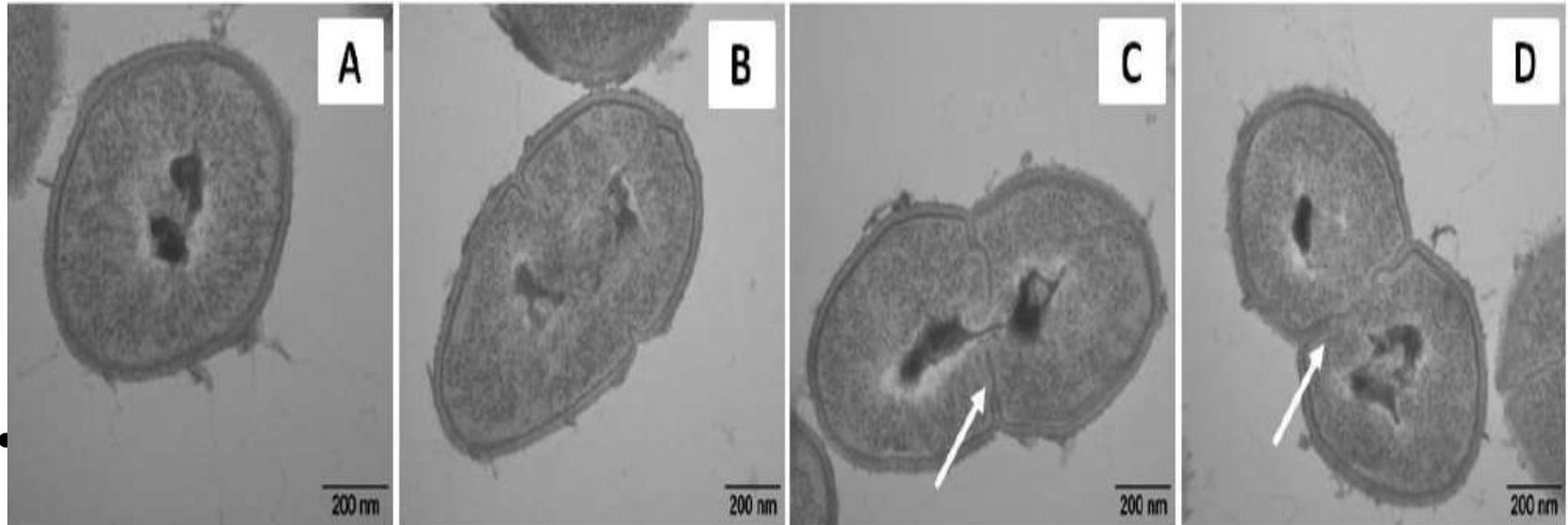


Chapitre 5

Croissance bactérienne

I- Définition

La définition de la croissance tout comme la reproduction qui diffère entre les procaryotes et les eucaryotes. En effet, l'organisme procaryote est composé d'une seule cellule avec généralement un type de reproduction appelé **scissiparité**,



Enterococcus faecalis observées par un microscope électronique à transmission. A: réplication de l'ADN chromosomique, B: Augmentation de la taille et de la quantité des constituants cellulaires, C: Apparition du septum (flèche), D: Septum mis en place (flèche) entre deux cellules filles,

II- Mesure de la croissance bactérienne

Lors de la croissance bactérienne, le nombre et la masse cellulaire augmente. Il existe plusieurs méthodes qui permettent la mesure et le suivi de ce processus.

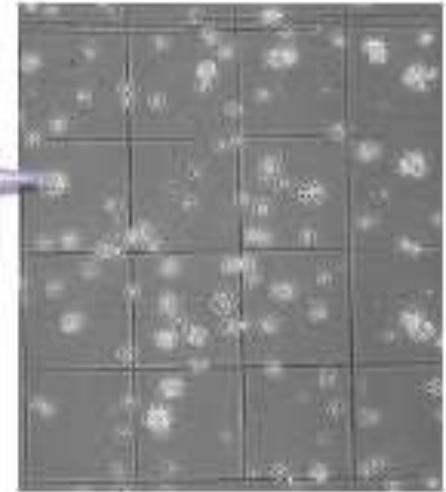
Le dénombrement au microscope :

Une technique de comptage direct des bactéries. Elle est plus adaptée pour les microorganismes de grandes tailles (plusieurs μm).

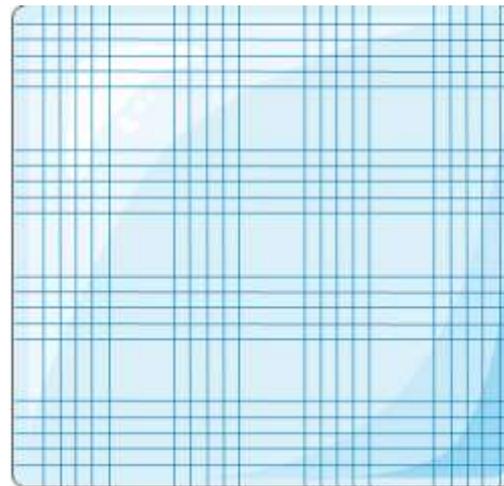
Le comptage se fait sous observation microscopique en utilisant des lames spécifiques ayant des quadrillages et des puits microscopiques permettant de dénombrer le nombre de cellules se trouvant dans une surface et un volume donné,



Chambre de comptage de Petroff-Hausser



Comptage au microscope



Malassez

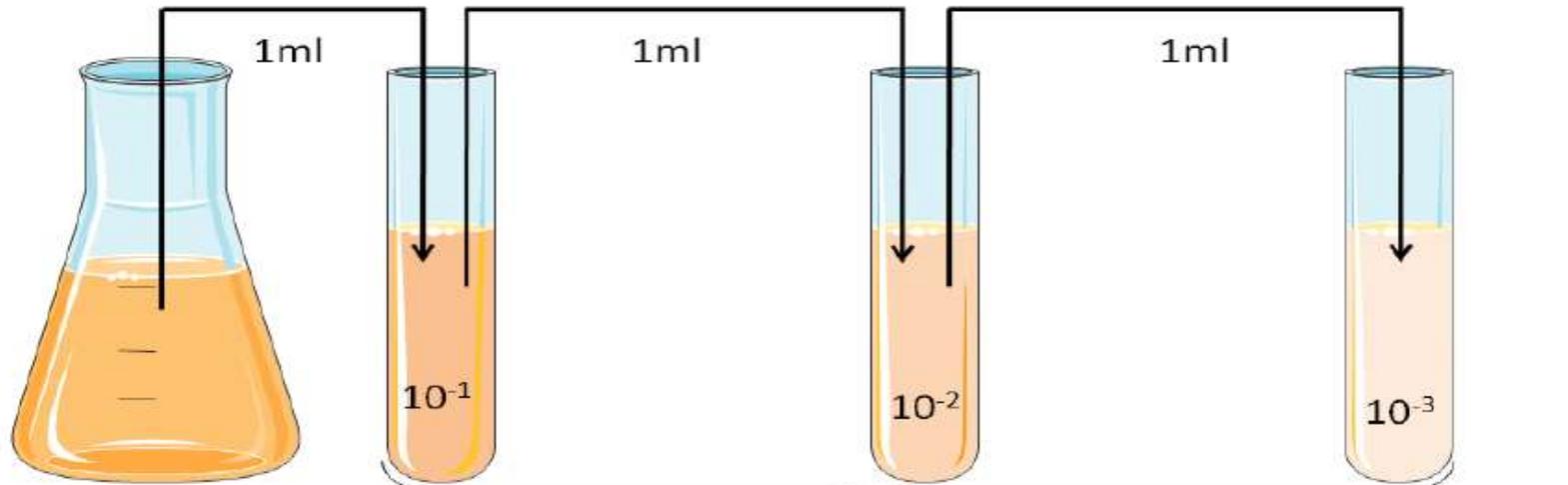
Dénombrement après culture

Le dénombrement après culture est une méthode classique appliquée en routine dans les laboratoires de microbiologie. Elle présente l'avantage de dénombrer uniquement les cellules vivantes qui peuvent former des colonies visibles à l'oeil nu.

Le nombre total de bactéries est calculé par le nombre d'UFC multiplié par le volumeensemencé et l'ensemble est divisé par la dilution dans laquelle le nombre d'UFC est calculé. Cependant, la rigueur oblige d'ensemencer deux boites par dilution et le nombre est calculé selon la formule de la moyenne pondérée.

Dénombrement après culture des bactéries

1- Dilutions décimales



Solution mère
(bactéries)

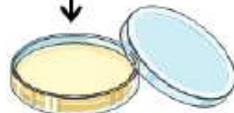
1ml

9 ml d'eau physiologique

1ml

1ml

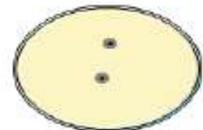
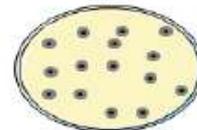
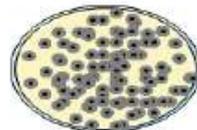
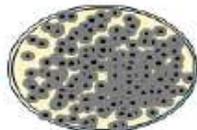
2- Isolement (en surface ou en masse)



3- Incubation



4-Dénombrement



Nombre x 1

Nombre x 10

Nombre x 100

Nombre x 1000

NB : Il est à noter que cette technique est valable uniquement pour les micro-organismes viables et cultivables. En effet, certains micro-organismes sont viables mais non cultivables ,

Calcul du nombre des microorganismes

$$N = \frac{\Sigma c}{V \times [n1 + (0,1 \times n2)] \times d}$$

N : nombre de microorganismes/ml de suspension

Σc : la somme des colonies comptées sur toutes les boîtes retenues de 2 dilutions successives (les boîtes retenues doivent avoir entre 15 et 300 CFU).

V : le volume de l'inoculum ensemencé en ml. (Généralement 1 ml)

n1 : le nombre de boîtes retenues à la première dilution

n2 : le nombre de boîtes retenues à la deuxième dilution

d : la dilution correspondant à la première dilution retenue

III- Cinétique de croissance

III-1- Paramètres de croissance

III-1-1- Temps de génération

Le temps de génération (**G**) est le temps nécessaire à une bactérie pour se diviser. Il est calculé comme suit : **$G = t/n$** avec t : temps en minute et n : nombre de divisions. Par exemple, le temps de génération de *E. coli* est 20 minutes (60 mn/3 divisions) et celui de *Mycobacterium tuberculosis* est de 800 – 900 minutes.

III-1-2- Taux de croissance

Le taux de croissance (**μ**) est défini par le nombre de divisions par unité de temps (en heure). Il est calculé comme suit : **$\mu = n/t$** avec n : nombre de divisions et t = temps connu en heure. De ce fait, le taux de croissance d'*E. coli* : **$\mu = (3/1) = 3$** et celui de *M. tuberculosis* est **$\mu = 0,075$** .

III-2- Courbe de croissance dans un système fermé

Une culture en "batch" ou discontinue est la culture des micro-organismes dans un système fermé (milieu liquide ou solide contenant une quantité définie en nutriments).

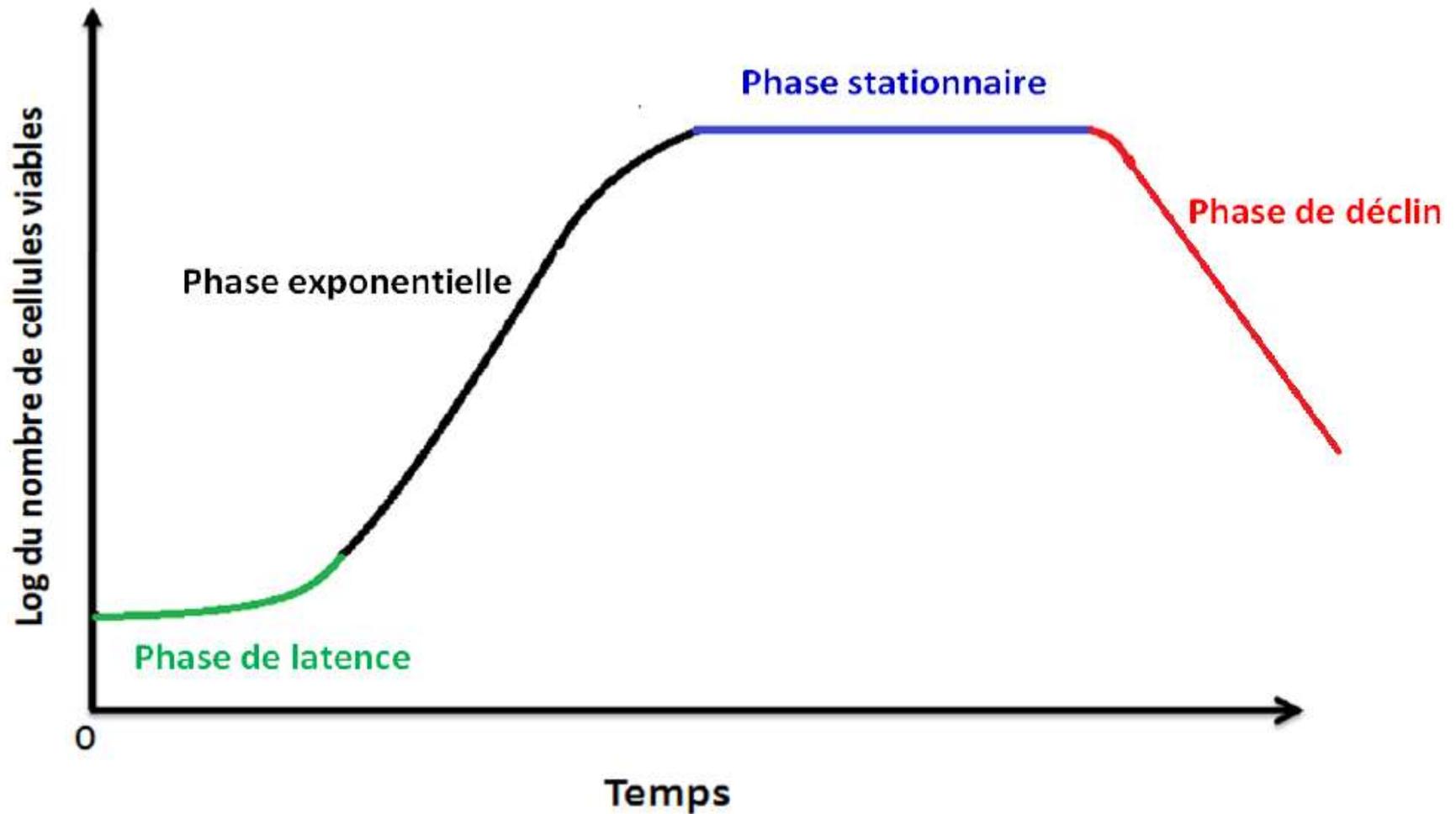
La courbe résultante est constituée de **4 phases essentielles** à savoir ;

la phase de latence

La phase exponentielle

La phase stationnaire

La phase de déclin



La courbe de croissance dans un système fermé

La phase de latence

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

La phase de croissance exponentielle

Les cellules bactériennes se divisent sans arrêt, tant que les nutriments sont disponibles et les substances toxiques absentes et le pH est optimal. Le taux de croissance est maximal. L'état physiologique est maximal également.

La phase stationnaire

Lorsque la culture est faite dans un flacon ou un tube, à un moment donné, les nutriments s'épuisent, les produits toxiques s'accumulent et le pH change. Le nombre de cellules ne varie plus. Il y a autant de division que de mort cellulaire. Le taux de croissance est constant.

On parle même d'une **croissance cryptique**, où des cellules se nourrissent du contenu libéré par des cellules mortes.

La phase de déclin

Les bactéries ne se divisent plus. Elles meurent par lyse cellulaire. Le taux de croissance est négatif.

III-3- La culture continue

La culture continue des micro-organismes est faisable dans un système ouvert. Dans ce système, il y a approvisionnement constant en nutriments.

De plus, les déchets sont retirés à un rythme constant. La culture dans un système ouvert permet le maintien de la croissance des cellules dans la phase exponentielle .

La culture continue est utilisée pour obtenir des corps bactériens de même âge avec les mêmes propriétés physico-chimiques et physiologiques. Elle est très importante notamment dans la préparation en grande quantité des vaccins bactériens, des métabolites bactériens (vitamines, antibiotiques...etc.) ou des toxines bactériennes,

Définition de La biomasse

Le terme biomasse désigne la partie biologique du processus de **bioproduction**.

Il s'agit donc des cellules cultivées dans le réacteur. Plus particulièrement, on qualifie d'inoculum la biomasse injectée dans le réacteur au début de la production



Bioréacteur