enzymes intervenant dans la synthèse de cette paroi
- **2.2. Action sur la membrane cytoplasmique :** Ces ATB peuvent agir de trois (03) manières différentes :
  - Désorganisation de la structure lipoproteique de la membrane.
  - Perturbations dans le transfert des ions à travers la membrane, conduisant à l'entrée excessive d'ions  $K^+$ . **Ex :** La Gramicidine.
  - Action sur l'ATP ase donc pas d'énergie libérée.



## 2- MÉCANISMES D'ACTION DES ANTIBIOTIQUES :

- **2.3. Action sur les acides nucléiques :**
  - a. Action sur la réplication de l'ADN : Ex : La Mitomycine empêche la séparation des deux chaînes de l'hélice d'ADN au cours de la division cellulaire.
  - b. Action sur la transcription de l'ADN en ARNm.
- **2.4. Action sur la synthèse protéique :**

Un certain nombre d'antibiotiques agissent sur la synthèse des protéines au niveau des ribosomes (soit la 30S ou la 50S) en empêchant la lecture du code ou en le faussant.



## 2- MÉCANISMES D'ACTION DES ANTIBIOTIQUES :

### ○ 2.5. Action sur le métabolisme bactérien :

Les antibiotiques actifs à ce stade sont d'origine synthétique. **Ex :** les sulfamides ont une composition semblable à celle de l'acide para-aminobenzoïque qui est un précurseur de la synthèse de l'acide folique, ils entrent en compétition avec ce précurseur en inhibant la synthèse de l'acide folique



### 3. RÉSISTANCE DES BACTÉRIES AUX ANTIBIOTIQUES :

Pour qu'un antibiotique soit actif, il doit :

- Pouvoir pénétrer dans la cellule.
- Rencontrer la cible moléculaire pour la modifier ou la perturber.
- Au cours de son contact avec la cellule, il ne doit subir aucune transformation susceptible de l'inactiver.

Les antibiotiques peuvent être naturellement inefficaces contre certaines bactéries (résistance naturelle) ou devenir inefficace contre des bactéries sensibles à l'antibiotique (résistance acquise).



## 4. MESURE DE L'ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE :

Deux techniques sont utilisées pour déterminer l'activité antibactérienne, dont le but est de sélectionner l'antibiotique le plus efficace et/ou déterminer la concentration nécessaire et suffisante pour éliminer un agent infectieux (bactérie) d'un organisme malade.

**a- Diffusion sur gélose : Antibiogramme**

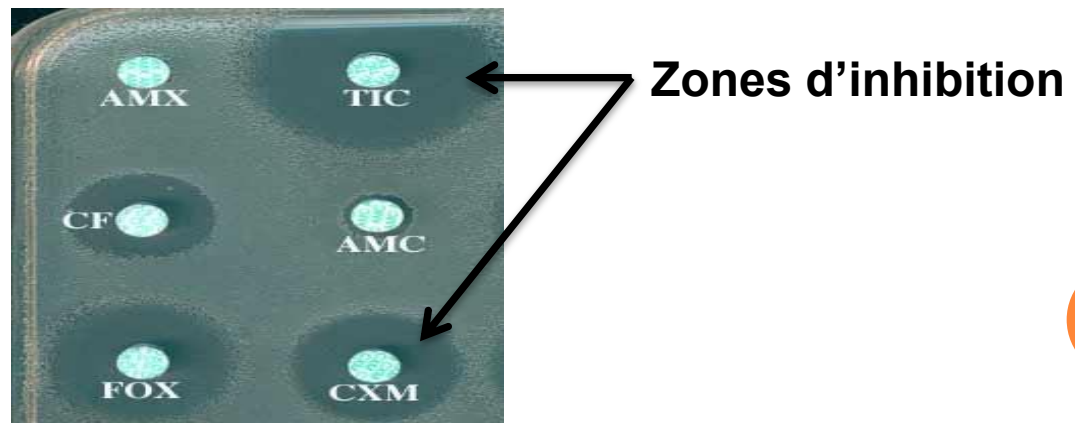
**b- La CMI : Concentration minimale inhibitrice**





# DIFFUSION SUR GÉLOSE : ANTIBIOGRAMME

- Cette technique consiste à étaler la suspension bactérienne de la bactérie à étudier sur la gélose Mueller-Hinton préalablement coulé en boîte de Pétri, application des disques d'antibiotique et incubation à 37°C pendant 18H. Un résultat positif se traduit par l'apparition d'une **zone d'inhibition** au tour du disque. Dans ce cas, on dit que la bactérie est **sensible** vis-à-vis de cet antibiotique.



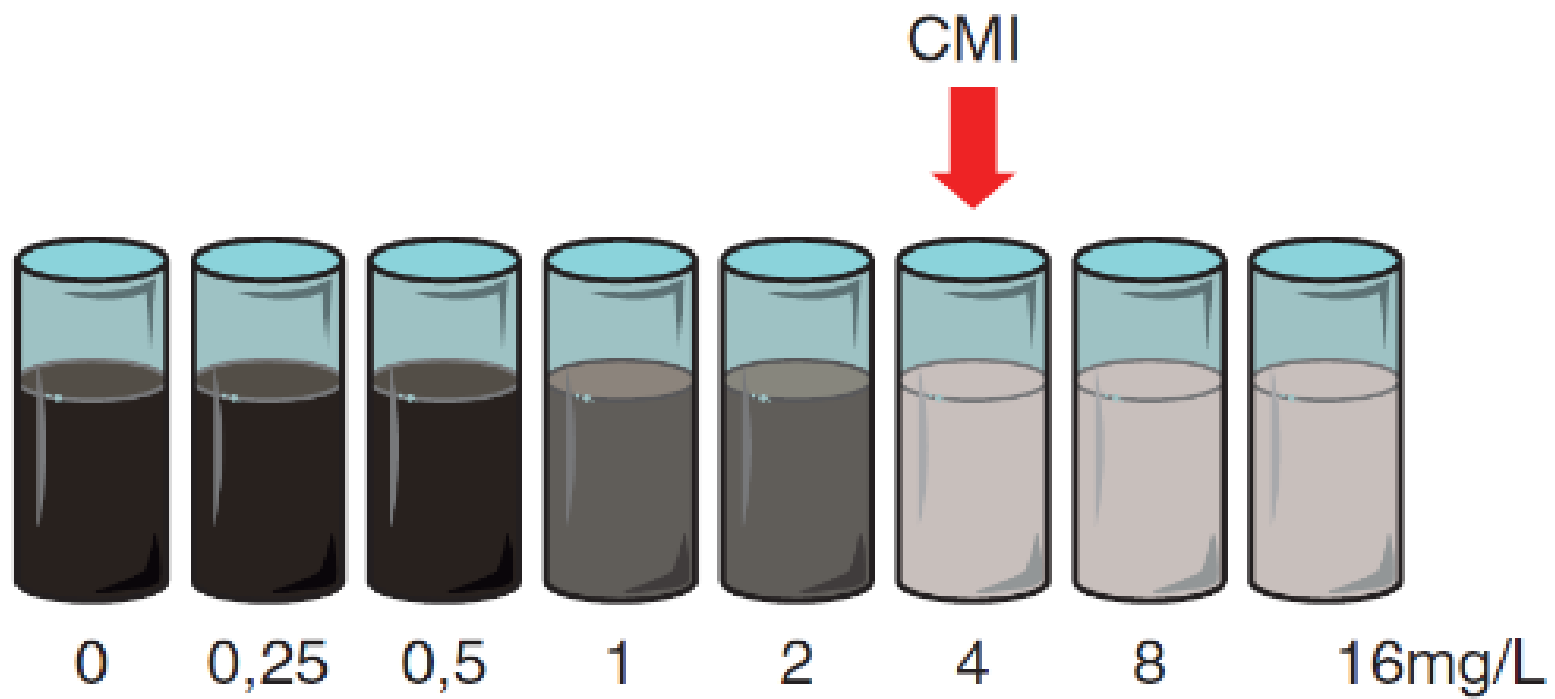
# LA CMI : CONCENTRATION MINIMALE INHIBITRICE

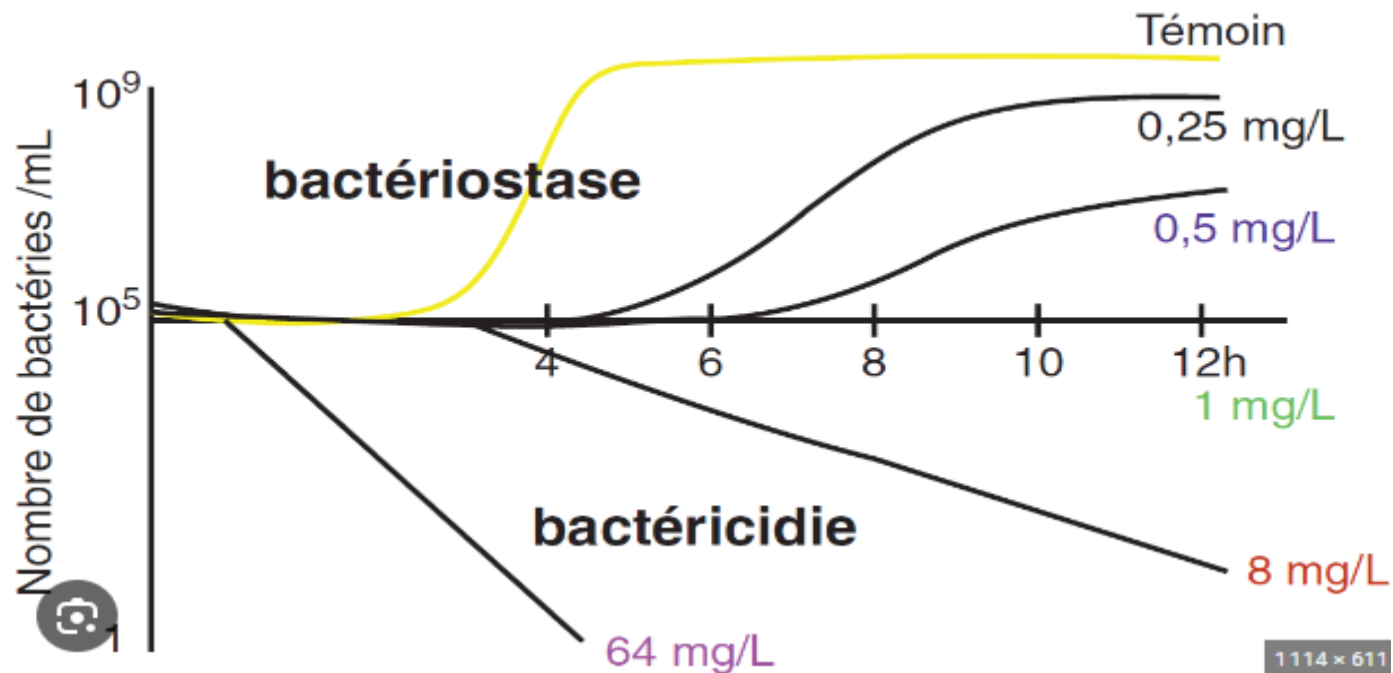
- On prépare une série de tube contenant un milieu de culture liquide, on l'ensemence d'un même nombre de bactérie ( $10^5$  cellule/ml soit 0,5 mc Farland) avec des concentrations croissantes de l'antibiotique, le premier tube est un tube témoin (standard) contient seulement la suspension bactérienne. Les tubes sont ensuite incubés à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 18h.
- Puis on trace la courbe de croissance de chacune des cultures : Dans le tube témoins, la croissance évolue selon la courbe classique (contient toutes les phases de croissance), dans les tubes contenant les antibiotiques, la courbe varie avec la concentration de l'antibiotique



- Les faibles concentrations ( $0,25\mu\text{g/ml}$ ) n'entraînent aucun effet, et au fur et à mesure que la concentration de l'antibiotique augmente on observe un **aplatissement** de la courbe lié à un allongement du temps de génération des bactéries.
- Le nombre de bactéries se rapproche à celui de l'inoculum ( $10^5$ ). La concentration de l'antibiotique qui permet le maintien du nombre des bactéries identique à celui de l'inoculum, correspond à la **Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)**.
- Si l'on augmente la concentration de l'antibiotique au-delà de la CMI, il y a chute du nombre de bactéries au-dessous de celui de l'inoculum, c'est un effet **bactéricide**.







Aplatissement de la courbe de croissance en fonction de la concentration d'ATB

**Bactériostase** : Le nombre de bactéries viables après un temps d'incubation et de contact donné avec un antibiotique est inférieur à celui observé. Donc ralentissement ou arrêt de la croissance quantifiable en termes de **CMI**.

**Bactéricidie**: Le nombre de bactéries **tuées** après un temps d'incubation et de contact donné avec un antibiotique est inférieur à celui déterminé au temps 0. Donc arrêt de la croissance et mortalité quantifiable en termes de **CMB** (concentration minima inhibitrice en mg/l)

# CHAPITRE 06

## LA VIROLOGIE



# HISTORIQUE

- 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.



# La mosaïques du tabac





# Propriétés générales des virus

- Organisation simple
- Forme acellulaire
- Parasite obligatoire
- Sont à ADN ou à ARN protégés par une membrane protéique
- On appelle virion, une particule virale complète infectieuse



# Structure des virus

## 1. Génome viral

- Invisibles au microscope optique
- La taille de 0,01 à 0,25 $\mu$ m donc ils pénètrent à travers la membrane filtrante bactérienne
- Un seul type d'acide nucléique ADN (généralement bicaténaire) ou ARN
- L'acide nucléique peut être simple double, segmenté ou non, linéaire ou circulaire.
- $2 \cdot 10^6$  à  $1,6 \cdot 10^8$  da pour l'ADN,  $2 \cdot 10^6$  à  $1,5 \cdot 10^7$  da pour l'ARN.



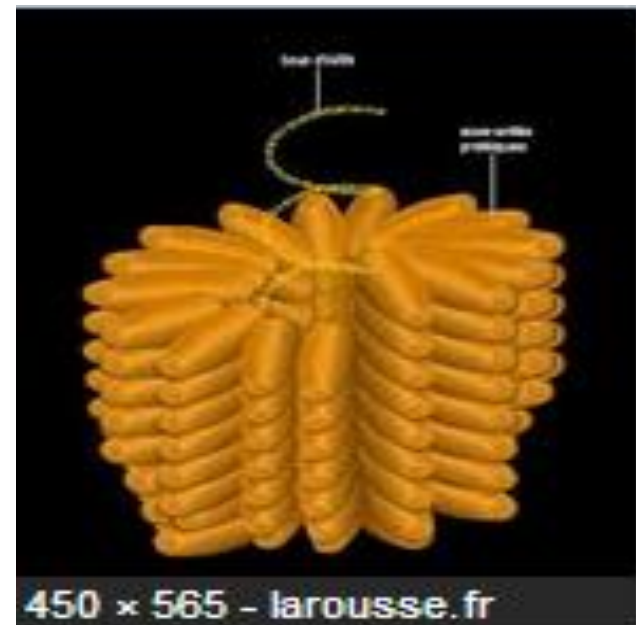
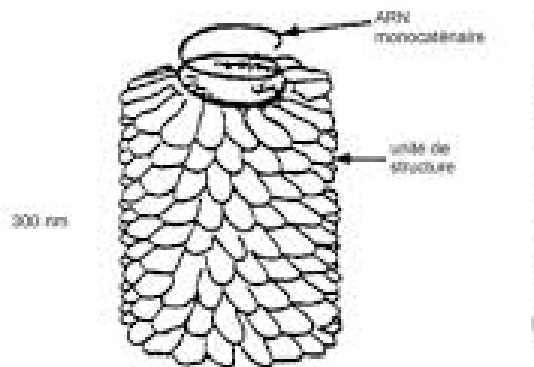
## 2. Capside virale

- Un rôle de protection
- À une structure polymérisée de sous unités protéiques
- L'ensemble de capside génome donne le nucléocapside
- Selon la symétrie on distingue deux type de nucléocapsides:



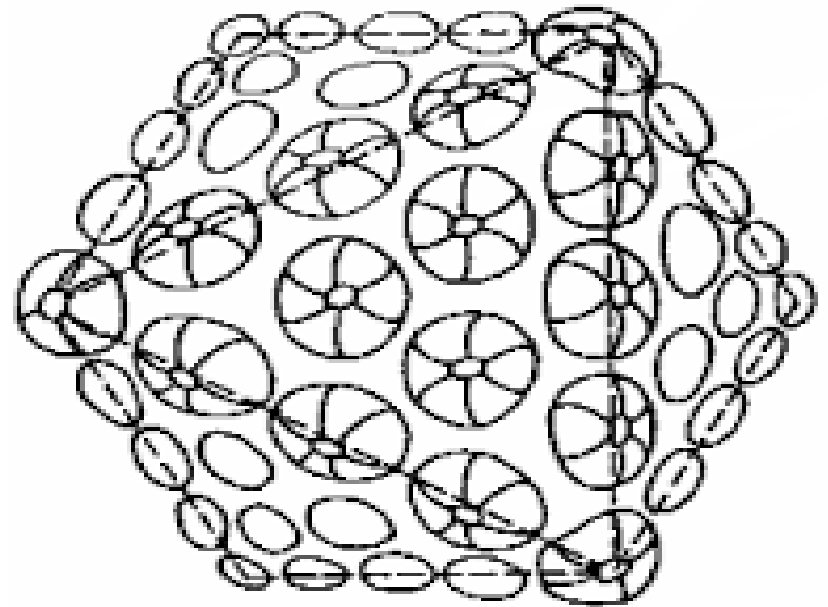
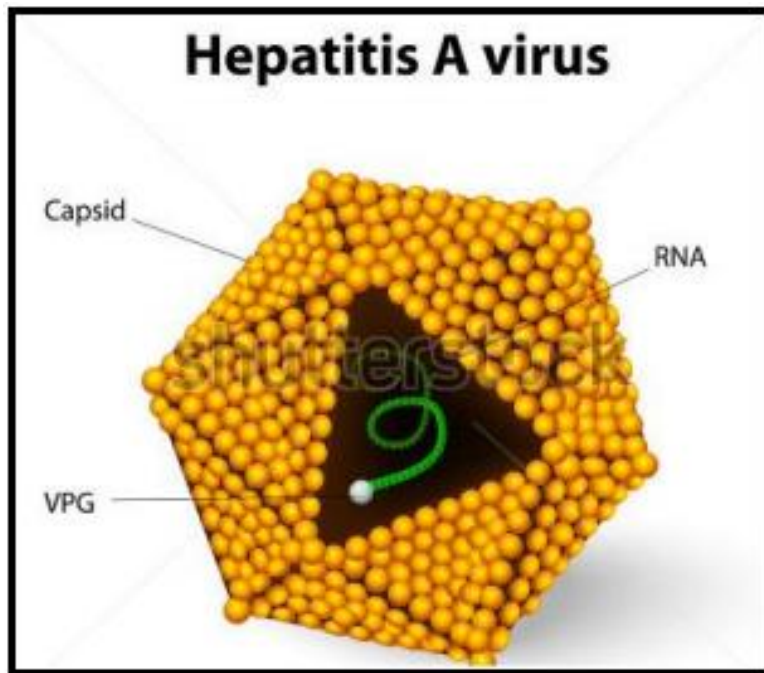
## 2.1. Nucléocapside à symétrie hélicoïdale (tubulaire)

- elle a une symétrie hélicoïdale, dont les sous unités sont identiques et sont assemblées en spirale, l'acide nucléique est enroulé entre les spires, ce type de virus présente l'aspect d'un bâtonnet plus ou moins long.



## 2.2. Nucléocapside à symétrie icosasaédrique (cubique)

- L'icosaèdre est constitué de 20 faces triangulaires, 12 sommets et 30 arêtes



- Les unités de structure sont assemblées en capsomères disposées de manières régulières, le regroupement de capsomères peut être en 5 pour donner pentamères (penton), ou en 6 pour donner hexamères (hexon)
- L'assemblage des capsomères donnent l'icosaèdre, ce dernier constitue une boîte creuse contenant l'acide nucléique



### 3. L'enveloppe

- On distingue les virus enveloppés, ou virus nus
- L'enveloppe est de nature glucido-lipido-protéique
- Origine membranaire de la cellule hôte (bourgeonnement), nucléaire ou membrane intracytoplasmique (réticulum endoplasmique, ou appareil de golgi)



# Classification des virus

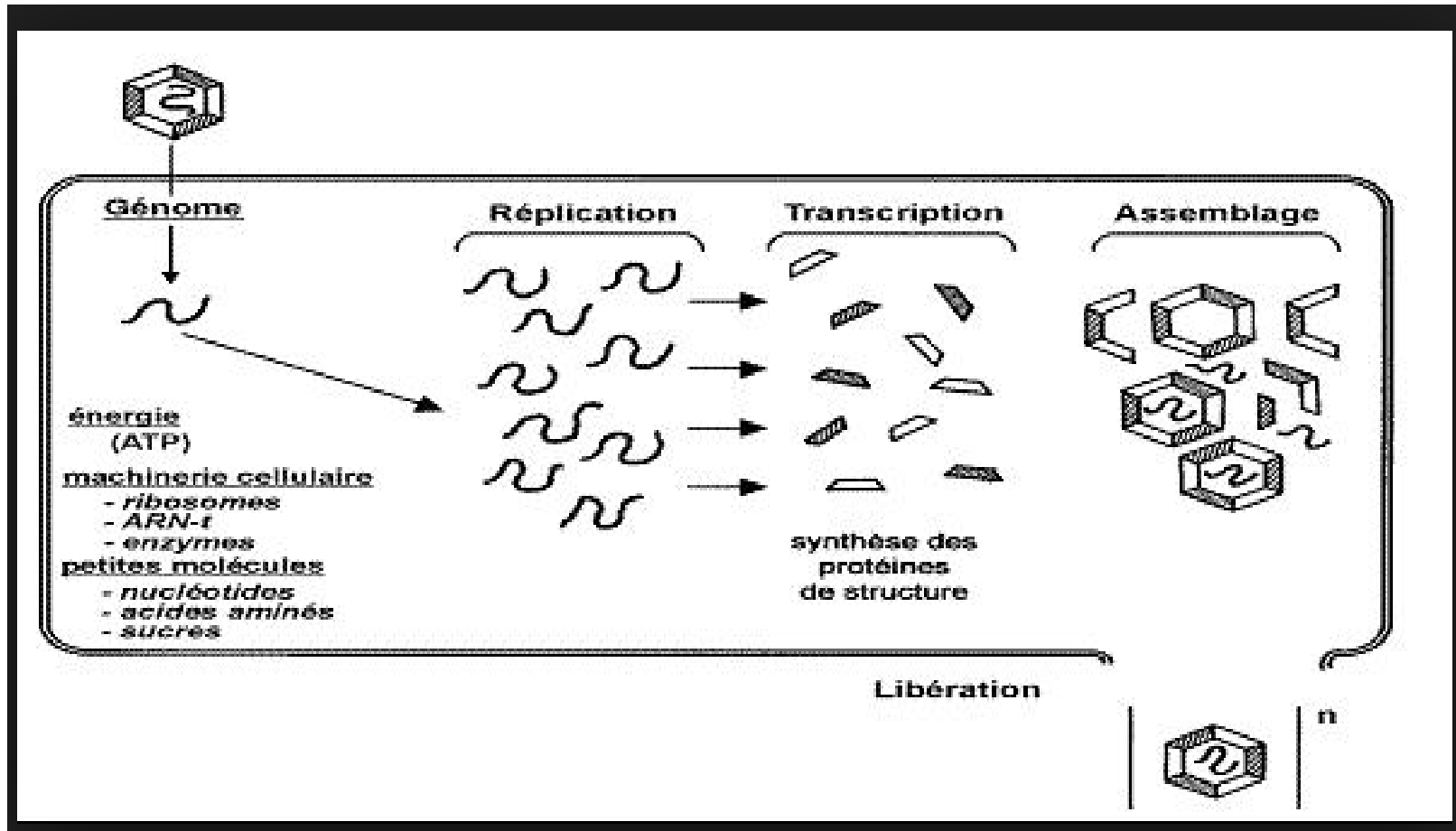
Système LHT (Lwoff, Horne et Tournier) 1960:

- ADN ou ARN
- Symétrie hélicoïdale, cubique ou combinée
- Absence ou présence de l'enveloppe
- Le nombre de capsomère dans la symétrie cubique, et le diamètre de la nucléocapside dans la symétrie hélicoïdale
- La forme générale (masse de matériel génétique, origine de l'enveloppe)





# Reproduction des virus



# Reproduction des virus

## 1. Adsorption ou attachement du virus à la surface de la cellule hôte

- Contact se fait au hasard
- Sur des récepteurs membranaire de la cellule hôte
- L'absence de récepteurs membranaire rend la cellule résistante



## 2. Pénétration du génome virale

- Les virus animaux à travers la membrane cytoplasmique
- Les virus végétaux et la bactériophages à travers la paroi ensuite la membrane cytoplasmique



# 3. Réplication

- Dans le cytoplasme ou le noyau
- Multiplication de constituant viraux: réplication du génome et synthèse des protéines
- Assemblage spontané des protéines de la capside avec le génome viral



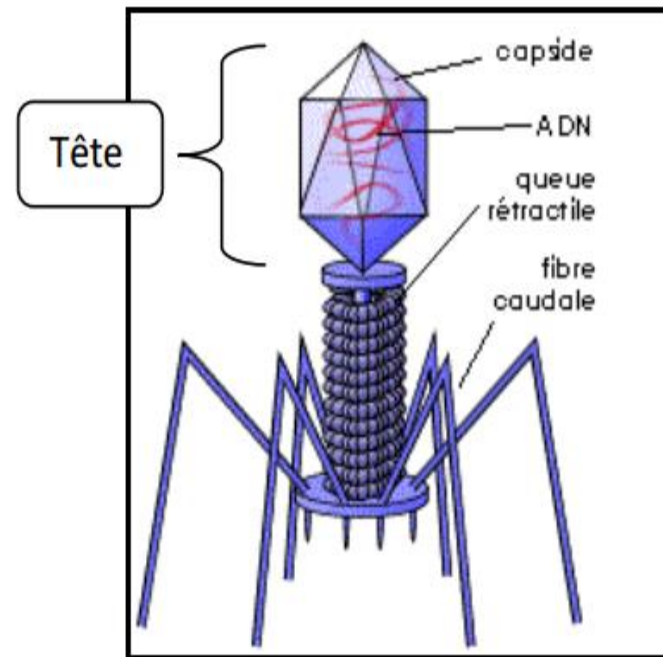
## 4. Libération

- Les virus nus sont libérés par une lyse cellulaire
- Les virus enveloppés sont libérés par bourgeonnement (membrane, noyau, RE, AG)



# Les bactériophages

- Symétrie binaire (double , complexe):
- La tête sphérique cylin (symétrie cubique)
- La queue à symétrie hélico
- 6 fibres caudales fixés sur  
Plaque hexagonale



Bactériophage à symétrie complexe



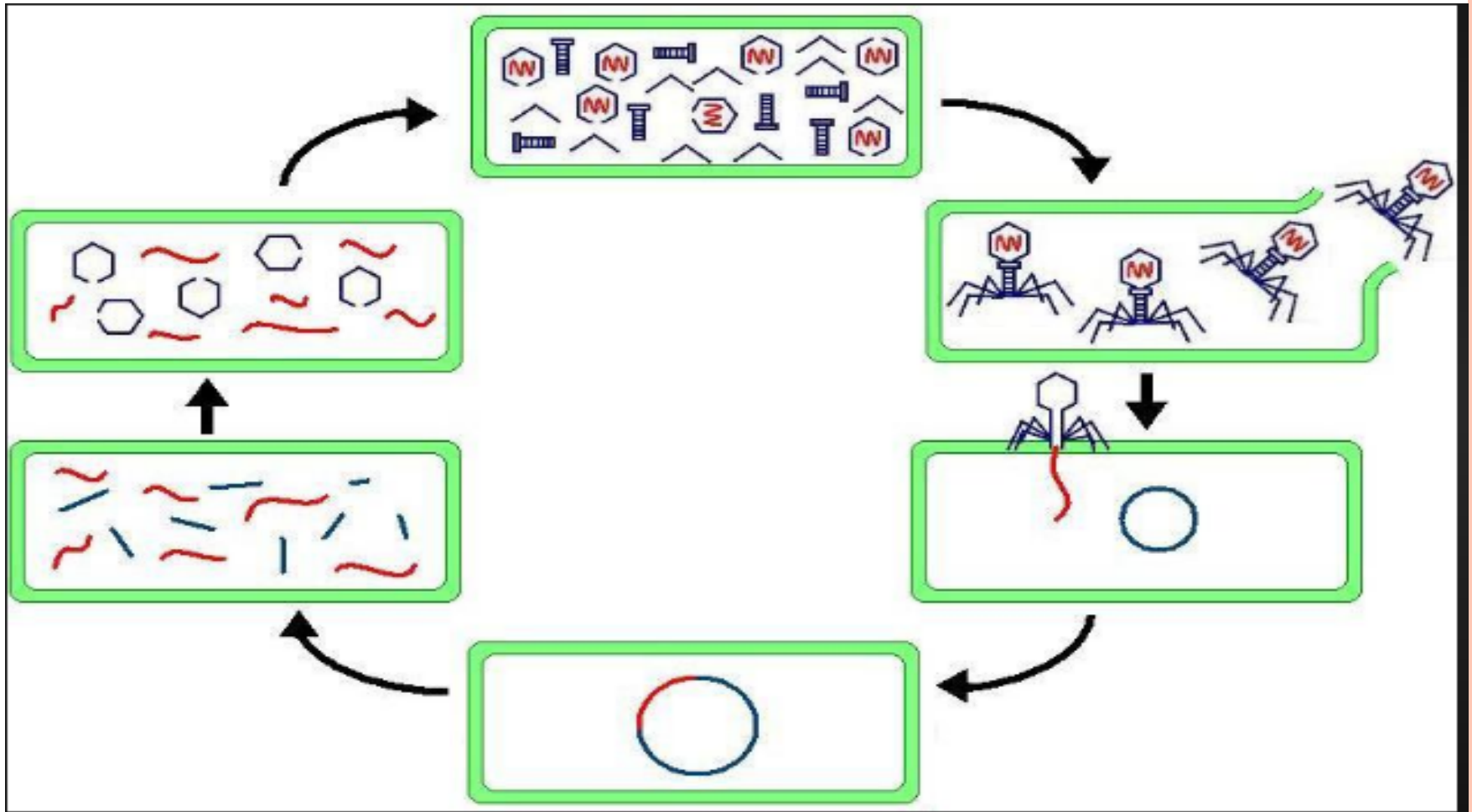
# Multiplication des bactériophages

Elle s'effectue par deux manières:

- **I. Infection lytique:** le bactériophage se reproduit aux dépens de la cellule, il la détruit (**lyse** de la cellule bactérienne), on l'appelle bactériophage **lytique** ou **virulent**.
- **II. Lysogénie:** le génome viral s'attache avec le chromosome bactérien en donnant un **prophage**, et se comporte comme un gène bactérien, les bactéries sont appelées dans ce cas **lysogènes**, les bactériophages sont appelés **tempérés**.



# I. Cycle lytique





# Etapes de l'infection lytique

## 1. Stade de fixation et de pénétration

- Fixation du phage sur les récepteurs bactériens spécifiques par les fibres caudales.
- ● La paroi bactérienne est attaquée par une enzyme appelée lysozyme situé dans la queue de bactériophage se qui diminue la rigidité de la paroi.
- ● Contraction de la gaine, et perforation de la paroi
- ● Pénétration du génome viral, la capside et la queue reste à l'extérieur.



## 2. Phase d'éclipse

- Se caractérise par de nombreuses synthèses phagiques mais en absence de virion.
- La croissance bactérienne est stoppée
- Apparition d'une désoxyrubonucléase qui détruit le chromosome bactérien.
- Synthèse de l'ADN phagique au dépend du chromosome bactérien.
- Synthèse de l'ARNm et les protéines de structure (tête et queue).



### 3. Phase de maturation

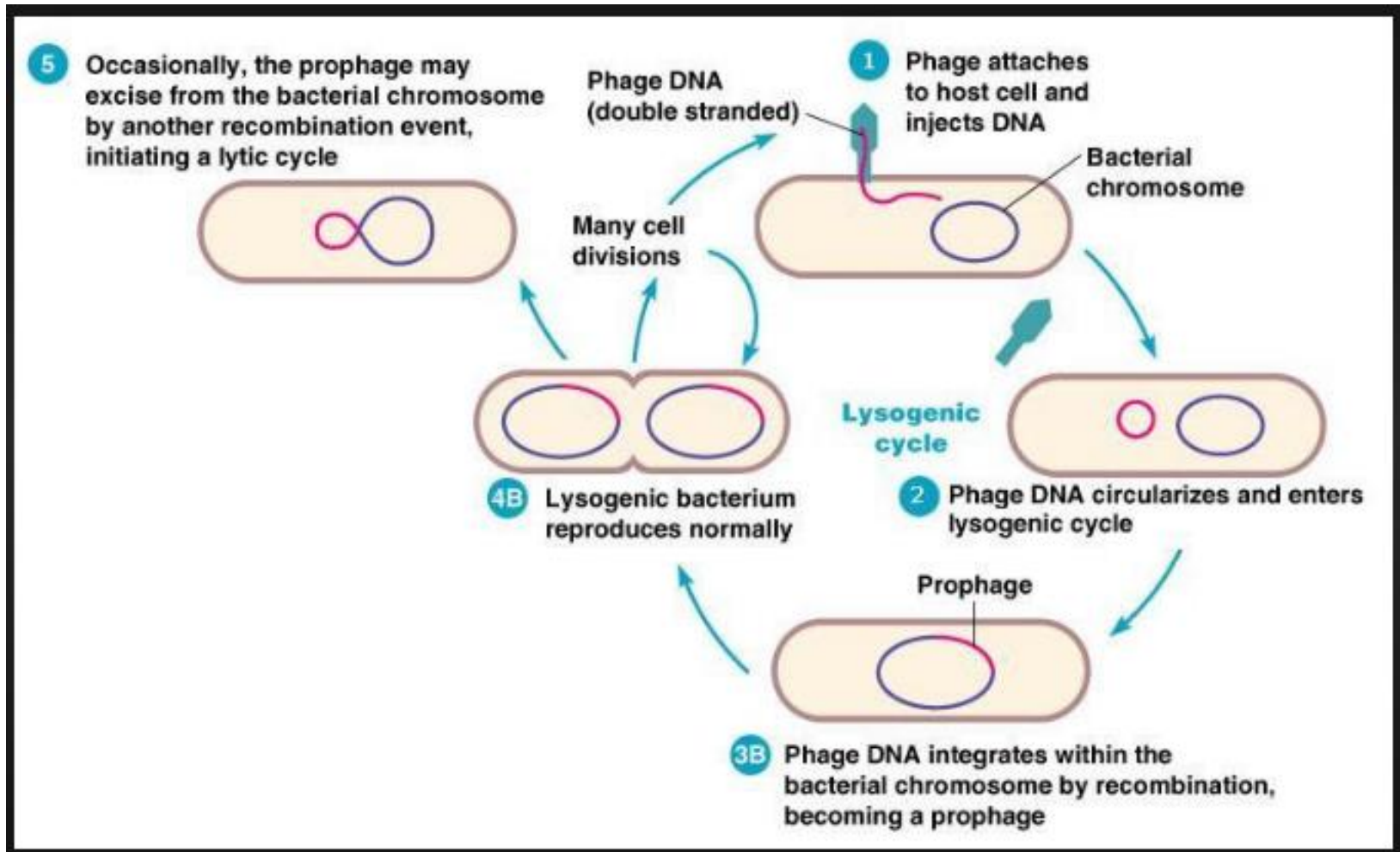
- Union des protéines pour donner la tête
- Chaque tête renferme l'ADN.
- Association des éléments de la queue.
- Union de la queue et de la tête pour donner un phage complet (virion).

### 4. Libération

- Endolyse de la cellule bactérienne: les virions attaquent la paroi bactérienne à l'intérieur de la cellule, la bactérie éclate et libère les virions.



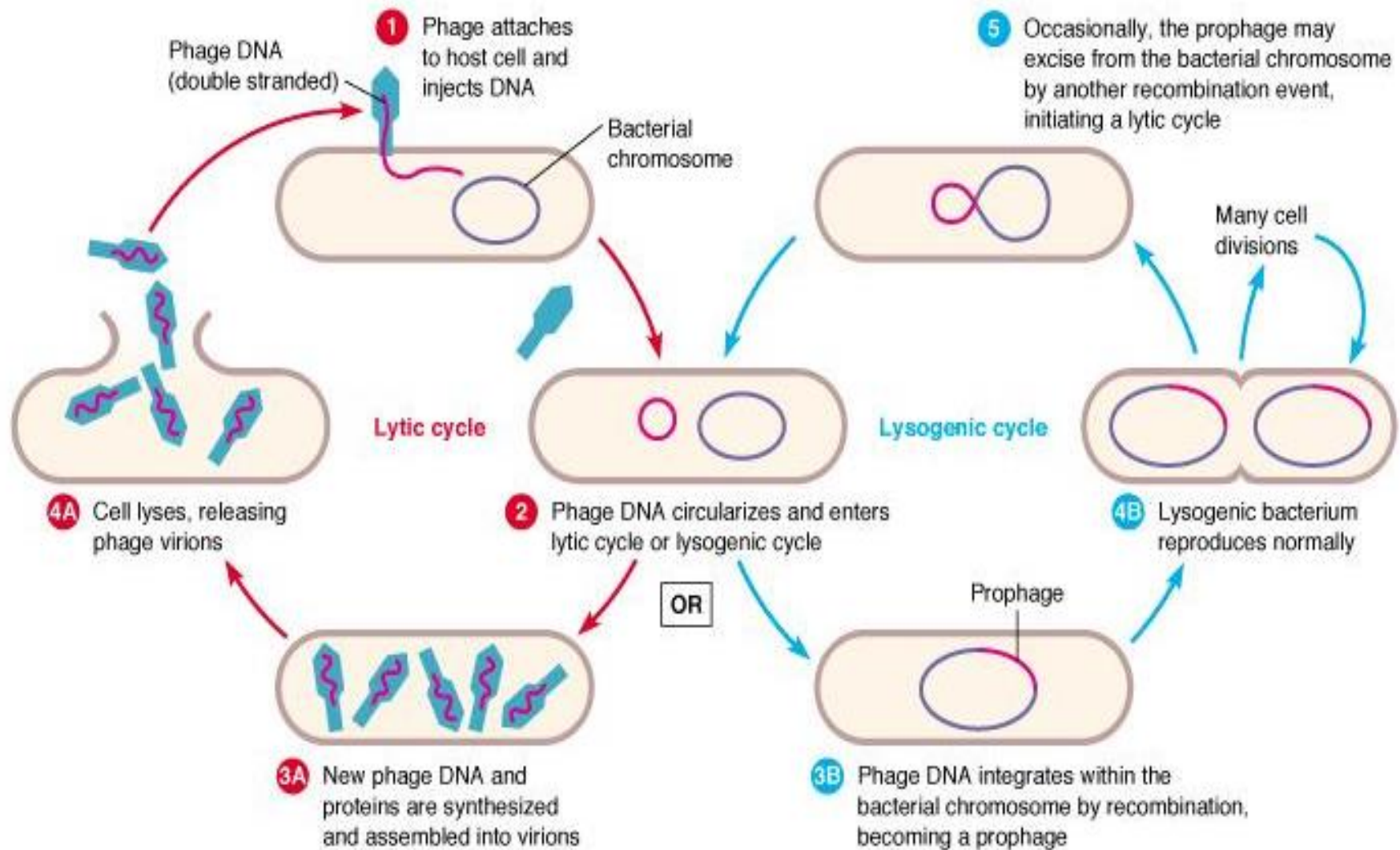
## II. Lysogénie



# Lysogénie et bactériophages tempérés

- Les cellules bactériennes ne sont pas détruites.
- Les bactéries sont dites lysogènes, dans certaines cas elles sont capables de se lyser et libérer les virions
- Le bactériophage se comporte comme un gène bactérien transmet héréditairement sous forme d'un prophage au cours de divisions successives de la cellule bactérienne.





# Pourquoi un bactériophage est virulent chez certaines bactéries alors chez d'autres il est réduit en prophage

- Présence ou l'absence d'une substance de nature protéique appelée répresseur:
- Présence de répresseur: bactériophage lysogènes
- Absence de répresseur: bactériophage virulent.



# CHAPITRE 07

## NOTIONS SUR LA MYCOLOGIE





# 1. Définition

- La mycologie est la science qui étudie les champignons (mycètes ou fungi)
- On distingue deux groupes majeurs des champignons: les champignons macroscopique (à carophore) et champignons microscopique (levures et moisissure)



**micromycètes**



**macromycètes**



# 1. Organisation cellulaire des champignons microscopiques

On distingue deux types des champignons microscopiques

- Les champignons unicellulaires (**levures**)
- Champignons pluricellulaires (**moisissures**)



## 2.1. Organisation cellulaire des levures

- La taille des levures est très variable selon les espèces : de 1 à 10  $\mu\text{m}$  de large pour 2 à 50  $\mu\text{m}$  de long
- La morphologie peut être examinée facilement à l'**objectif X 40** sur une préparation à l'**état frais**
- Les cellules levuriennes peuvent être sphériques, allongées, cylindriques ou ovoïdes.
- Dans certains cas, les cellules restent accolées après divisions successives donnent le **pseudomycélium**

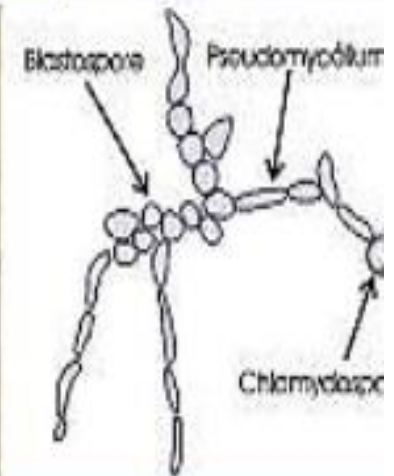




Les levures  
en microscopie électronique



Les levures  
en microscopie optique



Formation de pseudomycélium *par*  
les levures *Candida albicans*

## 2.1. Organisation cellulaire des moisissures

- L'appareil végétatif des moisissures forme un thalle composé de filaments microscopique enchevêtrés plus ou moins ramifiés, appelés **hyphes**.
- L'ensemble des hyphes forme le **mycélium**, visible à l'œil nu.



Examen microscopique d'un mycélium ramifié et très enchevêtré (X400)



Culture d'une moisissure sur milieu gélosé

## REMARQUE

- Le mot **thalle** est un nom propre aux botanistes.
- Le mot **mycélium** est beaucoup plus utilisé par les microbiologistes

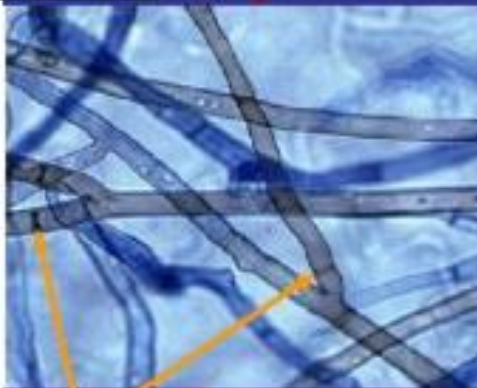




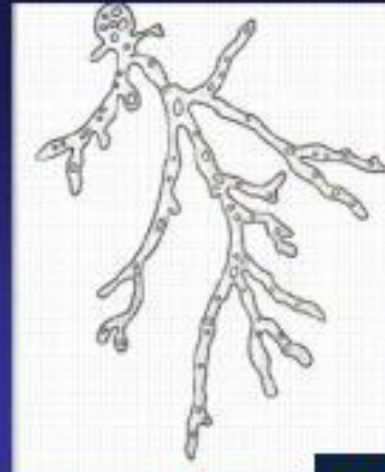
Les hyphes peuvent être cloisonnés (**septé**) ou non cloisonnés (**siphonné**).



**Mycélium septé**



cloisons



**Mycélium siphonné**



## Aspect macroscopique des levures et des moisissures



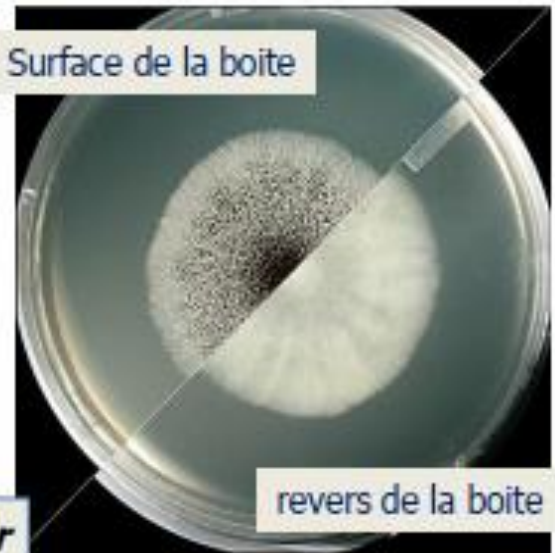
Surface de la boîte



*Alternaria alternata*

revers de la boîte

Surface de la boîte



revers de la boîte

*Aspergillus niger*

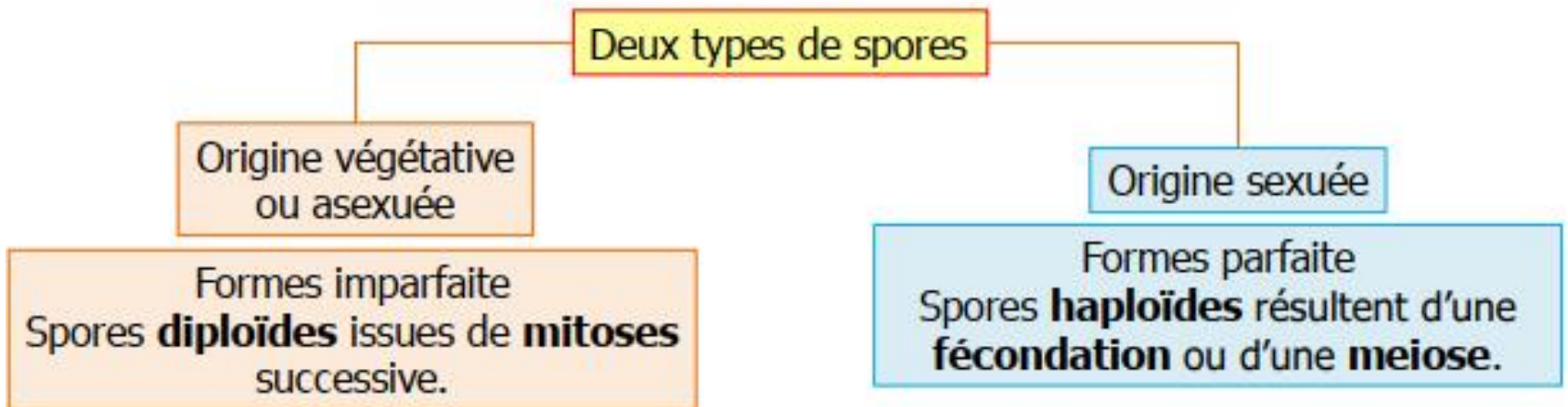


### 3. Reproduction des champignons

La reproduction et la dissémination des champignons s'effectuent grâce à la formation de cellules particulières qu'on appelle d'une façon générale **les spores**.



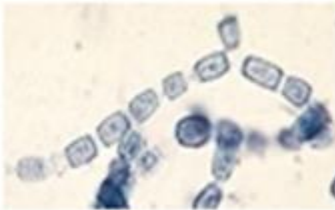
les spores : La poudre à la surface des colonies fongique



## 3.1. Reproduction végétative ou asexuée

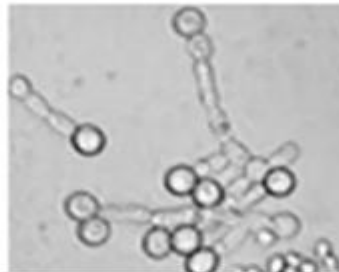
Les spores d'origine végétative ou asexuée : **trois types**

**1. Les thallospores:** produisent des **exospores**



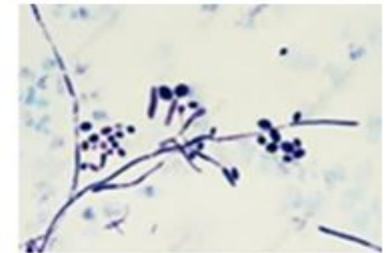
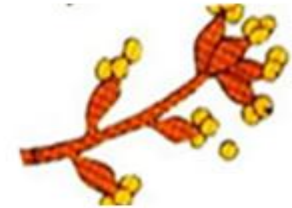
**a. Arthrospores**

**Se reproduisent  
par fragmentation  
à l'extrémité des  
hyphes**



**b. Chlamidiospores**

**Se reproduisent par la  
formation des spores  
volumineuse ou  
intercalaires**



**c. Blastospores**

**Se reproduisent par  
bourgeonnement de  
la cellule mère**



## 2. Sporangiospores

Se forment à l'intérieur d'un sac appelé **sporange** à l'extrémité de l'hyphe



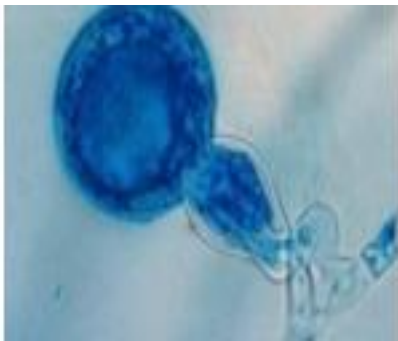
## 3. Conidiospores

Se forment à l'intérieur d'une **conidie** (absence totale de sac)



## 3.2. Reproduction sexuée

S'effectue par fusion de deux cellules gamétiques (spores haploïdes issus de fécondation ou méiose), on distingue trois types de spores sexués:



1. Oospores



2. Ascospores



3. Basidiospores



## 4. Classification des champignons

On distingue 4 divisions des champignons:

Subdivisions	Types de hyphe	Types de spores
Zygomycètes	Siphomycètes	Organes de reproduction sexué
Ascomycètes	Septomycètes	Formation endogène des spores contenues dans l'asques
Basidiomycètes		Formation exogène des spores portées par la baside
Champignons imparfaits ou Adélomycètes ou Deutéromycètes		groupe artificiel créé pour classer les champignons septés que l'on ne sait pas classer ailleurs du fait de l'absence ou de la non connaissance de leur reproduction sexuée.