Chapitre (1) : **Le monde microbien**

La microbiologie est la science qui a pour objet l’étude des microorganismes : Champignons, Algues, Protozoaires, Bactéries et Virus. L’étude de chacune de ces catégories de microorganismes constitue une discipline spécialisée en raison de l’importance du nombre d’espèces de chacune, de leur diversité, leur mode de vie, leur morphologie et leur rôle. La microbiologie est donc en fait une science pluridisciplinaire comprenant : La mycologie, algologie, protozoologie, bactériologie, virologie. Les microorganismes se trouvent partout dans la nature. C’est la forme de vie la plus abondante et la plus répandue sur toute la planète.

**La découverte du monde microbien**

C’est le Hollandais LEUWENHOEK(1632-1723) qui a révélé à l’Homme l’existence du monde microbien, en utilisant des microscopes simples. Ce naturaliste n’était pas un étudiant brillant. Il a quitté tôt l’école pour se consacrer au commerce. Il consacrait ces moments de loisir à tailler des lentilles. Il observait tout ce qui était à sa portée : tige de plante, insectes, goutte d’eau, etc. Un jour il écrit « Je ne connais pas de spectacle plus fascinant que celui d’une goutte d’eau, avec les milliers d’êtres qui y vivent et s’agitent en même temps ». Les formes des bactéries qu’observait LEUWENHOEK n’étaient pas toutes identiques. Il a dessiné des formes sphériques, des formes allongées en forme bâtonnets, et des spirilles contournées en spirale.

**La génération spontanée et la biogenèse**

La découverte d’un monde d’organismes invisibles à l’œil nu fait renaître un grand débat sur l’origine de la vie. D’où viennent ces microorganismes ?

Certains naturalistes de l’époque prétendaient qu’ils provenaient de la décomposition des tissus animaux et végétaux morts (génération spontanée)= théorie selon laquelle la vie provient du non vivant. Au début du 19ème siècle, en se basant sur des expériences, plusieurs chercheurs essayent d’apporter des preuves en faveur de la biogenèse (tout organisme vivant provient d’un organisme vivant préexistant), contre la génération spontanée.

L’Italien Spallanzanifaisait bouillir des solutions nutritives à base de bœuf dans des flacons avant de les sceller hermétiquement. Ces expériences n’ont pas convaincu les partisans de la génération spontanée. Ces derniers prétendent que l’air était essentiel à la génération spontanée.

Plus tard Schwannet Schultzemodifient l’expérience de Spallanzani : Schwann fait passer l’air dans un serpentin chauffé au rouge avant de l’envoyer dans la solution nutritive stérile. Schulze fait passer l’air dans une solution acide avant de l’envoyer dans le bouillon nutritif stérile. Dans les deux cas aucun microbe n’apparaît dans la solution nutritive. Mais les partisans de la génération spontanée n’étaient toujours pas convaincus. Ils prétendent que l’acide et la chaleur avaient modifié l’air.

Vers 1850, Schröederet VonDuschont fait une expérience plus convaincante en faisant passer l’air dans des tubes remplis de coton. Le coton retenait les micro-organismes de l’air et aucun microbe ne s’est développé.

A cette même époque, un nouveau nom apparaît dans le domaine de la science : Louis Pasteur(1822-1895). Pasteur a reçu la formation de chimiste, mais plus tard il s’est intéresséà la fermentation qui est un processus biochimique dû aux microbes. Cet intérêt pour lesprocessus fermentatifs l’engage dans le débat sur la génération spontanée. Il s’oppose avecvigueur à cette théorie et entrepris des expériences pour démontrer que des microorganismesne peuvent provenir que d’autres micro-organismes. Ses expériences consistaient à préparerdes solutions nutritives dans des flacons à col de cygne, sans empêcher le passage de l’air quin’était ni traité, ni filtré. Il chauffe les bouillons nutritifs et les laisse reposer. Résultat :aucun microbe n’apparaît.Pasteur met ainsi un terme aux débats sur la génération spontanée. La biogenèse devient lathéorie acceptée : tout microorganisme vivant ne peut provenir que d’organismes vivantpréexistant.Ce chercheur met ainsi en évidence la présence des microorganismes dans l’atmosphère. Ilmontre que le développement de ces microorganismes dans certains liquides organiques est lacause de leur altération. Cette découverte de germes dans l’air va avoir des conséquences fondamentales en médecine, par l’application de l’asepsie (ensemble des méthodes de destruction des microbes). Ceci a permis d’énormes progrès en chirurgie.

**La contribution de Pasteur en microbiologie**

Mémoire sur la fermentation lactique (1857)

Recherches sur la fermentation alcoolique (1858)

Découverte de l’anaérobiose (1861)

Etude sur le vinaigre (1861-64)

Prévention de l’altération des boissons par chauffage (Pasteurisation)

Participation à la mise au point de la stérilisation par chaleur humide

Travaux sur la maladie du charbon

Recherches sur le choléra des poules et la découverte de l’immunisation des animaux par des cultures microbiennes atténuées (1880)

Vaccination anti-charbonneuse (1881)

Vaccination contre la rage (1884)

**Microorganismes et fermentations**

Beaucoup de civilisations anciennes produisaient des boissons et des aliments produits par fermentation microbienne.

• Kiu, boisson fermentée chinoise à base de riz, remonte à 2300 ans avant J-C ;

• En chine et au Japon, on fabrique depuis des centaines d’années des sauces de soja à base de fèves fermentées ;

• Pendant des siècles les populations des Balkans (Bulgarie, Yougoslavie, Albanie..) ont consommé des produits à base de lait fermenté.

Les historiens ne connaissent aucune société où on n’a pas utilisé la fermentation pour faire de la nourriture ou de la boisson. Pendant longtemps, l’homme a cherché à améliorer la qualité de ses produits de fermentation sans même se douter qu’une meilleure qualité dépend de l’amélioration des conditions de croissance des micro-organismes. Il a fallu attendre les travaux des microbiologistes sur le rôle des micro-organismes dans la fermentation.

**Microorganismes et maladies**

Avant même que les microbiologistes ne prouvent expérimentalement le rôle joué par les microorganismes dans les maladies, beaucoup d’observations ont été faites dans ce domaine :

•1546, On suggérait que les maladies pouvaient être provoquées par des organismes trop petits pour être vu et sont transmis d’une personne à une autre ;

•1762, On prétendait que différents microorganismes provoquaient des maladies différentes •1843, On suggérait que la fièvre puerpérale, infection que contractait la femme après l’accouchement, était contagieuse et causée par des microorganismes transportés d’une patiente à une autre par des sages femmes et les médecins ;

•1870, Robert KOCHa travaillé sur la maladie du charbon (maladie qui touche le bétail, les moutons et parfois l’homme). Il isola du sang des animaux morts le microbe du charbon. C’était la première fois qu’on prouvait qu’une bactérie provoque une maladie animale. Plus tard, KOCH découvrit les bactéries responsables de la tuberculose et du choléra.

Après avoir analysé le rôle que joue les microorganismes dans les maladies, les chercheurs se sont penchés à chercher à développer des méthodes pour prévenir et traiter ces maladies. Très rapidement on a découvert, entre 1876 et 1898, les agents responsables de la plupart des maladies bactériennes connues de nos jours.

La découverte par Pasteur de la vaccination par des germes atténués, appliquée à grande échelle à la maladie du charbon marque le début de la prévention des maladies infectieuses (immunisation). La découverte des germes dans l’air va avoir des conséquences fondamentales en chirurgie (pratique de l’asepsie). De même la chimiothérapie (traitement des maladies par des produits chimiques) commence à se développer. Les mesures de santé publique rentrent aussi dans ces méthodes de prévention pour contrôler les maladies microbiennes (purification de l’eau, traitement d’eau usée, conservation des aliments, etc.).

**Développement des techniques de laboratoire**

C’est à l’Allemand ROBERT KOCH et son école qu’on doit la découverte d’une technique fondamentale en microbiologie celle de l’isolement en culture pure d’un microbe (1881). Cette technique consiste en l’utilisation de milieux qui demeurent fermes et transparents aux températures d’incubation (températures auxquelles on place les bactéries à faire pousser). Après leur échec avec la gélatine (protéine ayant l’aspect d’une gelée), car elle fond à 25 °C, ils résolurent le problème en utilisant un extrait d’une algue marine. Cet extrait, appelé Agar-agar ou plus simplement Agar ou gélose, peut être dissout dans une solution nutritive. Une fois solidifié, il peut supporter de grands écarts de température sans se liquéfier.

*Culture pure :* Les milieux gélosés constituent un excellent moyen pour séparer les différentes sortes de microorganismes présents dans un mélange. L’utilisation de ces milieux de culture permet de faire croître les microorganismes à une certaine distance les uns des autres. Chaque cellule microbienne peut ainsi former ce qu’on appel une colonie. Une colonie est une masse compacte de cellules visibles à l’œil nu. Toutes les cellules d’une colonie sont semblables, on suppose qu’elles constituent la descendance d’une seule cellule microbienne. C’est ce qu’on appel en microbiologie une culture pure.

**Applications de la microbiologie**

Les travaux de WINOGRADSKY(1856-1953) et BEIJERINCK(1851-1931) ont élargi le champ de la microbiologie en montrant le rôle indispensable des bactéries dans la nature ce qui a permis la création de la microbiologie du sol. WINOGRADSKY a découvert la nature biologique de la nitrification (transformation de l’ammoniaque en nitrates). BEIJERINCK a découvert les bactéries fixatrices d’azote et symbiotiques des légumineuses et leur rôle dans la fertilité des sols. Dans le domaine alimentaire, Pasteur a démontré le rôle des microbes dans la transformation des aliments, création de la branche microbiologie alimentaire et industrielle. HANSEN a même crée une entreprise qui produit des microorganismes nécessaires à la fabrication du vinaigre et les produits laitiers. Plus tard BURRILLdécouvre qu’une bactérie causait chez les poiriers une maladie dite feu bactérien. Cette découverte a été à l’origine de la pathologie végétale.

**La période moderne de la microbiologie**

Les micro-organismes se reproduisent rapidement et sont faciles à cultiver. Ils donnent naissance à des populations énormes à la suite d’un grand nombre de générations successives. Dans ces conditions ils constituent un outil particulièrement favorable en génétique**,** La science qui a pour objet l’étude des caractères héréditaires et de leurs variations. L’année 1944 marque à cet égard une étape essentielle. Avery, Mc Leod et Mc Carty montrent que, dans le phénomène de transformation découvert par Griffith seize ans auparavant, c’est l’ADN qui est responsable, en étant le support des caractères héréditaires de la cellule. On apportait, pour la première fois, la démonstration éclatante du rôle de l’ADN dans l’hérédité. Les découvertes se succèdent :

Les recombinaisons génétiques par Lederberg et Tatum en 1946 ;

La traduction par Zinder et Lederberg en 1952 ;

Le modèle de structure de l’ADN par Watson et Crick en 1953, et la découverte de la structure en double hélice en 1962 ;

La signification du codon TTTpar Nirenberg en 1961 et le code génétique en 1966 ;

La dynamique de la traduction(avec les divers types d’ARN) et la régulation des gènes par Jacob et Monod dans les années 1960.

La biologie moléculaire est née de la convergence de la génétique et de la biochimie. Elle s’intéresse à la structure des macromolécules, en particulier celle des acides nucléiques et des protéines et à leurs relations fécondes, la synthèse des protéines étant gouvernée par des gènes.

La microbiologie fournit à la biologie moléculaire l’essentiel de son matériel d’étude. Grace aux bactéries, il a été possible de connaitre le mécanisme de la synthèse protéique, de décrypter le code génétique, d’analyser les mécanismes de régulation cellulairequi harmonisent le potentiel génétique aux besoins de l’organisme.

La période actuelle est marquée par l’essor du génie génétique et des biotechnologies. Le génie génétique représente sans nul doute l’une des activités les plus originales et les plus révolutionnaires de notre siècle. Il consiste à mettre en œuvre, *in vitro*, des recombinaisons génétiques, véritables greffes entre deux molécules d’ADN. La cellule bactérienne qui reçoit ainsi une information nouvelle (d’une autre bactérie ou d’une cellule animale) devient capable de produire la substance dont on lui a confié le programme (la première expression d’un gène cloné dans une bactérie date de 1974). Ces techniques suscitent d’immenses espoirs dans la production bactérienne d’hormones (clonage de l’interféron alpha en 1980), de facteurs de coagulation, d’enzymes.

L’agriculture sera, dans les prochaines décennies, considération transformée par la création de plantes ayant des propriétés nouvelles. Il est envisagé, par exemple, de transformer certains végétaux (légumineuses) en leur permettant de fixer l’azote atmosphérique sans l’intermédiaire des symbioses bactériennes.

Ces percées biologiques sont fécondantes pour de nombreuses applications, que ce soit sur le versant industriel ou sur ceux de la santé publique, de la pharmacologie, de l’agronomie. Les biotechnologies font référence aux applications variées qui résultent de l’utilisation de ces capacités biologique nouvelles. Tels sont les bioréacteurs enzymatiques qui assurent le fonctionnement des enzymes en phase  immobilisée, les fermentations industrielles, la lutte biologique, les productions de biomasses, de biocombustibles, etc.

**Place des microorganismes dans le monde vivant**

Avant la découverte des micro-organismes (plusieurs centaines de milliers d’espèces connues actuellement) tous les êtres vivants étaient classés à l’intérieur du règne animal ou du règne végétal. Les organismes animaux tirent leur énergie de l’oxydation de matériaux organique, accumulent des substances de réserve sous forme de graisses ou de glycogène, sont animés de mouvements actifs ; ils sont aussi dépourvus de parois cellulaires. Les végétaux, au contraire sont photosynthétique, utilisant la lumière comme source d’énergie ; il synthétise de l’amidon comme réserve nutritive, sont dépourvus de mouvements et possèdent une paroi cellulaire. La découverte de nouvelles formes vivantes microscopique rendait de plus en plus difficile leur classement dans le règne animal ou végétal. Parmi elles, les algues et les champignons pouvaient entre rapprochés des plantes ; les protozoaires mobiles et nom photosynthétique étaient plutôt considérés comme des animaux ; la place des bactéries restait à fixer. En 1886, le zoologiste allemand Haeckel proposa une solution logique en demandant la création, pour ces formes microscopique, d’un troisième règne, celui des protistes qui rassemble les algues, les protozoaires, Les champignons et les bactéries. On donne indistinctement le nom de protistesou de microbes(de micro : petit et *bios* : vie) aux organismes unicellulaires ou multicellulaires qui sont dénuées de différenciation cellulaire, c’est-à-dire dont les cellules végétatives sont toutes équivalentes et ne présentent aucune spécialisation fonctionnelle. La cellule bactérienne, par exemple, est un organisme complet, indépendant, doué d’un pouvoir autonome de reproduction.

La classification biologique contemporaine pourrait alors être résumée comme suit :

I- Plantes : plantes vasculaires et bryophytes

II- Animaux ou métazoaires

III- Protistes : protistes supérieurs et protistes inférieurs

IV- Virus : organismes non cellulaires

Les virus sont totalement différents des protistes. Ils doivent être considérés  « à part ». Comme le précise Lwoff, « Les virus sont les virus ». Une particule virale possède des propriétés entièrement distinctes de celles de la bactérie et a fortiori beaucoup plus éloignées encore de celles des cellules animales ou végétales.

Les protistes sont traditionnellement divisés en deux grandes classes :

I- Protistes supérieurs ou eucaryotes

1- Algues (excepté les algues bleu-vert)

2- Protozoaires

3- champignons

II- Protistes inférieures ou procaryotes

1- Algue bleu-vert ou cyanophycées ou schizophycées

2- Bactéries ou schizomycètes

Très récemment, des organismes qui n’appartiennent à aucune de ces catégories fondamentales ont été découverts. Ils ressemblent extérieurement aux bactéries mais, phylogénétique ment, ils ne sont ni procaryotes, ni eucaryotes. Ces bactéries ont été appelées archéobactériesparce que l’on pense qu’elles sont très anciennes, elles sont, de fait, particulièrement adaptées aux conditions extrêmes qui ont du exister au début de la vie terrestre. Elles formeraient alors une troisième classe de protistes. La microbiologieest la science qui a pour objet l’étude des protistes ou des microbes, c’est-à-dire qu’elle englobe théoriquement non seulement la bactériologiemais aussi la parasitologie**,** la mycologie**,** etc. En fait, mais à tort, la microbiologie est le plus souvent restreinte à la bactériologie.

**La cellule eucaryote et la cellule procaryote**

Les divers groupes d’organismes vivants doivent être étudiés par rapport à leur unité de structure, la cellule. En 1937 le proto-zoologiste Edouard Chaton proposa les termes « eucaryotes » et « procaryotes» ; mais la vraie nature des ces deux types cellulaire ne fut clairement précisée que vers 1955 avec les progrès de la microscopie électronique. On distingue, en effet, la cellule eucaryote, caractéristique des plantes, des animaux, des protistes supérieurs, et la cellule procaryote, caractéristique des protistes inférieurs, en particulier des bactéries. La cellule eucaryote comprend un « vrai » noyau entouré d’une enveloppe nucléaire, contenant deux jeux semblables de chromosomes (homologues). Elle est diploïde**.** Son cytoplasme, siège des activités métaboliques de dégradation et de synthèse, est constitué d’un milieu homogène, le hyaloplasme, dans lequel baigne un grand nombre d’organites cellulaire : réticulum endoplasmique, mitochondries, appareil de golgi, lysosomes, peroxysomes, etc. La cellule procaryote ne possède pas un « vrai » noyau mais un appareil nucléaire diffus, non isolé par une membrane, avec, en général, un seul chromosome. Elle est dite haploïde**.** Le cytoplasme contient des éléments figurés en nombre réduit, les ribosomes, et des inclusions ou substances de réserve. Les études phylogénétiques fondées sur l’analyse des séquences nucléotidiques de l’ARN ribosomal ont confirmé l’existence d’une troisième forme cellulaire : l’archéobactérie**.** Proche de la cellule bactérienne.

Chapitre (2): **ETUDE DE LA CELLULE BACTERIENNE**

Dans cette partie nous verrons les principales propriétés des bactéries. Cela nous sera utile pour découvrir la grande diversité de types morphologiques et physiologiques des bactéries. Nous ouvrirons ce chapitre avec une description de la morphologie grossière des bactéries, puis nous étudierons leur ultra structure. La connaissance de la morphologie et de l’ultra structure des bactéries a été acquise à deux moments différents :

• Observations de LEEUWENHOEK (révélation de l’apparence grossière des Micro-organismes). L’amélioration de la microscopie optique associée aux techniques de coloration a permis d’avoir plus de précisions sur la forme caractéristique des cellules (dimension, groupement, forme et certaines structures externes) ;

• Utilisation de la microscopie électronique (1940). Observation des coupes ultraminces de la cellule bactérienne (ultra-structure). Les techniques de désintégration de la cellule ont permis l’isolement des constituants cellulaires et l’analyse chimique. Ce qui a permis la découverte de la fonction.

**I\_ Morphologie des bactéries :**

**1\_ Micromorphologie**

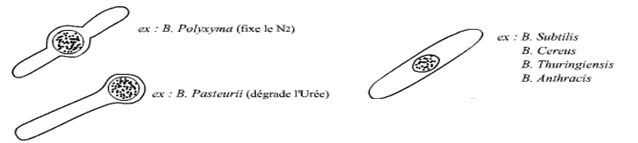
Les bactéries sont les plus petits organismes connus, doués de métabolisme et capable de croitre et de se diviser aux dépens de substances nutritives. Leur diamètre est habituellement d’environ 1 μm. Durant de longues années, ont été considérées comme des sacs d’enzymes, car le pouvoir de résolution du microscope optique était insuffisant pour en révéler les détails de leur structure. Lorsqu’on observe des bactéries au microscope optique, on reconnait rapidement la forme des cellules, leurs dimensions et les modes de groupement des cellules entre elles. Toutes ces informations définissent la morphologie bactérienne qui a constitué durant une longue période le critère essentiel de reconnaissance et d’identification :

**Taille** **:** Il est facile de comprendre pourquoi le microscope est nécessaire à l’étude des bactéries puisque les plus grandes d’entre elles atteignent à peine une centaine de μm de longueur. La longueur d’une bactérie coliforme comme *Escherichia coli* (bâtonnet) peut être de 5 à 10 μm. Une goutte d’eau peut contenir plus d’un milliard de tels organismes. Les staphylocoques et les streptocoques qui sont des bactéries sphériques ont un diamètre variant entre 0,75 et 1,25 μm, les mycoplasmes sont de l’ordre de 0.1 μm, les tréponèmes : 0.2 x 20 μm et les spirochètes peuvent atteindre 0.7 x 500 μm. Au plus fort grossissement du microscope optique (1000 à 1500X) les plus petites parmi les bactéries (Rickettsies et Chlamydiae) sont à peine visibles.

**Forme :** Les cellules bactériennes individuelles sont sphériques, en forme de bâtonnet ou spiralées. Chacune de ces formes est importante pour décrire la morphologie d’une espèce. Les bactéries en forme de petites sphères sont appelées des coques ou cocci. Les formes cylindriques droites sont des bacilles ou bâtonnets. Les formes recourbées en virgule sont des vibrions. Les formes hélicoïdales sont des spirilles. Ces formes sont les plus caractéristiques, mais dans la nature on trouve des intermédiaires de ces formes typiques comme les coccobacilles.

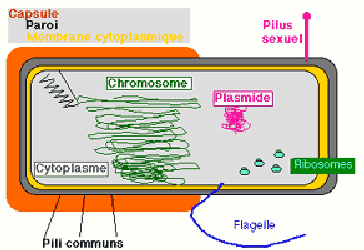
**Mode de groupement :** Parmi les cocci, une autre distinction morphologique s’impose : ces coques selon les espèces, peuvent former des groupements caractéristiques. Ils peuvent se rassembler en paires (diplocoques), en chaînettes (streptocoques), en grappes (staphylocoques), en grappe de 4 (tétrades) ou en groupe de 8 (sarcines). Les bacilles ne forment pas de groupements variés comme les cocci. Certaines espèces cependant ont tendance à se grouper par deux (diplobacilles) ou en courte chaîne (streptobacilles). Ces arrangements sont caractéristiques d’espèces, mais ne représentent qu’une tendance générale. Ils peuvent varier beaucoup selon les circonstances. Ainsi sur un frottis de streptocoques on peut aussi bien observer des amas de deux, quatre ou huit cocci, ainsi que des grappes, aussi bien que la forme en chaîne caractéristique.

**Sporulation :** La présence d’endospore chez les bactéries qui sporulent (comme *Clostridium* et *Bacillus*), la mise en évidence des endospores peut se faire par une coloration spécifique (à la fuchsine et/ou, au vert de malachite). Certaines caractéristiques de ces endospores peuvent être utiles pour la détermination des espèces : la forme (ovale ou sphérique), le nombre (mono. Ou bisporale), la taille (déformante ou non), la position (centrale, terminale, sub-terminale).



**Mobilité :** Mise en évidence sur une préparation à l’état frais (sous microscope) ou par culture sur milieux spécifiques tel que le milieu mannitol-mobilité. Les bactéries mobiles le sont par des flagelles ou cils, un résultat qui peut être confirmé par une coloration spécifique, qui nécessite l’épaississement du flagelle avant sa coloration. L’observation microscopique permet de déterminer les différents types de ciliature (nombre et distribution des flagelles) ; le type monotriche (un seul flagelle polaire), le type amphitriche (deux flagelles polaires), le type lophotriche (une touffe de flagelles polaire) et le type péritriche (plusieurs flagelles non polaires).

**2\_ Organisation de la cellule bactérienne**

****

La membrane plasmique: Son rôle est multiple : Barrière imperméable, limite de la cellule, transport des éléments nutritifs, processus métabolique (respiration, photosynthèse...), détection des signaux de l'environnement (chimiotactisme).

Les vacuoles à gaz : Rôle de flottement dans un milieu aquatique (permet par exemple de rester à un niveau fixe sous la mer pour n'avoir que l'énergie provenant du soleil qu'il lui est nécessaire, ni plus ni moins, et ceci en "dégonflant" ou "gonflant" cette vacuole gazeuse).

Les ribosomes : Rôle dans la synthèse des protéines bactériennes.

Corps d'inclusion : Réserve (de carbone, de phosphate, de lipide....).

Le nucléoïde : La bactérie ne possède pas de noyau mais son ADN se localise dans un nucléoïde.

L'espace péri-plasmique : Espace entre la paroi et la membrane dans lequel se situent des Enzymes hydrolytiques et des protéines de liaison nécessaire à la captation de la nourriture et sa transformation.

La paroi cellulaire : Elle donne sa forme à la bactérie et la protège de la lyse lorsque celle-ci se trouve en milieu dilué. Les bactéries sans parois sont appelées des protoplastes.

Capsule: Permet une certaine résistance à la phagocytose et une adhérence aux surfaces

Pili : Permet l'attachement aux surfaces.

Flagelle : Permet, chez certaines bactéries, la mobilité (mais il existe d'autres systèmes)

Endospore : Permet aux bactéries qui possèdent cette propriété de former des endospores de survivre à des conditions extrêmes (ex. le genre *Clostridium*).

**Note :** Chez lez Gram -, la paroi est plus petite mais est entourée d'une membrane externe incluant des [LPS](http://membres.multimania.fr/neb5000/BacteriologieI/Generalites/Schemas%20de%20Generalites/Le%20LPS%20(ENDOTOXINE).gif) (LipoPolySaccharides)

**3\_ Macromorphologie**

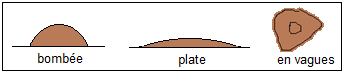
La première étape du diagnostic bactérien et du bio-typage d’une souche est la description macroscopique des colonies isolées ; parfois cette seule étude permet de connaître le germe car les colonies sont typiques. L’étude macroscopique des colonies est donc importante. Les termes employés doivent être précis, nous n’utiliseront que les termes les plus couramment employés. A l'œil nu, on peut distinguer les caractéristiques d'une colonie :

### La forme: Le premier caractère important dans la description des colonies est sa forme générale. De nombreuses espèces bactériennes forment des colonies rondes. Cependant d’autres donnent des colonies aux formes plus ou moins variées ; ronde, irrégulière, en étoile, envahissante, etc.

### Le relief: Après la forme générale, il est important de regarder le relief de la colonie (un peu comme si on en faisait une coupe). Il existe plusieurs types de reliefs chez les colonies bactériennes mais 3 types sont plus souvent observés :

Très fréquemment observé : Bombée et plate.

Couramment observé : en vague concentrique (souvent le cas des colonies envahissantes genre *Proteus*)



### Le contour: Le moins précis pour le qualifier. Cependant, par souci de clarté et de simplicité nous allons ramener leur contour d’une colonie, c’est le bord de celle-ci… Encore une fois, il existe de nombreux termes plus ou nombre à 2 types : Les colonies à bords réguliers et celles à bords irréguliers.

### La taille: La taille d’une colonie bactérienne est une donnée qui est parfois difficile à apprécier. En effet sur un même isolement la même espèce peut avoir différentes tailles. Pour ne pas qu’il y ait de quiproquos, il est de mesurer les colonies les plus grosses qui sont parfaitement isolées. La taille d’une colonie bactérienne, si elle est mesurable, s’exprime en mm et est souvent qualifiée par un adjectif. Les termes les plus couramment utilisés sont :

Colonies ponctiformes : Colonies à peine visibles, dont la taille est inférieure au millimètre.

Petites colonies : Colonies dont le diamètre est compris entre 1 et 2 mm

Colonies moyennes : Colonies dont le diamètre est compris entre 3 et 5 mm

Grosses colonies : Colonies dont le diamètre est supérieur à 5 mm

Les colonies de type « envahissantes » (*Proteus, Pseudomonas*…) ne peuvent pas être mesurées véritablement. En effet, leurs contours ont souvent atteint les bords de la gélose ou, les colonies se superposent. Donc, on ne donne aucune taille.

### La surface : La surface d’une colonie bactérienne peut changer d’un repiquage à l’autre. Cependant c’est un critère important car relié à d’autres caractères dont parfois la pathogénicité. On distingue les colonies lisses et les colonies rugueuses.



Il existe trois grands types de colonies: (selon l’aspect de la surface)

Colonies de type **S** (Smooth=lisse): contours lisse et réguliers, semi-bombée, surface brillantes.

Colonies de type **M** (Muqueux): contours lisse et réguliers, très bombées, surfaces très brillantes.

Colonies de type **R** (Rough=rugueux) : contours irréguliers, plates rugueuses et mates, sèches.

### La couleur : Un des derniers points important est la couleur de la colonie. Celle-ci peut être naturelle (pigments) ou du a une colorant ou un indicateur de pH présent dans le milieu.

**La** **pigmentation** d’une colonie est due à la production d’un ou plusieurs pigments par la bactérie. On peut différencier les pigments non diffusibles (seule la colonie est colorée) des pigments diffusibles (qui colorent également le milieu de culture).

Le genre permettant d’illustrer les pigments diffusibles est *Pseudomonas* et particulièrement les espèces : *P. aeruginosa* et *P.fluorescens*. En effet ces espèces produisent la pyoverdine (peptide complexe de couleur jaune-vert fluorescent, soluble dans l’eau et insoluble dans le chloroforme) et/ou la pyocyanine (de couleur bleue, soluble dans l’eau et les solvants organiques).

## Autres caractères : De nombreux autres caractères pourraient être décrits. En effet, il arrive que l’opacité, la consistance, l’odeur soient significatives de certaines espèces bactériennes.

**II\_ Structure de la cellule bactérienne**

**1\_ La paroi cellulaire**

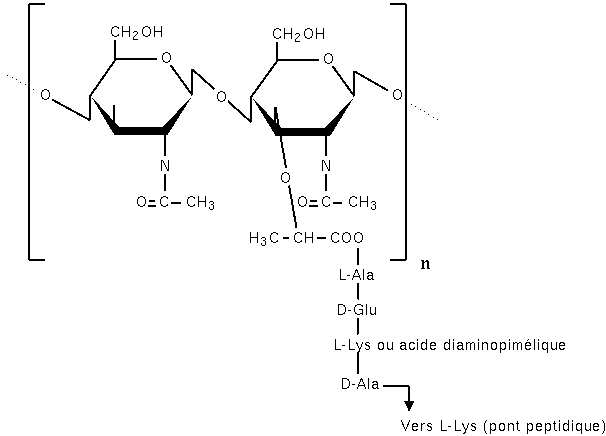
La paroi se trouve au-dessus de la membrane cytoplasmique et au dessous de la capsule. Mis à part les mycoplasmes (bactéries sans paroi) toutes les bactéries possèdent une paroi cellulaire. C’est une structure rigide qui donne à la cellule sa forme. Si on enlève la paroi, on obtient des cellules sphériques des protoplastes. La paroi intervient également dans l’équilibre de la pression interne des bactéries, de l’ordre de 5 à 20 atmosphères grâce à la présence d’un complexe dit peptidoglycane ou muréine ou mucopeptide. L’épaisseur de la paroi varie de 10 à 35 nm chez la plupart des bactéries. La composition chimique de la paroi est très importante pour différencier les bactéries des autres protistes et aussi pour différencier les groupes de bactéries. La paroi est le site de fixation des bactériophages. Elle renferme de nombreux antigènes qui correspondent aux endotoxines de certaines bactéries. De nombreuses enzymes peuvent détruire la paroi telle que le lysozyme des larmes. Beaucoup d’antibiotiques inhibent sa synthèse. C’est le cas des pénicillines. Certaines bactéries sont caractérisées par la présence au niveau de leur paroi d’acides gras à très longues chaînes. C’est le cas des mycobactéries (*Mycobacterium* *tuberculosis*). Ces acides gras sont responsables des caractères de coloration dits acidoalcoolorésistance ou Ziehl-Nielsen positive.

**1.1\_ Composition chimique**

La paroi représente environ 20 % du poids sec de la cellule bactérienne. Sa composition chimique est qualitativement et quantitativement variable selon le type de Gram (positif ou négatif) et le groupe. Les principaux constituants sont :

**Osamines**

Les principales os-amines isolées sont : La N-acétylglucosamine, L’acide N-acétylmiramique (l’éther lactique en position 3 de la N-acétylglucosamine), La galactosamine (présente chez certaines espèces). L’acide muramique, grâce à une fonction semi-aldéhydique et un groupe carboxyle libre, peut établir des liaisons entre les peptides et les polyosides. [Figure: 1]

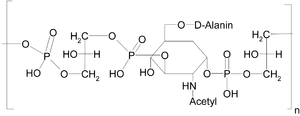
[](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/9/9a/Peptidoglycane.png)

**Acides aminés**

Trois acides aminés sont qualifiés de majeurs (présents chez tout type de paroi). Ce sont : la (D et L) alanine, l’acide D-glutamique, la L-lysine ou l’acide diaminopimélique (DAP, forme L ou méso.).

**Acides téichoïques**

Présents uniquement chez les bactéries à Gram positif, et pouvant représenter jusqu’à 50 % du poids de la paroi. Deux types d’acides téichoïques ont été isolés, ce sont : le poly-ribitol-phosphate (localisé dans la paroi), le poly-glycérol-phosphate (localisé dans la membrane plasmique). Ce sont des polymères composés d’unités de glycérol-phosphate (liaisons : 1-2 et 1-3) ou d’unités de ribitol-phosphate (liaison 1-5). [Figure: 2]

[](http://fr.wikipedia.org/wiki/Fichier:Teichons%C3%A4uren.png)

**Oses simples**

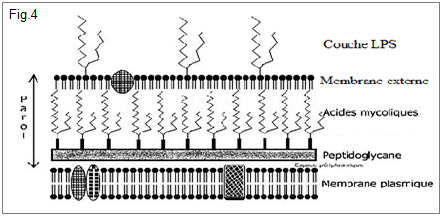
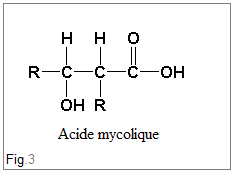
Ils sont nombreux : glucose, galactose, mannose, fucose, etc. Certains sont caractéristiques des groupes bactériens (madurose : groupe maduromycètes).

**Lipides**

Ils sont présents en fable quantité chez les bactéries à Gram négatif et presque absents chez les Gram positifs. Ce sont des lipides simples qui rentrent dans la composition des lipopolysaccharides.

**Acides mycoliques**

Ces molécules sont présentes chez les bactéries acido-alcoolo-résistantes comme les mycobactéries. Ce sont des acides gras à très longue chaîne (C = 60) ramifiée. [Figure: 3 et 4]

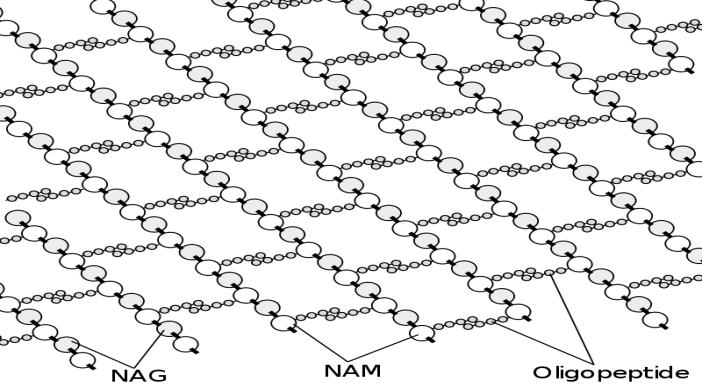


**1.2\_ Structure moléculaire**

La microscopie électronique montre une nette différence de structure entre la paroi des bactéries à Gram positif et celle des bactéries à Gram négatif. La paroi des Gram positif est plus épaisse (15 à 80 nm) et d’aspect homogène, alors que celle des Gram négatif est plus fine (6 à 15 nm) et d’aspect plus hétérogène. L’élément structural de base est le peptidoglycane.

**Peptidoglycane**

Il s’agit d’un glycosaminopeptide comportant une molécule de N-acétylglucosamine et une molécule d’acide N-acétylmuramique, reliées entre elles par une liaison glycosidique (β 1-4). L’acide acétylmuramique est associé à une courte chaîne peptidique de quatre acides aminés appelée tétrapeptide : deux alanines, un acide glutamique et une lysine ou acide diaminopimélique. Le pontage entre la D-alanine d’un tétrapeptide et la L-lysine d’un tétrapeptide voisin, se fait grâce à un pentapeptide de glycine. Cette structure en réseau donne à la paroi ça rigidité. [Figure: 5]

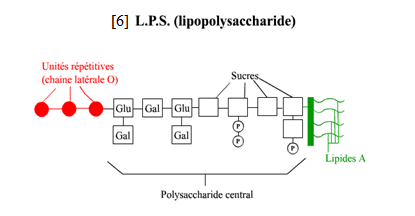


**L'espace péri-plasmique**

Espace entre la paroi et la membrane dans lequel se situent des Enzymes hydrolytiques et des protéines de liaison nécessaire à la captation de la nourriture et sa transformation.

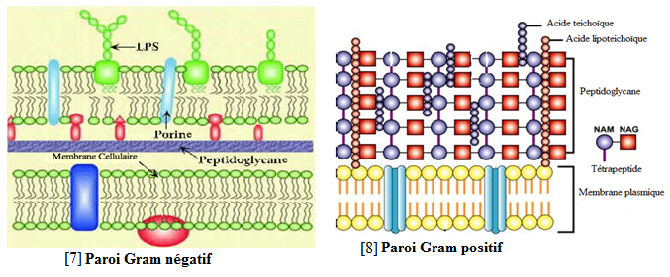
**Paroi des Gram négatif**

La paroi des Gram négatif est beaucoup plus complexe. Elle est constituée d’une couche fine de peptidoglycane et trois autres couches externes, reliées au peptidoglycane : un espace périplasmique (riche en enzymes : hydrolases), membrane externe (bicouche phospholipidique + porines), une couche LPS (lipopolysaccharidique : [Figure: 6]). Des molécules de lipoprotéines assurent la liaison entre le peptidoglycane et la membrane externe. [Figure: 7]



**Paroi des Gram positif**

Les acides teichoïques représentent le deuxième composant essentiel de la paroi des bactéries à Gram positif, ils constituent jusqu’à 50 % du poids sec de la paroi. Ils contiennent de grandes quantités de D-alanine attachée au glycérol en position 2 ou 3, et au ribitol en position 3 ou 4. [Figure: 8]



**1.3\_ Fonctions**

Pour bien comprendre le rôle de la paroi, on procède à l’expérience suivante qui permet l’élimination de la paroi par voie enzymatique. On utilise une enzyme spécifique ; le lysozyme, qui rompt les liaisons β.1-4 poly-osidiques du peptidoglycane. L’expérience est réalisée avec deux bactéries : *Bacillus* *subtilis* (bacille Gram positif) et *Escherichia* *coli* (bacille Gram négatif) dans un milieu hypertonique, pour éviter l’éclatement des cellules. Après destruction de la paroi, on obtient des cellules globuleuses qu’on les appelle: Protoplastes (issues des bactéries G+) ayant perdu leur pouvoir de division, de fixation des bactériophages et leur propriétés antigéniques. Sphéroplastes (issues des bactéries G-) ayant conservé toutes les propriétés des cellules initiales. Ces résultats montrent que la paroi joue un rôle dans la résistance contre la pression interne de la cellule et le maintien de la forme caractéristique, car il faut travailler dans des conditions d’isotonie pour éviter l’éclatement des cellules sans paroi.

**Propriétés antigéniques**

Les principaux constituants antigéniques bactériens, de même que les récepteurs bactério-phagiques, se trouvent au niveau des structures de surface cellulaire. Chez les bactéries à Gram positif, le peptidoglycane et les acides teichoïques représentent les principaux antigènes de surface (antigènes somatiques : type O). Chez les bactéries à Gram négatif, les antigènes somatiques sont localisés au niveau de la couche LPS.

**Fixation des bactériophages**

Les cellules bactériennes sont capables de fixer des virus, appelés bactériophages. Cette propriété est liée à la paroi ou se trouvent des sites de fixation spécifiques. La diversité de ces sites est utilisée pour l’identification de certaines espèces (lysotypage).

**Coloration de Gram**

La paroi bactérienne peut être plus ou moins perméable au passage de certains solvants. Cette propriété est mise à profit au cours de la coloration de Gram. Elle consiste à traiter un frottis bactérien, fixé à la chaleur, par une solution de violet de cristal, puis par une solution de lugol. La préparation est soumise à l’action de l’éthanol, c’est l’étape qui fait distinguer deux catégories de cellules bactériennes selon leur réaction à la décoloration: les unes dites à Gram négatif se décolorent rapidement; les autres, au contraire, conservent leur coloration violette et sont dites à Gram positif. Pour accentuer le contraste, la préparation est finalement traitée par la fuchsine: les bactéries à Gram négatif se colorent en rose, tandis que les bactéries à Gram positif restent colorées en violet.

**Les auto-lysines:**

Les auto-lysines sont des hydrolases endogènes des peptidoglycanes (glycosidases, amidases, peptidases). Leur rôle consiste à : Donner de la souplesse à la gaine pariétale pour la croissance bactérienne, Dégrader localement la paroi à l'endroit de l'édification du flagelle, Transformer la paroi pour faire entrer (et sortir) des macromolécules, Permettre la germination des spores chez les Gram +.

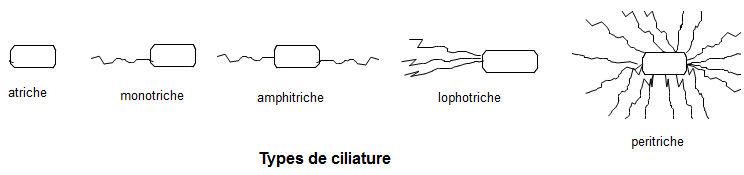
**2.  Le flagelle**

Les flagelles ou cils sont extrêmement fins, invisibles au microscope optique sur des cellules vivantes. Leur mise en évidence doit utiliser une technique de coloration spécifique. L’observation au microscope électronique permet de détailler leur forme, leur mode d’insertion et leurs dimensions. Ce sont des filaments fins généralement plus longs que la bactérie elle même, de l’ordre de 6 à 20 μm. Le point d’insertion du flagelle est cytoplasmique. Les expériences au cours desquelles la paroi bactérienne est détruite par une enzyme (lysozyme) aboutissant ainsi à la formation des protoplastes flagellés prouvent en effet que le point d’origine du flagelle est le protoplasme et non la paroi. On distingue chez les bactéries deux types principaux d’insertion des flagelles :

• Insertion polaire : le flagelle est inséré à une extrémité de la cellule. La bactérie est dite monotriche si l’on rencontre un seul flagelle polaire, amphitriche lorsque elle possède deux flagelles insérés aux deux pôles cellulaires, lophotriche lorsqu’une touffe émerge à un pôle de la cellule.

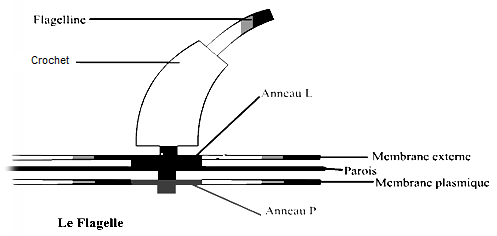
• Insertion péritriche : la bactérie porte de nombreux flagelles insérés sur tout le pourtour de la cellule. La connaissance du mode d’insertion peut être utilisée dans un but taxonomique. Par exemple dans la famille des *Enterobacteriaceae* toutes les bactéries mobiles possèdent un système flagellaire péritriche.

La bactérie est dite atriche si elle est dépourvue de flagelles (non mobile). [Figure: 1]

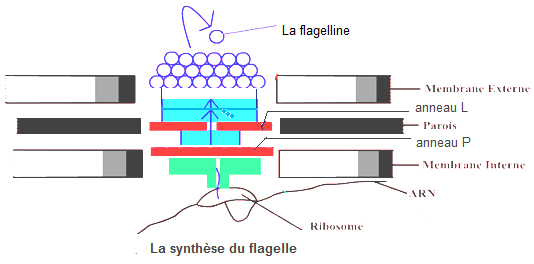
****

**2.1. Structure moléculaire**

Les flagelles peuvent être détachés et purifiés par centrifugation. Leur analyse chimique révèle la présence d’une protéine majeure, d’un poids moléculaire de 30 à 40 kilo-daltons, appelée la flagelline (de la classe des kératomyosines). De nombreuses images de la microscopie électronique montrent que le flagelle traverse la paroi et semble prendre racine dans le cytoplasme au niveau d’un granule basal, de structure complexe par ses liaisons avec les enveloppes cellulaires. Le granule basal comprend deux anneaux protéiques ; l’un relié à la membrane plasmique et l’autre relié à la paroi cellulaire. Le filament du flagelle est constitué par des chaines polypeptidiques arrangées parallèlement et enroulées en hélice autour de l’axe du flagelle. [Figure: 2]



**Synthèse**: La synthèse du flagelle fait intervenir entre 20 à 30 gènes : 1 pour le flagelle et 10 au moins pour l'édification du crochet et du corps basal).L'édification du flagelle se fait par auto-assemblage.

****

**2.2. Fonctions**

**La mobilité :** Chez les protistes inférieurs on rencontre deux types de mouvement :

• Déplacement par glissement sur support solide (le mécanisme est pour l’instant inconnu).

• Mouvement par rotation, utilisant des organes locomoteurs spécialisés les flagelles.

Le mouvement du flagelle est régit par un système s'apparentant à un moteur à hydrogène.

**Le chimiotactisme :** Les bactéries mobiles sont douées de deux types de chimiotactismes (positif et négatif). Certaines substances (sucres, acides aminés, etc.) les attirent ; d’autres (phénols, acides, bases) les repoussent. La réponse cellulaire vis-à-vis de ces composés serait due à un gradient d’informations plutôt qu’à un gradient d’énergie.

**La propriété antigénique :** Les flagellesconfèrentà la bactérie de nouvelles propriétés antigéniques (des antigènes de type H). La spécificité des antigènes flagellaires repose sur le nombre et la séquence d’acides aminés dans la molécule protéique. Ces différences ont été exploitées pour la caractérisation immunologique des types bactériens.

**3. Les pilli :**

L’existence des pili a été révélée par la microscopie électronique. Ce sont des appendices filiformes différents des flagelles. Ils sont fréquents chez les bacilles Gram négatifs. On en distingue deux catégories de morphologie et de fonction distincts ; les pili communs et les pili sexuels. Les pili peuvent etre facilement séparés par simple agitation. Ils sont constitués d’une protéine associant des sous unités d’un poids moléculaire d’environ 17 kilodaltons, appelées pilines.

• Pili dits communs sont distribués en grand nombre autour de la bactérie (plusieurs centaines). Ils sont fins, courts et rigides. On pense que leur présence est en rapport avec les propriétés antigéniques de la bactérie.

• Pili sexuels sont plus longs. Atteignant 20 μm et se terminent par un renflement. Leur nombre est de 1 à 4. Ils paraissent jouer un rôle indispensable au cours de la conjugaison bactérienne dans le transfert du chromosome de la cellule dite (+) à la cellule dite (-).

Certaines bactéries de Gram positif (les streptocoques), portent une couche externe de protéines filamenteuses ; les protéines de type M (fimbriaes), qui représentent l’antigène de surface (type O) chez les streptocoques et qui permettent leur adhésion dans les tissus de l’hôte.

**4. La capsule :**

Pour mettre en évidence la capsule chez les bactéries, on procède à une coloration à l’encre de chine ; sur le fond noir de la préparation constituée d’un mélange de l’encre de chine et d’une suspension bactérienne, la capsule apparait comme un halo brillant et réfringent qui entoure le corps cellulaire.

**4.1. Morphologie**

De nombreuses bactéries synthétisent des substances organiques visqueuses (polymères) qui entourent leur paroi d’une couche plus au moins compacte, sans structure visible au microscope électronique (couche amorphe), cette couche est dite capsule. Elle donne un aspect muqueux caractéristique aux colonies qui sont dites de type (M).

**4.2. Composition chimique**

La nature des constituants capsulaires est fréquemment polysaccharidique quelquefois polypeptidique. Chez les pneumocoques, plus étudiés en raison de son pouvoir pathogène, la capsule est constituée d’un polyholoside formé de longue chaine d’acide polyaldobionique. Un acide aldobionique est composé d’un ose associé à un acide uronique par une liaison osidique. L’acide uronique est variable selon la souche de l’espèce bactérienne (acide glucuronique, galacturonique, cellobioronique), les oses aussi peuvent être de nature variée ; glucose, galactose, rhamnose. Cette diversité est à l’origine de la spécificité antigénique différente chez les souches bactériennes.

**4.3. Fonctions**

La capsule ne joue pas un rôle vital pour la bactérie. Une cellule dépourvue de sa capsule peut croître et se multiplier. Les substances capsulaires, bien qu’elles ne soient pas indispensables à la bactérie, constituent un réservoir de nourriture. Elles sont le support des propriétés physiopathologiques et immunologiques (exemple : Les pneumocoques capsulés sont pathogènes. Injectés à la souris, ils provoquent sa mort après 24 heures. Les mêmes cellules a-capsulées perdent en même temps leur agressivité). Les capsules empêchent les défenses de l’organisme hôte de se manifester, en protégeant les bactéries de la phagocytose. Les substances capsulaires sont aussi le support d’antigènes. Injectées à un animal, elles l’obligent à synthétiser des anticorps protecteurs. D’un point de vue général, la capsule protège la bactérie dans l’environnement contre de nombreux prédateurs (cas des protozoaires), contre les bactériophages (virus qui attaquent les bactéries). Enfin elle protège les bactéries contre les agents physiques et chimiques comme la dessiccation. Les capsules peuvent nuire à certaines industries (exemple : papeterie, par accumulation dans l’outillage comme les filtres).

**5. La membrane plasmique :**

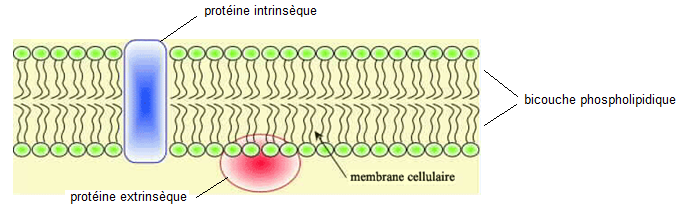
Son existence chez les bactéries peut être déduite de plusieurs observations : La plus ancienne, phénomène de plasmolyse au cours duquel le cytoplasme d’une bactérie placée dans un milieu hypertonique se rétracte, ne peut s’expliquer que par l’existence d’une membrane. En microscope électronique, elle est individualisée morphologiquement sur des coupes ultrafines. Mieux encore, des membranes peuvent être isolées par centrifugation différentielle à partir de protoplastes lysés en milieu isotonique.

**5.1. Composition chimique**

L’analyse chimique des membranes révèle trois types de substances ; des lipides, des protéines et des glucides. Les molécules lipidiques sont les plus abondantes, les protéines sont des grosses molécules, les proportions sont environ de 60 à 70 % de protéines contre 30 à 40 % de lipides. Les protéines existent sous de très nombreuses formes, une centaine d’espèces ayant été reconnues, en particulier les enzymes de la chaine respiratoire (les déshydrogénases et les coenzymes associées) et les enzymes perméases ainsi que celles impliquées dans les vois de biosynthèse de certaines macromolécules. Les lipides existent en quelques espèces uniquement, qui sont reproduites à de très nombreux exemplaires. Le cholestérol n’est jamais rencontré chez les cellules bactériennes à l’exception des mycoplasmes. Les lipides sont présents sous forme de phospholipides, en particulier le phosphatidylglycérol (PG) et/ou la phosphatidyléthanolamine (PE). Les glucides (ex : le glucose et la glucosamine) sont faiblement représentés, ils sont considérés comme des constituants mineurs.

**5.2. Structure moléculaire**

Les membranes plasmiques isolées et observées par microscope électronique sont conformes avec l’unité membranaire. Elles ont une épaisseur de 7.5 nm et sont formé d’un feuillet interne de nature lipidique pris en sandwich entre deux feuillets de nature protéique. Les molécules lipidiques sont amphipathiques (amphiphiles) caractérisées par une partie hydrophobe (soluble dans l’huile et insoluble dans l’eau) et une partie hydrophile ayant les propriétés opposées et porteuse d’un groupement phosphate chargé négativement (PO4-). Compte tenu de cette solubilité incompatible, les molécules lipidiques s’organisent en deux couches moléculaires, le double feuillet. Les parties hydrophobes se font face et sont protégées du milieu aqueux, les têtes hydrophiles sont immergées. La structure bimoléculaire de la membrane n’est pas statique, elle est conforme au modèle de la mosaïque fluide. Les molécules peuvent se déplacer en échangeant leur position à très haute fréquence. La membrane on distingue deux types de protéines : Les protéines extrinsèques (périphériques), liées à la membrane des deux faces par des liaisons électrostatiques. Les protéines intrinsèques (internes), elles traversent le double feuillet membranaire pour apparaitre sur les deux faces interne et externe de la membrane plasmique.



**5.3. Fonctions**

Indépendamment du rôle de la membrane plasmique dans le processus de biosynthèse (par les enzymes qui sont localisées à son niveau), elle règle la pression osmotique, participe au transport des substances et au fonctionnement de la chaîne de transport des électrons à l’aide de ses enzymes respiratoires (chaîne respiratoire = mésosome). Ainsi elle assure la synthèse d’ATP. La diffusion simple. L’eau, les gaz, les petites molécules hydrophobes passent facilement à travers la membrane ou par les canaux (les pores) membranaires. La diffusion facilitée ainsi que la diffusion simple représente le transport de substance à travers la membrane selon le gradient de sa concentration c’est-à-dire de la concentration plus grande vers la concentration plus petite. Ceci se passe sans dépense d’énergie. Dans le cas de diffusion facilitée on fait passer de grandes molécules (les médicaments), ainsi que les substances hydrophiles et portant une charge électrique (les sucres, les ions). Ici on ne peut pas se passer de l’aide des protéines-transportrices (les perméases, les translocases). Le transport actif (uniport, symport, antiport et par translocation de groupe) se fait contre le gradient de concentration avec la participation des protéines-transportrices. On a besoin d’énergie comme les molécules de l’ATP et d’autres. Chez les bactéries photosynthétiques la membrane plasmique joue un rôle dans la photosynthèse grâce aux chromatophores (structures membranaires secondaire porteuses de la bactériochlorophylle).

**6. Le cytoplasme**

Le matériel cellulaire à l’intérieur de la membrane peut être divisé en deux phases:

Une phase dispersante : constituée par une solution de sels minéraux et de composés solubles de nature lipoprotéique. Une phase dispersée : renfermant des nucléoprotéines et des lipides. Le pH du cytoplasme et environ 7 à 7.2 en dehors du matériel nucléaire. Les principaux éléments constitutifs du cytoplasme sont les ribosomes et les acides ribonucléiques, le matériel nucléaire, les substances de réserve, enfin certains organites spécialisés (chromatophores et vacuoles à gaz).

**6.1. Les ribosomes**

Constitués d'ARN (63 %) et de protéines (37 %), les ribosomes bactériens comportent deux sous-unités (30 S, 50 S). La sous-unité 30 S est formée d’ARN de type 16 S associé à des protéines de types S (Small), la sous-unité 50 S est formée de deux types d’ARN (5 S et 23 S) associés à des protéines de type L (large). Fonctionnellement, il y a deux sites essentiels pour la synthèse des protéines : le site (A) aminoacyl qui accueille l'acyl-tARN et le site (P) peptidyl qui accueille la chaîne d'aminoacides en cours de constitution. Les ribosomes sont particulièrement présents à proximité de la membrane cytoplasmique, site de synthèse de la paroi et des protéines exportées. Ils n'ont pas la structure des ribosomes de cellules supérieures expliquant la spécificité propre au monde bactérien. Certains antibiotiques perturbent la synthèse des protéines à leur niveau (tétracyclines). Les ribosomes sont en effet le siège de la synthèse protéique.

**6.2. Les substances de réserve**

Différentes substances chimiques peuvent s’accumuler dans le cytoplasme pour former des granules appelés inclusions de réserves. Ces substances sont variables suivant les genres de bactéries. C’est généralement du glycogène, de l’amidon, des lipides parfois chez certaines bactéries du soufre, du fer ou des phosphates, etc.

**6.3. Chromatophores**

Chez les bactéries photosynthétiques, les organites spécialisés au niveau desquels s’effectue la photosynthèse sont appelés chromatophores. Leur structure est différente de celle des chloroplastes et leurs pigments photosynthétiques sont appelés bactériochlorophylles (leur composition est différente de celle des pigments chlorophylliens).

**6.4. Vacuoles à gaz**

Rencontrées chez les cyanobactéries et les bactéries photosynthétiques (aquatiques). Elles leur servent de flotteurs à la surface de l’eau.

**7. Le chromosome**

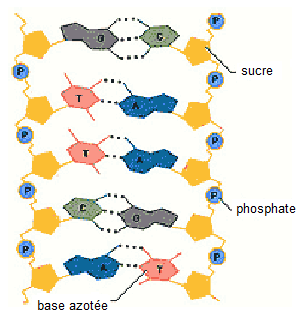
Dans la cellule bactérienne, la région nucléaire, riche en ADN occupe une position près du centre et le matériel nucléaire est au contact avec le système mésosome-membrane cellulaire. Le matériel génétique de la bactérie est constitué d’un chromosome unique formé d’une boucle d’ADN en suspension dans le cytoplasme. Dans le cas d’Escherichia coli, la longueur a été évaluée à un millimètre (environ 500 à 1000 fois plus que la longueur de la cellule). Les plasmides : en plus du chromosome, on trouve souvent chez les bactéries des éléments génétiques extra-chromosomiques : les plasmides. Ils sont capables de réplication autonome dans le cytoplasme bactérien (indépendamment du chromosome). Les plasmides sont des brins circulaires d’ADN bi-caténaire, contenant des gènes supplémentaires (exemple : facteurs de résistance aux antibiotiques). La mise en évidence de l’appareil nucléaire bactérien peut se faire par des techniques cytochimiques, comme celle de Stille et Piekarski, qui utilise la réaction de Feulgen ; les bactéries sont traitées par l’acide chlorhydrique dilué qui dégrade partiellement l’ADN en libérant son désoxyribose constitutif et les fonctions aldéhydes libres de ce pentose. En présence de fuchsine décolorée par le bisulfite de sodium (réactif de Schiff), les résidus aldéhydiques sont colorés en rouge foncé, localisant ainsi l’ADN dont ils sont issus. La morphologie des corps observés est variable selon la phase de croissance et de division de la bactérie. Chez la plupart des cocci on observe des petites masses sphériques ou ovoïdes plus ou moins centrales. Chez les bactéries bacilles, ce sont des petites masses en bâtonnet. La bactérie est généralement haploïde (1 seul chromosome). L'ADN bactérien qui est circulaire peut exister sous trois formes topologiques (super-enroulée, relaxée, linéaire) objectivées par plusieurs techniques telle l'ultracentrifugation, la microscopie électronique ou tout simplement l'électrophorèse en gel d'agarose. La forme linéaire est obtenue par coupure, par exemple enzymatique (enzymes de restriction).

**7.1. Composition chimique**

Le chromosome bactérien est constitué d'acide désoxyribonucléique (ADN) dont la structure est bien connue. L’acide désoxyribonucléique est un polymère de poids moléculaire élevé, composé d’unités appelées nucléotides. Chaque nucléotide est constitué d’un sucre à cinq atomes de carbone et d’une base purique ou pyrimidique : les bases puriques sont l’adénine (A) et la guanine (G) ; les bases pyrimidiques sont la cytosine (C) et la thymine (T), le sucre est le désoxyribose, le groupement phosphoré est un phosphate diester en position 3’ et 5’ du désoxyribose.

**7.2. Structure moléculaire**

Les deux chaines de la double hélice d’ADN sont maintenues entre elles (A-T, C-G) par les deux ou trois liaisons hydrogène. Cette molécule d’ADN, associée à des protéines basiques (des analogues d’histones) forme le chromosome bactérien. Le chauffage permet leur séparation en brins monocaténaires ou dénaturation. Cette séparation est réversible (renaturation ou hybridation) selon le principe de la complémentarité des bases (A-T, C-G). La détermination du GC% est un critère taxonomique ou de classification des bactéries qui peut être calculé selon l'espèce bactérienne. Il peut varier largement selon les groupes bactériens. L'ADN double brin peut être coupé par des enzymes endonucléases. Le mode d'action très spécifique des endonucléases permet d'établir des profils de restriction.



**7.3. Réplication d’ADN**

La réplication du chromosome débute en un point spécifique (le point d’initiation), lié à la membrane plasmique. Des enzymes de types hélicases et gyrase s’attachent l’un des brins de l’ADN et l’ouvrent en formant une boucle dans la super-hélice. L’ADN polymérase assure la synthèse du brin néoformé. Enfin l’ADN ligase relie les séquences au niveau de leurs extrémités libres. Cette réplication se fait selon le mode semi conservatif, uni ou bidirectionnel.

**7.4. Les plasmides (morphologie, structure, réplication, propriétés)**

Eléments de l'hérédité extra-chromosomique, ils donnent aux nombreuses espèces qui les hébergent denouveaux caractères. Il s'agit du principal processus d'évolution rapide des bactéries.Comme toute structure porteuse d’informations génétiques, les plasmides sont des molécules d’ADN; double brin, circulaire, de taille variable (0,5 kb à 500 kb).Peuvent être visualisés par microscopie électronique ou plus simplement par électrophorèse en gel d'agarose et révélation au bromydrate d'éthidium (substance fluorescente). La réplication d’ADN plasmidique est comme celle du chromosome, sous la dépendance d’un nombre limité de gènes. Un mécanisme de contrôle assure à la fois la réplication, le nombre de copies et la répartition équitable entre cellules filles après division. Ils sontmédiateurs de nombreuses propriétés permettant une meilleure adaptation des bactéries, bien que non indispensables au métabolisme normal de la cellule-hôte (endo-symbiotes). Leur transmission naturelle d'une cellule à l'autre s'effectue habituellement par conjugaison, quoique les autres modes de transfert soient possibles (transduction, mobilisation, etc.).

**8. L’endospore bactérienne**

Certaines espèces bactériennes sont capables de produire des spores, soit à l’extérieur de la cellule végétative (exospores), soit à l’intérieur de la cellule végétative (endospore). Ce sont des corps en sommeil métabolique produits à un stade avancé de la croissance.

Exospores : plusieurs espèces bactériennes les produisent. *Streptomyces* par exemple fait une chaîne de spores (conidies) portées à l’extrémité d’un filament végétatif (hyphe).

Endospores : processus présent seulement chez les bactéries. C’est une cellule à paroi épaisse, fortement réfringente et très résistante. Les endospores sont produites par les espèces du genre Bacillus, Clostridium, Plectridium et Sporosarcina.

**8.1. Morphologie**

Pour étudier leur morphologie on utilise des techniques de coloration spéciales ; coloration par la fuchsine ou par le vert de malachite. Ces techniques exigent le chauffage des frottis bactériens lors de la coloration. La spore apparait comme un corps endogène, sphérique ou ovoïde limité par un contour régulier, elle peut déformer ou non la cellule bactérienne. La situation des endospores dans les cellules ainsi que leur grosseur ne sont pas les mêmes pour toutes les espèces. Certaines sont centrales : formées au milieu de la cellule. D’autres sont terminales : formées à l’extrémité de la cellule et d’autres sont subterminales : formées près de l’extrémité de la cellule. Le diamètre de la spore peut être plus grand ou plus petit que celui de la cellule végétative (spores déformantes et non déformantes). Les spores peuvent avoir des formes différentes : sphériques, elliptiques ou ovoïdes. La présence d’une endospore, sa situation dans la cellule et sa grosseur et sa forme sont utiles pour identifier et caractériser les bactéries. Sa position dans le sporange est recherchée dans un but taxonomique : elle est centrale chez les *Bacillus*, subterminale chez les *Clostridium* et terminale chez les *Plectridium*.



**8.2. Structure**

Observée en microscopie électronique, la spore présente une structure complexe ; le cytoplasme présente une texture homogène qui héberge le matériel nucléaire, les ribosomes et des inclusions de réserve. Les enveloppes autour de la membrane plasmique : le cortex est une couche épaisse formé d’un peptidoglycane modifié (très sensible au lysozyme) et un polymère de dipicolinate de calcium, les tuniques (interne et externe) composées d’une protéine de type kératine riche en liaisons disulfures et imperméables, l’exosporium comme couche externe de nature membranaire lipoprotéinique contenant 20 % de sucres.

**8.3. Phénomène de sporulation**

Les bactéries sporulées peuvent croître et se multiplier pendant de nombreuses générations comme toute cellule végétative normale. Cependant à un moment donné de la croissance d’une bactérie qui sporule, à l’intérieur du cytoplasme végétatif la synthèse d’un nouveau protoplasme destiné à devenir une spore peut se déclencher. C’est le phénomène de sporulation :

• Arrêt total de la synthèse d’ADN et d’ARN. Invagination de la membrane cellulaire pour former une structure appelée pré-spore ;

• Formation d’une série de couches qui vont recouvrir la pré-spore. Le cortex sporal suivi d’une tunique sporale multicouche imperméable qui est responsable de la grande résistance de la spore aux agents chimiques ;

• Libération de la spore après lyse de la cellule-mère. La spore présente une structure complexe. Elle comprend des zones claires qui correspondent au matériel génétique et des régions sombres qui localisent les ARN et les substances de réserves.

**8.4. Propriétés de l’endospore**

Les spores peuvent résister à certains agents physiques et chimiques. Cas de la thermo-résistance : les spores peuvent survivre après chauffage de 70 à 80° C durant 10 mn. Certaines résistent 8 H à 100° C. ce qui crée des problèmes au cours des opérations de stérilisation dans les hôpitaux et les industries alimentaires. Résistance aux U.V et rayons X supérieure à celle des cellules végétatives. Résistance aux désinfectants et antibiotiques supérieure à celle des formes végétatives. Résistance à la dessiccation. Cette résistance est attribuée à la tunique sporale et au cortex.

**8.5. La germination des spores**

Lorsque la spore est placée dans des conditions favorables de croissance, elle subit une série de transformations progressives et devient finalement une nouvelle cellule végétative.

• Activation de la spore par un agent capable de léser la tunique sporale (choc mécanique, acidité, chaleur, etc.) ;

• En présence des conditions favorables d’hydratation et de métabolites effecteurs, les constituants de la spore sont progressivement dégradés par des enzymes ;

• L’altération du cortex et des tuniques externes fait apparaître une nouvelle cellule végétative comprenant le protoplasme sporal entouré de sa paroi ;

• Phase active de biosynthèse. La synthèse des protéines augmente progressivement. La paroi sporale devient la paroi cellulaire, la synthèse d’ADN reprend. La cellule double son volume et se libère de la tunique sporale.

Chapitre (3) : **LA CLASSIFICATION BACTERIENNE**

L’espèce constitue l’unité de base de la taxonomie. L’espèce telle qu’elle est définie chez les organismes supérieurs (plantes et animaux) repose sur :

• L’apparenté (ressemblance) des organismes ;

• L’interfécondité (capacité de se croiser).

Il est difficile d’appliquer cette définition en microbiologie. Elle ne peut être appliquée chez les bactéries par exemple car la reproduction est asexuée. On a décrit certains phénomènes de sexualité au cours desquels des types se conjuguent (phénomène de conjugaison) pourtant ces événements sont rares, par ailleurs la fusion nucléaire des deux cellules est partielle.

La définition de l’espèce a été dès le début de la microbiologie de nature descriptive et est encore d’usage actuel. Elle nécessite une caractérisation et une description précise qui permettent la comparaison entre individus et ainsi les rapprocher ou les éloigner dans la classification. Elle repose sur un ensemble de caractères artificiellement rassemblés :

• Caractères morphologiques (caractères des colonies, forme des cellules, dimensions, présence ou absence des flagelles, capsule, etc.) ;

• Aspects tinctoriaux (comportement vis à vis de différentes colorations) ;

• Types trophiques (aérobies, anaérobies, phototrophes, chimiotrophes, etc.) ;

• Métabolisme (glucidique, protidique, lipidique, etc.) ;

• Caractères génétiques ;

• Caractères immunologiques ;

• Caractères lysotypiques, etc.

**Nomenclature des microorganismes**

Avant leur classification, il faut nommer et identifier clairement les microorganismes. On désigne les microorganismes selon les règles du système binomial de nomenclature créée par **Linné** vers 1750 et encore utilisé de nos jours. On désigne chaque organisme par son nom de genre et aussi par un terme utilisé comme nom d’espèce. Ces deux noms sont en latin. Le nom de genre commence par une majuscule, celui de l’espèce par une minuscule. Le genre et l’espèce forment le nom scientifique du microorganisme.

**Groupes taxonomiques**

Un système de classification biologique est basé sur une hiérarchie taxonomique. C’est à dire une suite de groupes qui place l’espèce à une extrémité et le règne de l’autre.

Remarque:

• La classification des microorganismes est d’un grand intérêt. Quand on nomme et qu’on classe un microorganisme il constitue un moyen de référence. Quand on étudie un microorganisme on le compare avec ceux déjà existant. Il existe des collections de microorganismes classées ;

• Les concepts taxonomiques sont en changement (non statiques). Les procédés de classification en microbiologie connaissent régulièrement de modifications. Les anciens arrangements taxonomiques laissent la place à de plus récents fondés sur de nouvelles connaissances (accumulation de nouvelles données sur ces microorganismes). Il y a donc apparition et disparition d’espèces.

Pour appréhender la liste de plus en plus longue des bactéries existantes et à chaque fois découvertes, il était impératif que les systématiciens définissent un système de référence en donnant des noms à ces organismes (nomenclature) et en les classant (classification). Tout organisme étudié et identifié (identification) peut être inscrit dans le système de classification. La systématique ou taxonomie est la science des lois de la classification. Chez les bactéries, comme la reproduction est surtout asexuée, on fait appel à deux types de caractères ; phénotypiques et génétiques pour définir l’unité taxonomique (l’espèce).

1\_ **Les caractères phénotypiques**

Ce sont les caractères morphologiques, physiologiques et chimiques, tels que :

L’aspect morphologique : forme des cellules bactériennes, taille cellulaire, mode de groupement des cellules, présence ou non de spore, mobilité, présence ou non de capsule, etc.

L’aspect tinctorial : coloration de Gram (+ ou -).

L’aspect structural : détermination des constituants de la paroi et de la membrane plasmique.

Le type trophique : phototrophie ou chimiotrophie, lithotrophie ou organotrophie, autotrophie ou hétérotrophie, prototrophie ou auxotrophie, fixation ou non d’azote.

Le type respiratoire : aérobie strict, anaérobie strict, aéroanaérobie (facultatif), microaérophile.

Le métabolisme : catabolisme des glucides, des protéines, des lipides, et production de diverses enzymes, etc.…

La sensibilité ou résistance aux agents antimicrobiens, surtout aux antibiotiques.

Dans l’ancienne classification, on donne des poids différents aux caractères. Par contre, dans la classification numérique (automatique), tous les caractères ont le même poids (importance).

2\_ **La taxonomie numérique**

2.1\_ **Choix et codage des caractères**:

Le nombre de caractères compris entre 50 et 100. Ils doivent être transformé en format numérique (codés) ; + ou 1 pour la présence du caractère et – ou 0 pour l’absence du caractère. Il faut éviter les caractères qui ont la même signification, tels que la présence des flagelles et la mobilité, la résistance à la pénicilline et la sensibilité à la pénicilline.

2.2\_ **Mesure d’affinité entre les souches**:

L’affinité entre les souches de bactéries est mesurée à l’aide d’indices de similitude (ressemblance) ; l’indice de Jaccard ou l’indice de Sokal et Mitchener.

Indice de Jaccard : S(A.B) = nS+ **/** nS+ + nd

Indice de Sokal et Mitchener : S(A.B) = nS+ + nS- **/** nS+ + nS- + nd

S(A.B) : Coefficient de similitude entre deux souches A et B.

nS+ : Nombre de caractères positifs semblables entre A et B.

nS- : Nombre de caractères négatifs semblables entre A et B.

nd : Nombre de caractères différents.

2.3\_ **Représentation graphique**:

Le plus souvent la représentation se fait par des Dendogrammes (arbre) montrant les rapports de similitude entre les souches. Cette méthode permet de définir des groupes ou Taxons. Il est demandé un coefficient de 85 % ou plus pour pouvoir inclure deux souches différentes dans une même espèce.

3\_ **Les caractères génétiques**

La reconnaissance des caractères génétiques permet des comparaisons beaucoup plus fines entre les bactéries et une classification plus rigoureuse. Trois critères sont classiquement recherchés :

**Coefficient de Chargaff** (% GC) :

Consiste à déterminer le contenu des bases de l’ADN des bactéries, en calculant le pourcentage de guanine + cytosine (GC %) dans l’ADN. Ce pourcentage a un grand intérêt taxonomique. Deux souches bactériennes ayant des Coefficients de Chargaff très différents n’ont pas de parentés génétiques entre elles. Les bactéries appartenant à une même espèce doivent avoir le même Coefficient de Chargaff. Les souches qui possèdent les mêmes séquences nucléotidiques sur leurs génomes ont nécessairement le même pourcentage GC dans leurs ADN. Mais à l’inverse, deux bactéries qui ont un même % GC ne présentent pas obligatoirement les mêmes séquences nucléotidiques. Elles peuvent être génétiquement très éloignées l’une de l’autre.

**Hybridation ADN/ADN**:

On évalue par hybridation les homologies globales existantes entre les ADN de deux souches. La renaturation in vitro de deux brins d’ADN hétérologues conduit à la formation d’un hétéroduplex dans lequel il est possible de définir le degré d’homologie, c’est-à-dire le pourcentage de séquences complémentaires par rapport aux séquences totales.

**Séquençage des ARN ribosomaux**:

Les ARN ribosomaux peuvent etre considérés comme les meilleurs et les plus précis des critères moléculaires, par la constance de leurs fonctions, par leur répartition dans tous les organismes, par leur grande taille, parce qu’on peut les séquencer directement et rapidement par la transcriptase réverse. Il existe trois types de molécules d’ARN ribosomal, l’ARN 23S (2900 nucléotides), l’ARN 16S (1540 nucléotides) et l’ARN 5S (120 nucléotides). L’ARN 16S est le plus utile à analyser. Lorsque les ARN de deux souches A et B présentent un ou plusieurs mots semblables (oligonucléotides de même séquence) elles sont apparentées. A l’aide de méthodes statistiques il est possible, à partir d’un grand nombre de bactéries, de construire un arbre généalogique représentatif des parentés.

4\_ **La Classification Immunologique**

Les bactéries sont des mosaïques d’antigènes. Cette complexité antigénique des structures de surface (flagelles, pili, paroi, membrane, capsule) peut être à profit dans la classification et l’identification. La facilité et la rapidité des techniques immunologiques sont des avantages considérables. Cette classification a permis de diviser plusieurs genres et espèces en groupes sérologiques (sérotypes) sur la base de leurs antigènes de surface, somatiques (O), flagellaires (H) et capsulaires (K).

5\_ **La Classification de Bergey**

BERGEY’S MANUAL OF SYSTEMATIC BACTERIOLOGY; SECOND EDITION (2004).

TAXONOMIE DES ***PROCARYOTES***:

***Domain A: Archaea***

*Phylum AI. Crenarchaeota*

*Phylum AII. Euryarchaeota*

***Domain B: Bacteria***

*Phylum BI. Aquicae*

*Phylum BII. Thermotogae*

*Phylum BIII. Thermodesulfobacteria*

*Phylum BIV. Deinococcus-Thermus*

*Phylum BV. Chrysiogenetes*

*Phylum BVI. Chloroexi*

*Phylum BVII. Thermomicrobia*

*Phylum BIX. Deferribacteres*

*Phylum BX. Cyanobacteria*

*Phylum BXI. Chlorobi*

*Phylum BXII. Proteobacteria*

*Phylum BVIII. Nitrospira*

*Phylum BXIII. Firmicutes*

*Phylum BXIV. Actinobacteria*

*Phylum BXV. Planctomycetes*

*Phylum BXVI. Chlamydiae*

*Phylum BXVII. Spirochaetes*

*Phylum BXVIII. Fibrobacteres*

*Phylum BXIX. Acidobacteria*

*Phylum BXX. Bacteroidetes*

*Phylum BXXI. Fusobacteria*

*Phylum BXXII. Verrucomicrobia*

*Phylum BXXIII. Dictyoglomi*

*Phylum BXXIV. Gemmatimonadetes*

Taxonomie du *Phylum BXIII. Firmicutes* (espèce : *Bacillus subtilis*)

*Domain B: Bacteria*

*Phylum BXIII. Firmicutes*

*Class I. "Clostridia*

*Class II. Mollicutes*

*Class III. "Bacilli*

*Order I. Bacillales*

*Family I. Bacillaceae*

*Genus I. Bacillus*

Chapitre (4) : **LA NUTRITION BACTERIENNE**

La nutrition doit être satisfaite par deux types besoins que la bactérie doit trouver dans son environnement (naturel ou milieu de culture) : les besoins élémentaires (matériaux constitutifs de la cellule : carbone, azote, soufre, phosphore, sels minéraux, etc.), et les besoins énergétiques permettant à la cellule de synthétiser ses propres constituants. Certaines bactéries sont incapables de synthétiser quelques métabolites essentiels, ceux-ci doivent leur être fournis pour assurer leur développement. Ces besoins spécifiques sont appelés facteurs de croissance. Selon la nature de ces besoins, on peut définir des catégories de bactéries que l’on appelle des types trophiques.

1\_ **Besoins** **élémentaires**

1.1\_ **Source** **d’énergie**

Selon le type d’énergie utilisée, on peut définir deux catégories de bactéries : les phototrophes ou photosynthétiques, qui puisent leur énergie dans la lumière ; et les chimio- synthétiques ou chimiotrophes, qui utilisent l’énergie de l’oxydation de produits chimiques organiques ou minéraux. La phototrophie bactérienne peut faire appel à des composés minéraux ou organiques comme donneurs d’électrons, on parlera donc de bactéries photolithotrophes dans le premier cas, et de bactéries photoorganotrophes dans le second. Les bactéries chimiotrophes sont classées selon la nature des substances oxydées en deux catégories : bactéries chimiolithotrophes (utilisant des substances chimiques minérales) et bactéries chimioorganotrophes (utilisant des substances chimiques organiques). La majorité des bactéries entrent dans cette dernière catégorie. Les bactéries intracellulaires (Rickettsies et Chlamydies), qui tirent leur énergie de leur parasitisme sont appelées paratrophes.

1.2\_ **Source** **de** **carbone**

Le carbone est l’élément constitutif essentiel de la cellule et doit être fourni en quantité suffisante. Selon le besoin en carbone on peut définir deux grandes catégories de bactéries : les autotrophes (phototrophes et chimiolithotrophes), qui sont capables de se développer en milieu inorganique contenant le CO2 comme seule source de carbone. Les hétérotrophes (chimioorganotrophes) exigent des composés organiques pour se reproduire.

1.3\_ **Source** **d’azote**

Pour synthétiser leurs protéines, les bactéries ont besoin de substances azotées. Certaines bactéries sont capables de fixer l’azote sous sa forme moléculaire, tel est le cas des *Rhizobium* qui vivent en symbiose avec des légumineuses. La fixation d’azote peut être assurée par des bactéries libres comme les *Azotobacter* et *Clostridium*. L’azote peut être fourni à la bactérie sous forme inorganique (nitrate, nitrite, ammoniac et ammonium) ou sous forme organique (acides aminés : désamination).

1.4\_ **Sources** **de** **soufre** **et** **phosphore**

Le soufre est présent dans certains acides aminés sous forme de groupements thiols

(-SH), et il est fourni à la bactérie sous forme de sulfates ou de composés soufrés organiques. Le phosphore fait partie des acides nucléiques, des coenzymes et de l’ATP. Il est ajouté sous forme de phosphate inorganique.

1.5\_ **Autres** **éléments** **minéraux**

Certains de ces éléments jouent un rôle dans l’équilibre physicochimique de la cellule (Na, K, Mg, Cl, Ca). Ils sont appelés micro-éléments. D’autres, font partie de la composition d’enzymes ou de coenzymes et peuvent jouer le rôle d’activateurs enzymatiques (Fe, Co, Cu, Mn, Mo) on les appelle oligoéléments, ils sont apportés sous forme de traces.

2\_ **Facteurs** **de** **croissance** (besoins spécifiques)

Certaines bactéries exigent pour leur développement la présence de substances organiques qu’elles sont incapables de synthétiser et qu’on appelle facteurs de croissance. Ils englobent trois catégories de substances : les acides aminés, les vitamines et les bases puriques et pyrimidiques. En fonction de ces besoins on peut classer les bactéries en deux catégories : les prototrophes qui ne nécessitent pas de facteurs de croissance, et les auxotrophes qui les exigent.

3\_ **Types** **trophiques**

Selon le besoin en énergie, on peut définir deux types trophiques :

Bactéries phototrophes : photolithotrophes et photoorganotrophes.

Bactéries chimiotrophes : chimiolithitrophes et chimioorganotrophes.

Selon le besoin en carbone, on peut définir deux types trophiques :

Bactéries autotrophes : autotrophes stricts et autotrophes facultatives.

Bactéries hétérotrophes : hétérotrophes prototrophes et hétérotrophes auxotrophes.

Selon le besoin en azote, on peut définir deux types trophiques :

Bactéries fixatrices d’azote : fixatrices libres et fixatrices symbiotiques.

Bactéries non fixatrices d’azotes.

4\_ **Paramètres** **physico**-**chimiques**:

4.1\_ **Température**

Elle a une action sur la multiplication et le métabolisme cellulaire. Selon la température optimale de croissance, on distingue trois catégories de bactéries : les mésophiles qui préfèrent une température moyenne comprise entre 20 et 40°C (optimum : 30 à 37°C), les psychrophiles qui se développent à des températures basses inférieures à 20°C allant jusqu’à 0°C et parfois moins pour les cryophiles, les thermophiles qui se multiplient préférentiellement entre 45 et 55°C et jusqu’à 70°C pour les thermophiles extrêmes.

4.2\_ **pH**

Son action se situe à trois niveaux : le milieu de culture (la disponibilité des ions métalliques), la membrane cytoplasmique (la perméabilité membranaire) et le métabolisme (l’activité enzymatique). Selon le pH optimum de croissance, les bactéries sont classées en trois groupes : les acidophiles qui se développent à un pH inférieur à 6, les neutrophiles qui préfèrent un pH voisin de 7 et les basophiles qui ont un pH optimum supérieur à 8.

4.3\_ **Oxygène**

Selon le besoin en oxygène (O2), on distingue trois types respiratoires pour les bactéries : les aérobies stricts qui exigent l’oxygène libre pour leur développement (les micro-aérophiles exigent une faible concentration d’oxygène), les anaérobies strictes qui ne peuvent pas croitre en présence d’oxygène (ne possèdent pas de catalase) et les aéro-anaérobies (facultatives), capables de se développer avec ou sans oxygène libre.

4.4\_ **Humidité** (**Aw**)

L’eau est utilisée de deux manières par les bactéries : comme solvant des nutriments, permettant leur disponibilité, et comme agent chimique des réactions d’hydrolyse. L’Aw (activity of water) quantifie la disponibilité de l’eau. Sa valeur est comprise entre 0 et 1, on peut la calculer en faisant le rapport du nombre de molécules de solvant sur la somme des nombres de molécules de solvant et de soluté : [Aw = n2/n1+n2]. En général, les bactéries exigent des Aw élevées (proches du 1). Certains germes peuvent se développer à des Aw très faibles, on les appelle des xérophiles.

4.5\_ **Pression** **osmotique**

La majorité des bactéries résistent aux variations de pression osmotique, grâce à leur paroi rigide. Selon leur sensibilité à la pression osmotique, les bactéries sont classées en trois catégories : les osmophiles qui nécessitent des concentrations élevées en sucres ou en sels (les halophiles), les non osmophiles qui exigent des concentrations faibles en sucres ou en sels, et les osmotolérants qui peuvent croitre quels que soit la concentration.

4.6\_ **Pression** **mécanique**

Les bactéries sont relativement résistantes à la pression, les espèces barophiles supportent des fortes pressions mécaniques (supérieures à 1000 bars) comme *Streptococcus* *faecalis*.\*

Chapitre (5) :**LA CROISSANCE BACTERIENNE**

1\_ **Généralités**

La croissance bactérienne peut se définir au niveau de l’individu ou au niveau de la population. Au niveau d’une cellule, le phénomène de division cellulaire est discontinu alors que celui de la population est continu. La croissance d’un individu se manifeste par un accroissement de sa biomasse (taille, volume, masse). La croissance d’une population se manifeste par l’accroissement du nombre d’individus, généralement couplé à l’accroissement de la biomasse.

La croissance nécessite des conditions favorables du milieu : présence de sources d’énergie, de carbone, d’azote, de sels minéraux, de facteurs de croissance (auxotrophes) et de bonnes conditions physicochimiques (pH, température, pression osmotique, aération, etc.).

2\_ **Mesure de la croissance**

Plusieurs types de méthodes sont disponibles. Deux paramètres permettent de définir ou d’estimer une population bactérienne : la quantité de biomasse et le nombre de cellules. Les deux sont rapportés à l’unité de volume du milieu (concentration en biomasse, concentration cellulaire).

2.1\_ **Mesure de la quantité de biomasse :**

a)- **Détermination du poids sec** (méthode directe)

Cette méthode est appliquée chaque fois que le nombre de cellules n’est pas proportionnel à la quantité de biomasse ou qu’il ne peut être déterminé. Le milieu ne doit pas contenir de substances en suspension susceptibles de fausser les résultats. Cette méthode demande des volumes d’échantillon importants. La séparation de la biomasse peut se faire par centrifugation ou par filtration. Un lavage est nécessaire (en évitant toute lyse cellulaire). Le séchage est réalisé au four à 100°C, jusqu’à un poids constant. La quantité de biomasse peut être estimée par mesure de son volume à l’aide de tubes à centrifuger gradués.

b)- **Mesure du trouble** (méthode indirecte)

C’est le procédé le plus simple et le plus rapide. Il s’agit d’une méthode optique, appelée turbidimétrie, fondée sur la mesure de la transmission de la lumière à travers une suspension cellulaire selon la loi suivante : l’absorbance A=log I0/I. Il est nécessaire de disposer de courbes étalon DO (absorbance)= f (biomasses) ou f (nombre de cellules). Cette technique est inapplicable avec les milieux de culture très colorés ou troubles. Elle est aussi incapable de différencier les cellules mortes des cellules vivantes. Les mesures sont effectuées à l’aide d’un spectrophotomètre à une longueur d’onde de 650 nm.

c)- **Dosage de constituants cellulaires** (méthode indirecte)

Les principaux constituants dosés sont les protéines, les acides nucléiques, etc. La teneur en protéines peut être déterminée directement par la méthode de Stickland (réaction de biuret) ou indirectement par la méthode de Kjeldahl qui permet d’estimer la teneur en azote (en appliquant un facteur multiplicateur de 6.25). Le dosage des acides nucléiques (ADN dont la teneur cellulaire est constante) peut être effectué mais l’opération est délicate.

d)- **Mesure de l’activité cellulaire** (méthode indirecte)

On peut mesurer soit la consommation d’un substrat présent dans le milieu, soit la production d’une molécule excrétée par les cellules, soit une variation physicochimique du milieu. Il existe une relation stœchiométrique entre les substrats nécessaire à la croissance et les produits formés. Le substrat peut être une source de carbone, d’azote, d’oxygène ou un facteur spécifique de croissance. Les bactéries au cours de leur croissance, rejettent dans le milieu les produits de leur métabolisme. Certains produits de catabolisme sont de véritables déchets dont la cellule doit se débarrasser, leur dosage peut se révéler utile (le dioxyde de carbone CO2).

2.2\_ **Numération des cellules :**

a)- **Numération directe**

Ces méthodes sont immédiates et permettent de dénombrer toutes les cellules (mortes et viables). Le nombre de cellules peut être déterminé par deux techniques (les plus utilisées) :

Lecture au microscope : Cette méthode est pratiquée couramment pour les bactéries de grande taille, en utilisant un hématimètre (cellule de Thoma, de Malassez).

Compteur de particules : Cet appareil réalise automatiquement le dénombrement des particules ou des cellules en suspension. Ce procédé présente l’inconvénient de compter indistinctement cellules ou particules inertes de même taille.

b)- **Numération après culture**

Ces méthodes ne prennent en compte que les cellules vivantes et aptes à se développer. Le résultat n’est pas immédiat car il faut attendre le temps nécessaire à la culture. Des erreurs peuvent être liées à la présence d’amas de cellules. Le dénombrement peut être effectué par deux méthodes :

Numération en milieu liquide :

Il est nécessaire de préparer des dilutions de l’échantillon (trois dilutions au minimum). Le nombre de bactéries peut être estimé par inoculation de volumes fixes de chaque dilution dans des tubes (3 ou 5) contenant un milieu liquide. Le tube qui donnera un trouble après incubation contiendra au moins une bactérie viable. Le nombre de cultures positives considérées dans trois dilutions successives donne le nombre le plus probable (**NPP**) de bactéries viables présentes dans la culture initiale, à l’aide de tables statistiques (tables de Mac Grady). Le nombre est exprimé en **UFT** (unité formant trouble).

Numération en milieu solide :

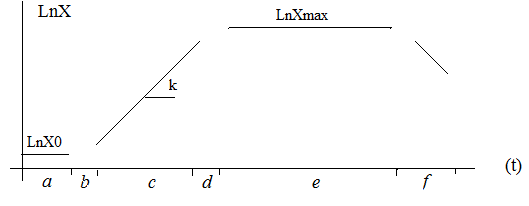
Un volume fixe de la suspension initiale ou des dilutions est étalé à la surface d’un milieu gélosé dans des boites de Pétri. Après incubation, le nombre de colonies apparues correspond au nombre de bactéries présentes dans le volume analysé de la suspension. Le nombre de colonies retenu après lecture des boites devra être compris entre 30 et 300. Le nombre est exprimé en **UFC** (unité formant colonie).

3\_ **Les paramètres de croissance**

Les divers paramètres caractérisant la croissance bactérienne sont classés en paramètres d’état, paramètres cinétiques et paramètres de contrôle. Les principaux paramètres d’état sont les concentrations en substrats (S), en biomasse (X) et en produits (P). Ces paramètres permettent de calculer les rendements des cultures. Les paramètres d’action ou de contrôle comme la température, le pH, le potentiel d’oxydoréduction, la teneur en O2 et en CO2. Les paramètres cinétiques sont obtenus en dérivant les paramètres d’état par rapport au temps. Les plus importants sont les vitesses d’apparition de la biomasse (vitesse spécifique).

4\_ **Courbe de croissance** (milieu non renouvelé)

La croissance des bactéries dans un milieu non renouvelé est limitée (discontinue). Après une durée de culture, variable selon l’espèce, elle s’arrête. Ceci est dû à l’épuisement des nutriments par opposition à la croissance en milieu renouvelé (croissance continue). Cette courbe est obtenue en traçant l’évolution de la biomasse en fonction du temps, X= f(t). On obtient le tracé de la figure (1).



Figure(1) : courbe de croissance (a, b, c, d, e, f, phases de croissance)

Le graph représente le logarithme népérien de la biomasse en fonction du temps. Cette représentation permet d’obtenir une zone linéaire (au niveau de la phase c) de coefficient directeur (k), dont l’équation peut s’écrire : Ln X = Ln X0 + k. (t - t0). [X0, t0 et k sont des constantes].

Après chaque division cellulaire, les cellules entament un nouveau cycle. La durée d’un cycle est appelée temps de doublement ou temps de génération (g). Ce type de croissance est appelé croissance exponentielle car le nombre de cellules croit d’un facteur constant à intervalles réguliers.

La croissance peut être caractérisée par des paramètres cinétiques, vitesse de croissance (dX/dt), vitesse spécifique de croissance ou taux de croissance (µ=1/X.dX/dt), X peut s’exprimer en nombre de cellules ou en grammes de biomasse, figure(2).

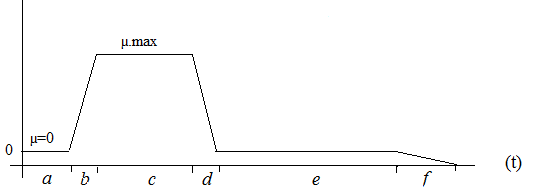


Figure (2) : Evolution de la vitesse spécifique de croissance (µ).

4.1\_ **Phases de la croissance**

a)\_ **Phase de latence**:

La croissance ne débute pas immédiatement mais seulement après une phase de latence de durée variable, indispensable à l’adaptation aux nouvelles conditions (les cellules doivent synthétiser les enzymes nécessaires à l’assimilation d’éléments nutritifs). C’est la phase pendant laquelle la vitesse spécifique de croissance est nulle (µ = 0), la biomasse n’augmente pas (X = X0).

b) \_ **Phase d’accélération**:

A la suite de la phase de latence survient une phase d’accélération au cours de laquelle la multiplication cellulaire démarre avec une vitesse spécifique de plus en plus grande. Pendant cette phase la vitesse spécifique de croissance augmente (µ ˃ 0), la biomasse augmente (X ˃ X0).

c)\_ **Phase exponentielle**:

C’est la phase physiologique par excellence. Elle correspond à une multiplication cellulaire binaire de vitesse spécifique constante et maximale (µ = µmax), la biomasse augmente (après un temps t = g, X passe de X0 à 2.X0). Pendant cette phase la vitesse spécifique de croissance égale le coefficient directeur (µ = k) et peut être calculée à partir de l’équation suivante : µ = (LnX2-LnX1) / (t2-t1). Le facteur limitant de cette phase est la quantité de substrats nutritifs. Dans un milieu contenant un mélange de deux substrats carbonés différents, on peut observer une courbe anormale diphasique (au niveau de la phase exponentielle). Ce phénomène a été décrit sous le nom de phénomène de diauxie, figure (3).

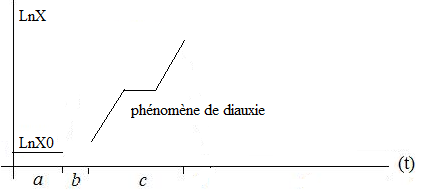


Figure (3) : phénomène de diauxie (c : phase exponentielle).

d) \_ **Phase de décélération**:

Les bactéries ne peuvent croitre indéfiniment dans un milieu non renouvelé. Le milieu devient de moins en moins favorable à la croissance. Pendant cette phase l’augmentation de la biomasse (X) ralentit et la vitesse spécifique de croissance (µ) diminue et passe de µmax à zéro.

e)\_ **Phase stationnaire** :

Cette phase est caractérisé par un arrêt de la croissance, avec une vitesse de croissance (µ = 0) et la biomasse atteint son maximum (X = Xmax). Le nombre de cellules viables reste constant et correspond à un équilibre entre le nombre de cellules provenant de la multiplication et le nombre de cellules qui disparaissent par autolyse.

f) \_ **Phase de déclin**:

Au cours de cette dernière phase, les bactéries ne se divisent plus. Une autolyse des cellules se déclenche. Le taux de mortalité peut être constant. Dans ce cas, il est représenté par une droite, le nombre de cellules mortes étant proportionnel au temps.

Dans certains cas, des bactéries survivantes peuvent amorcer une nouvelle phase de croissance aux dépends des substances issues de la lyse cellulaire. Ce phénomène est connu sous le nom de croissance cryptique, figure (4).

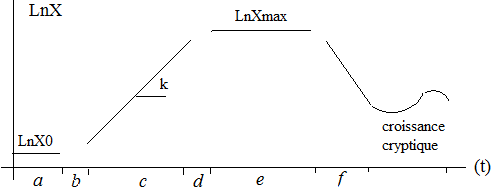


Figure (4) : croissance cryptique

5\_ **Les cultures bactériennes**

La croissance continue a reçu des applications industrielles très connues sous le nom de fermentations. Dans la fermentation discontinue, on cultive les bactéries dans une cuve ou fermenteur de grand volume, pour les récolter ou extraire les produits formés après une période de temps déterminée. Ces fermenteurs sont appelés des bioréacteurs.

5.1\_ **Les bioréacteurs**

Ce sont des enceintes hermétiquement fermés, permettant une stérilisation facile et le maintien de l’asepsie pendant la durée de culture. Ils doivent résister aux vibrations lors de l’agitation, aux surpressions et à la corrosion. Le volume utile représente 4/5 du volume total de la cuve. Pour les petits volumes (< 10 litres) la cuve est en verre. Pour les volumes supérieurs ce sont des enceintes en métal inoxydable avec des hublots permettant le contrôle visuel de la culture. Pour les petits bioréacteurs, la stérilisation peut se faire à l’autoclave (à 120°C). Pour les volumes plus importants, les enceintes sont stérilisées par vapeur ou par tyndallisation. Toutes les entrées (substrats, anti mousses, inoculum, aération, bases, acides, etc.) sont pourvues de filtres et de même pour les sorties (prélèvements). Il existe plusieurs types de bioréacteurs ; systèmes en phase liquide, systèmes en phase solide ou avec des systèmes immobilisés.

5.1.1\_ **Systèmes en phase liquide :** Trois procédés peuvent être utilisés :

a)\_ Culture en discontinu (**batch**) : à volume constant sans renouvellement de milieu. Tout est traité en fin de culture.

b) \_ Culture en discontinu alimentée (**Fed-batch**) : avec addition contrôlée de certains éléments en cours de fermentation.

c)\_ Culture continue (**turbidostat** et **chemostat**) : dans ce cas on peut utiliser des systèmes multi-étages (le cas de production de métabolites secondaires).

Dans ces systèmes l’agitation est un facteur essentiel de la culture, le choix de la vitesse est important. Cette agitation est primordiale pour l’efficacité de l’aération.

5.1.2\_ **Systèmes en phase solide**: Dans ces systèmes les substrats sont simplement humidifiés et non solubilisés. Traditionnellement utilisés pour la fabrication du vin de riz. Les substrats les plus utilisés sont les grains de céréales. Les micro-organismes doivent présenter une tolérance à des Aw faibles (moisissures et levures).

5.1.3\_ **Systèmes immobilisés**: Ces systèmes présentent plusieurs avantages, tel que la conservation du matériel biologique et la récupération faciles des produits.

Quatre types d’immobilisation peuvent être utilisés :

\_ L’adsorption : un procédé utilisé pour la fabrication du vinaigre. Les micro-organismes peuvent être adsorbés sur des billes de PVC.

\_ L’inclusion : incorporation des micro-organismes dans une matrice d’un polymère rigide, comme l’alginate de sodium (pour la production d’alcool par des levures).

\_ La liaison covalente : utilisée pour la fixation des enzymes, elle est moins utilisée pour les micro-organismes. Il s’agit d’une liaison chimique irréversible (son inconvénient).

\_ La floculation : C’est un système qui provoque l’agrégation des cellules par l’addition des poly électrolytes comme le chitosane (des liaisons hydrogènes sont formées). Ce procédé est utilisé pour les traitements des eaux.

Divers types de réacteurs sont utilisé :

\_ **Réacteurs à lit fixe**: entassement des billes dans une colonne, les divers contrôles sont effectués par un système externe.

\_ **Réacteurs à lit fluidisé** : dans ce système on évite le colmatage des billes par l’ajustement de leur densité et la vitesse d’écoulement.

\_ **Réacteurs à fibres creuses** : le milieu de culture circule à travers des fibres creuses où les cellules se développent.

\_ **Réacteurs à membranes semi-perméables** : ressemblent aux précédents, sauf que les fibres sont remplacés par des membranes semi perméables.

6.\_ **Les agents antimicrobiens**

Pour de multiples raisons il est indispensable de contrôler le développement des micro-organismes, en général pour éviter leurs effets nuisibles sur l’homme et les animaux (bactéries pathogènes) ou sur les produits alimentaires (altération des aliments). Les moyens de lutte sont nombreux et variés.

**1\_ Quelques définitions**

**Stérilisation :** C’est une opération qui a pour objet de tuer tous les micro-organismes contenus dans un produit, ce dernier est dit stérile lorsque aucun germe n’est revivifiable ou capable de se développer (résultat permanent).

**Désinfection :** C’est un terme désignant toute action antimicrobienne, quel que soit le niveau de résultat, en utilisant un produit qualifié de désinfectant, soit une réduction de la flore de 99.999 %.

**Décontamination :** C’est une opération momentanée, permettant d’éliminer, de tuer ou d’inhiber les micro-organismes indésirables. Cette opération n’implique pas obligatoirement l’élimination des micro-organismes.

**Asepsie :** C’est l’ensemble de mesures capables d’empêcher tout apport exogène de micro-organismes. Les traitements de désinfection, de décontamination et de stérilisation microbienne sont des moyens de réaliser l’asepsie.

**Antisepsie :** C’est une opération momentanée permettant au niveau des tissus vivants, dans la limite de leur tolérance, d’éliminer ou de tuer les micro-organismes. La définition de l’antisepsie diffère de celle de la désinfection sur un seul point : l’antisepsie s’applique aux tissus vivants alors que la désinfection s’applique aux milieux inertes.

**Antibiotiques :** La toxicité cellulaire des antiseptiques les réserve à un usage local. D’autres substances capables d’agir sur les micro-organismes, tout en étant dépourvues de pouvoir toxique. Ces agents, qualifiés de chimio-thérapeutiques, comprennent les sulfamides et les antibiotiques.

**2\_ Action antimicrobienne**

Le micro-organisme ne peut se trouver que dans deux états : la vie ou la mort (incapacité de se reproduire). On peut donc dire que la destruction d’un micro-organisme est un phénomène de tout ou rien. Une population de micro-organismes mise au contact d’un agent antimicrobien comporte au début uniquement des germes vivants (survivants) et des germes morts, leur destruction ne sera en aucun cas instantanée. La cinétique de la destruction microbienne, suit un certain nombre de lois. L’action antimicrobienne dépend de trois paramètres essentiels : le micro-organisme lui-même, l’agent antimicrobien et l’environnement ou se situe l’action.

**Micro-organismes** **:** Une espèce bactérienne, par exemple, présente des sensibilités diverses vis-à-vis des agents antimicrobiens différents. Il est utile, au cours des infections, de définir l’antibiogramme (liste de produits actifs sur l’espèce responsable).

**Environnement :** Il peut être le milieu de culture dans lequel se développe l’expérience, le tissu au niveau duquel agit un antiseptique. L’action antimicrobienne est influencée par la température, le pH.

**Agents antimicrobiens :** Pour chaque agent on peut définir un spectre d’action (liste d’espèces sensibles). Ce spectre dépend de plusieurs facteurs : la concentration, le temps de contact, la stabilité chimique, la solubilité. L’action antimicrobienne peut être létale ou seulement inhibitrice. On peut donc distinguer : des agents de destruction comme la température élevée (autoclave et four Pasteur), les radiations (UV, X et gamma) ; des inhibiteurs comme les basses températures ; des procédés d’élimination des germes comme la filtration et la centrifugation. La classification la plus communément utilisée distingue : des agents physiques, des agents chimiques, des agents chimio-thérapeutique (les antibiotiques).

**3\_ Agents antimicrobiens physiques**

**Température**

L’action de la température dépend de l’environnement, de l’état physicochimique des cellules et de leur nombre. En solution aqueuse, la plupart des germes sous leurs formes végétatives sont rapidement tués à la température de 100°C. En revanche, dans un milieu déshydraté, ils sont beaucoup plus résistants. La stérilisation dite à sec des objets, du matériel en verre ou en métal exige une température voisine de 180°C. Les formes végétatives des bactéries sont en général inactivées par un chauffage de 50 à 60°C durant 30 minutes. Les formes sporulées sont au contraire thermorésistantes. Dans la plupart des cas, seule une température supérieure à 100°C et un temps de contact de plusieurs dizaines de minutes capables de leur destruction. Les procédés pratiques de stérilisation utilisent la chaleur humide ou la chaleur sèche.

\_ **Chaleur humide**

La stérilisation par la chaleur humide sous pression est une méthode très utilisée (autoclavage). L’autoclave est une enceinte métallique hermétiquement close dans laquelle on chauffe de l’eau sous pression pour faire agir de la vapeur d’eau saturée. La stérilisation atteint sont but lorsqu’une température de 120°C est maintenue durant 15 à 20 minutes.

\_ **Tyndallisation** (Tyndall)

Certains milieux liquides ou certaines substances sont sensibles à la température (risque d’altération), sont stérilisés par tyndallisation. Cette opération, consiste à chauffer le milieu à 60 ou 70°C durant 30 ou 60 minutes trois fois consécutives, avec un intervalle de 24 heures. A cette température, toutes les formes végétatives sont détruites, les spores thermorésistantes, peuvent germer à chaque intervalle de temps et se transformer en formes végétatives, celles-ci sont éliminées par les traitements successifs.

\_ **Pasteurisation** (Pasteur)

Cette opération consiste à utiliser un chauffage modéré : de 60 à 70°C pendant quelques minutes (pasteurisation basse T), de 90°C durant 30 secondes (pasteurisation haute T) et de 140°C pendant quelques secondes (pasteurisation UHT). Cette technique est très pratiquée en industrie laitière. L’ébullition peut être considérée une pasteurisation haute T, permettant de détruire le maximum de germes (utilisée pour la cuisson des aliments).

\_ **Chaleur** **sèche**

Pour certains matériels (verreries, matériel chirurgical) qu’il n’est souhaitable ou possible de mettre au contact de l’humidité, on utilise la chaleur sèche comme moyen de stérilisation. Elle est assurée par des fours électriques (four Pasteur), la stérilisation demande une température de 180°C pendant 30 minutes ou 160 à 170°C durant 2 heures.

**Radiations**

Les rayonnements solaires (radiations ultraviolettes) sont des agents naturels de stérilisation, l’absence de microorganismes à la surface des eaux est due à l’irradiation solaire. Les principaux types de radiations sont électromagnétiques, électroniques et soniques.

\_ **Radiations** **électromagnétiques**

Elles sont caractérisées par leur longueur d’onde, la quantité d’énergie cédée par un rayonnement est d’autant plus grande que la longueur d’onde est plus petite. Ce sont des agents stérilisants, utilisés dans la conservation des aliments. Les principaux rayonnements utilisés comme agents de stérilisation sont les ultraviolets, les rayons X et les rayons gamma. Les radiations agissent essentiellement au niveau de l’ADN soit par modification des bases pyrimidiques introduisant ainsi des mutations souvent létales.

\_ **Radiations** **électroniques**

Une émission continue d’électrons à grande vitesse a un pouvoir de stérilisation identique à celui des rayons. Leur principal défaut est l’altération des substances organiques.

\_ **Radiations** **soniques**

Les ultrasons ont le pouvoir de tuer les bactéries en suspension dans un liquide en libérant leur contenu cellulaire (elles provoquent l’éclatement des cellules).

**Pression**

Les fortes pressions (ultrapressions) sont capables de détruire les microorganismes. Le traitement à 4000 bars des viandes et d’autres produits alimentaires peut réduire sensiblement leur teneur en germes.

**Elimination** **mécanique**

Deux procédés d’élimination mécanique des microorganismes dans des milieux liquides : la filtration et la centrifugation.

\_ **Filtration**

C’est le meilleur procédé de stérilisation pour les solutions renfermant des substances thermolabiles, comme les protéines. La filtration stérilisante est également appelée stérilisation à froid. Les membranes filtrantes utilisées pour la stérilisation ont le pouvoir de retenir les microorganismes (0.22 µm).

\_ **Centrifugation**

Les bactéries peuvent être éliminées dans un milieu liquide grâce à une centrifugation de l’ordre de 5000 g. C’est le procédé dit bactofugation, utilisé en industrie laitière pour augmenter l’efficacité de la pasteurisation.

**4\_ Agents antimicrobiens chimiques**

L’activité des agents chimiques vis-à-vis des microorganismes peut s’exercer selon des modalités diverses ; par oxydation et dénaturation des protéines, par altération de la membrane plasmique ou par une action sur le métabolisme. L’action est non spécifique (à l’inverse des antibiotiques).

\_ **Oxydants**

Les agents oxydants comme l’eau oxygénée, l’iode, le chlore et dérivés oxydent les groupements SH libres des enzymes et les altèrent irréversiblement. L’eau oxygénée à 3% en solution aqueuse est un désinfectant efficace. Le chlore, sous forme de gaz ou de diverses combinaisons chimiques, est un antiseptique universellement employé. L’iode est l’un des plus anciens désinfectants connus, son action est microbicide, il est peu soluble dans l’eau, mais facilement soluble dans l’alcool.

\_ **Alcools**

Les alcools agissent d’une façon comparable à celle de la chaleur en coagulant les protéines, leur pouvoir antimicrobien est proportionnel à leur poids moléculaire et à leur solubilité dans l’eau.

\_ **Métaux** **lourds**

Les sels des métaux lourds comme le mercure et ses dérivés organiques ou inorganiques se combinent avec les groupements SH libre des enzymes et les inactivent.

\_ **Phénols**

Les composés phénoliques, grâce à leur fonction phénol, agissent par une inhibition des systèmes enzymatique et/ou par dénaturation de la membrane plasmique entrainant une fuite des constituants cellulaires.

\_ **Aldéhydes**

L’activité des aldéhydes est liée à la dénaturation des protéines et des acides nucléiques par réduction chimique, ils ont une activité microbicide. Ils sont utilisé pour désinfecter les surfaces.

\_ **Savons** et **détergents**

Les savons ont une action mécanique, ils réduisent les forces de tension superficielle et augmentent le pouvoir mouillant de l’eau : les germes sont emprisonnés dans la mousse, puis éliminés par rinçage. Les détergents (surfactants) ont une action antimicrobienne en plus.

\_ **Colorants**

La plupart sont utilisés comme antiseptiques à usage local. Ils ont une action sélective parfois.

\_ **Stérilisation** **par** **Gaz**

La stérilisation par gaz est un procédé très pratique pour les produits thermosensibles, le matériel en plastique, les locaux, etc. Le gaz utilisé doit être facilement préparé, ayant un pouvoir de diffusion dans l’air, une action sur les microorganismes :

Le Formaldéhyde (formol) : très utilisé pour la désinfection des locaux (hôpitaux).

L’Oxyde d’éthylène : utilisé pour la stérilisation du matériel en plastiques (boites de pétri).

Le β-propionolactone : très actif, il est utilisé pour la stérilisation du matériel chirurgical.

L’Ozone : très efficace, il est utilisé pour la stérilisation de l’eau.

**5\_ Agents chimio-thérapeutiques** (antibiotiques et sulfamides)

Pour être utilisable en thérapie, une substance doit être douée de toxicité sélective (nuisible pour les microorganismes et inoffensive pour les cellules hôtes). Les antibiotiques et les sulfamides ont cette qualité. Les antibiotiques sont des molécules d’origine biologique (la plupart sont élaborées par des microorganismes). Les sulfamides sont des anti-métabolites.

\_ **Classification**

Les antibiotiques peuvent être classés selon leur spectre d’action : antibiotiques à large spectre, antibiotiques à spectre étroit, antibiotiques antimycosiques, anti-tumoraux, antiviraux, antifongiques, antibactériens, etc. Il est possible de les classer selon leur site d’action : antibiotiques agissant sur la paroi cellulaire, sur la membrane plasmique, sur les acides nucléiques, sur les ribosomes, etc. En général, c’est la classification chimique qui est le plus souvent en usage. Elle part du principe que les antibiotiques peuvent etre classés sur la base de leur composition chimique en plusieurs familles : les β-Lactamines (pénicilline), les Oligosaccharides (streptomycine), les Tétracyclines (tétracycline), les Phénicols (chloramphénicol), les Macrolides (érythromycine), les Synergistines (virgymicine), les Rifamycines (rifamycine), les Polypeptides (polymyxine), etc.

\_ **Mode** **d’action**

Pour utiliser un antibiotique en thérapie humaine, il est nécessaire de tester son activité in vitro, connaitre ses propriétés pharmacologiques (voie de pénétration, diffusion, etc.) et ses effets toxiques sur les cellules hôtes (in vivo).

Action sur la synthèse de la paroi : ce sont surtout les β-Lactamines (pénicillines et céphalosporines) qui inhibent la synthèse de la paroi cellulaire des bactéries. Ces antibiotiques sont bactéricides et agissent seulement sur les germes en phase de multiplication.

Action sur la synthèse des protéines : certains antibiotiques agissent sur la synthèse protéique au niveau des ribosomes en empêchant la lecture du code (ARNm), la fixation du complexe acide aminé-ARNt, la translocation, etc. Parmi ces antibiotiques, on peut citer les macrolides, les synergistines, les tétracyclines, etc.

Action sur la membrane plasmique : les antibiotiques de nature polypeptidique comme la polymyxine, et la gramicidine, agissent sur la membrane cytoplasmique à la manière des agents tensioactifs du fait de leur charge positive ou par formation des pores traversant la membrane.

Action sur les acides nucléiques : les mitomycines et les porfiromycines, agissent sur l’ADN, en formant des ponts entre les deux brins d’ADN, peuvent empêcher la migration et la réplication. Les actinomycines agissent sur l’ARN en bloquant l’ARN polymérase.

Action par inhibition compétitive : c’est le mode d’action des antimétabolites (sulfamides),ce sont des analogues structuraux de certains métabolites cellulaires ; vitamines (l’aminoptérine), acides aminés (parafluorophénylalanine), bases puriques et pyrimidiques (5-bromo-uracile et 8-aza-guanine).

\_ **Mesure de l’activité des antibiotiques**

Cette mesure est nécessaire pour définir le taux thérapeutique de l’antibiotique. Deux concentration sont à déterminer : la CMI (concentration minimale inhibitrice) et la CMB (concentration minimale bactéricide). En général, deux méthodes de mesure sont utilisées : la méthode par dilution (sur miliu liquide en tubes) et la méthode par diffusion (sur milieu solide en boites).

\_ **Détermination de la toxicité des antibiotiques**

Deux concentrations critiques sont nécessaires pour définir le taux thérapeutique d’un antibiotique : la CCI (concentration critique inférieure) et la CCS (concentration critique supérieure). Ces valeurs critiques délimitent les catégories des germes :

Germes sensibles : la CMI de l’antibiotique est plus faible que la CCI, les germes sont traités par voie générale et à doses usuelles.

Germes résistants : la CMI de l’antibiotique est plus élevée que la CCS, les germes ne peuvent pas être atteints quels que soient la dose ou le type de traitement.

Germes de sensibilité intermédiaire : la CMI de l’antibiotique est comprise entre la CCI et la CCS, les germes peuvent être atteints par une posologie élevée par voie générale, par un traitement local ou dans un compartiment (sang).

\_ **Résistance aux antibiotiques**

Un microorganisme est dit résistant lorsqu’il est capable de se développer en présence d’un taux d’antibiotique significativement plus élevé que le taux habituel.

Détermination génétique : L’expression de la résistance est un phénomène contrôlé génétiquement. Le caractère de résistance est gouverné par des gènes localisés dans deux types de molécules d’ADN : le chromosome (résistance naturelle) et le plasmide ou autre, que peut acquérir la bactérie par un mécanisme de transfert tel que la transduction et la conjugaison (résistance acquise).

Mécanisme de résistance : plusieurs mécanismes de résistance sont possibles ; par absence de pénétration (imperméabilité), par modification de la cible (site d’action de l’antibiotique), par production d’enzymes (enzymes de dégradation des antibiotiques) et par changement de voie métabolique.

Chapitre (6) : **NOTIONS** **DE** **MYCOLOGIE** **ET** **DE** **VIROLOGIE**

**I : MYCOLOGIE (Levures et Moisissures)**

**A : Levures :**

Les levures sont des champignons microscopiques de type unicellulaire ou présentant dans leur cycle biologique une phase unicellulaire. Elles sont responsables de l’élaboration de nombreux produits alimentaires, de la valorisation des déchets agricoles et industriels et de la production de protéines. Certaines levures peuvent avoir un rôle négatif dans la contamination et la dégradation des aliments, d’autres peuvent être pathogènes pour l’homme et l’animal.

**1\_ Morphologie et structure cellulaire**

Ce sont des microorganismes eucaryotes unicellulaires, morphologiquement très proches des bactéries. La taille de leurs cellules varie selon l’espèce, de 1 à 10 µm de largeur contre 2 à 20 µm de longueur. La morphologie de ces cellules peut être examinée facilement par microscopie optique, sur des préparations à l’état frais. Les formes caractéristiques des levures sont : la forme sphérique, ovoïde, cylindrique, triangulaire, etc.

1.1\_ **La paroi cellulaire :** La cellule de levure est entourée et protégée par une paroi épaisse (150 à 230 nm), rigide, responsable de la forme caractéristique des levures. Elle représente prés de 20 % du poids sec de la cellule, formée de (80%) polysaccharides (mannanes, glucanes, chitine) et de (20%) protéines (mannoprotéines). Ces molécules sont réparties dans les trois couches qui composent la paroi :

La couche interne : formée d’un polymère fibrillaire de β (1-3)-glucane.

La couche moyenne : formée d’un polymère ramifié de β (1-3)-glucane et de mannoprotéines.

La couche externe: formée de mannanes phosphorylées et d’un polymère β (1-6)-glucane.

1.2\_ **La membrane cytoplasmique :** La membrane cytoplasmique est séparée de la paroi par un espace péri-plasmique. Elle est caractérisée par la richesse en stérols de type (Ergostérol et zymostérol).

1.3\_ **Le cytoplasme :** Il diffère du cytoplasme bactérien par la présence d’organites cellulaires (ribosomes, mitochondries, réticulum endoplasmique, noyau, etc.).

1.4\_ **Le noyau :** Caractérisé par sa petite taille, il n’est distinguable que par microscopie électronique, souvent unique et multi-chromosomique. Chez l’espèce *Saccharomyces* *cereviseae*, le noyau contient 17 chromosomes et des plasmides.

**2\_ La Reproduction**

Les levures se reproduisent généralement par bourgeonnement (reproduction végétative, asexuée), mais dans certaines conditions quelques levures peuvent se reproduire sexuellement par établissement d’un cycle sporal.

2.1\_ **La Reproduction asexuée :** Le bourgeonnement des levures s’effectue à proximité des grands axes cellulaires, les levures de forme sphérique sont caractérisées par un bourgeonnement multilatéral. La cellule peut former plusieurs bourgeons (40 bourgeons chez l’espèce Sc.).

2.2\_ **La Reproduction sexuée :** Dans des conditions défavorables les levures (excepte les deutéromycètes) cessent de se reproduire végétativement (bourgeonnement) et sporulent. La sporulation conduit à la formation de structures quadrilobées (l’asque contenant 4 ascospores). Les ascospores sont de deux types (a et α), après libération de l’asque, peuvent se développer en cellule haploïdes. L’accouplement des cellules a et α conduit à la formation d’un zygote (aα) diploïde (par fusion), qui peut à son tour se multiplier par bourgeonnement ou par sporulation.

**3\_ La Classification**

La classification des levures est une partie intégrante celle des champignons. Elle est basée sur des caractères morphologiques. Les levures sont classées dans trois classes ; Ascomycètes, Basidiomycètes, Deutéromycètes.

3.1\_ **Levures Ascomycètes :** Elles présentent une reproduction sexuée grâce à des ascospores, elles sont classées dans la famille des *Saccharomycetaceae*, laquelle est subdivisée en quatre sous familles :

* *Schizosaccharomycetoïdeae*, exemple : le genre *Schizosaccharomyces*.
* *Saccharomycetoïdeae*, exemple : les genres *Saccharomyces* et *Kluyveromyces*.
* *Nadsonioïdeae*, exemple : le genre *Hanseniospora*.
* *Lypomecetoïdeae*, exemple : le genre *Lypomyces*.

5.2\_ **Levures Basidiomycètes :** Elles présentent une reproduction sexuée grâce à des basidiospores, elles sont classées dans trois familles :

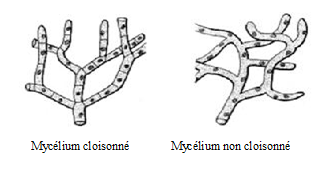
* *Filobasidiaceae*, exemple : le genre *Filobasidium*.
* *Tremellaceae*, exemple : le genre *Tremella*.
* *Sirobasidiaceae*, exemple : le genre *Sirobasidium*.

**B : Moisissures :**

Les moisissures sont des champignons microscopiques filamenteux hétérotrophes. Certaines vivent en symbiose avec des plantes, d’autres sont des parasites ou des saprophytes qui se développent sur des déchets organiques. Elles sont souvent dotées de propriétés lytiques importantes (cellulolytique, pectinolytique, amylolytique, protéolytique, lipolytique,..). Certaines sont toxinogènes et libèrent des mycotoxines qui représentent un danger sanitaire, d’autres sont très utiles dans la production de molécules à intérêt pharmaceutique et technologique (antibiotiques et enzymes).

**1\_ Morphologie et structure cellulaire**

Ce sont des eucaryotes non photosynthétiques, immobiles, multicellulaires ayant une organisation mycélienne. Leur morphologie peut être examinée facilement par microscopie optique, sur des préparations à l’état frais. L’élément structural de base est l’hyphe (plusieurs hyphes ramifiés forment un mycélium ou un thalle). Le mycélium peut être cloisonné (cellules bien séparées) ou siphonné (sans séparations=fusion de cellules). Les mycéliums forment souvent des structures fructifères servent à la multiplication et la dissémination de l’espèce.



1.1\_ **La paroi cellulaire :** Elle est riche en cellulose ou en chitine selon les groupes : riche en cellulose chez les myxomycètes, les *Saprolegniales*, les *Peronosporales* ; et riche en chitine chez les *Mucorales*, les ascomycètes et les basidiomycètes. Elle contient également de polysaccharides, de pectine, de protéines, et de l’hémicellulose.

1.2\_ **La membrane cytoplasmique :** La membrane cytoplasmique est séparée de la paroi par un espace péri-plasmique. Elle est caractérisée par la richesse en stérols de type (Ergostérol et zymostérol).

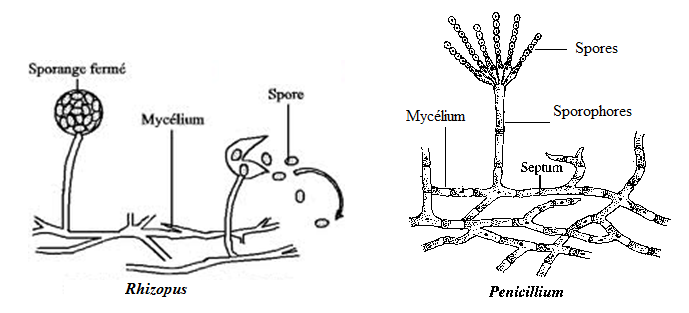
1.3\_ **Le cytoplasme :** Il contient des ribosomes, des mitochondries, des vacuoles, des réserves et plusieurs noyaux. Les vacuoles forment un réseau dans le mycélium. Les réserves sont souvent du tréhalose, de glycogène et parfois des lipides.

1.4\_ **Le noyau :** Caractérisé par sa petite taille, il n’est distinguable que par microscopie électronique, souvent multi-chromosomique.

**2\_ La Reproduction**

Les moisissures se reproduisent généralement par multiplication végétative, qui est à l’origine du phénomène d’envahissement que l’on peut observer macroscopiquement. Il existe aussi chez certaines espèces une reproduction sexuée par l’intermédiaire des spores (conidies).

2.1\_ **La Reproduction asexuée :** Le mycélium ramifié peut être obtenu à partir d’une spore par bourgeonnement dans toutes les directions. La croissance hyphale est apicale, elle se réalise par lyse de la paroi apicale suivie de synthèse du matériel cellulaire. L’apex est enrichi en vésicules de l’appareil de golgi et de réticulum, qui apportent les enzymes nécessaires. Le mycélium élabore de ramifications plus rigides et spécialisées : les sporophores qui portent des spores. Ces spores naissent à l’extrémité et se disposent en chaines (longues chez *Penicillium*), ou enfermées dans des sacs (sporanges chez *Rhizopus*). Ce cycle est très rapide.



2.2\_ **La Reproduction sexuée :** Certaines moisissures peuvent produire des organes de reproduction sexuée ; chez les ascomycètes, le mycélium élabore des structures porteuses de gamètes constituées de deux types : des anthéridies porteuses de noyau (+) et des ascogones porteurs de noyau (-). Des hyphes se développent à partir de l’ascogone fertilisé, les noyaux subissent une mitose à l’extrémité des hyphes (caryogamie). C’est la seule étape diploïde du cycle. Les noyaux diploïdes subissent une méiose et donnent des noyaux haploïdes (ascospores) dans un asque. Ces ascospores peuvent germer pour donner un nouveau mycélium.

**3\_ La Classification**

La classification des moisissures est basée sur des caractères morphologiques (l’aspect et la structure des sporophores). A coté des myxomycètes constitués d’un plasmode, se trouvent les eumycètes, qui sont répartis en quatre subdivisions :

3.1\_ **Les zygomycètes :** possèdent un mycélium non cloisonné et des organes de reproduction sexuée ; subdivisée en : Oomycètes à sexualité hétérogamique (oospores et zoospores flagellées), Zygomycètes à sexualité isogamique (zoospores et spores végétatives). Ce sont des moisissures saprophytes ou parasites ; les *Mucorales* (*Rhizopus* et *Mucor*), phytopathogènes et contaminants.

3.2\_ **Les Ascomycètes :** sont caractérisés par la formation endogène de spores (ascospores) contenues dans un asque, subdivisée en : Hemiascomycètes ; dont les asques sont libres (proches des levures), Plectomycètes ; dont les asques sont groupés. Ce sont des parasites de plants et contaminants.

3.3\_ **Les Basidiomycètes :** sont caractérisés par la formation exogène des spores (basidiospores) portées par des basides, subdivisée en : Hemibasidiomycètes ; correspondant aux champignons supérieurs (basides non cloisonnées), Protobasidiomycètes ; leur basides sont cloisonnées. Ce sont des parasites des plantes (*Ustilaginales*).

**Taxonomie des Levures et Moisissures :**

(K.): ***fungi***:

(D.1) : [***Ascomycota***](http://en.wikipedia.org/wiki/List_of_sequenced_fungi_genomes#Ascomycota)

(S/D.1.1) : [***Ascomycetes***](http://en.wikipedia.org/wiki/List_of_sequenced_fungi_genomes#Ascomycetes) : [*Neurospora crassa*](http://en.wikipedia.org/wiki/Neurospora_crassa) (moisissure)

[(S/D.1.2) : ***Dothideomycetes***](http://en.wikipedia.org/wiki/List_of_sequenced_fungi_genomes#Dothideomycetes) : [*Mycosphaerella fijiensis*](http://en.wikipedia.org/wiki/Mycosphaerella_fijiensis) (moisissure)

[(S/D.1.3) : ***Eurotiomycetes***](http://en.wikipedia.org/wiki/List_of_sequenced_fungi_genomes#Eurotiomycetes) : [*Aspergillus carbonarius*](http://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Aspergillus_carbonarius&action=edit&redlink=1), [*Penicillium chrysogenum*](http://en.wikipedia.org/wiki/Penicillium_chrysogenum) (moisissures)

[(S/D.1.4): ***Leotiomycetes***](http://en.wikipedia.org/wiki/List_of_sequenced_fungi_genomes#Leotiomycetes) : [*Botrytis cinerea*](http://en.wikipedia.org/wiki/Botrytis_cinerea) (moisissure)

[(S/D.1.5) : ***Saccharomycetes***](http://en.wikipedia.org/wiki/List_of_sequenced_fungi_genomes#Saccharomycetes) : [*Candida albicans*](http://en.wikipedia.org/wiki/Candida_albicans), [*Saccharomyces cerevisiae*](http://en.wikipedia.org/wiki/Saccharomyces_cerevisiae) (levures)

[(S/D.1.6) : ***Schizosaccharomycetes***](http://en.wikipedia.org/wiki/List_of_sequenced_fungi_genomes#Schizosaccharomycetes) : [*Schizosaccharomyces pombe*](http://en.wikipedia.org/wiki/Schizosaccharomyces_pombe) (levure)

[(S/D.1.7) : ***Sordariomycetes***](http://en.wikipedia.org/wiki/List_of_sequenced_fungi_genomes#Sordariomycetes) : *[Fusarium oxysporum](http://en.wikipedia.org/wiki/Fusarium_oxysporum" \o "Fusarium oxysporum)* (moisissure)

[(D.2): ***Basidiomycota***](http://en.wikipedia.org/wiki/List_of_sequenced_fungi_genomes#Basidiomycota)

[(S/D.2.1) : ***Agaricomycetes***](http://en.wikipedia.org/wiki/List_of_sequenced_fungi_genomes#Agaricomycetes) : [*Heterobasidion annosum*](http://en.wikipedia.org/wiki/Heterobasidion_annosum), [*Postia placenta*](http://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Postia_placenta&action=edit&redlink=1) (moisissures)

[(S/D.2.2) : ***Pucciniomycetes***:](http://en.wikipedia.org/wiki/List_of_sequenced_fungi_genomes#Pucciniomycetes_.28formerly_Urediniomycetes.29) [*Puccinia graminis*](http://en.wikipedia.org/wiki/Puccinia_graminis) (moisissure), [*Rhodotorula graminis*](http://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Rhodotorula_graminis&action=edit&redlink=1) (levure)

[(S/D.2.3) : ***Tremellomycetes***](http://en.wikipedia.org/wiki/List_of_sequenced_fungi_genomes#Tremellomycetes) : [*Cryptococcus neoformans*](http://en.wikipedia.org/wiki/Cryptococcus_neoformans) (levure)

[(S/D.2.4) : ***Ustilaginomycetes***](http://en.wikipedia.org/wiki/List_of_sequenced_fungi_genomes#Ustilaginomycetes) : [*Ustilago maydis*](http://en.wikipedia.org/wiki/Ustilago_maydis) (moisissure)

[(D.3) : ***Chytridiomycota***](http://en.wikipedia.org/wiki/List_of_sequenced_fungi_genomes#Chytridiomycota)

[*Batrachochytrium dendrobatidis*](http://en.wikipedia.org/wiki/Batrachochytrium_dendrobatidis), (moisissure)

[(D.4) : ***Microsporidia***](http://en.wikipedia.org/wiki/List_of_sequenced_fungi_genomes#Microsporidia)

[*Encephalitozoon cuniculi*](http://en.wikipedia.org/wiki/Encephalitozoon_cuniculi), (moisissure)

[(D.5): ***Zygomycota***](http://en.wikipedia.org/wiki/List_of_sequenced_fungi_genomes#Zygomycota)

[*Rhizopus oryzae*](http://en.wikipedia.org/wiki/Rhizopus_oryzae), (moisissure)

**II : VIROLOGIE**

En 1892, Ivanowsky montrait qu’une maladie atteignant le tabac (la mosaïque du tabac), est due à un agent inconnu. Cet agent est capable de reproduire la maladie après inoculation à une plante saine de tabac, capable aussi de traverser les filtres qui retiennent les bactéries. En 1949, Anders montre que les virus peuvent être cultivés sur cellules (culture cellulaire). En 1953, Lwoff donne une définition de la particule virale (virion) ;

* Le virion ne possède qu’un seul type d’acide nucléique (ADN ou ARN).
* Le virion se reproduit à partir de son seul acide nucléique.
* Le virion est incapable de se diviser.
* Le virion n’a aucune information génétique concernant les enzymes du métabolisme.
* Le virion utilise les structures de la cellule hôte pour se multiplier.
* Le virion manifeste un parasitisme absolu.

Cette définition distingue nettement les virus des bactéries.

**1\_ Morphologie et structure des virus**

L’observation en microscope électronique et l’analyse structurale des particules virales, révèlent que le virion est constitué d’une molécule d’acide nucléique associée à des protéines et protégée par une coque rigide de nature protéique (la capside). Cet ensemble est connu sous le nom de nucléocapside. La capside peut être nue ou entourée d’une enveloppe (péplos).

1.1\_ **L’acide nucléique**

L’acide nucléique viral est infectieux, il représente le génome viral. Il peut être de l’ADN ou de l’ARN, son pourcentage (G.C) varie de 35 à 75%. Il peut être segmenté ou non. Certains virus possèdent des protéines internes associées aux acides nucléiques pour former des nucléoïdes, et des enzymes comme la transcriptase qui transforme l’ARN viral en ARN messager infectieux (chez les myxovirus).

- L’ADN : il est généralement bi-caténaire et de structure comparable à celle définie par Watson et Crick, le plus souvent linéaire et rarement circulaire (*Papovavirus*). La masse moléculaire de cet ADN varie de 106 daltons (petits virus), à 160x106 daltons (gros virus). La longueur de cette molécule varie de quelques milliers de nucléotides à plus de 250 000 nucléotides, le nombre de gènes peut être estimé de 10 à plusieurs centaines de gènes.

- L’ARN : il est habituellement monocaténaire à l’exception des Réovirus. Il est souvent linéaire et continu mais il peut être segmenté. La masse moléculaire est faible comparable à celle de l’ADN ; elle varie de 106 daltons (phage à ARN) à 15x106 daltons (Réovirus). L’orientation peut être positive (même sens que l’ARN messager) ou négative (complémentaire à un ARN messager).

1.2\_ **La capside**

C’est une véritable boite (coque) de nature protéique qui entoure et protège l’acide nucléique viral. La capside est constituée par l’assemblage d’unités protéiques identiques (unités de structure et capsomères), selon deux types de symétrie (cubique et hélicoïdale).

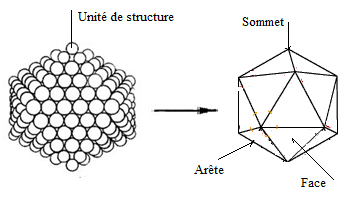
1.2.1\_ **Symétrie cubique**

La capside à symétrie cubique comporte 20 faces (chaque face étant représentée par un triangle équilatéral), 12 sommets et 30 arêtes. Elle possède trois types de symétrie :

- 15 axes de symétrie d’ordre 2 passant par les centres des arêtes.

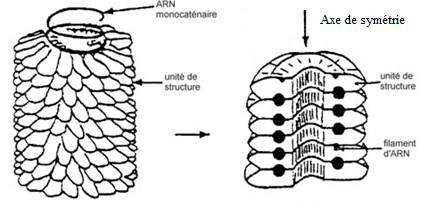
- 10 axes de symétrie d’ordre 3 passant par les centres des faces triangulaires.

- 5 axes de symétrie d’ordre 5 passant par les sommets.



1.2.2\_ **Symétrie hélicoïdale**

L’architecture de la capside à symétrie hélicoïdale (cylindrique) est plus simple que la précédente, l’hélice ayant un axe de rotation unique (axe de cylindre). Les unités de structure de forme ovoïde, s’assemblent les unes aux autres et formant un ruban continu, enroulé en spirale.



1.3\_ **L’enveloppe**

Les virus à symétrie hélicoïdale sont tous entourés d’une enveloppe ou péplos, ainsi que quelques virus à symétrie cubique. Cette enveloppe est formée par l’assemblage d’élément cellulaires et d’éléments d’’origine virale (péplomères). Elle est de nature mixte, glucidique, protéinique et surtout lipidique.

**2\_ Classification des virus**

Les éléments de structure des virus autorisent une classification appelée système LHT (Lwoff, Horne, Tournier).

* Au niveau de l’acide nucléique :

La nature, Ribonucléique (R) ou Désoxyribonucléique (D).

Le nombre de brins, Simple (SB) ou Double (DB).

L’orientation (pour les SB), positive + (du même sens qu’un ARN messager) ou négative – (complémentaire à un ARN messager).

L’organisation, circulaire (cir.), segmenté (seg.), non segmenté (n-seg.).

* Au niveau de la capside :

Le type de symétrie, cubique (C) ou hélicoïdale (H).

* Au niveau de l’enveloppe :

La présence d’une enveloppe (E) ou l’absence (N = nu).

Une autre classification des virus selon le type de cellule infectée (eucaryote ou procaryote),

2.1\_ **Virus spécifiques des eucaryotes**

Ces virus forment le groupe le plus vaste. Ils sont classés en plusieurs familles, et répartis en deux grands groupes :

2.1.1\_ **Virus à ARN**

Ce groupe est subdivisé en quatre sous groupes :

* Virus à nucléocapside hélicoïdale enveloppée, les principales familles sont ;

***Orthomyxoviridae***, leur taille est de 100 nm environ, ex: *Myxovirus* *influenzae*, responsable de la grippe humaine.

***Paramyxoviridae***, de dimensions plus grandes que les précédents (100 à 300 nm), ex: le virus de la rougeole.

***Rabdoviridae***, ex : le virus de la rage, de 75 à 175 nm de taille.

* Virus à nucléocapside hélicoïdale nue, la principale famille;

***Tobamoviridae***, (ex : le virus de la mosaïque de tabac, VMT).

* Virus à nucléocapside cubique enveloppée, la principale famille;

***Togaviridae***, des petits virus de 40 nm, cette famille comporte plus de 250 virus, (ex : le virus de la fièvre jaune).

* Virus à nucléocapside cubique nue, les principales familles ;

***Picornaviridae***, des petits virus d’un diamètre moyen de 28 nm, (ex : *Polyovirus*, responsables de la poliomyélite paralytique).

***Reoviridae*** (ex ; *Rotavirus*, responsables des gastro-entérites).

2.1.2\_ **Virus à ADN**

Ce groupe est subdivisé en trois sous groupes :

* Virus à nucléocapside hélicoïdale enveloppée, la principale famille ;

***Poxviridae***, ce sont des gros virus (300 nm), ex : le virus de la variole.

* Virus à nucléocapside cubique enveloppée, les principales familles ;

***Herpesviridae***, le virion nu a un diamètre de 100 nm, ex : le virus de l’herpes humaine.

***Picornaviridae***, ex : Hepatovirus, responsable de l’hépatite-B (20 nm de diamètre).

* Virus à nucléocapside cubique nue, les principales familles ;

***Papovaviridae***, de 45 à 55 nm de diamètre, ex : le virus de papillome.

***Adenoviridae****,* de 60 à 85 nm de diamètre, ex : virus APC (adéno-pharyngo-conjonctivaux).

2.2\_ **Virus spécifiques des procaryotes** (bactériophages)

Les phages présentent une structure analogue aux virus, formés d’un acide nucléique (ADN ou ARN) entouré et protégé par une capside protéique, et ayant un pouvoir infectieux ;

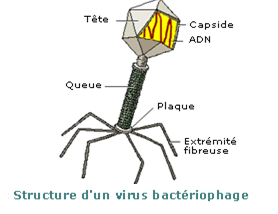
2.2.1\_ **Bactériophages à ADN**

Les plus connus sont les phages de la série T, actifs sur *Escherichia* *coli*. Ils sont classés en 7 types différents (de T1 à T7).

Le modèle du bactériophage **T2** : Le bactériophage T2 est constitué de deux parties :

* Une tête prismatique hexagonale, de nature protéique, qui entoure et protège le génome viral, elle mesure environ 80 nm de longueur. L’acide nucléique mesure 60 nm, avec quelques 200000 nucléotides et un poids moléculaire de 120x106 daltons.
* Une queue également de nature protéique, mesurant 100 nm de longueur, creuse à l’intérieur avec un diamètre de 8 nm, reliant la tête avec une plaque terminale hexagonale, sur laquelle sont fixés six filaments (fibres caudales), responsables de la fixation du bactériophage sur la cellule bactérienne hôte (sensible).

La symétrie des bactériophages de ce type est mixte, cubique pour la tête et hélicoïdale pour la queue.



**3\_ Résistance des cellules aux virus**

Du fait de leur parasitisme absolu, les virus ne peuvent se multiplier qu’au sein des cellules vivantes, par réplication de leur acide nucléique. Cependant l’infection des cellules par des virus ne conduit pas obligatoirement à la multiplication de ces derniers, mais parfois à des formes de résistance ou de masquage.

3.1\_ **La permissivité**

La cellule permissive permet le déroulement intégral de la réplication du virus (infection productive). La cellule non permissive ne permet pas le déroulement d’un cycle de multiplication (infection abortive). La cellule résistante ne permet pas l’infection par des virus (absence de récepteurs spécifiques pour le virus).

3.2\_ **L’infection productive**

L’infection de la cellule permissive par un virus, conduit à la formation et la libération de nouveaux virions. Dans la plupart des cas la cellule infectée est lysée (le cycle lytique), le virus est dit virulent. Dans d’autres cas la cellule infectée conduit à la formation et la libération de virus, mais sans lyse cellulaire (le cycle végétatif), ex : le rétrovirus.

3.3\_ **L’infection abortive**

Dans certains cas, l’infection d’une cellule par un virus n’aboutit pas à la production de nouveaux virions (le cycle abortif). La cellule ne permet pas le développement complet du cycle de multiplication virale (cellule non permissive), ex : l’adénovirus sur cellules de singe.

3.4\_ **La lysogénie et bactériophages tempérés**

L’acide nucléique injecté par le bactériophage, s’intègre au chromosome bactérien et se comporte comme un gène bactérien. Il se réplique en parfaite harmonie avec le chromosome, on lui donne le nom de prophage. Ce type de relation entre la cellule hôte et les virus est connu sous le nom de lysogénie. Les bactéries qui portent des prophages sont appelées bactéries lysogènes, les phages sont appelés des bactériophages tempérés.

3.5\_ **Cycle de multiplication des virus**

Quels que soit le type de virus, le cycle de multiplication dans la cellule permissive comprend les phases suivantes :

Phase d’adsorption : L’adsorption dépend de la concentration relative des virus, et des récepteurs cellulaires spécifiques. Cette étape est constante et obligatoire au cours de l’interaction virus-cellule. Elle est suivie de la pénétration dans la cellule hôte. Le génome viral est ensuite libéré par décapsidation.

Phase d’éclipse : Le virion, après avoir injecté son ADN dans le cytoplasme cellulaire, peut disparaitre et passe par une phase d’éclipse d’environ quelques minutes. Les synthèses cellulaires sont bloquées, et les synthèses virales sont déclenchées (synthèse de l’ADN viral, synthèse des protéines virales). Les constituants spécifiques du virus s’accumulent séparément.

Phase de maturation : Après quelques minutes, les premiers virions apparaissent progressivement, les synthèses virales s’arrêtent. Le mécanisme de maturation est peu connu dans son détail.

Phase de libération : Les virions formés au cours de la maturation sont au nombre de 100 à 200. Grâce à une enzyme endolysine, agissent sur l’enveloppe cellulaire de l’intérieur. La cellule s’éclate et libère de nouveaux virus.

Chapitre (7) : **ROLES DES MICROORGANISMES**

1\_ **Rôle utile**

1.1\_ **La biotechnologie traditionnelle**

Les bactéries sont utilisées dans l’industrie pour produire de nombreux produits :

La production d’acide acétique :

Le vinaigre est produit par la transformation aérobie de l’éthanol en acide acétique par *Acetobacter* et *Glucobacter*.

La production d’acide lactique :

Elle est réalisée par certaines bactéries (les ferments lactiques), qui fermentent le lactose en acide lactique dans la fabrication de nombreux produits laitiers ; le yaourt (*Lactobacillus* *bulgaricus* et *Streptococcus* *thermophilus*), le beurre (*Streptococcus* *lactis* et *Streptococcus* *cremoris*), le fromage (divers ferments lactiques, et *Penicillium* et *Geotrichum* pour la maturation des fromages).

La production d’alcools :

Ce procédé est utilisé pour la fabrication du vin à partir du jus de raisin,  la fabrication de la bière à partir de l’orge, en utilisant des levures (fermentation).

La production d’acide citrique :

très utilisé en industrie alimentaire, l’acide citrique peut être produit par *Aspergillus* *niger*.

La production d’acide gluconique :

Il peut être utilisé en thérapeutique, souvent produit par des espèces de *Penicillium* et *Aspergillus*.

La production de vitamines :

Elles sont produites par des espèces de *Streptomyces*.

La production de diverses enzymes :

Très utilisées pour la fabrication des sirops sucrés, dans les industries textiles, en thérapeutique, etc., elles sont produites par divers microorganismes.

La production d’antibiotiques :

De nombreux antibiotiques sont produits par des microorganismes (bactéries et champignons) :

Les pénicillines, céphalosporines, etc., sont produites par des champignons.

La bacitracine, la polymyxine, etc., sont produits par des bactéries.

Streptomycine, tétracycline, rifampicine, néomycine, etc., sont produit par des actinomycètes.

I.2- **La biotechnologie moderne**

La manipulation génétique des permet d’obtenir divers produits par les bactéries : des hormones humaines, des protéines sanguines et des vaccins, qui sont produits par des bactéries modifiées.

2\_ **Rôle néfaste**

2.1\_ **La bio-détérioration**

La capacité des bactéries à dégrader les différents types des matériaux, comme la peinture, le textile, le pétrole, le béton, etc., pose des problèmes dans de nombreux domaines industriels. Et économiques.

2.2\_ **La contamination alimentaire**

Les bactéries jouent un rôle significatif dans la contamination des aliments, qui peut se manifester par des modifications comme les odeurs putrides. Les aliments représentent des environnements idéals pour la multiplication des microorganismes.