Physiologie Bactérienne

Nutrition –Métabolisme - Croissance

Pr N.FERRAD

Cours de 3ème année de Médecine

Département de Médecine d'Alger

Physiologie bactérienne

- Nutrition
- Croissance
- Métabolisme

NUTRITION BACTERIENNE

DEFINITION

Composition Chimique de la Bactérie

- H_2O : 75 à 90 % de son poids total

- Matière sèche :

  50 % de Carbone
  20 % d'Oxygène
  8 à 15 % d'Azote
  10 % d'Hydrogène
  1 à 6 % de Phosphore
  0,1 à 1 % de Soufre
  Autres : Potassium , Calcium, Magnésium, Chlore, Sodium, Zinc, Cobalt , Manganèse ….. : 0,3 % (traces)

1.Besoins élémentaires:

- L’eau
- O2, H2, C, N2, P,S
- Ions minéraux
- (Mg,K,Cl,Fe,Co...)

  Oligoéléments (Cu,Zn,Mn,...).

H20

- Besoin majeur
- composition de tous les milieux de culture
- source d’H2 et d’O2.

A fournir en grandes quantités

- **Carbone ,**
- **Azote ,**
- **Phosphore ,**
- **Soufre**

- En plus faible quantité , les éléments minéraux :

  - équilibre physico-chimique de la bactérie : Na ,K , Mg et Cl.
  - enzymes ou coenzymes : Fe (cytochromes) .

- Oligo-éléments (indispensables en quantité infime) : Ca , Mg , Co Cu , Mn….

  0.14 mg de Fer/l pour synthèse de la toxine diphtérique ,
  Fer+Magnésium pour production de Prodigiosine chez *Serratia marcescens.*

2.Besoins énergétiques

- soit l'énergie lumineuse (bactéries Phototrophes),
- soit l'énergie fournie par les processus d'oxydo-réduction (bactéries Chimiotrophes).

- **Photolithotrophe :**capable de se développer dans un milieu purement minéral comme le font les végétaux :exemple les bactéries sulfureuses pourpres ou vertes.

- **Photoorganotrophe** :exemple les bactéries pourpres non sulfureuses.

- **Chimiolithotrophe**, exemple bactérie oxydant l’hydrogène .

- **Chimioorganotrophe (** bactéries pathogènes d’intérêt médical, de contamination alimentaire, d'usage industriel …)

3. Substances spécifiques:

- Acides aminés ,bases puriques et pyrimidiques ou des vitamines
- besoins quantitatifs de 10 µg (AA , bases)etde 1µg (vitamines).
- Caractères communs:
  - actifs à concentration infime
  - étroitement spécifiques

Bactéries **Auxotrophes (Exigeantes)** .

Bactéries **Prototrophes (non exigeantes).**

Exemples :

E.Coli : n'exige aucun facteur de croissance, se multiplie sur milieu minimum.

Haemophilus influenzae : bactérie auxotrophe.
exige facteur V (coenzyme I et II)et facteur X (Hémine).

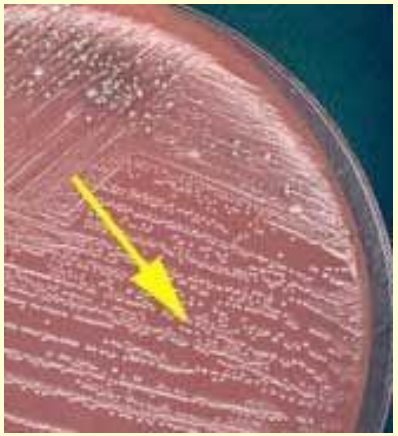
Culture

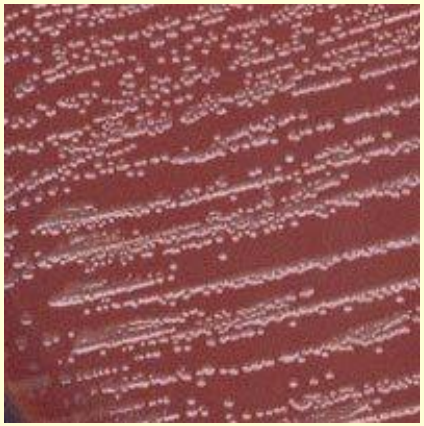
d'Escherichia coli

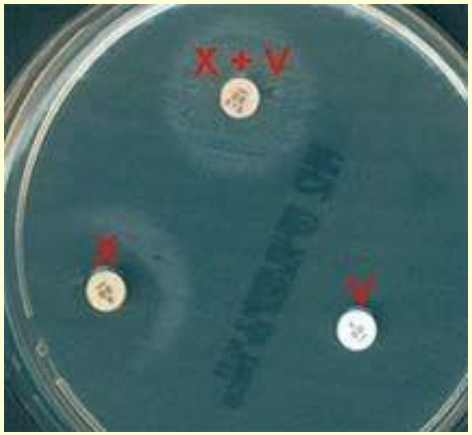
Culture d'Haemophilus influenzae

et

test du satellitisme







4- Facteurs physico-chimiques

Les facteurs physiques :

La Température optimale de croissance

- les bactéries mésophiles : 20°C -40°C (mésophiles) Bactéries pathogènes , bactéries des cavités naturelles , peau, muqueuses…
- Les bactéries thermophiles : 45°C -65°C , généralement 55°C. bactéries des sources thermales .ex. Bacillus et Clostridium.
- Les bactéries psychrophiles : 0°C- 10°C ou 20°C. Contaminants des produits laitiers , des produits biologiques (sang ou dérivés sanguins) ex. Pseudomonas , Acinetobacter, Aeromonas.
- Les bactéries cryophiles : < 0°C :bactéries des océans et des glaciers.

ETUVE BACTERIOLOGIQUE

Le pH

neutre ou légèrement alcalin (7 –7.5).

Exemples : E.coli cultive entre pH 4.4 et pH8
Lactobacillus acidophilus cultive mieux à pH 6
Vibrio cholerae se multiplie au pH optimal de 9

Solutions Tampons : tampons phosphates (K_2HPO_4 et KH_2PO_4) : pH dans une large zone autour de 7 , ne sont pas toxiques et source de phosphore.

La Pression Osmotique

les bactéries tolèrent des variations de concentrations ioniques .

Certaines bactéries tolèrent des concentrations salines importantes ex. Enterococcus (6.5% Nacl)
Staphylococcus aureus (7.5%Nacl)

La Pression partielle d'Oxygène

1 – Bactérie aérobie stricte :
ex : Pseudomonas aeruginosa

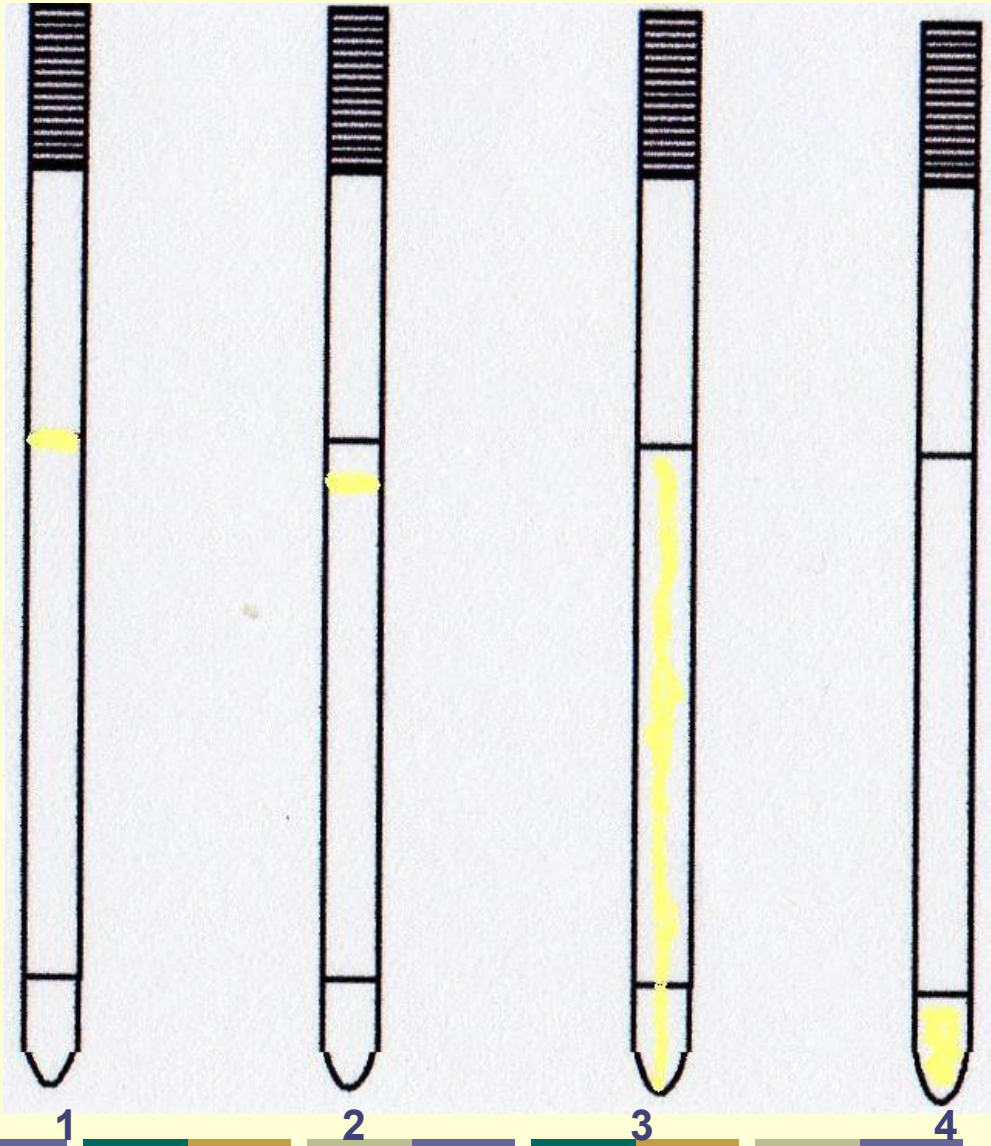
2Bactérie Microaérophile :
ex: Campylobacter jejuni

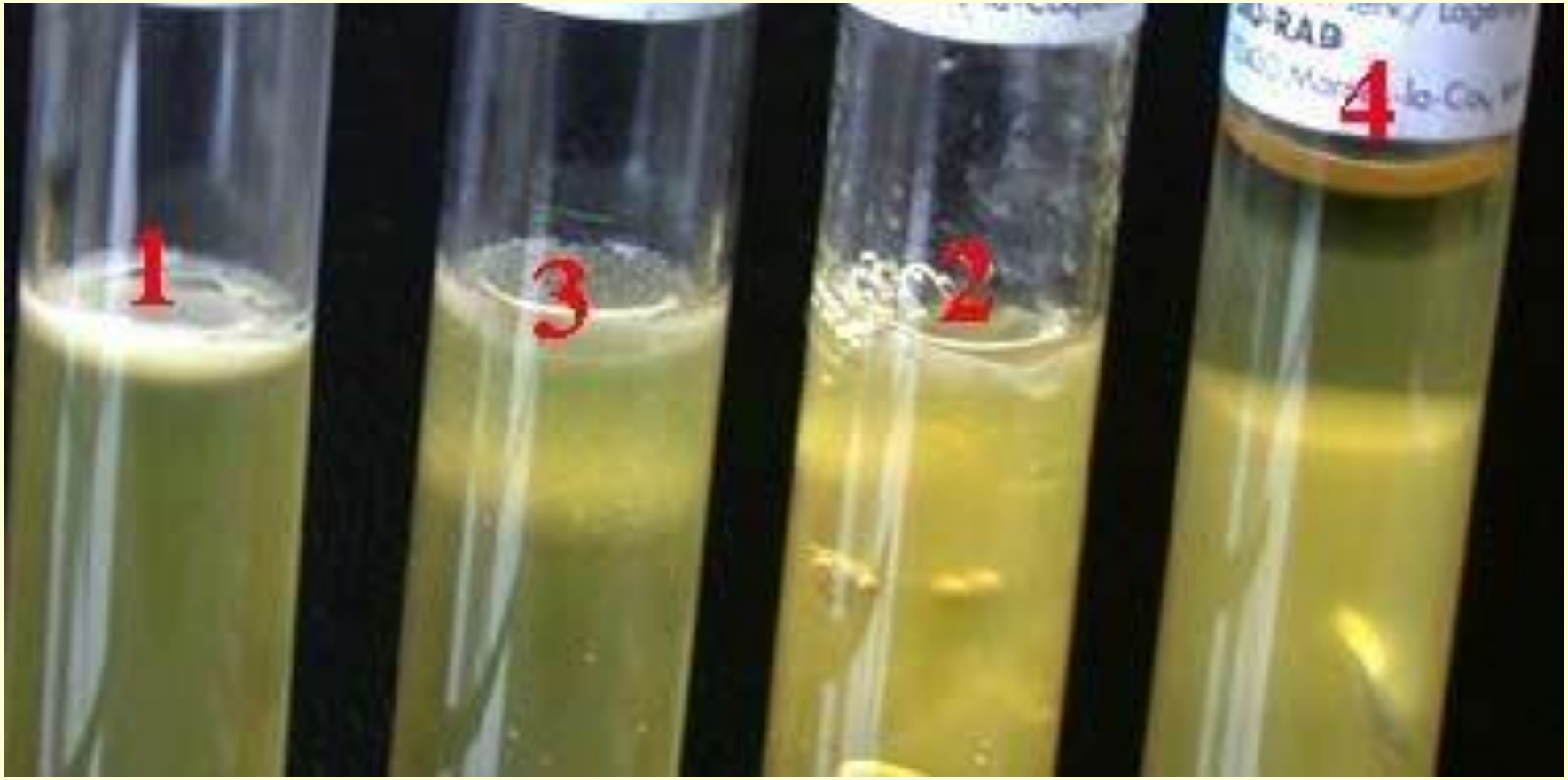
3Bactérie aérobie-anaérobie
facultative : ex. les Entérobactéries

4Bactérie anaérobie stricte :
ex.Bacteroides fragilis

Gélose VF

(Viande-Foie)





Aérobie Stricte

MicroAérophile

Aérobie-Anaérobie facultative

Anaérobie Stricte

5- Généralités sur les Milieux de culture

Connaissant l'ensemble des besoins nutritifs de la bactérie, nous pouvons introduire la notion de culture bactérienne.

Définition

CRITERES de Classification

Composition chimique

Naturels ou Complexes	Semi-synthétiques	Synthétiques
-Extraits de Matière Organique + Glucose -<u>Exemples</u> : Gélose nutritive -Types : Extraits de Levure Peptones pepsiques Peptones trypsiques Peptones pancréatiques	Milieu synthétique + Extrait de Levure <u>Exemple</u> : Citrate de Kristensen	Composition chimique bien définie <u>Exemple</u> :Citrate de Simmons

Consistance

- milieu liquide (ex. bouillon de Clark Lubs)
- milieu solide ou gélosé (ex. gélose Chapman)
- milieu semi-liquide ou faiblement gélosé (ex. milieu Mannitol-mobilité).

Utilisation

- les milieux usuels ou de base (ex. gélose nutritive , bouillon nutritif)
- les milieux enrichis (ex. gélose au sang , Bouillon pour Hémoculture)
- les milieux sélectifs ou électifs (ex. gélose Hektoen)
- les milieux d'identification (ex. milieu TSI)
- les milieux de conservation
- les milieux de transport (milieu T.G.V.)

Ensemencement

Incubation à l’étuve

Incubation sous jarre

CROISSANCE BACTERIENNE

1- Définition

- Dédoublement à intervalle régulier de la masse bactérienne et du nombre de cellules d'une culture bactérienne. (scissiparité).

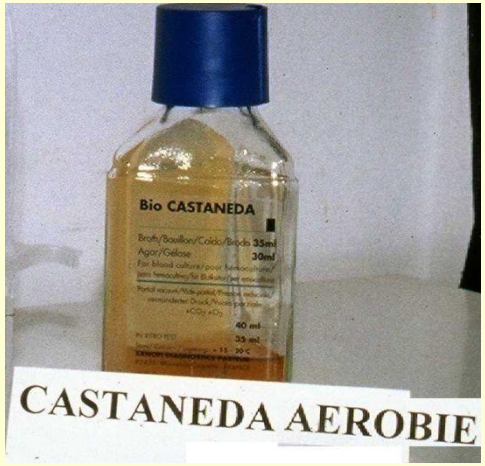
-Temps de génération :Temps requis pour un dédoublement ex. E.coli :TG= 20mn M.tuberculosis : TG= 20 h

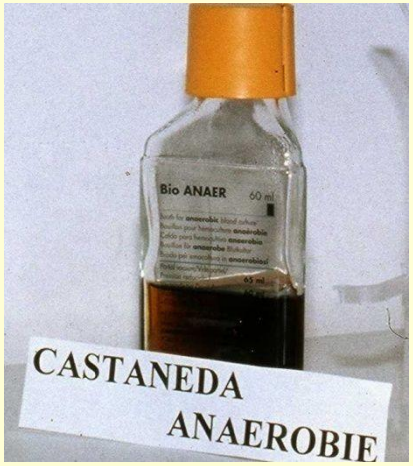
-Taux de croissance : nombre de divisions par unité de temps (ex. 3 pour E.coli)

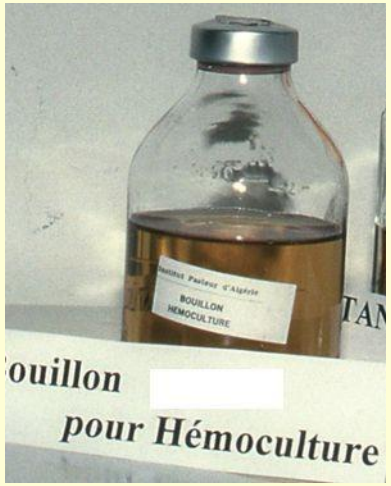
Milieu de Chapman

Milieu de Drigalski

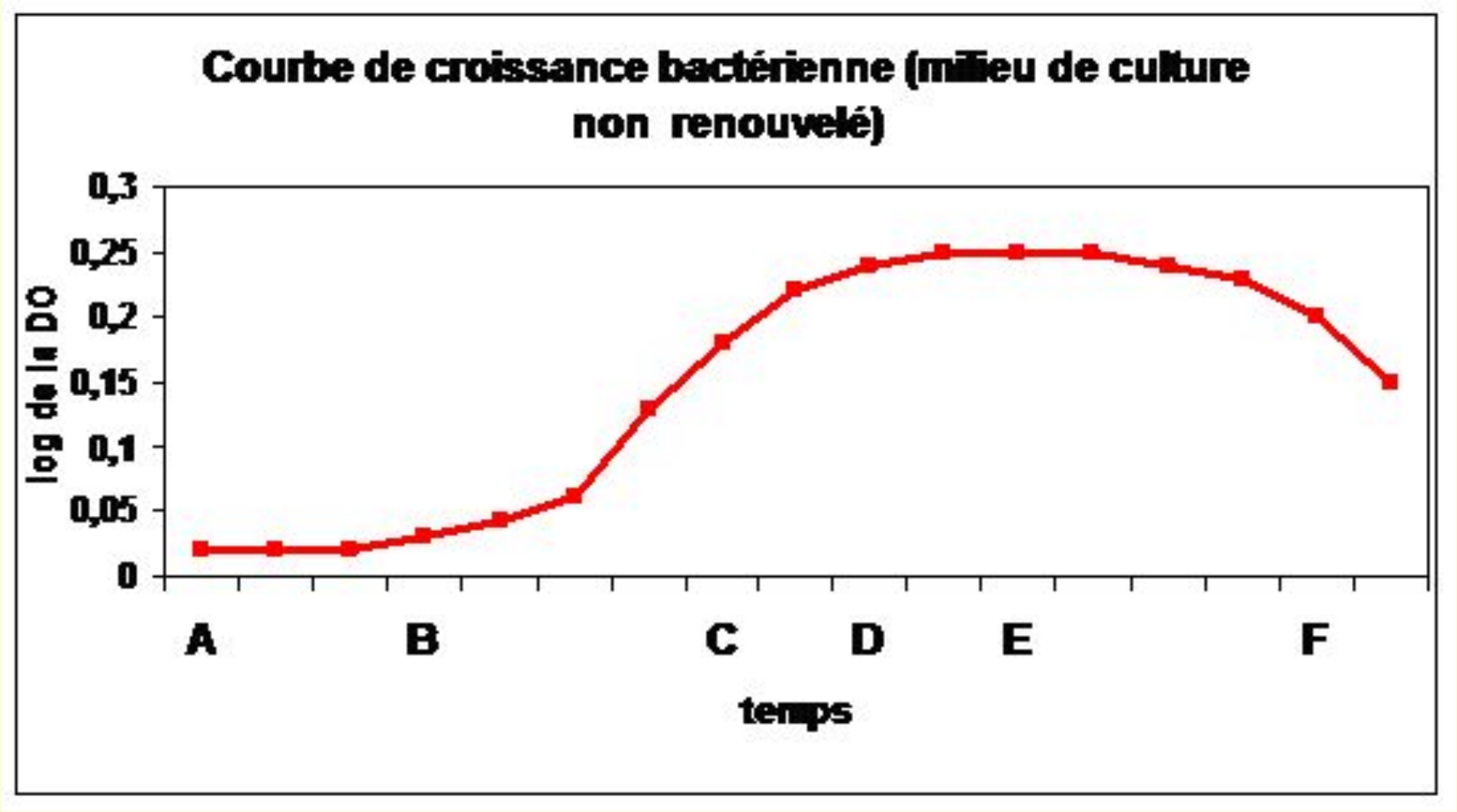
Milieu SS


Bio CASTANEDA
CASTANEDA AEROBIE


Bio ANAER
CASTANEDA
ANAEROBIE


BOUILLON
HÉMOCULTURE
ouillon
pour Hémoculture

2- Cinétique de la croissance



Phase A: Phase de latence

Phase B : Phase d'accélération

Phase C: Phase de croissance exponentielle : Le taux de croissance atteint la valeur maximale .

Phase D: Phase de ralentissement

Phase E: Phase stationnaire: La masse bactérienne est maximale .

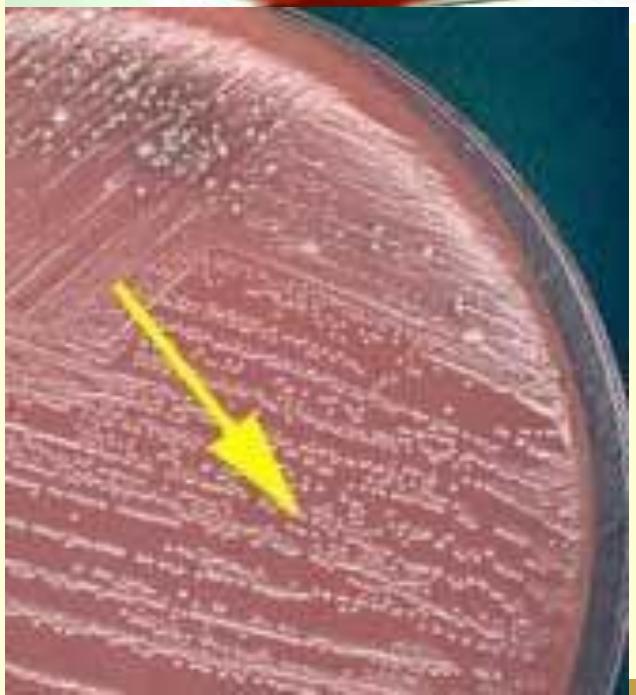
Phase F: Phase de déclin: La masse bactérienne décroît du fait de la lyse accélérée des bactéries.

3- modifications de la courbe de croissance :

a- Croissance continue :

utilisées dans l'industrie pour obtenir des corps bactériens de même âge (préparation de vaccins bactériens), ou des métabolites bactériens (vitamines) ,des toxines bactériennes (préparation d'anatoxines) en grande quantité.

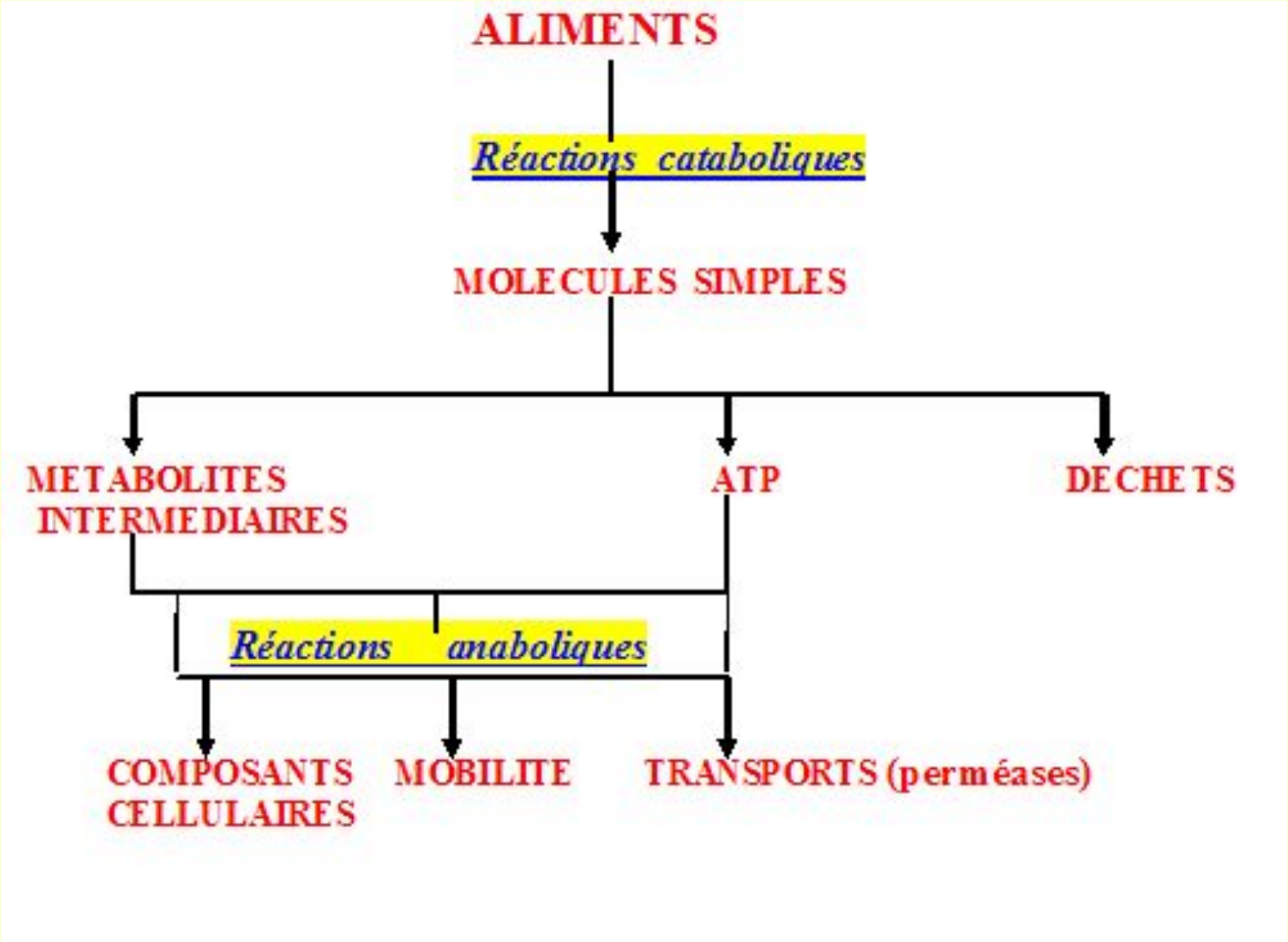
b- La diauxie : on fournit à la bactérie 2 sources de carbone et d'énergie.



METABOLISME BIOCHIMIQUE BACTERIEN

- Transformations chimiques (réactions de biosynthèse et de dégradation), qui assurent l'élaboration des constituants bactériens et leur fonctionnement.

- Permet de définir des caractères d'identification biochimique qui représentent des critères essentiels dans la classification (ou Taxonomie) bactérienne.


ALIMENTS
Réactions cataboliques
MOLECULES SIMPLES
METABOLITES INTERMEDIAIRES
ATP
DECHETS
Réactions anaboliques
COMPOSANTS CELLULAIRES
MOBILITE
TRANSPORTS (perméases)

CATABOLISM

REACTIONS EXERGONIQUES

ENERGIE

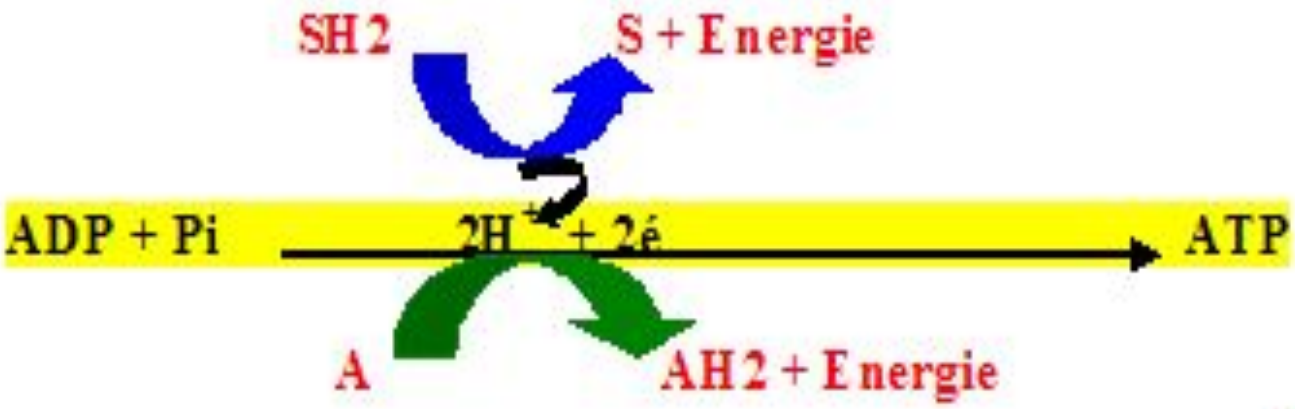
REACTIONS ENDERGONIQUES

STOCKAGE OU ANABOLISME

ATP

BIOSYNTHESE

REACTIONS DE

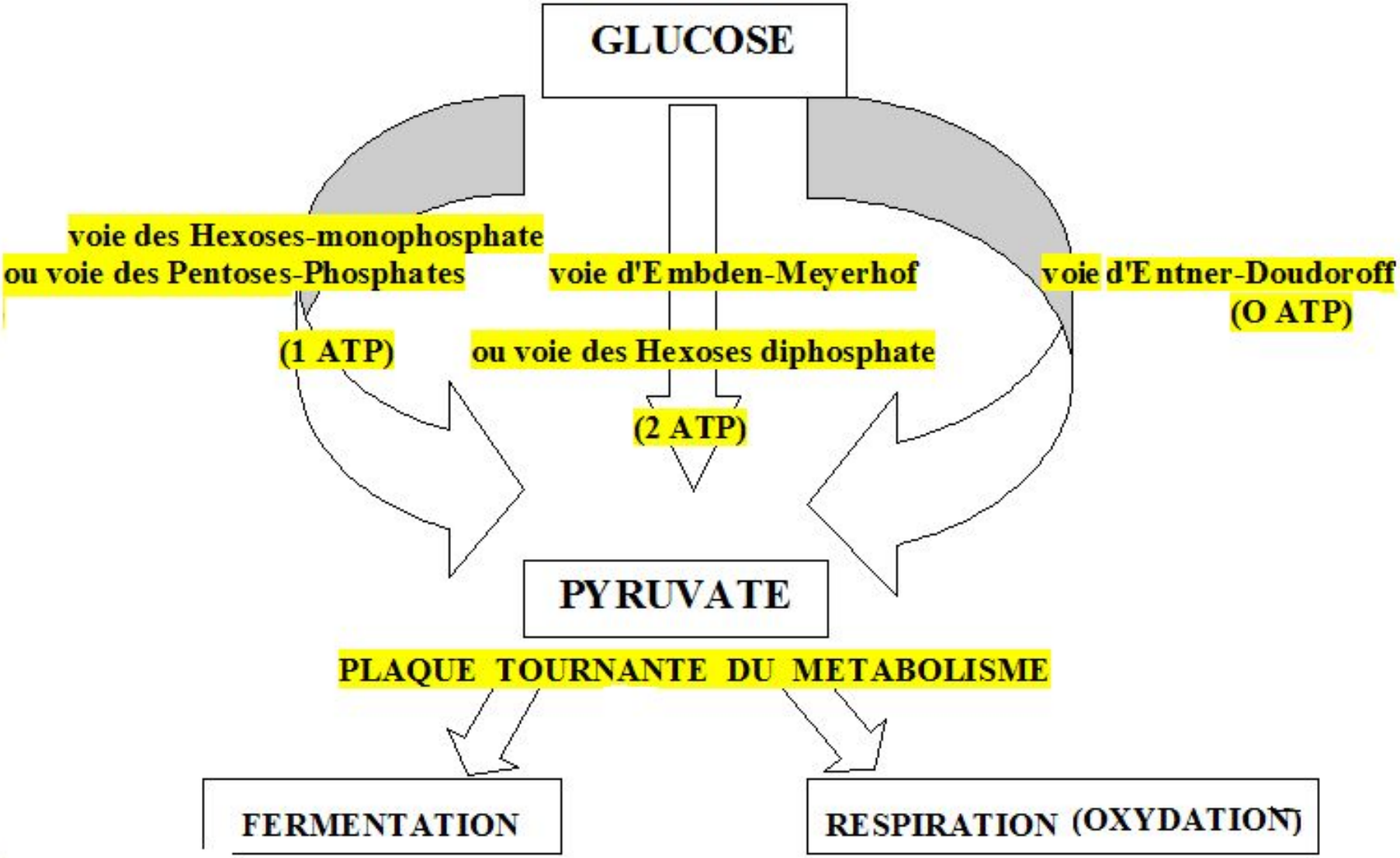


La réaction REDOX

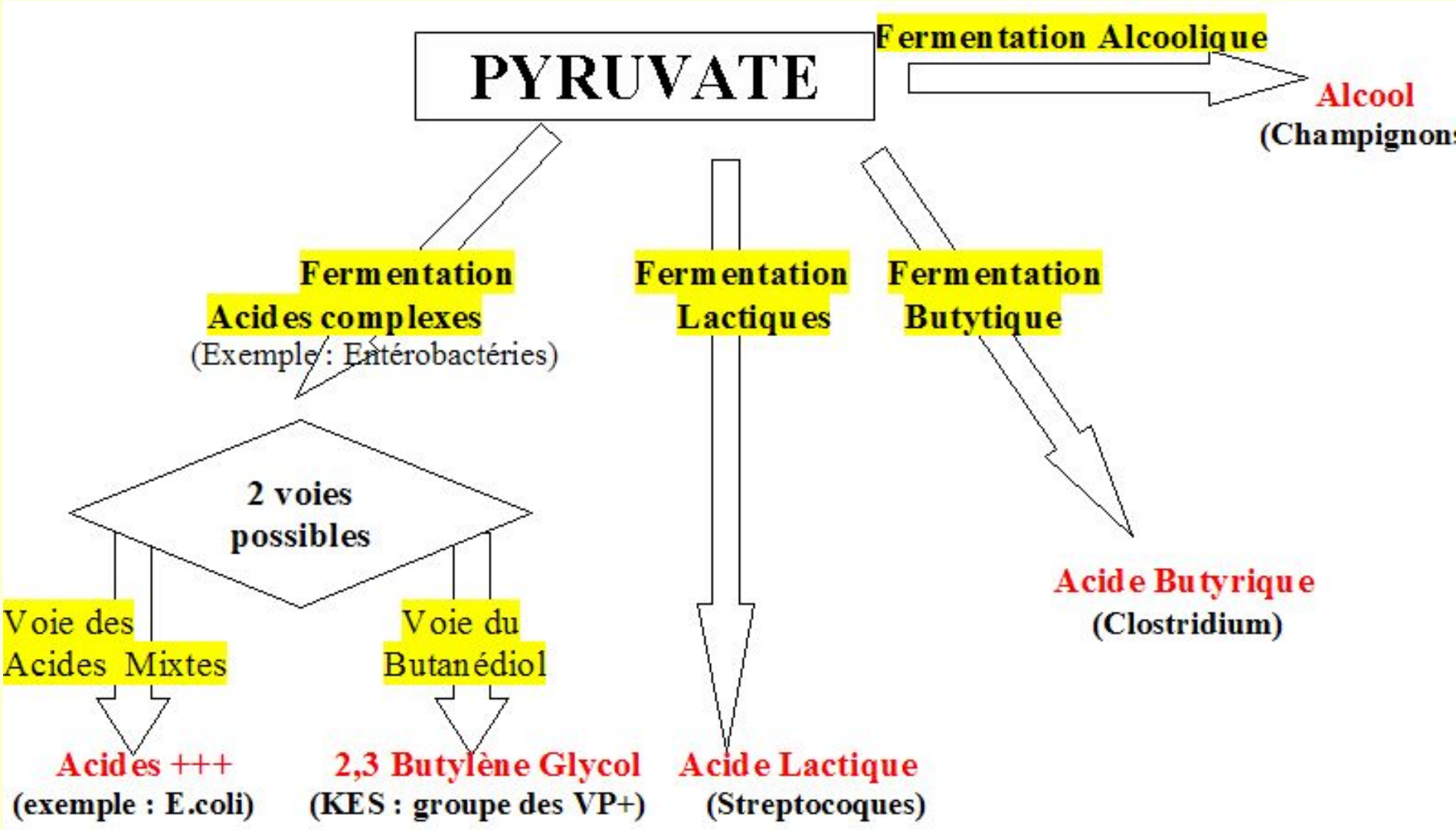
Les réactions redox productrices d’énergie sont intégrées dans 2
types de processus énergétiques :

La Fermentation et la Respiration

Exemple du métabolisme du Glucose

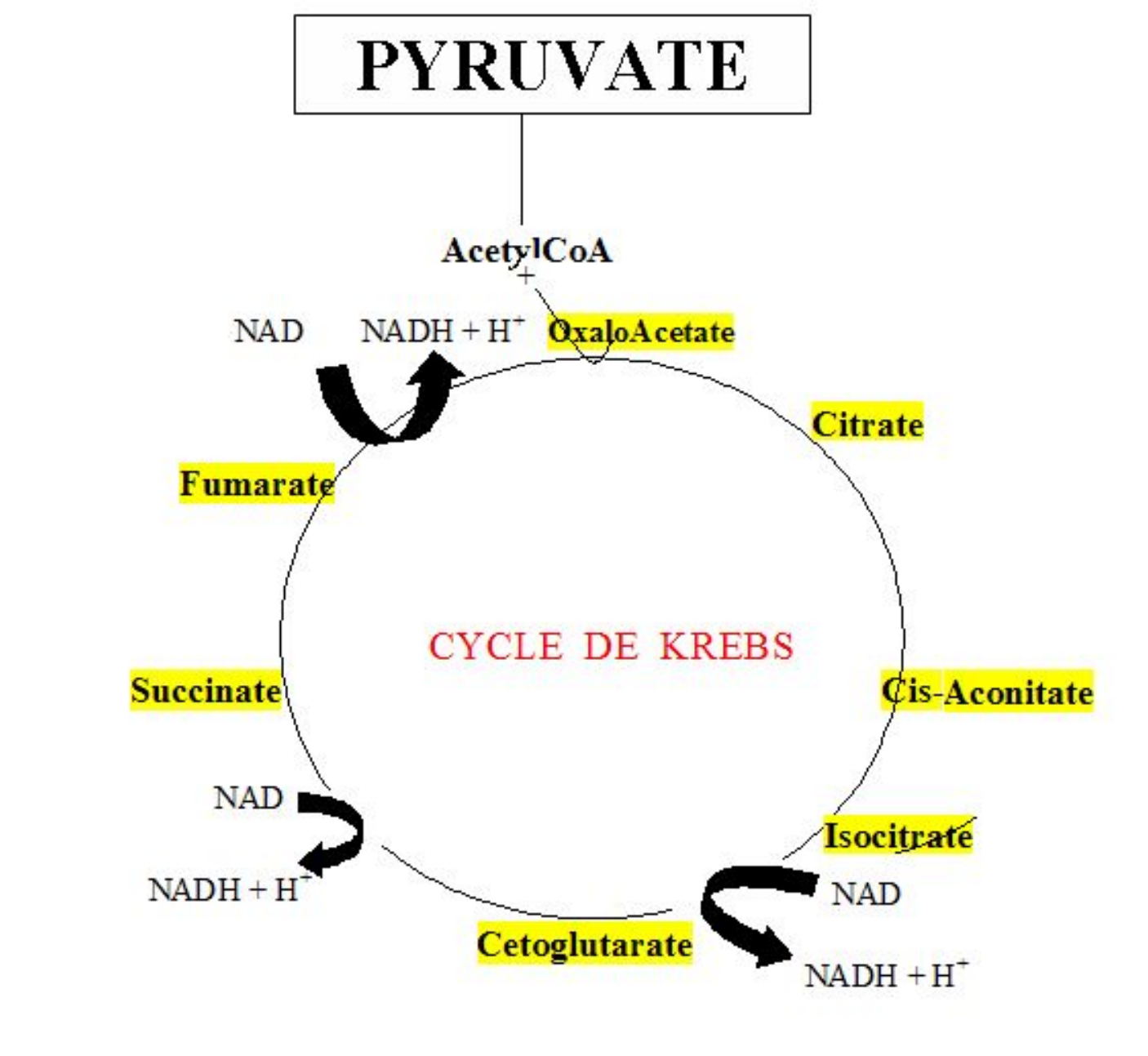


Fermentation du Glucose :



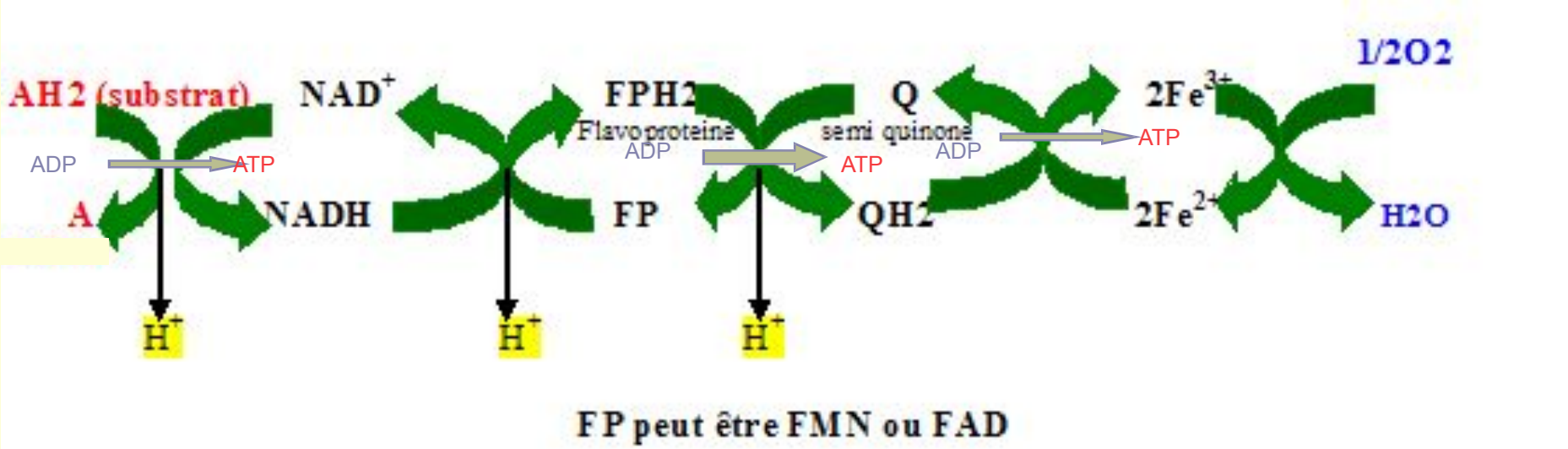
La Respiration

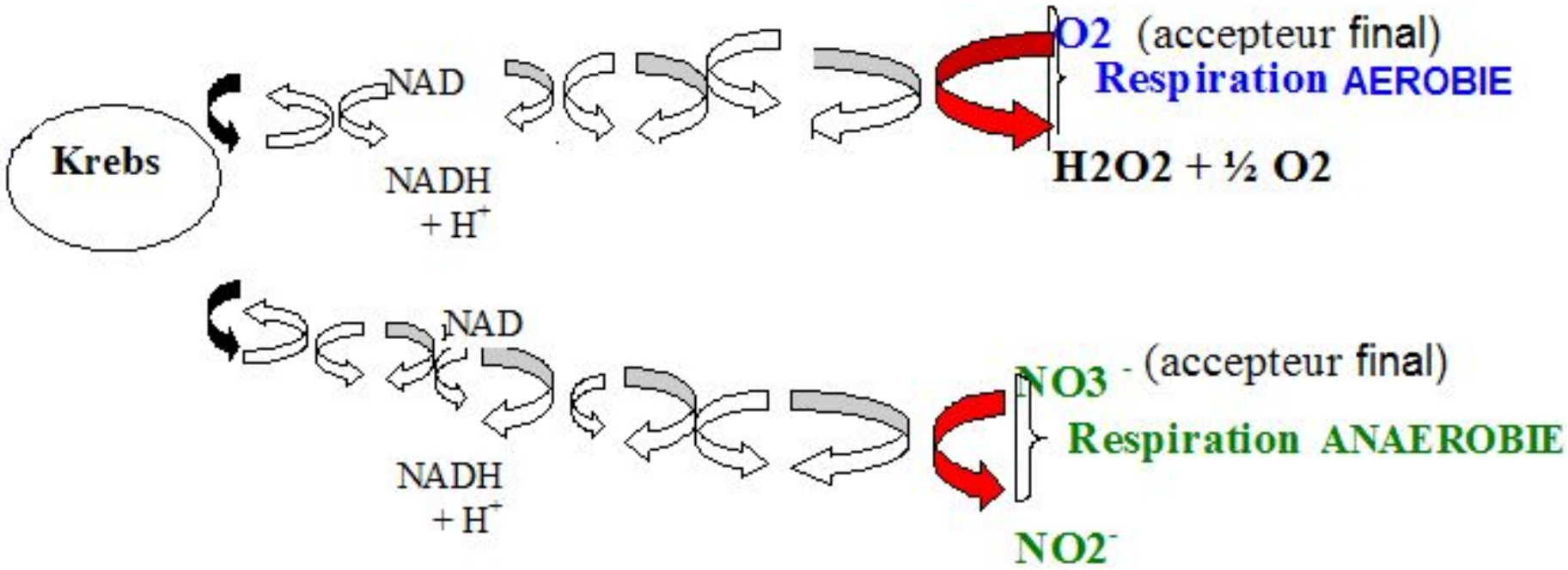
- Voies métaboliques au cours desquelles l'oxygène moléculaire ou des composés oxygénés inorganiques ou ioniques jouent le rôle d'accepteur d'électrons et d'H2 dans les réactions redox.
- Ces voies sont liées à la membrane cytoplasmique de la bactérie.
- L'énergie est produite par phosphorylation dite oxydative et libérée par paliers via le cycle tricarboxylique de KREBS et la CHAINE RESPIRATOIRE ; Le bilan énergétique est élevé.


PYRUVATE
AcetylCoA
OxaloAcetate
Citrate
Cis-Aconitate
Isocitrate
NAD
NADH + H+
Cetoglutarate
NAD
NADH + H+
Succinate
NAD
NADH + H+
Fumarate
CYCLE DE KREBS

La chaîne respiratoire :

- Chaîne cytochromique de transfert des électrons
- y sont associés des phosphorylations oxydatives
- Font intervenir des transporteurs d'électrons et de protons
- Chez les bactéries , on distingue 2 types possibles de chaines respiratoires




Krebs
NAD
NADH
+ H+
O2 (accepteur final)
Respiration AEROBIE
H2O2 + ½ O2
NAD
NADH
+ H+
NO3 - (accepteur final)
Respiration ANAEROBIE
NO2-

APPLICATIONS DE LA PHYSIOLOGIE BACTERIENNE

<u>1-Le diagnostic bactériologique</u>: culture et identification des germes à partir du prélèvement pathologique (urine , selle , sang , LCR…)

Données de physiologie bactérienne	Implications sur le diagnostic bactériologique
Besoins nutritifs	Choix des milieux de culture
Exigences environnementales (facteurs physico-chimiques)	Choix de la T° et de l'atmosphère d'incubation
Temps de génération, taux de croissance	Délais de culture et rendu du résultat
Croissance bactérienne	Dénombrement des bactéries dans un prélèvement
Type métabolique Caractères biochimiques	Identification bactérienne
Effets des antibiotiques sur la croissance bactérienne	antibiogramme

Hémoculture:

- Systèmes non automatisés:
ex. Hémoculture Signal (OXOID)

Signe de croissance bactérienne= Gaz dégagé par le métabolisme bactérien et détecté par l'Indicateur

- Systèmes automatisés:

Croissance bactérienne détectée via un produit du métabolisme biochimique ;

Exemple : Détection du CO2 d'origine bactérienne

Automate BACT/ALERT et Automate BACTEC

2- L'Antibiogramme : évaluation in vitro , de la sensibilité d'une souche bactérienne donnée , à une gamme d'antibiotiques différents.

3- L'antibiothérapie:

Les modifications de la courbe de croissance (bactéricidie) permettent de mesurer l'activité antibactérienne des antibiotiques sur une souche bactérienne donnée.

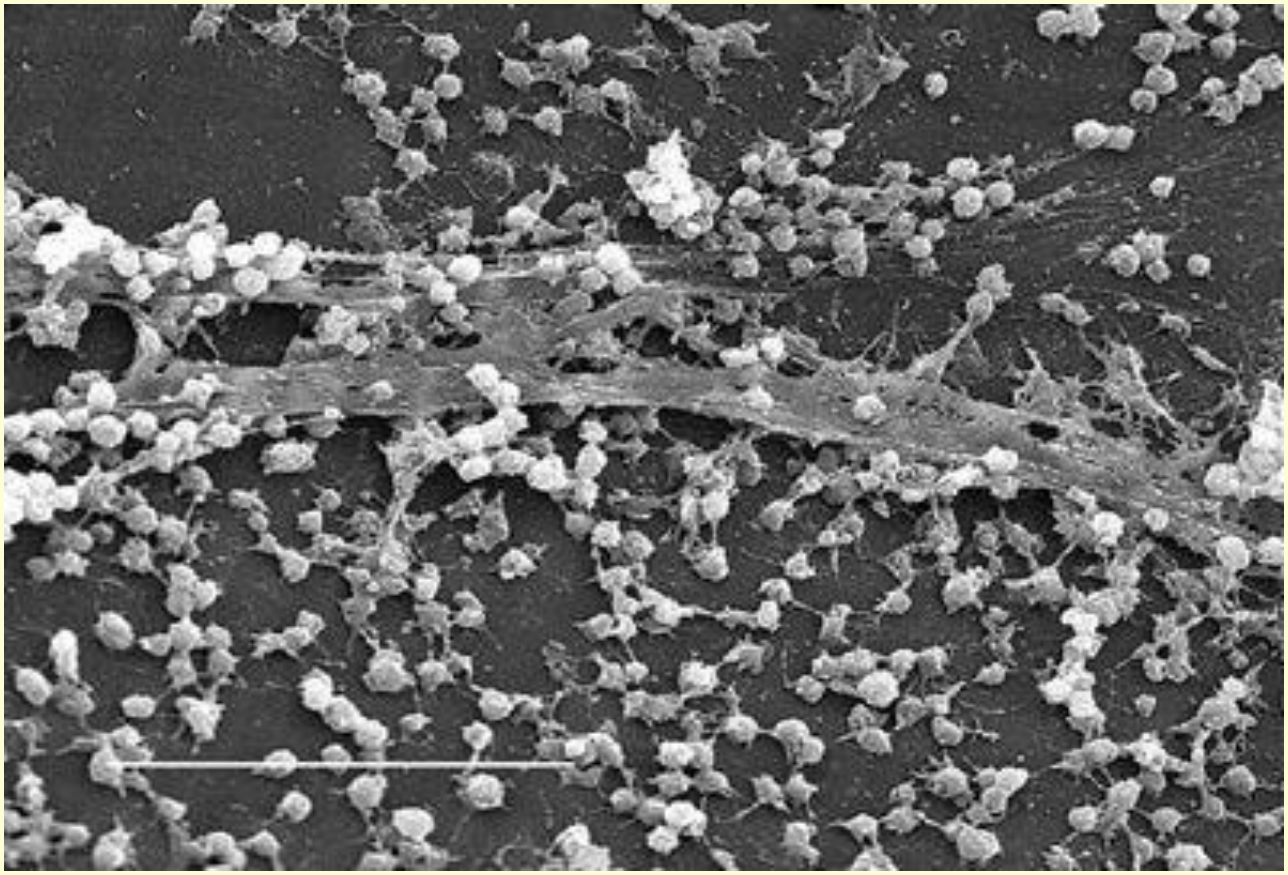
4- L'efficacité de la stérilisation ou de la désinfection par le contrôle microbiologique:

L'étude de la courbe de croissance permet de vérifier la vitesse de destruction des bactéries par la chaleur , les UV, ou d'autres agents physiques ou chimiques. Application au contrôle de la stérilité ou de la densité microbienne dans certains locaux: air des blocs opératoires, décontamination des surfaces.., application au contrôle de qualité microbiologique des aliments, des médicaments , des produits cosmétiques…

5- Biofilm et infections nosocomiales : les bactéries s'organisent en biofilms à la surface du matériel implanté tel cathéter vasculaire , sonde urinaire , sonde de dérivation. ….Pour éliminer ces bactéries inaccessibles à l'antibiothérapie , il faut procéder à l'ablation du matériel mis en place.

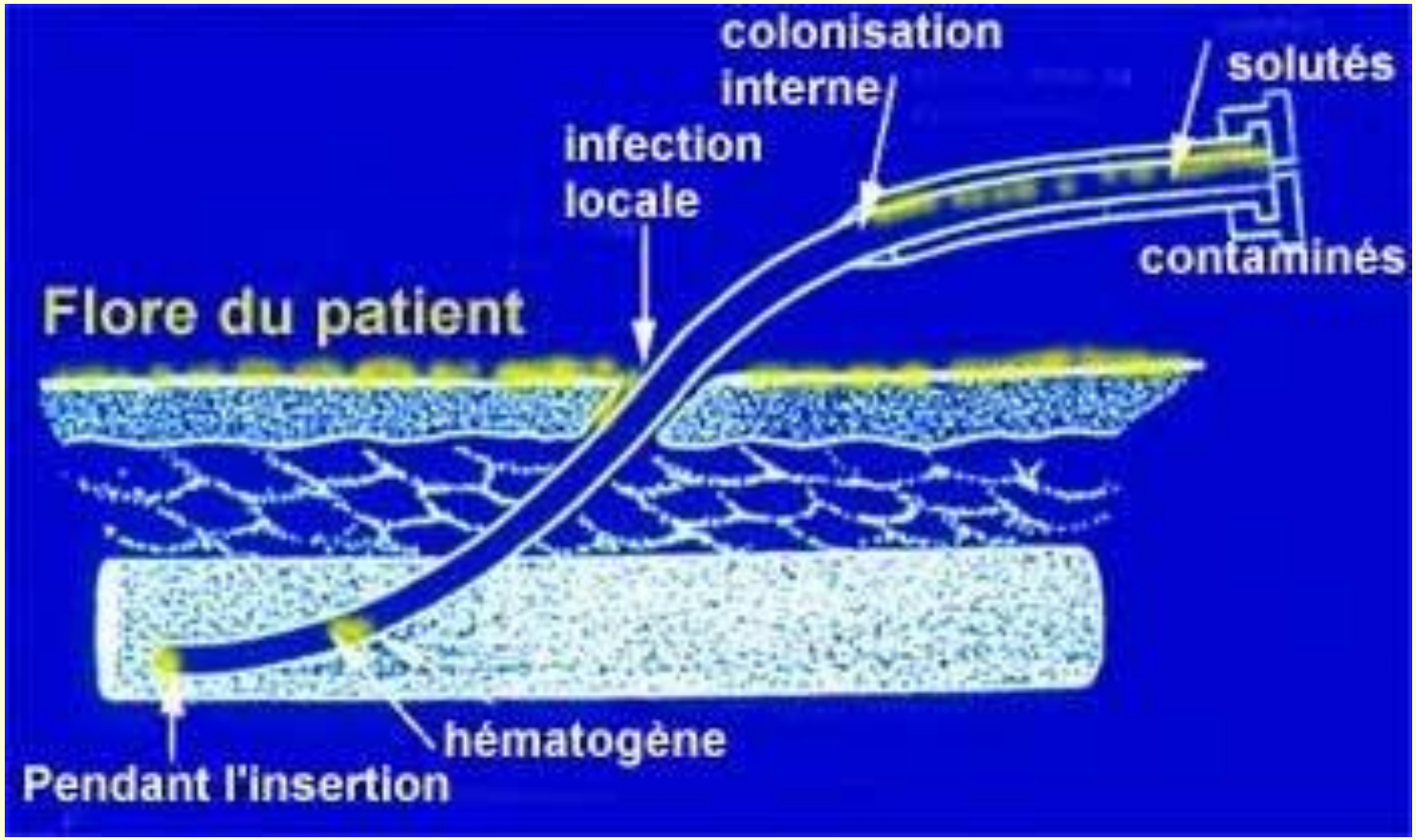
Aptitude à l'adhérence: le Biofilm

Formation d'un biofilm sur la surface interne d'un cathéter (ME)



Aptitude à l'adhérence: Exemple du cathéter vasculaire

Voies de colonisation d'un cathéter vasculaire :



Aptitude à l'adhérence :Micro-organismes fréquemment associés aux biofilms sur matériel médical implanté :

Micro-organismes	Ont été isolés dans des biofilms sur
Staphylocoques Coagulase-negative	Prothèse totale de hanche , canule trans-trachéale Cathéter veineux central, stérilet , prothèse valvulaire , sonde urinaire
Enterococcus spp.	Prothèse de hanche , Cathéter veineux central , stérilet prothèse valvulaire , sonde urinaire
Klebsiella pneumoniae	Cathéter veineux central , sonde urinaire
Pseudomonas aeruginosa	Prothèse de hanche , cathéter veineux central sonde urinaire
Staphylococcus aureus	Prothèse de hanche , cathéter veineux central sonde urinaire, prothèse valvulaire

Conclusion

- Les notions de physiologie bactérienne nous permettent de mieux comprendre les conditions dans lesquelles les bactéries se multiplient pour donner de la croissance . Ceci permet , en reproduisant ces conditions in vitro, de cultiver et d'identifier à partir d'un produit pathologique , et de tester aux antibiotiques , les bactéries impliquées dans un processus infectieux.

Bibliographie

1Cours Polycopié du Pr.Benslimani sur le site Internet de la Société Algérienne de Microbiologie Clinique : WWW.samic-inf.com

2Leclerc H. , Gaillard J.L., Simonet M. Microbiologie générale :La Bactérie et le monde bactérien Edition DOIN 1995

3Marchal N., Bourdon J.L. , Richard CL .Les Milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries , Édition DOIN 1991

4 Olds R.J. Atlas en couleurs de Microbiologie Édition MALOINE 1979

5Consultez les liens disponibles dans le site du Réseau AARN (Algerian Antimicrobial Resistance Network) que vous trouverez à l'adresse Internet : WWW.sante.dz