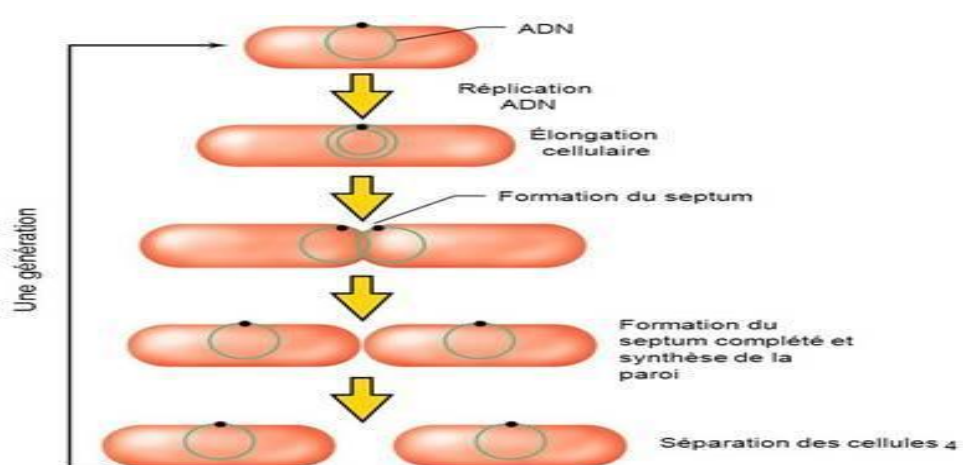


Physiologie- Nutrition et croissance

Objectif : connaître les principaux éléments de la physiologie bactérienne : croissance bactérienne, mode respiratoire, et application à l'identification bactérienne.

1. Division bactérienne : La bactérie se multiplie par fission binaire : la bactérie grandit puis se divise en deux cellules filles séparées par un septum de division formé par la paroi cellulaire. Durant la division, l'ADN se duplique ainsi que les autres constituants. Divers systèmes enzymatiques de synthèse et de dégradation participent à la division cellulaire.



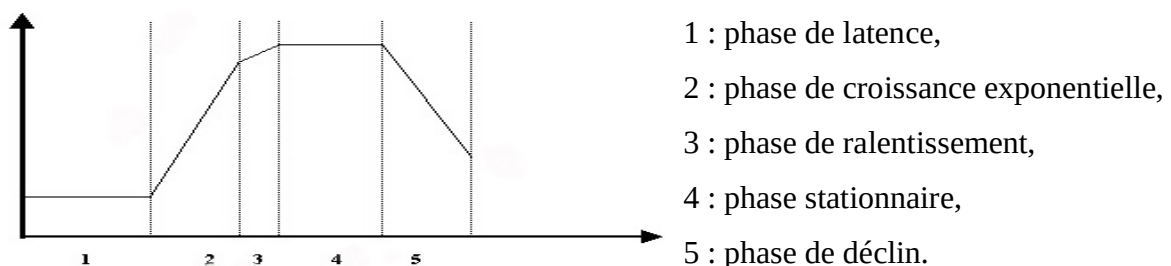
2. Dynamique de la croissance : La croissance bactérienne est l'accroissement ordonné de tous les composants de la bactérie. Elle aboutit à l'augmentation du nombre de bactéries. Au cours de la croissance, il se produit, d'une part, un appauvrissement du milieu de culture en nutriments et, d'autre part,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

2.1. Courbe de croissance La croissance d'une bactérie s'étudie en milieu liquide. Il existe 6 phases dont l'ensemble constitue la courbe de croissance.

- **Phase de latence** : le taux de croissance nul ($\mu = 0$). La durée de cette phase dépend de l'âge des bactéries 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.

- **Croissance exponentielle** : le taux de croissance atteint un maximum ($\mu = \max$). 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 maximale stationnaire** : le taux de croissance devient nul ($\mu = 0$). Les bactéries qui se multiplient compensent celles qui meurent. Il se produit une modification de l'expression des gènes. Les bactéries en état de déprivation synthétisent des protéines de manque qui rendent la cellule plus résistante aux dommages
- **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). La mort cellulaire est caractérisée par l'absence de réplication irréversible.



Courbe de croissance

Expression mathématique de la croissance : 02 constantes

le temps de génération : T/n T en min et n le nombre de générations par unité de temps
 ex: *E.coli* 60/3: 20 min *M.tuberculosis*: 60/0,075 : 900 min (15h)
le taux de croissance : $\mu = G/T$ T en heure ex: *E.coli* $\mu = 3/1=3$

2.2. Croissance in vitro (milieux liquide et solide)

Les bactéries peuvent être cultivées en milieux liquide, solide et semi-liquide. Les milieux liquides sont utilisés pour la culture de bactéries pures. Les milieux solides ou semi-solides, à

base d'agar, sont utilisés pour l'isolement de bactéries. Dans ces milieux, ont été ajoutés des nutriments favorisant la croissance des bactéries étudiées.

2.3. Croissance in vivo In vivo,

La croissance bactérienne n'est pas similaire à celle observée in vitro. Elle est beaucoup plus ralentie. La phase de latence est beaucoup plus longue. Les bactéries n'ont pas toujours tous les nutriments à leur disposition pour leur croissance. In vivo, les bactéries peuvent être phagocytées par les macrophages et les polynucléaires et être inhibées par les produits antibactériens comme le lysozyme ou le complément.

Temps de génération (TG) de quelques espèces bactériennes		
Bactérie	In vitro (min)	In vivo (h)
<i>Escherichia coli</i>	20-40	5
<i>Salmonella Typhimurium</i>	20-40	3-5
<i>Staphylococcus aureus</i>	40	3-5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	40	4
<i>Vibrio cholerae</i>	20	2-5
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	120-240	24-48

2.4. Croissance en culture continue : La phase de croissance exponentielle ne dure que quelques heures en milieu non renouvelé. Il y a maintien d'une croissance exponentielle continue lorsque le milieu de culture est renouvelé régulièrement et que les métabolites sont éliminés en même temps. La valeur μ est maximale et constante. Dans les fermentations industrielles, on prolonge la phase exponentielle de croissance en renouvelant constamment le milieu et en prélevant constamment les bactéries

2.6. Phénomène de diauxie

Exemple: *E.coli*, cultivé sur milieu contenant deux sucres comme le glucose et le lactose utilise en priorité le glucose car il est métabolisé par des enzymes constitutives; quand le glucose est épuisé, la bactérie synthétise des enzymes inductibles pour dégrader le lactose (Exemple: beta-galactosidase et beta-galactoside perméase)

2.8. Effets de carence et de stress

En situation de carence ou de stress, la bactérie peut adopter deux types de stratégie pour sa survie :

1 - la bactérie se différencie vers une forme de résistance métaboliquement inactive C'est le cas des *Bacillus* qui produisent une spore.

2 - la bactérie développe des systèmes de régulation pour contrôler cette période de carence en adaptant son métabolisme pour faire un maximum d'économie. C'est le cas d'*Escherichia coli*.

Dans ce type de situation, la bactérie présente les adaptations suivantes :

- Dégradation de l'ARN cellulaire total, libérant des nucléotides utilisables pour la synthèse de nouveaux ARN ou comme source d'énergie.
- Dégradation des protéines : libération d'acides aminés réutilisés ou dégradés pour la production d'énergie
- Mise en œuvre de systèmes de transport et d'assimilation comme substituts aux éléments manquants qui sont essentiellement les composés azotés, phosphorés, carbonés et le fer.
- Synthèse de protéines de stress qui protègent la bactérie de la privation de nutriments et d'autres stress (existence de gènes impliqués dans les phénomènes de carence ou de stress).

3. Conditions favorables à la croissance

Pour leur croissance, les microorganismes exigent de l'eau, une source d'énergie, de l'azote, des sels minéraux, éventuellement de l'oxygène et/ou des facteurs de croissance (substance organique nécessaire à la croissance d'un micro-organisme et qui ne peut être synthétisée par celui-ci) pour leur croissance. D'autres facteurs comme le pH, la température, ont un effet important sur la croissance des microorganismes.

En absence des conditions favorables de croissance, certains microorganismes se transforment en une forme de résistance (Spores) pour continuer à survivre, mais sans se multiplier. Lorsque le milieu devient favorable, les spores se transforment en forme végétative durant laquelle sont assurées des biosynthèses équilibrées permettant une croissance plus ou moins rapide.

En fonction de la source que microorganisme utilise pour avoir ses nutriments, on distingue plusieurs types trophiques (Tableau 1)

Tableau 1 : Différents types nutritionnels ou trophiques

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

3.1. Sources d'énergie :

Les bactéries doivent trouver dans leur environnement les substances nécessaires à leur énergie et à leurs synthèses cellulaires. Les bactéries **phototrophes** utilisent l'énergie lumineuse pour la photosynthèse (synthèse d'ATP à partir d'ADP et de phosphate inorganique). Les bactéries **chimiotrophes** puisent leur énergie à partir de composés minéraux ou organiques. Elles utilisent des donneurs et des accepteurs d'électrons (élément minéral : bactérie **chimiolithotrophe** ; élément organique : bactérie **chimioorganotrophe**).

La grande majorité des bactéries d'intérêt médical sont chimioorganotrophes

3.2. Sources de carbone

Le carbone est l'un des éléments les plus abondants de la bactérie. Le plus simple des composés est l'anhydride carbonique ou CO₂. Celui-ci peut être utilisé par la bactérie pour la synthèse de certains métabolites essentiels qui ferait intervenir une réaction de carboxylation. Le CO₂ est la seule source de carbone pour **les bactéries autotrophes**. **Les bactéries hétérotrophes** utilisent facultativement le CO₂. Les bactéries hétérotrophes dégradent une grande quantité de substances hydrocarbonées (alcool, acide acétique, acide lactique, polysaccharides, sucres divers).

3.3. Sources d'azote et besoins en soufre

Les bactéries ont besoin de substances azotées pour synthétiser leurs protéines. La provenance de cet azote peut se faire par fixation directe de l'azote atmosphérique ou par incorporation de composés azotés (réactions de désamination, de transamination). Le soufre est incorporé par les bactéries sous forme de sulfate ou de composés soufrés organiques.

3.4. Besoins inorganiques

Le phosphore est présent dans les acides nucléiques et est utilisé dans de nombreuses réactions enzymatiques. Il permet la récupération, l'accumulation et la distribution de l'énergie dans la bactérie. Il est incorporé sous forme de phosphate inorganique.

3.5. Autres éléments

D'autres éléments jouent un rôle dans le métabolisme bactérien (sodium, potassium, magnésium, chlore) et dans les réactions enzymatiques (calcium, fer, magnésium, manganèse, nickel, sélénium, cuivre, cobalt, vitamines).

4. Conditions psycho-chimiques de la croissance

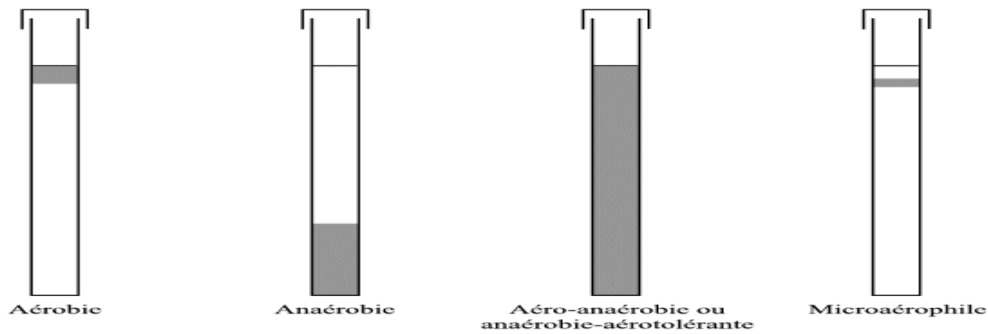
4.1. Effet de l'oxygène Il existe plusieurs classes de bactéries en fonction de leurs rapports avec l'oxygène.

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*).

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

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.

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.



Les milieux utilisés doivent contenir du glucose et ne pas contenir de nitrates qui pourraient servir d'accepteurs et permettre le développement en anaérobiose de certaines bactéries aérobies comme les *Pseudomonas* spp.

Le milieu le plus utilisé est la gélose viande-foie. Ce milieu est coulé dans des tubes longs et étroits. Avant ensemencement, les tubes sont régénérés dans un bain-marie bouillant durant 20 minutes, capsule dévissée, afin de chasser l'oxygène contenu dans le milieu. Les milieux sont ensemencés sur toute la hauteur des tubes (pipette Pasteur boutonnée) lorsque leur température est d'environ 45 °C.

La lecture est effectuée après incubation d'au moins 18 heures à une température compatible avec la multiplication de la bactérie à étudier.

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

- **Bactéries mésophiles** (Ex. : *Escherichia coli*) : température de croissance proche de celle du corps humain (37°C)
- **Bactéries thermophiles** (Ex. : *Thermus aquaticus*) : températures de croissance comprises entre 45°C et 70°C
- **Bactéries hyperthermophiles** (Ex. : *Archaea*) : températures de croissance supérieures à 80°C
- **Bactéries psychrophiles** (Ex. : *Pseudomonas*) : Températures proches de 0°C (optimum à 10-15°C)
- **Bactéries psychrotrophes** (Ex. : *Pseudomonas*) : températures de croissance proches de 0°C avec optimum de croissance proche des bactéries mésophiles

4.3. Effet du pH

Le pH (concentration en ion hydrogène $[H^+]$) de l'environnement varie entre 0,5 (sols acides) et 10,5 (eaux alcalines des lacs).

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** se développent pour des pH sont compris entre 5,5 et 8,5 avec un optimum voisin de 7.
- **Les bactéries alcalophiles** préfèrent les pH alcalins: cas de *Pseudomonas* et *Vibrio*

- Les **bactéries acidophiles** se multiplient mieux dans des milieux acides : cas des *Lactobacillus*.

4.4. Effet de l'eau libre : La disponibilité de l'eau présente dans l'atmosphère ou dans une substance intervient dans la croissance bactérienne. **L'activité de l'eau (A_w)** est inversement proportionnelle à la pression osmotique d'un composé. Ainsi, 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 jusque 15-30% pour les bactéries halophiles extrêmes (*Halobacterium*). Dans ce cas, la bactérie accumule des quantités importantes de potassium pour rester hypertonique par rapport à son environnement.
- 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.
- Les bactéries **osmotolérantes** acceptent des concentrations modérées de sucres mais non obligatoires pour leur croissance.
- Les bactéries **xérophiles** peuvent se multiplier en l'absence d'eau dans leur environnement.