



# PHYSIOLOGIE BACTÉRIENNE

**Pr A. Benbouza**

◦ La physiologie bactérienne consiste à étudier:

❖ La Nutrition

❖ La Croissance

❖ Le Métabolisme

des bactéries en fonction des variations  
(naturelles ou contrôlées) du milieu dans lequel  
elles vivent.

# La Nutrition bactérienne

## Définition:

- ✓ Ensemble des facteurs qui permettent aux micro organismes de se nourrir à partir de l'environnement
- ✓ Pour se maintenir, croître et se reproduire, les bactéries doivent trouver dans le milieu extérieur des conditions physico-chimiques favorables ainsi que les aliments qui leur sont nécessaires

# Composition Chimique de la Bactérie

- H<sub>2</sub>O : 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:

- Ce sont les éléments nécessaires à la bactérie pour fabriquer ses constituants
- L'eau: entre dans la composition de tous les milieux de culture, source d' $H_2$  et d' $O_2$
- En grande quantité : l'azote, le carbone le phosphore et le soufre
- En quantité plus faible: des ions minéraux (Mg, K, Cl, Fe, Ca...)
- Sous forme de traces: des oligoéléments (Cu, Zn, Mn, Co...).

## 2. Besoins énergétiques

- Les bactéries ont besoin d'énergie, elle sert à couvrir les dépenses engagées dans la synthèse des molécules constituant la bactérie.
- Elles utilisent cette énergie pour leur métabolisme (réactions anaboliques et croissance), leur mobilité et leur travail osmotique (passage transmembranaire de nutriments).
- Les bactéries peuvent utiliser comme source d'énergie :
  - Soit la lumière par photosynthèse (**bactéries Phototrophes**)
  - Soit des réactions chimiques d'oxydo-réduction ou chimiosynthèse (**bactéries Chimiotrophes**)

- L'énergie est captée sous forme d'ATP par phosphorylation oxydative ou par phosphorylation liée au substrat
- Dans les réactions REDOX, les bactéries Chimiotrophes utilisent des composés minéraux ou organiques comme "donneurs ou "accepteurs d'électrons".
- Si le donneur d'électrons est un corps minéral, la bactérie est dite **Chimio-lithotrophe**
- Si le composé est organique , la bactérie est dite **Chimio-organotrophe** ( bactéries pathogènes d'intérêt médical, de contamination alimentaire, d'usage industriel ...)



### 3.Substances spécifiques

- Ce sont des métabolites essentiels dont certaines bactéries ont besoin et qu'elles sont incapables de synthétiser par défaut enzymatique.
- On les appelle Facteurs de croissance.
- Ils peuvent appartenir à la classe des Acides aminés ,des bases puriques et pyrimidiques ou des vitamines.
- Les bactéries exigeant des facteurs de croissance sont appelées : Bactéries Auxotrophes ex: Pneumocoque.
- Les bactéries non exigeantes sont dites : Bactéries Prototrophes ex: E. coli

# En pratique: étude de la nutrition = confection de milieux de culture

## Définition d'un milieu de culture :

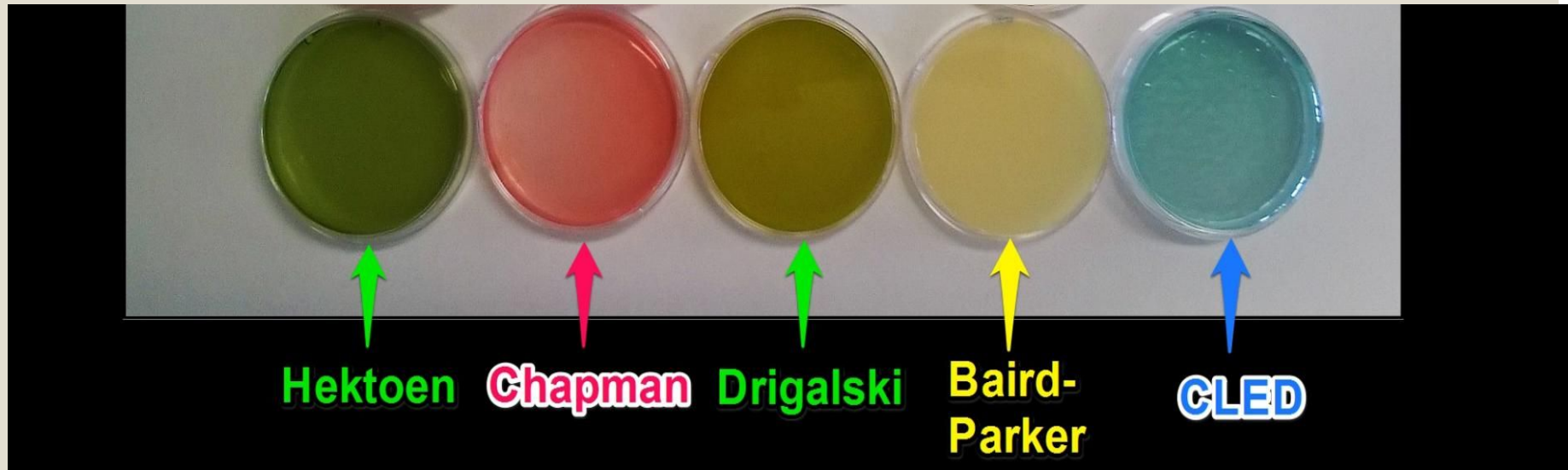
Le milieu de culture est un mélange équilibré de tous les nutriments nécessaires, à des concentrations qui permettent une croissance optimale

Le milieu de culture doit apporter à la bactérie un mélange équilibré de tous les nutriment nécessaires

- Les concentrations de nutriments permettant une croissance optimale à la bactérie doivent être:
  - ni trop faible, sinon le milieu s'appauvrit vite
  - ni trop forte, sinon le milieu devient vite toxique
- Le milieu de culture peut être liquide ou rendu solide par addition d'agent gélifiant: **AGAR**
- **L'Agar** : C'est une substance extraite d'algues rouges desséchées (Agar-agar) et qui possède la propriété de fixer une grande quantité d'eau d'où gélification.

Les milieux de culture diffèrent selon le but et les besoins requis par la bactérie:

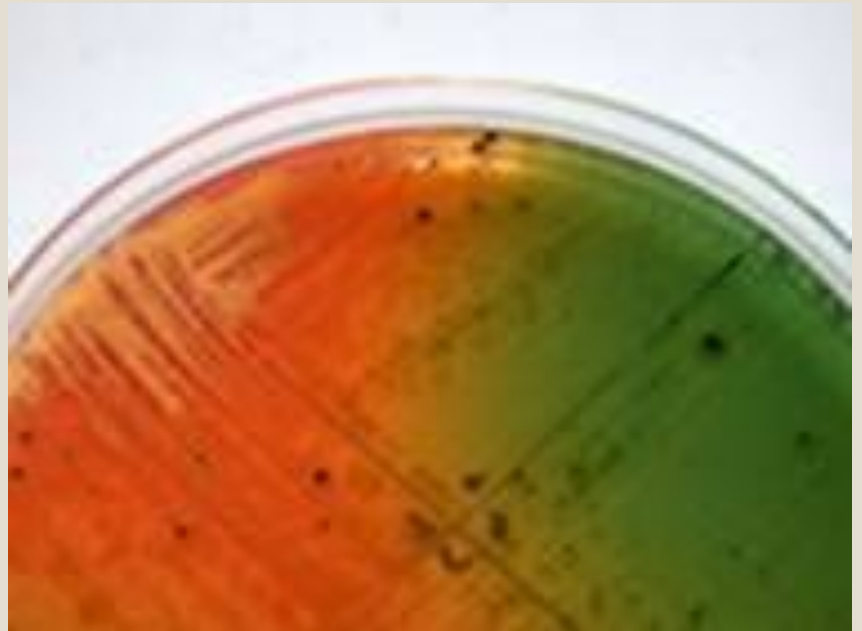
- Milieux de base: (ex: gélose nutritive)
- Milieux enrichis (ex: gélose au sang cuit )
- Milieux sélectif (ex: gélose HEKTOEN)
- Milieux d'identification (ex: milieu TSI)
- Milieux de conservation
- Milieux de transport (ex: milieu TGV)



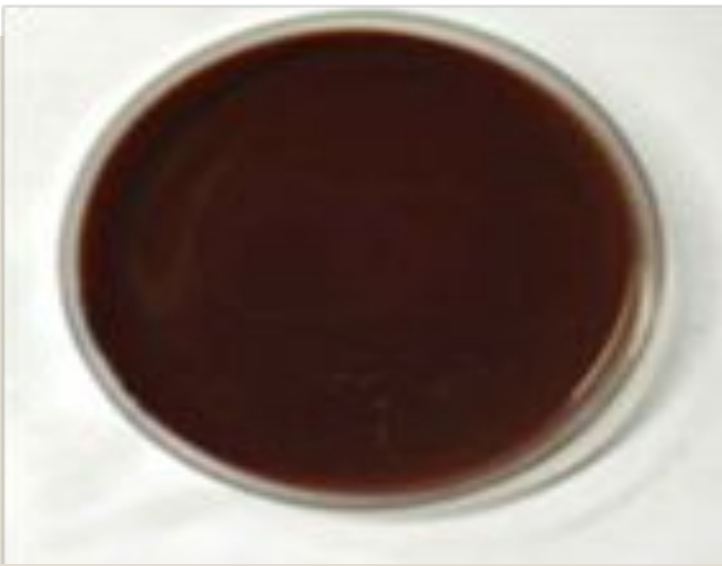
Gélose Chapman



Gélose nutritive



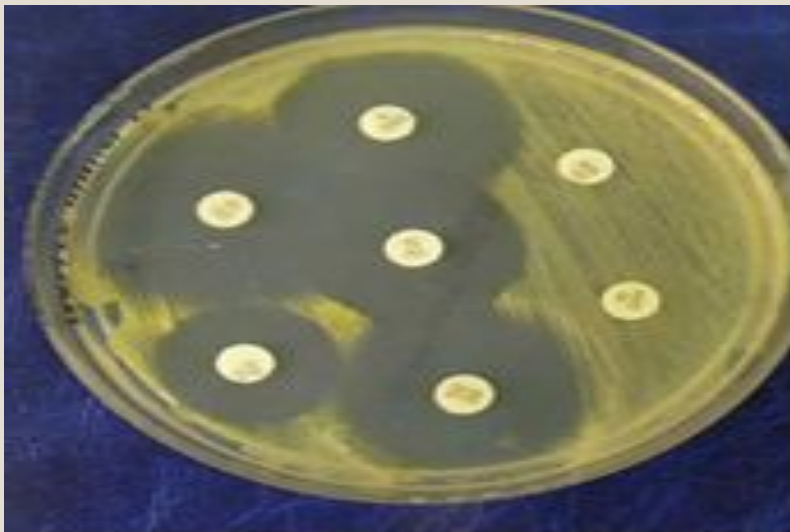
Gélose Hektoen



Gélose au sang cuit



Gélose au sang frais



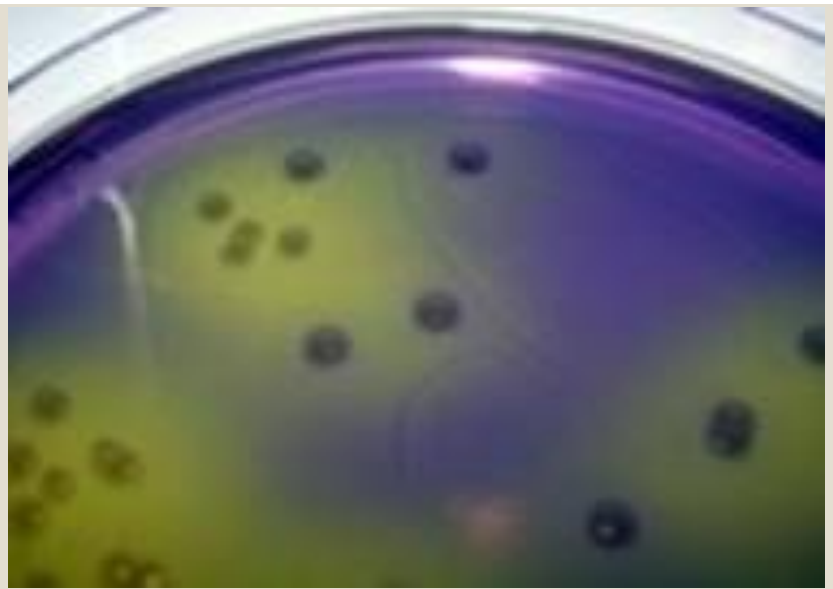
Gélose MH pour antibiogramme







BCP



Milieu de conservation



Milieu de transport

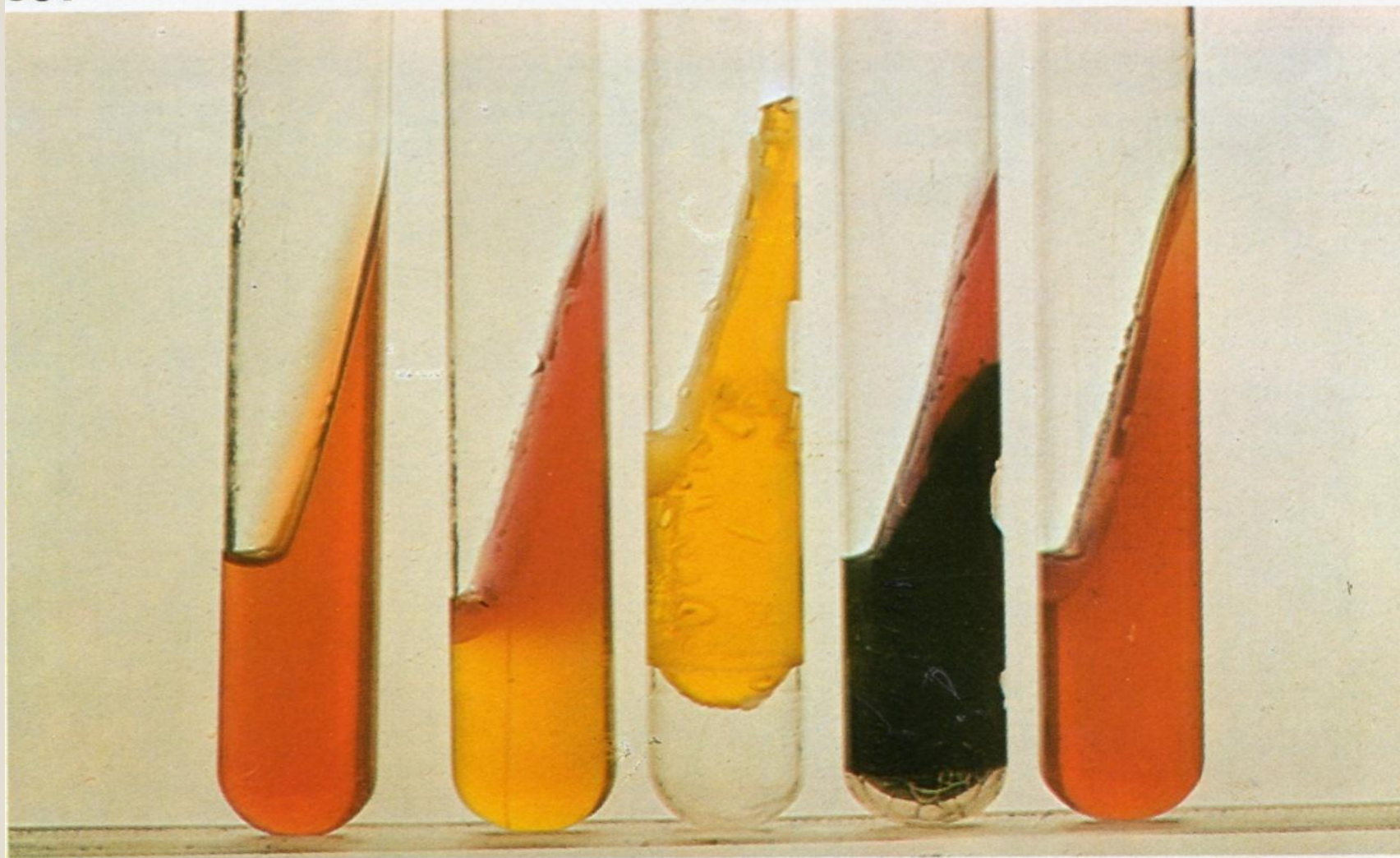




Citrate de Simmons

Bouillon nutritif

Mannitol mobilité



# LA CROISSANCE BACTERIENNE

# Définition de la croissance

« Accroissement ordonné de tous les composants d'un organisme »

Ou encore

« Le dédoublement à intervalle régulier de la masse cellulaire et du nombre de cellules d'une culture »

Si chez les organismes supérieurs, elle aboutit à une augmentation de la taille, chez les organismes unicellulaires (bactéries, levures), elle aboutit à une augmentation du nombre d'individus.

- **Temps de génération** = temps requis pour un dédoublement ou une division cellulaire

- Exemple: 20 mn pour *E. coli*

et

20 h pour *Mycobacterium tuberculosis*

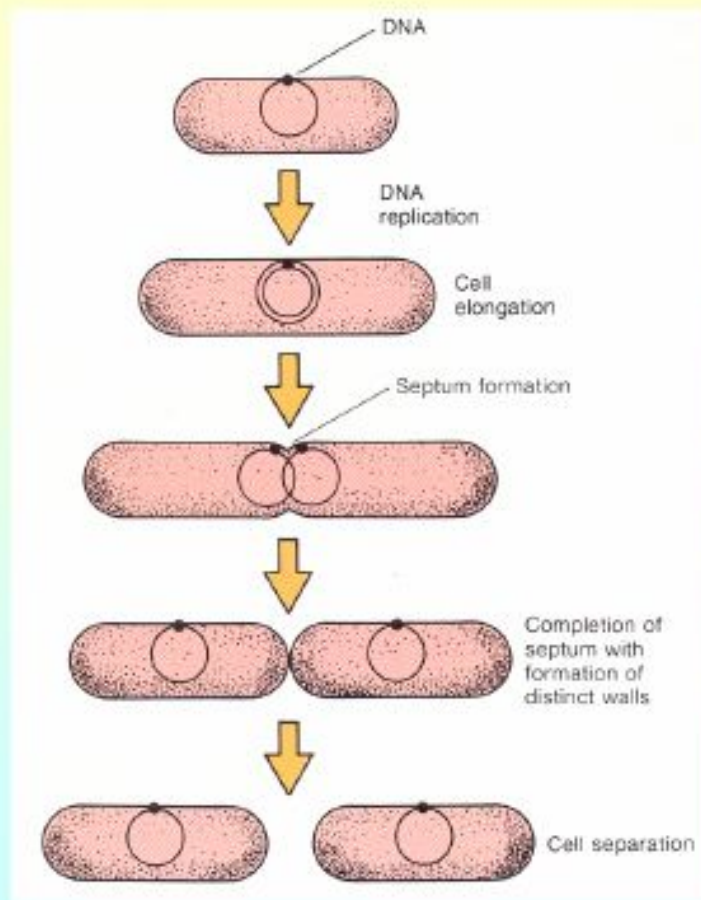
- **Taux de croissance** = c'est le nombre de division par unité de temps (en heure)

- Ex: *E. coli* se divise 3 fois en 1 heure

taux de croissance = 3



- Au cours de la croissance, le milieu s'appauvrit en éléments nutritifs disponibles et s'enrichit en produits du catabolisme, souvent toxiques
- Les synthèses permettent aux bactéries de croître en taille et en volume jusqu'à une dimension limite qui conduit généralement à la division cellulaire Par scissiparité , avec naissance de 2 nouvelles bactéries filles identiques.





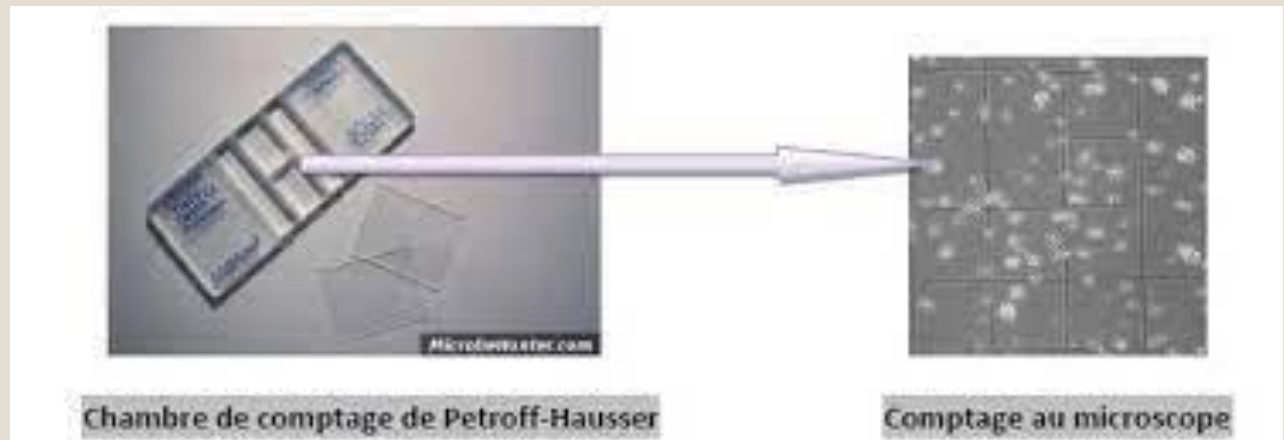
# Mesure de la croissance

1. Dénombrement direct des bactéries: les bactéries sont considérées comme particules que l'on dénombre à l'état frais ou après coloration

a) **Numération totale** : on peut utiliser

□ **Lecture au microscope**

- hématimètre (cellule de Petroff-Hausser)
- rapide mais peu sensible
- pas de distinction entre cellules mortes et vivantes





## □ Epifluorescence

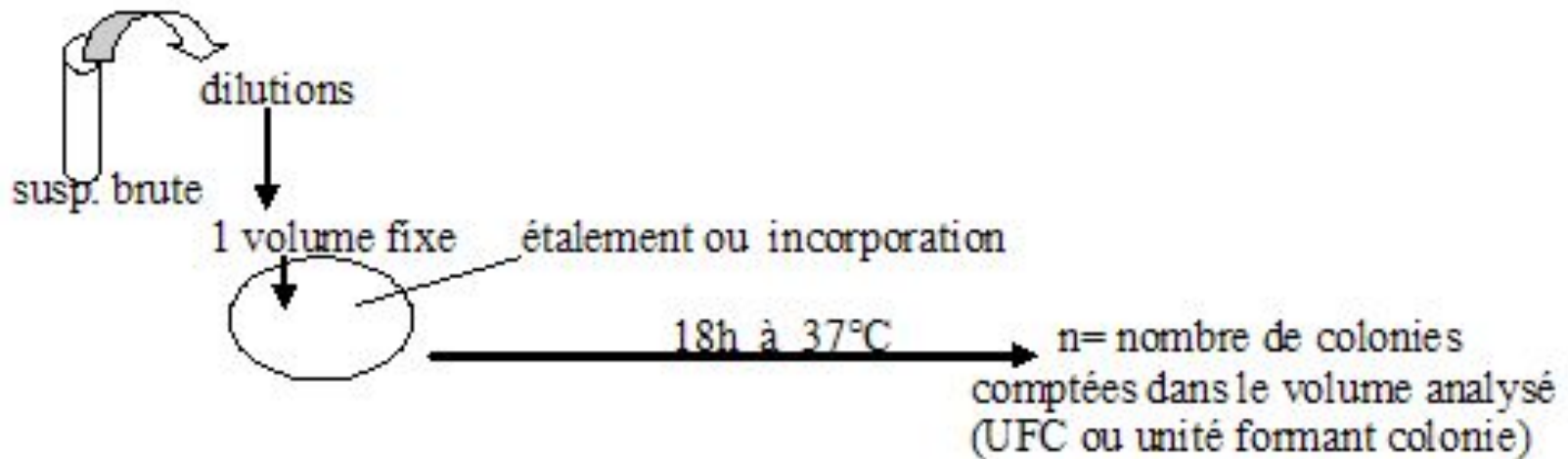
- coloration par fluorochrome (acridine orange) qui colore en rouge fluorescent les bactéries en voie de croissance ou les cellules mortes porteuses d'un ADN dégénéré
- peu sensible
- pas de distinction cellules mortes et vivantes

## □ Compteur de particules

- des bactéries en suspension dans une solution d'électrolytes
- pose problème: comptage des particules inertes
- pas de distinction cellules mortes ou vivantes.

## b- Numération des cellules viables :

Les bactéries cultivables forment des colonies sur un milieu de culture approprié : on utilise la culture en boîtes de Pétri



- Très sensible.
- Facile.
- Technicité et équipements simples.
- Compte que les bactéries vivantes.
- Le problème est le temps d'incubation**



## 2-Mesure de la Densité optique (DO) :

On évalue la DO du milieu de croissance en fonction du temps , à une longueur d'onde donnée

La mesure de la D.O. se fait à une longueur d'onde allant de 450 à 550nm et les cultures bactériennes sont diluées de façon à obtenir des D.O. inférieures à 0,4 ( les DO évoluent linéairement à la concentration cellulaire).

## Facteurs influençant la croissance

- Ils interviennent de façon primordiale dans l'obtention d'une culture optimale
- En effet les nutriments doivent être apportés à la bactérie dans les conditions d'environnement qui lui conviennent , sinon , ils peuvent l'inhiber

## a- La température

Température Psychrophile	Se développe bien à 0°C, température optimale <15°C	<i>Bacillus psychrophilus</i> , <i>Chlamydomonas nivalis</i> , <i>Methanogenium</i>
Psychrotrophe	Peut se développer à 0-7°C, température optimale 20-30°C, et maximale 35°C	<i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i>
Mésophile	Température optimale 20-45°C	<i>Escherichia coli</i> , <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Trichomonas vaginalis</i>
Thermophile	Peut se développer à 55°C et même plus, température optimale souvent entre 55-65°C	<i>Bacillus stearothermophilus</i> , <i>Thermus aquaticus</i> , <i>Cyanidium caldarium</i> , <i>Chaetomium thermophile</i>
Hyperthermophile	Température optimale de croissance de 80°C à environ 113°C	<i>Sulfolobus</i> , <i>Pyrococcus</i> , <i>Pyrodictium</i>



## b- Le pH

- 7 à 7,5 ( pH neutre ou légèrement alcalin).
- bactéries acidophiles (*Lactobacillus* -pH 6)
- bactéries basophiles (*Vibrio* -pH 9)

# C-Exigences gazeuses

- **Les bactéries aérobies strictes** : ne peuvent vivre qu'en présence d'oxygène de l'air et tolèrent des pressions d'O<sub>2</sub> élevées. ex. BK, Pseudomonas.
- **Les bactéries anaérobies strictes** : ne supportent pas l'O<sub>2</sub> qui leur est toxique ex. Bacteroides fragilis.
- **Les bactéries aéro-anaérobies facultatives** : se développent aussi bien en présence qu'en absence d'oxygène. Leur richesse enzymatique leur permet d'utiliser l'O<sub>2</sub> s'il est présent et d'utiliser la voie fermentaire quand l'oxygène est absent. Ex. Entérobactéries.
- **Les bactéries micro-aérophiles** : ne se reproduisent qu'en présence d'une faible tension d'oxygène. Ex. Campylobacter.





Obligate  
aerobe

*Pseudomonas*  
*Neisseria*



Obligate  
anaerobe

*Clostridium*  
*Bacteroides*



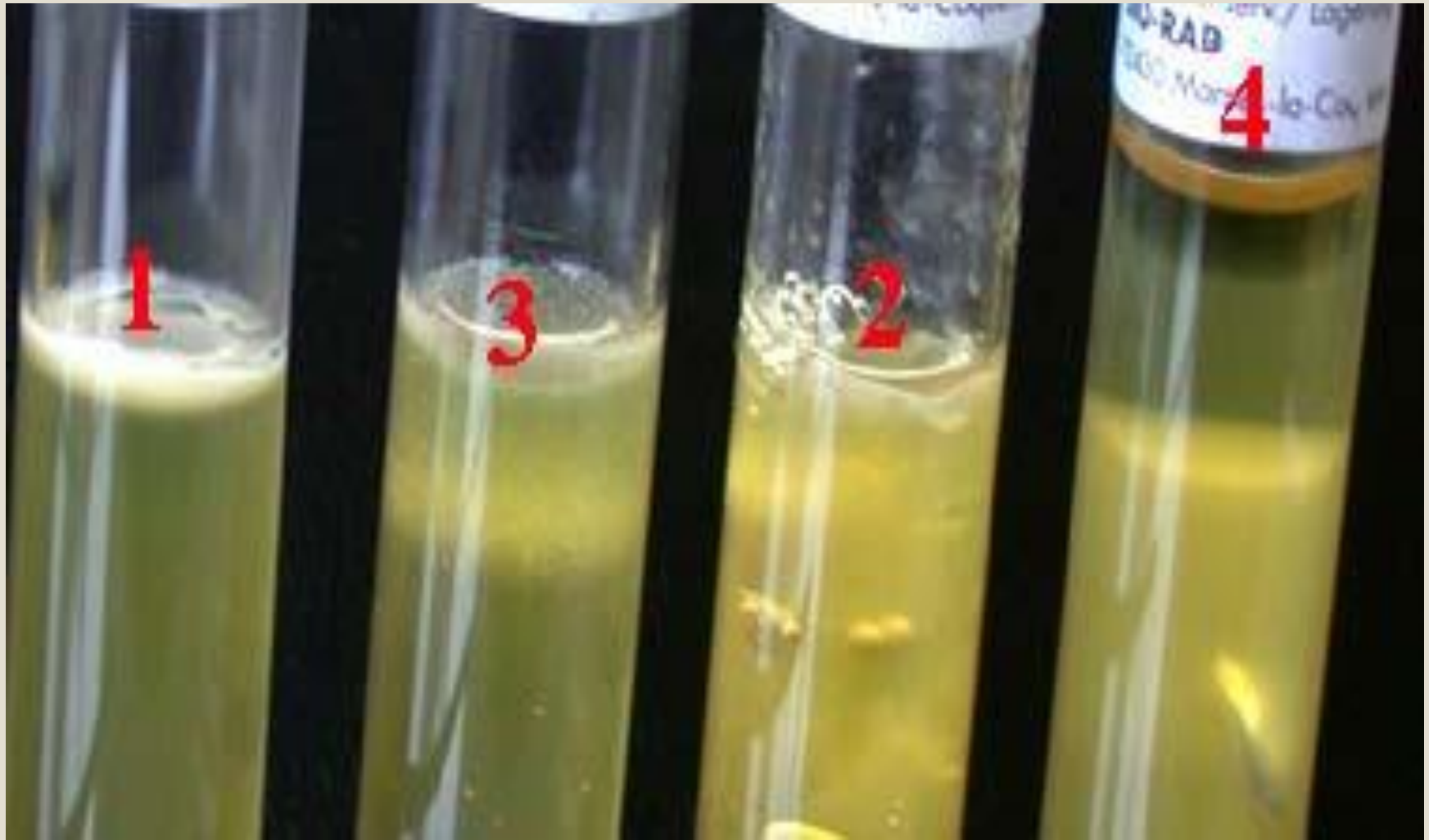
Micro-  
aerophile

*Campylobacter*  
*Streptococcus*



Facultative  
anaerobe

Entérobactéries  
Staphylocoques



**Aérobic  
Stricte**

**Micro-Aérophile**

**Aérobic-Anaérobic  
facultative**

**Anaérobic Stricte**

## d- La Pression Osmotique

Grâce à une paroi de structure spécifique des bactéries ( Muréine), elle leur confère une rigidité et une résistance aux chocs , 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)

## 4- Cinétique de la croissance bactérienne

L'étude de la croissance bactérienne dans le temps ou cinétique de la croissance peut être représenté sur un graphique en portant:

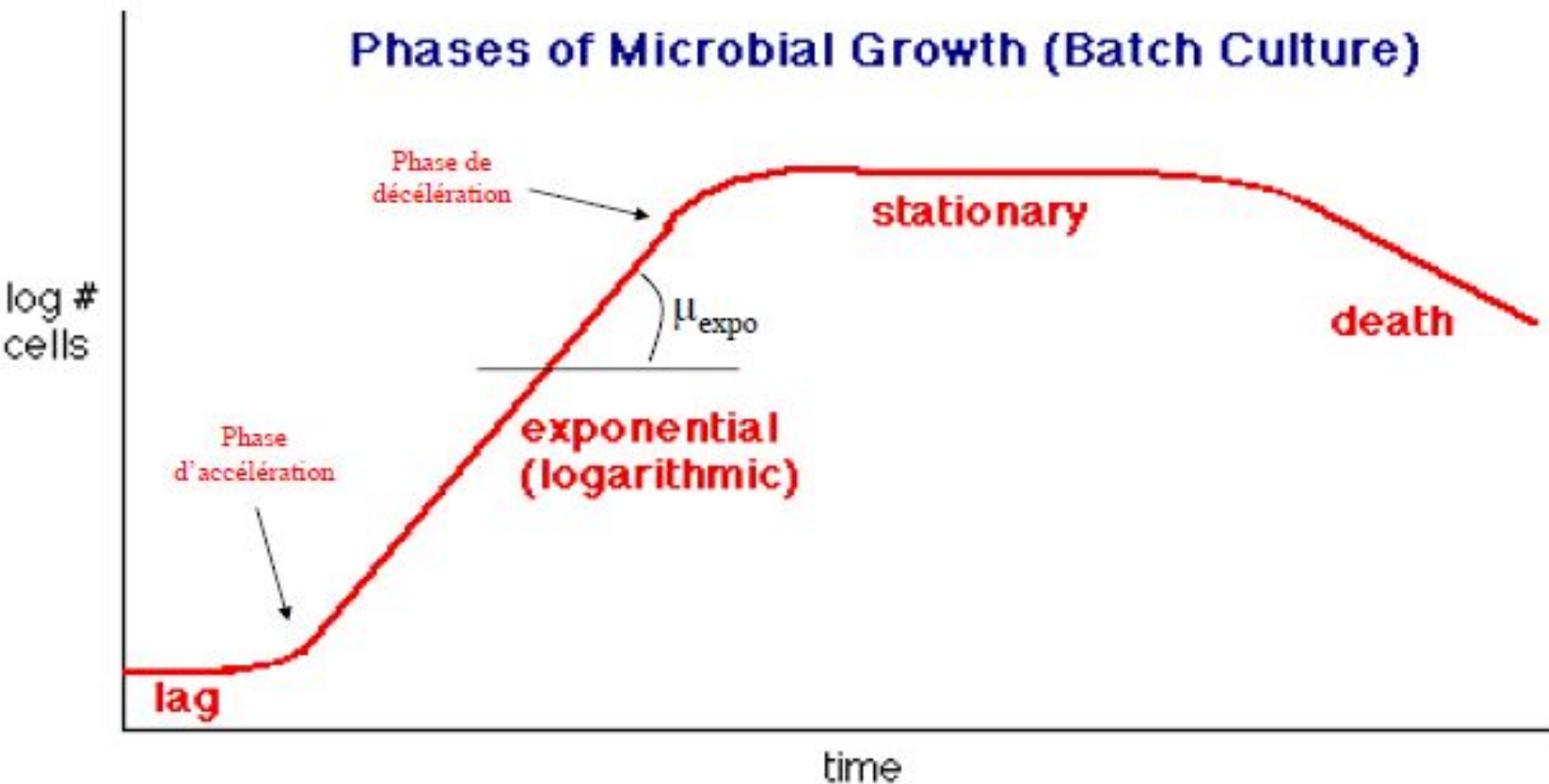
- en ordonnée, les valeurs des log de la D.O du milieu de culture;
- en abscisse, le temps.

La courbe de croissance contient 6 phases:

- Phase A: Phase de latence: c'est la phase d'adaptation que l'on peut réduire en inoculant des bactéries déjà adaptées au milieu et en croissance
- Phase B : Phase d'accélération: le temps de génération se raccourcit pour atteindre la valeur caractéristique de l'espèce bactérienne étudiée
- Phase C: Phase de croissance exponentielle : Le taux de croissance atteint la valeur maximale. Il y a dédoublement de la population à des intervalles réguliers.

- Phase D: Phase de ralentissement: le taux de croissance baisse progressivement et le temps de génération s'allonge
- Phase E: Phase stationnaire: La masse bactérienne est maximale. Elle est liée à l'épuisement de l'aliment et l'accumulation de produits toxiques
- Phase F: Phase de déclin: la mortalité se manifeste et la densité bactérienne décroît du fait de la lyse accélérée des bactéries ( épuisement des nutriments, réduction de l'O<sub>2</sub>, et accumulation des déchets).

# Constantes et expression de la croissance



Paramètres d'action de la croissance :

- **temps de génération** = temps nécessaire pour un doublement de la population
- **taux de croissance** ( $\mu$ )



# Applications au laboratoire

## 1- en bactériologie:

- obtention de cultures pures sur milieux solides
- fabrication des milieux de cultures en fonction des exigences du germe (composition, facteur de croissances, oxygénation ) ou de milieux sélectifs (addition d'antiseptiques ou de substances hostiles)
- l'identification des bactéries en fonction de l'aptitude de la souche étudiée à croître sur un milieu donné en fonction de son équipement enzymatique

## 2- en antibiothérapie:

- Les modification de la courbe de croissance permettent de mesurer l'activité antibactérienne d'un ATB sur une bactérie donnée



### 3- la stérilisation :

- Pour vérifier la destruction des germes par la chaleur, les UV ou d'autres agents physiques ou chimiques

### 4-dans l'industrie:

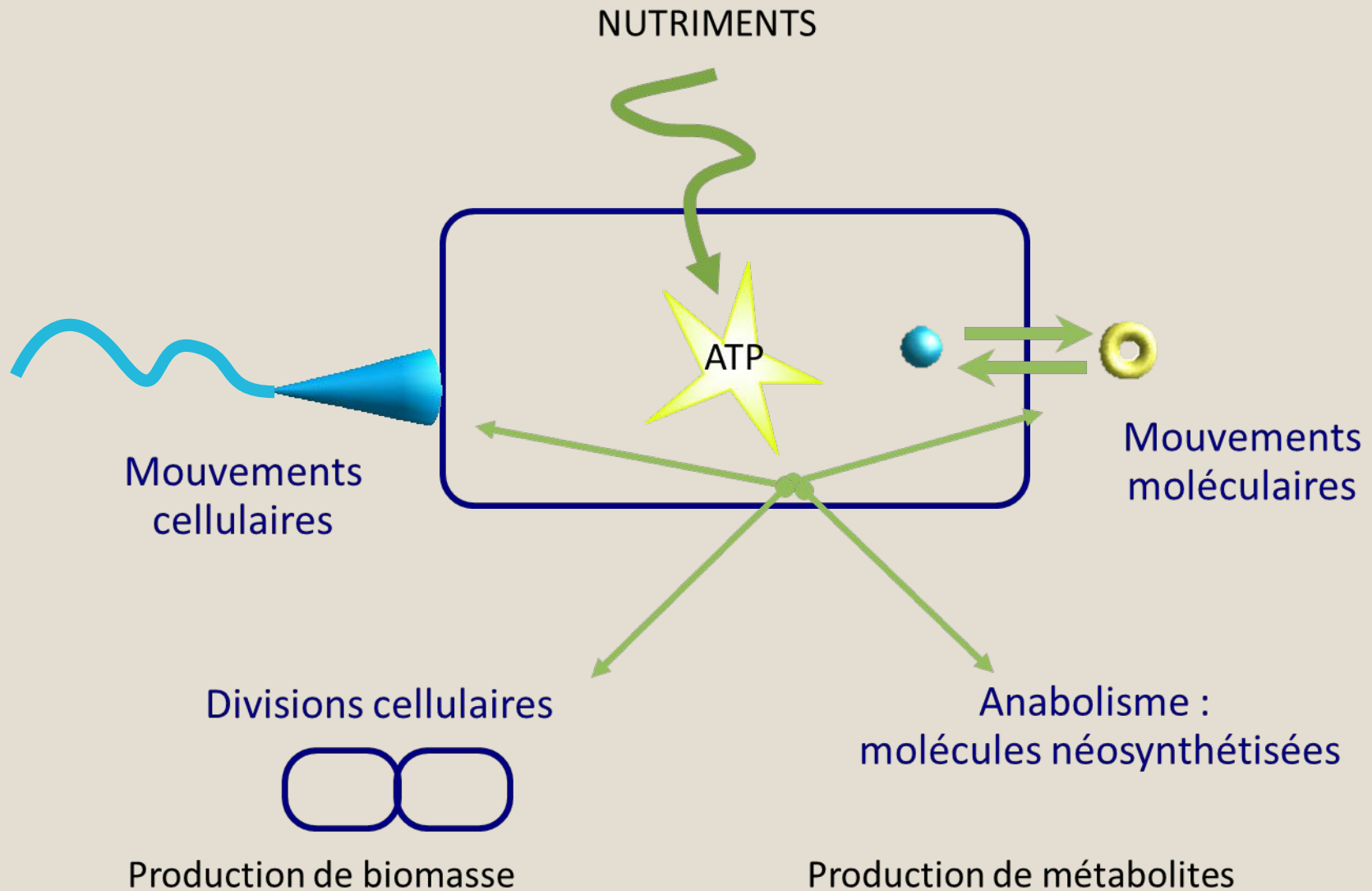
- le dosage microbiologique des vitamines et d'autres substances qui sont des facteurs de croissances pour les bactéries
- l'obtention d'antibiotiques, de substrat à partir des bactéries grâce à des croissances en milieux renouvelés
- fabrication des vaccins (bactéries ou toxines)

# **METABOLISME ENERGETIQUE**

# Définition

- L'ensemble des transformations chimiques (réactions anaboliques et cataboliques) qui assurent l'élaboration des constituants bactériens et leur fonctionnement.
- Toutes les réactions chimiques du métabolisme bactérien sont catalysées par des enzymes spécifiques.

# Vue d'ensemble du métabolisme



Le métabolisme peut être divisé en deux parties principales:

**1- catabolisme:** ou dégradation des molécules plus grosses et plus complexes (Protéines, Lipides, Polysaccharides) sont fragmentées en molécules plus petites et plus simples avec libération d'énergie sous forme de liaison phosphate  $ADP + P_i$ .

## 2- Anabolisme: ou biosynthèse

La voie que la bactérie emprunte, à partir des molécules simples pour synthétiser des macromolécules intervenant dans la structure et le fonctionnement bactérien.

L'énergie utilisée dans ces biosynthèse provient du catabolisme.

**ALIMENTS**

*Réactions cataboliques*

**MOLECULES SIMPLES**

**METABOLITES  
INTERMEDIAIRES**

**ATP**

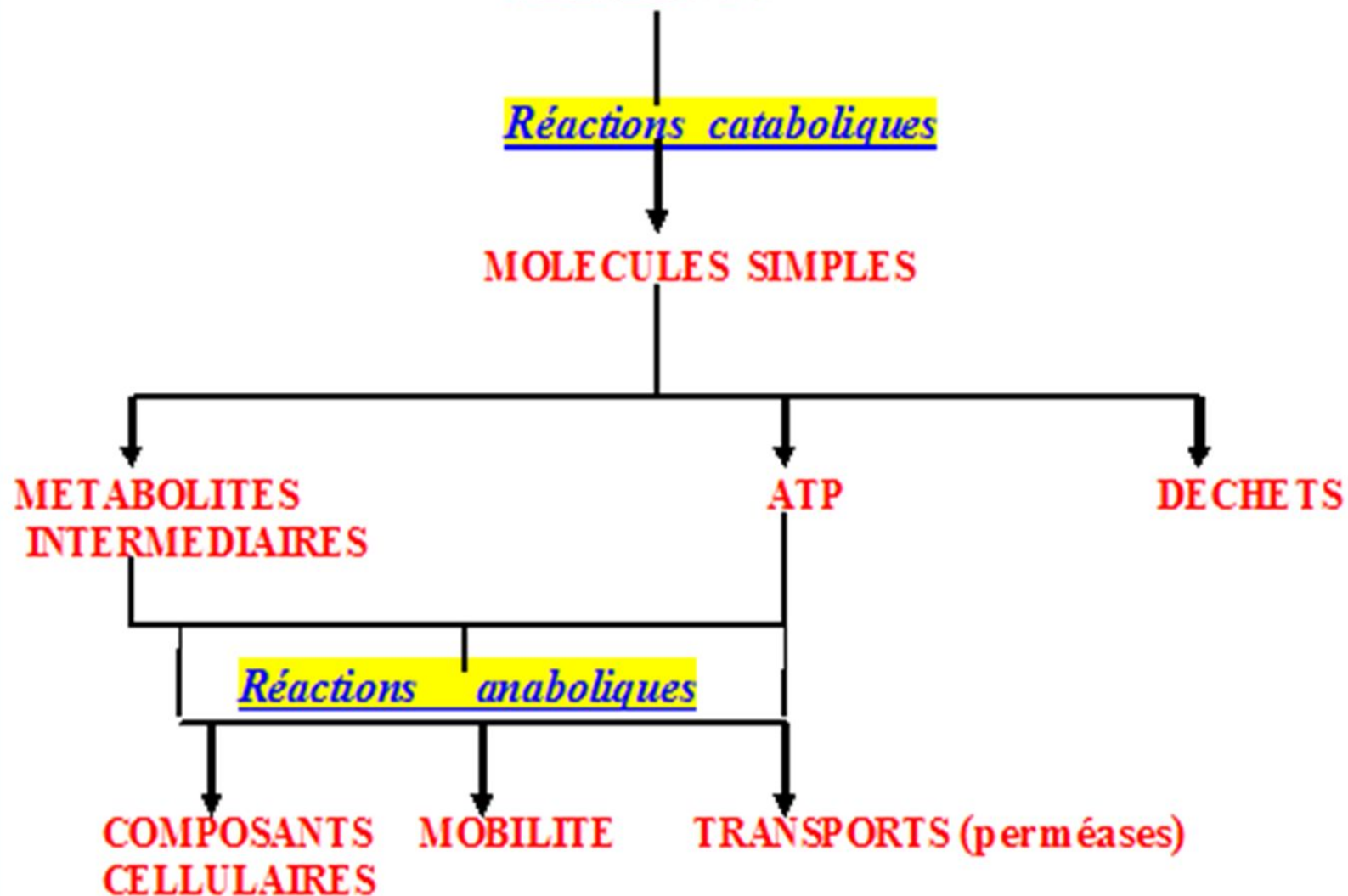
**DECHETS**

*Réactions anaboliques*

**COMPOSANTS  
CELLULAIRES**

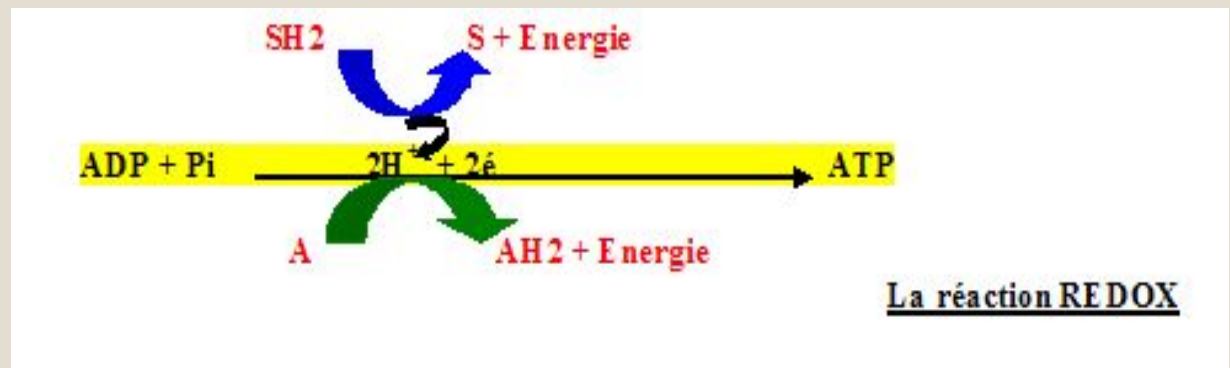
**MOBILITE**

**TRANSPORTS (perméases)**



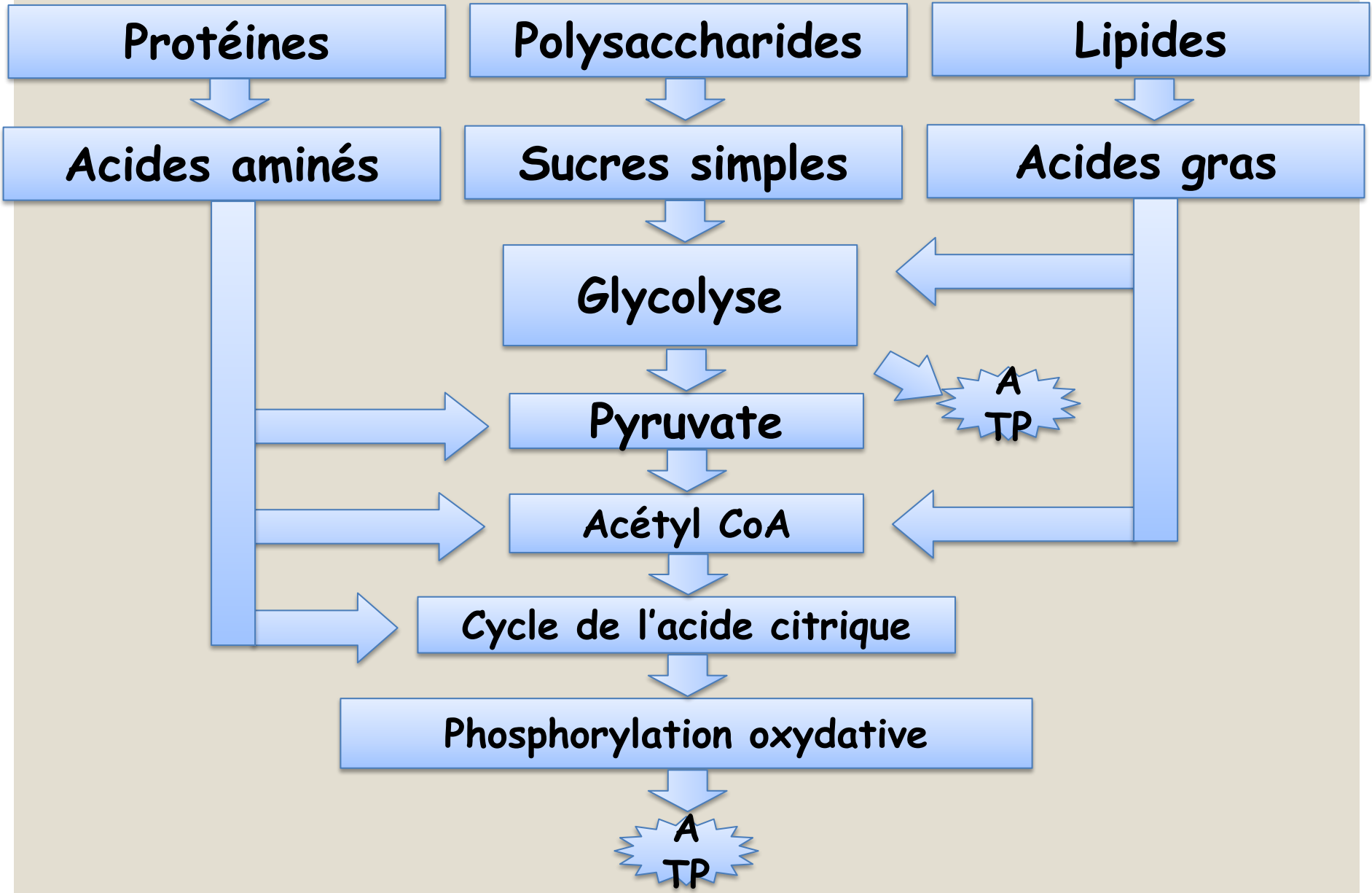
# Métabolisme énergétique :

- Catabolisme = réactions **EXERGONIQUES** = production d'ATP
- ATP stockée ou immédiatement consommée (réactions **ENDERGONIQUES**) = Anabolisme
- Réactions exergoniques = réactions d'oxydo-réduction
- production d'ATP par phosphorylation





# Sources d'énergie chez les bactéries chimio-organotrophes

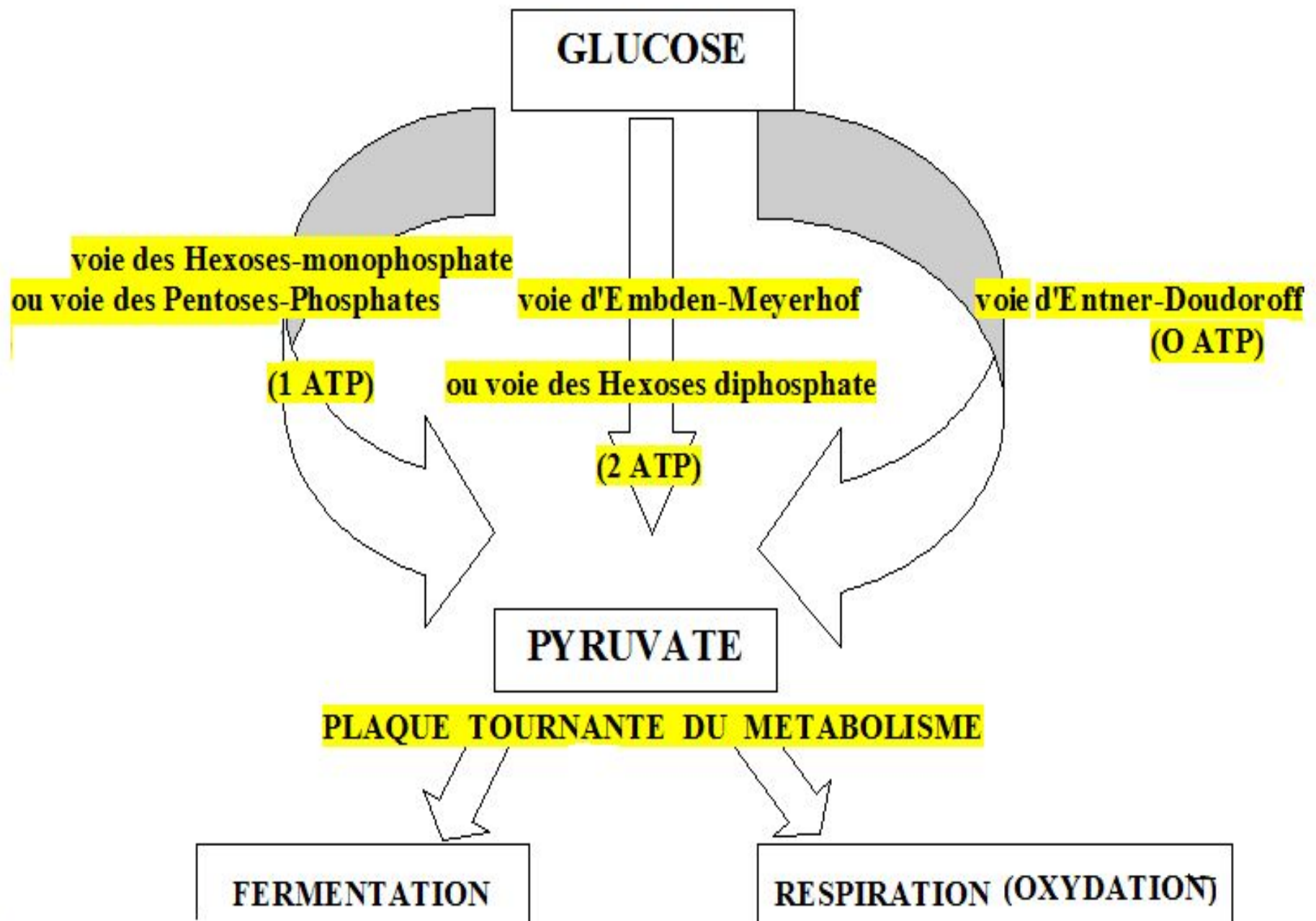


# Voies du Métabolisme intermédiaire

3 principales voies enzymatiques , à localisation cytoplasmique , qui oxydent le glucose en acide pyruvique , véritable plaque tournante du métabolisme et situé au carrefour du métabolisme intermédiaire :

- Voie **d'embden-Meyerhof-Parnas** ou voie des Hexoses-Diphosphates (≈ glycolyse ) = 2 moles d'ATP /mole de glucose.
- Voie des Hexoses-Monophosphates ou voie des Pentoses-Phosphates ou Shunt oxydatif ou **cycle de Dickens-Horecker**= 1 mole d'ATP /mole de glucose.
- Voie du 2-céto-3-déoxy-gluconate ou voie **d'Entner-Doudoroff** (propre aux bactéries) =0 ATP.

# Exemple du métabolisme du Glucose



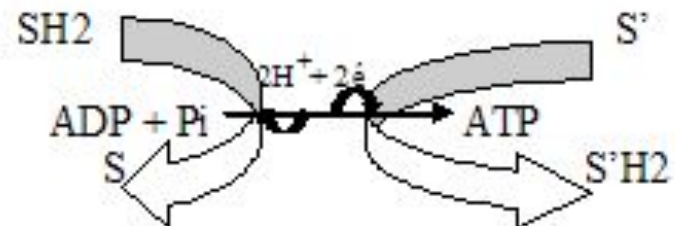
- La plupart des microorganismes ont recours à l'oxydation des glucides comme principal moyen d'obtention de leur énergie cellulaire.
- Le glucose est le sucre le plus utilisé comme source d'énergie par la cellule.
- Pour produire de l'énergie à partir du glucose, les microorganismes font appel à 2 grands processus:

**-Respiration**

**-Fermentation**

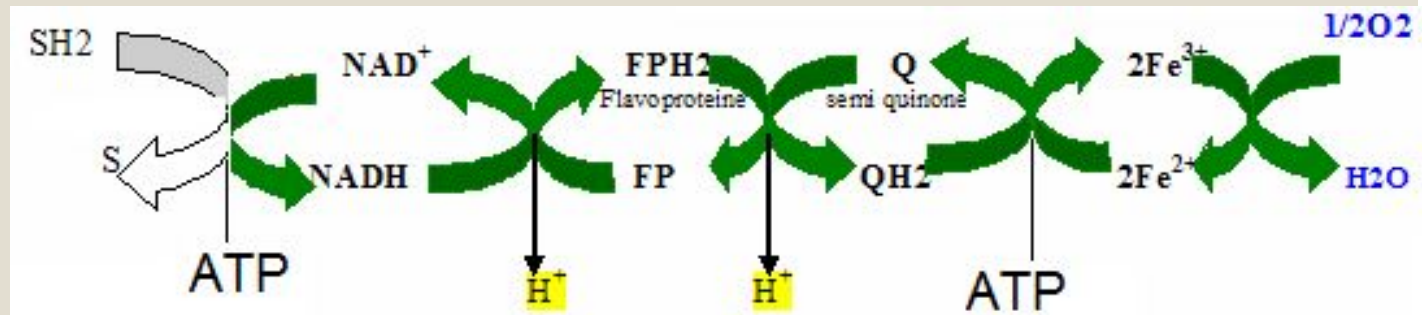
# Fermentation (Pasteur) = « vie sans air »

- oxydation biologique au cours de laquelle l'accepteur final d' $H_2$  et d' $e^-$  est un composé organique.
- Les voies fermentaires se déroulent au sein du cytoplasme bactérien.
- L'énergie est produite par Phosphorylation au niveau du substrat.
- Le bilan énergétique est réduit.



# La Respiration

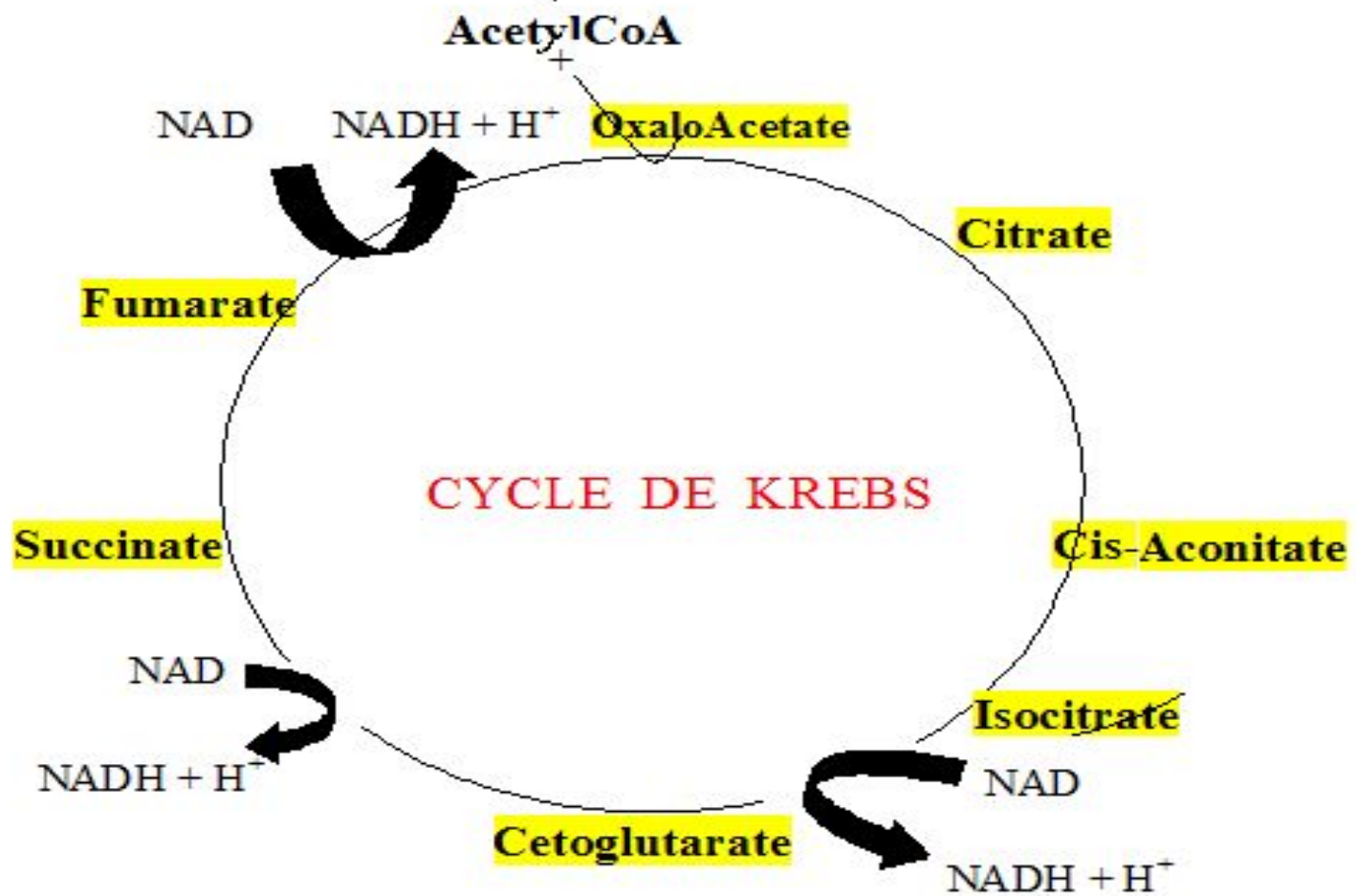
- Voies métaboliques aboutissant à l'oxydation complète du substrat
- l'oxygène moléculaire ou des composés oxygénés inorganiques ou ioniques jouent le rôle d'accepteur d'électrons et d' $H_2$
- Les voies métaboliques respiratoires sont liées à la membrane cytoplasmique de la bactérie.
- L'énergie est produite par phosphorylation oxydative via une chaîne de transfert d'électrons ;
- Le bilan énergétique est élevé



# Le cycle de Krebs

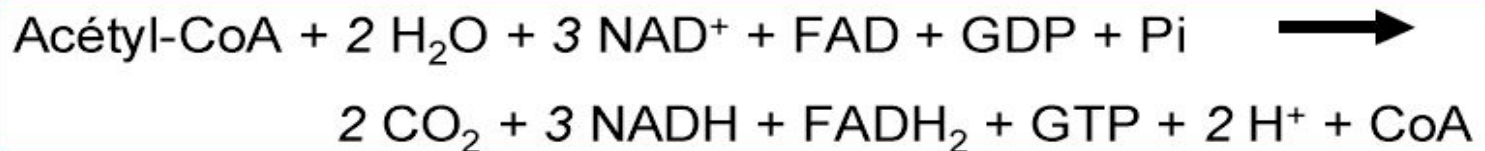
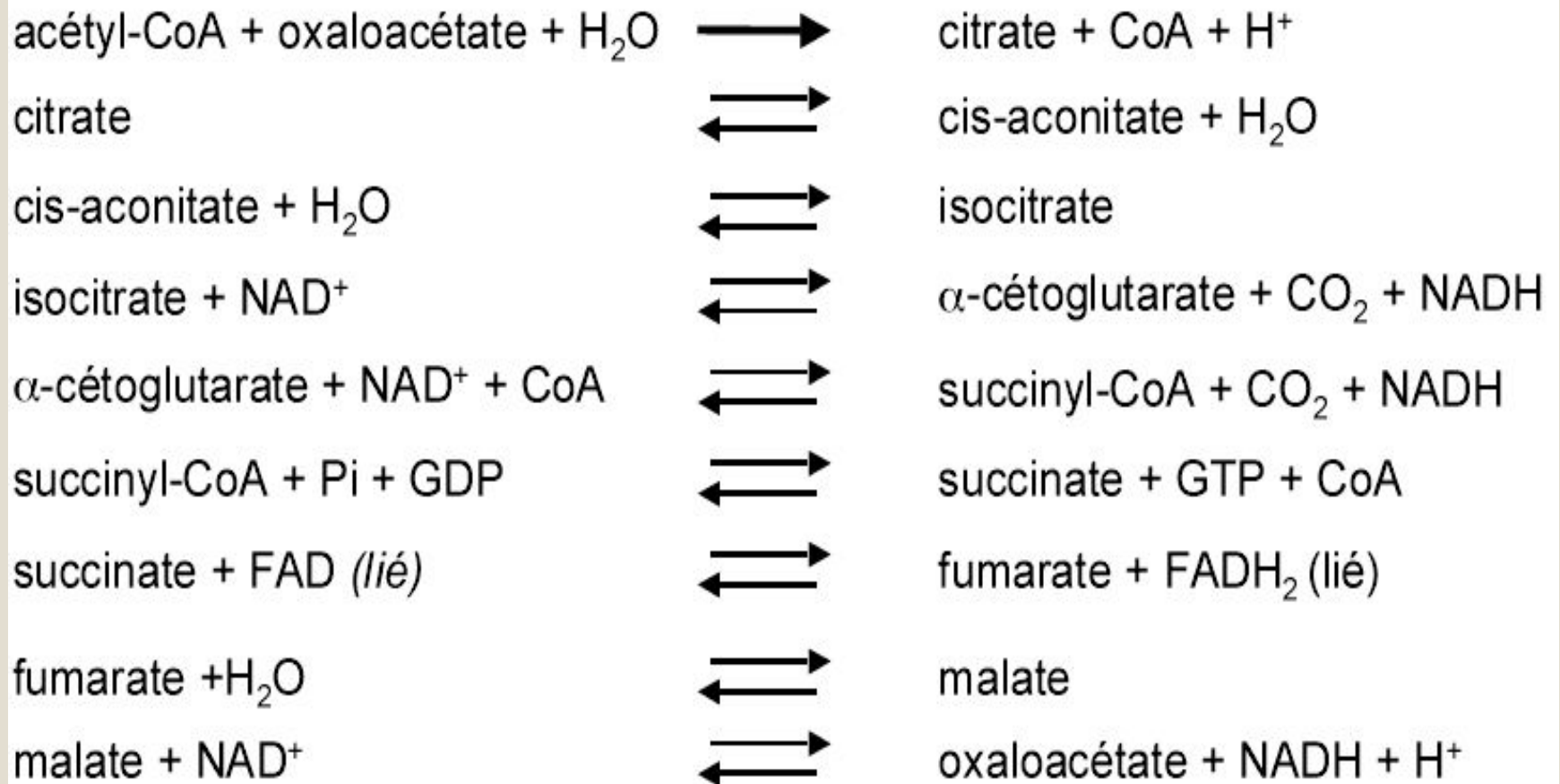
- Le Pyruvate transformé en Acetyl~CoA par décarboxylation oxydative.
- L'Acetyl~CoA réagit avec l'acide oxaloacétique pour former de l'acide citrique .
- La suite du cycle est une succession de réactions d'oxydation et de décarboxylation , avec réductions de NAD en NADH<sub>2</sub> couplées aux réactions d'oxydation
- Du point de vue énergétique , chaque tour de cycle de Krebs génère 4 réactions de déshydrogénation donc un bilan énergétique de 12 ATP.

# PYRUVATE





# Le cycle tricarboxylique de Krebs : Bilan



# La chaîne respiratoire

- La chaîne respiratoire est un ensemble de complexes protéiques qui assurent un transfert de protons et/ou d'électrons comme le ferait "une équipe de rugby qui se passe le ballon".
- Les électrons sont transférés du donneur tels que le NADH ou le  $\text{FADH}_2$  aux accepteurs tel que l' $\text{O}_2$ .
- Le mouvement des électrons ou des protons le long de la chaîne s'effectue graduellement à partir des constituants les plus électronégatifs pour aller vers le constituant le plus électropositif ( $\text{O}_2$ ).
- Et enfin se combinent à l' $\text{O}_2$  et à l' $\text{H}^+$  pour former de l'eau.

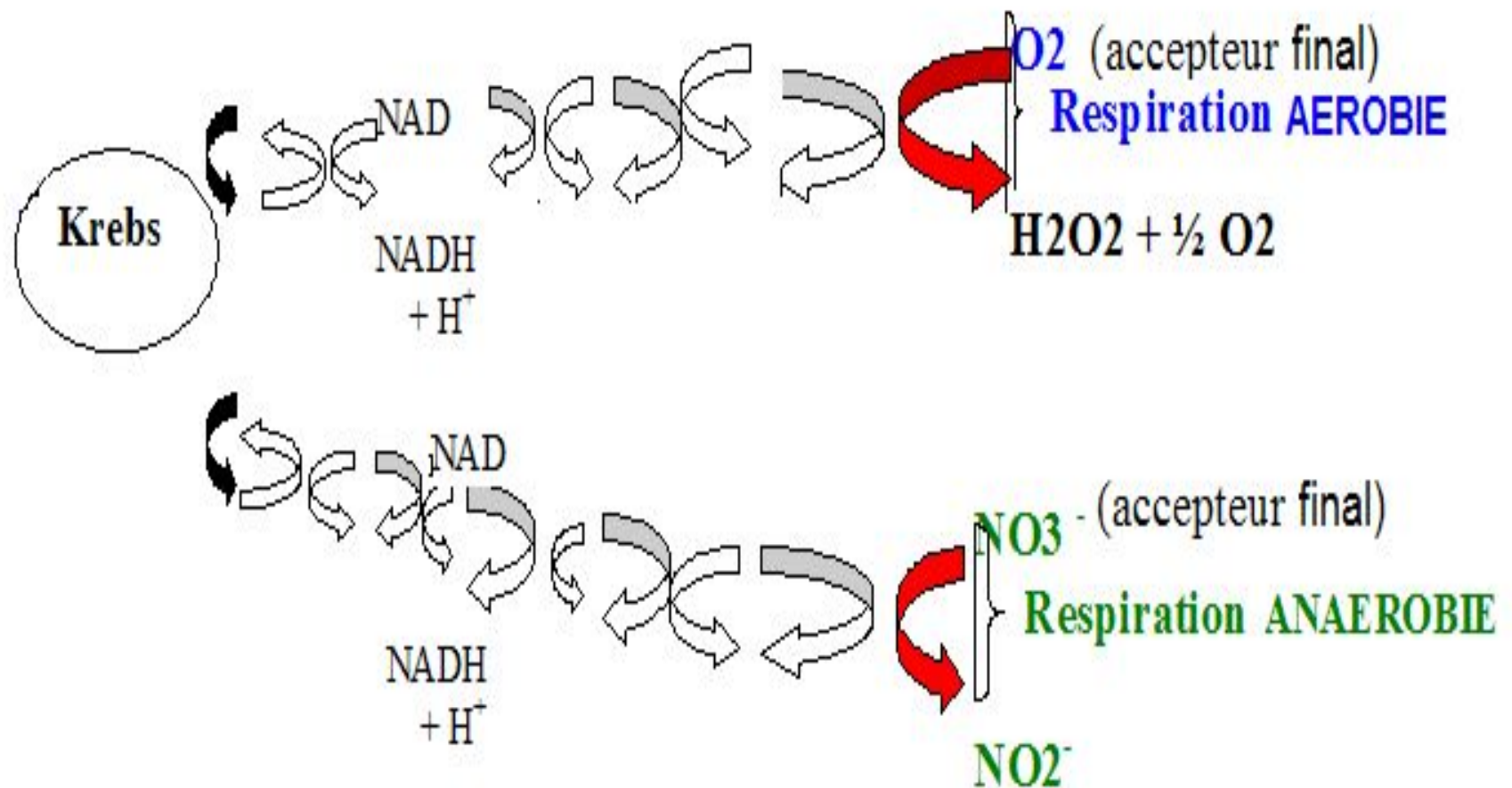


La respiration cellulaire du glucose s'effectue habituellement en trois grandes phases:

- la glycolyse
- le cycle de Krebs
- la chaîne de transport des électrons

Selon l'accepteur final d'électrons et d' $H_2$ , on peut distinguer :

- **Respiration aérobie**: l'accepteur final est l' $O_2$
- **Respiration anaérobie**: l'accepteur final est un composé inorganique ou ionique.



# La Fermentation

Les réactions de réduction du Pyruvate différentient les bactéries fermentaires car elles conduisent à des produits finals divers , soit uniques , soit plus souvent mélangées .

On distingue , selon la nature des produits finals de fermentation :

# PYRUVATE

Fermentation Alcoolique

Alcool

(Champignon)

Fermentation

Acides complexes

(Exemple: Entérobactéries)

2 voies  
possibles

Voie des  
Acides Mixtes

Voie du  
Butanédiol

Acides +++  
(exemple : E.coli)

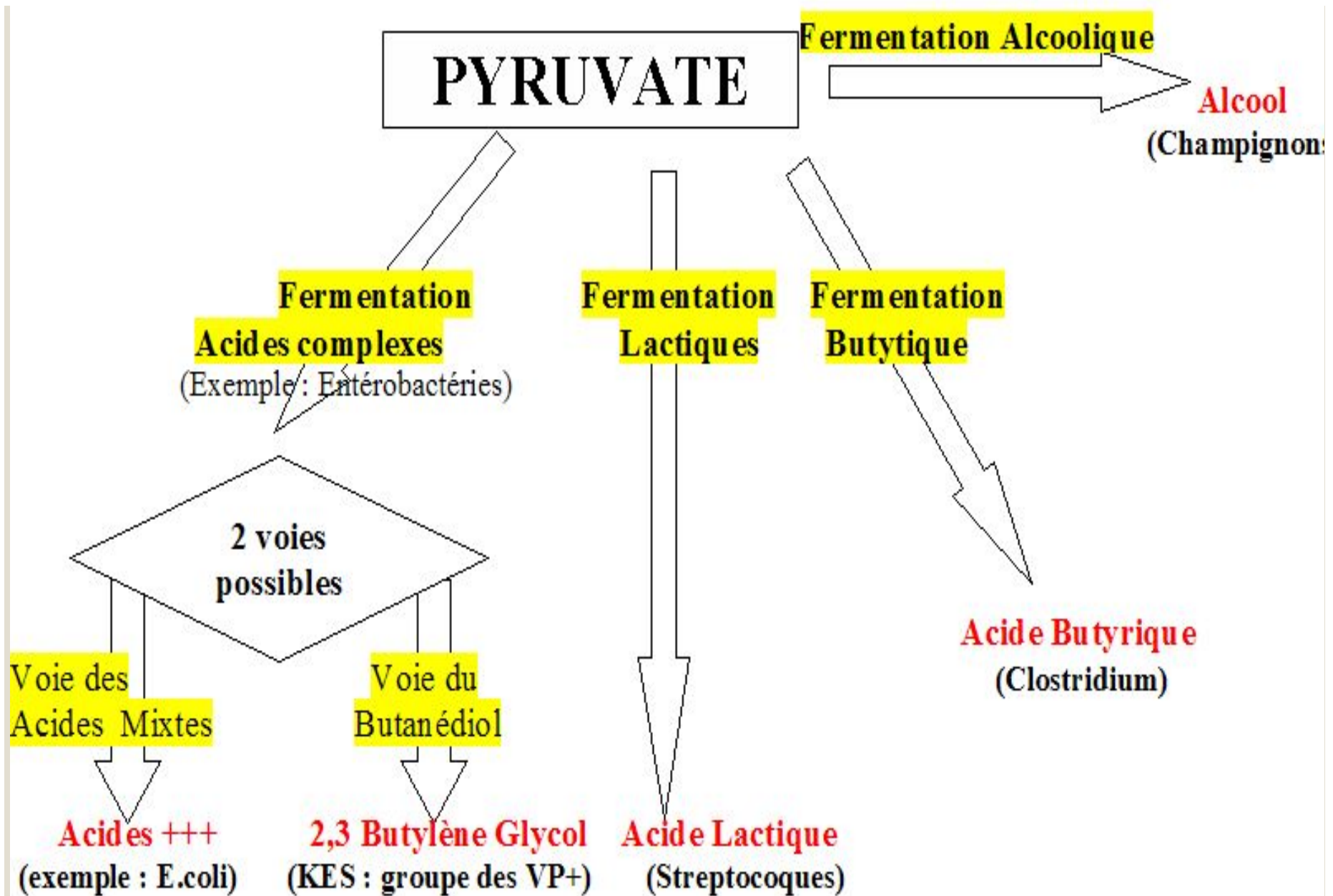
2,3 Butylène Glycol  
(KES : groupe des VP+)

Fermentation  
Lactiques

Acide Lactique  
(Streptocoques)

Fermentation  
Butyrique

Acide Butyrique  
(Clostridium)



# la fermentation Acides complexes

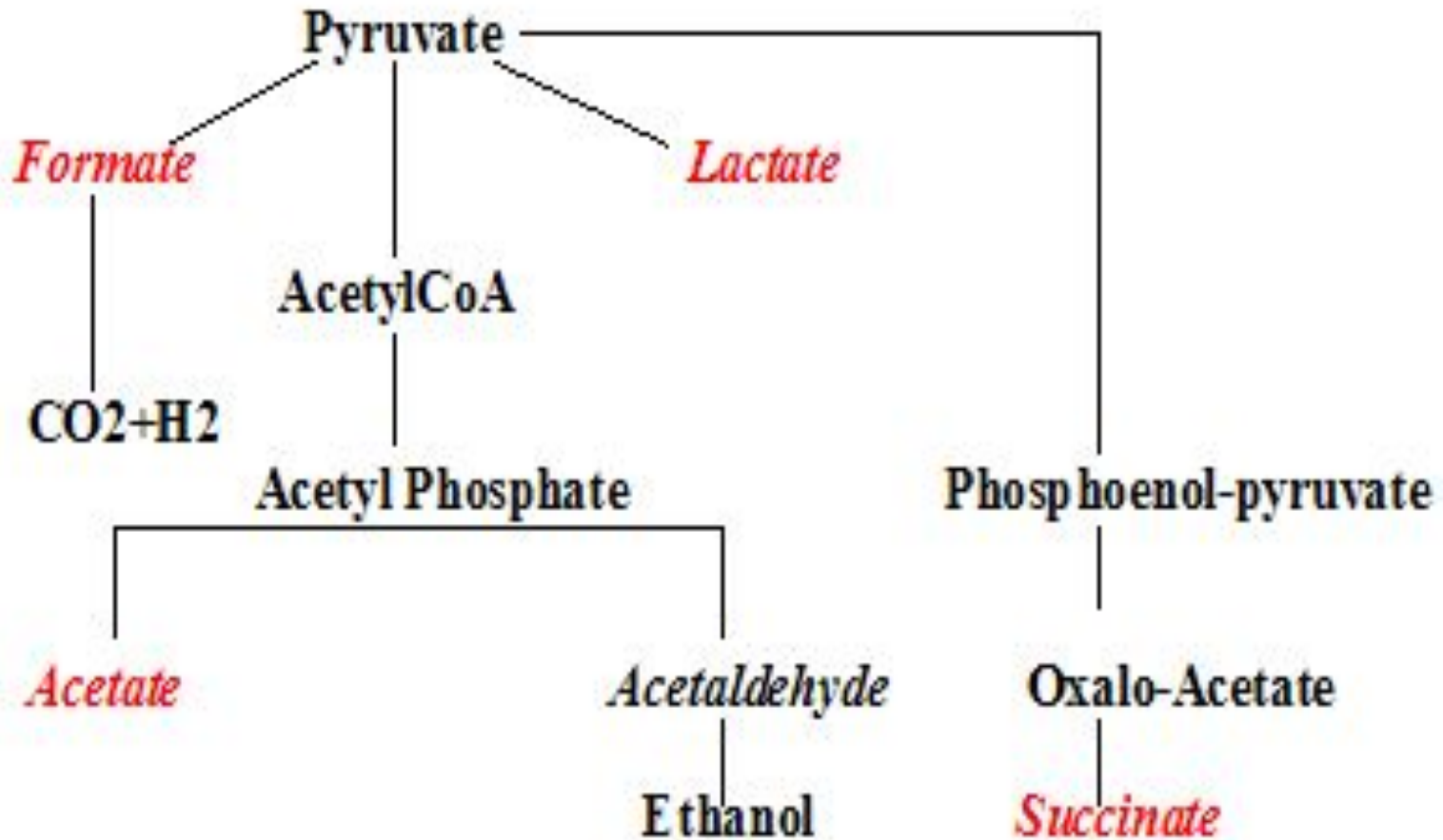
C'est le type de fermentation le plus répandu chez les bactéries.

Elle peut se présenter sous 2 formes possibles:

- fermentation Acide Mixte
- fermentation butanédiolique



# Fermentation Acide Mixte



L'accumulation d'Acides dans le milieu de culture aboutit à un PH final bas



# Fermentation butanédiolique

2 molécules de Pyruvate

CO<sub>2</sub>

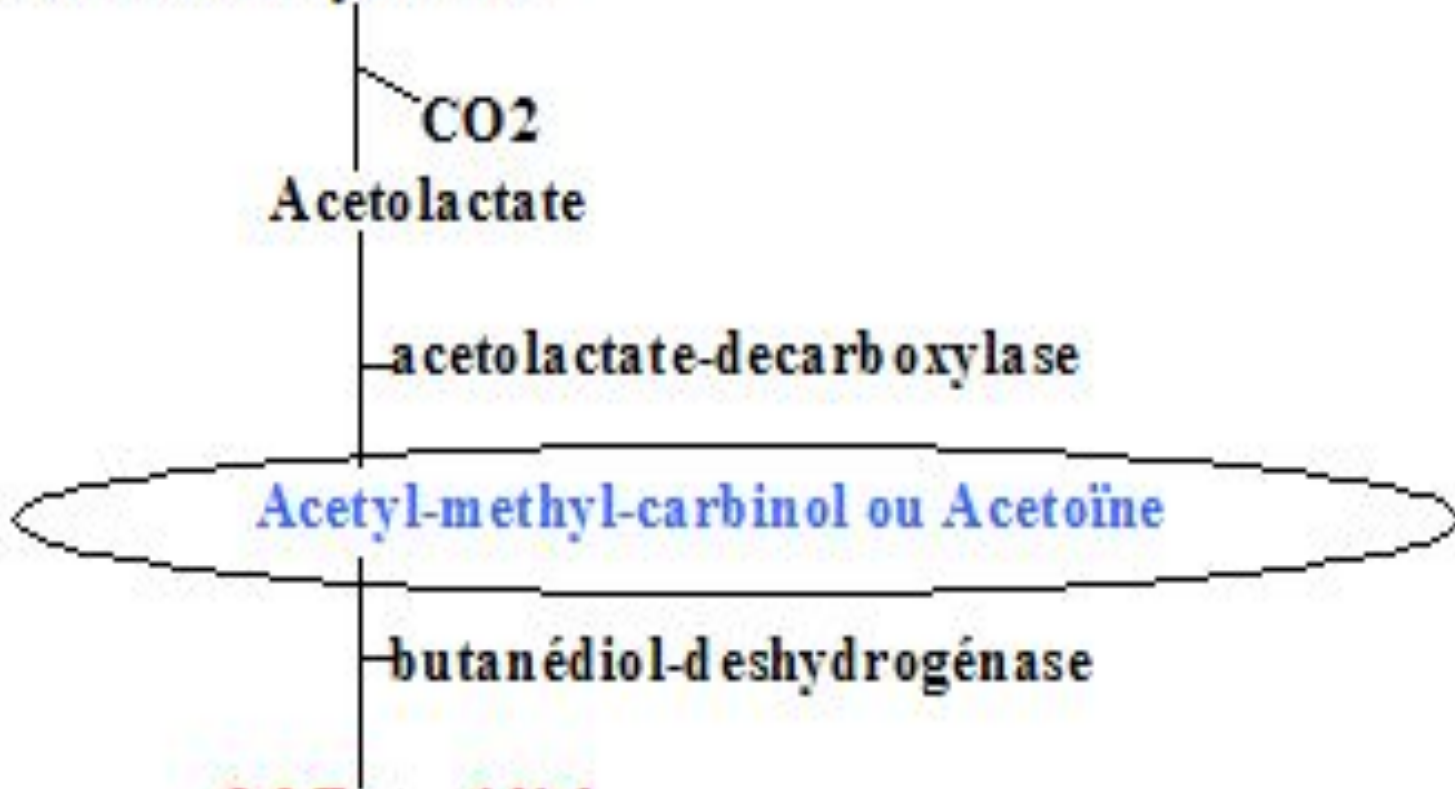
Acetolactate

acetolactate-decarboxylase

Acetyl-methyl-carbinol ou Acetoïne

butanédiol-deshydrogénase

2,3 Butanédiol



# Fermentation lactique

On distingue 3 modèles:

- **Fermentation Homolactique** : retrouvée chez les Streptocoques : C'est une fermentation sans production de gaz et s'accompagnant d'une diminution importante du PH du milieu.
- **Fermentation Hétérolactique**: retrouvée chez les Lactobacilles, Comprend une production importante de CO<sub>2</sub> et un PH bas.
- **Fermentation Aceto-lactique**: retrouvée chez des bactéries du genre Bifidobacterium , s'accompagne de la production d'un mélange d'acide lactique et acétique.

# Fermentation Alcoolique

C'est une fermentation retrouvée chez les champignons et les cellules végétales.

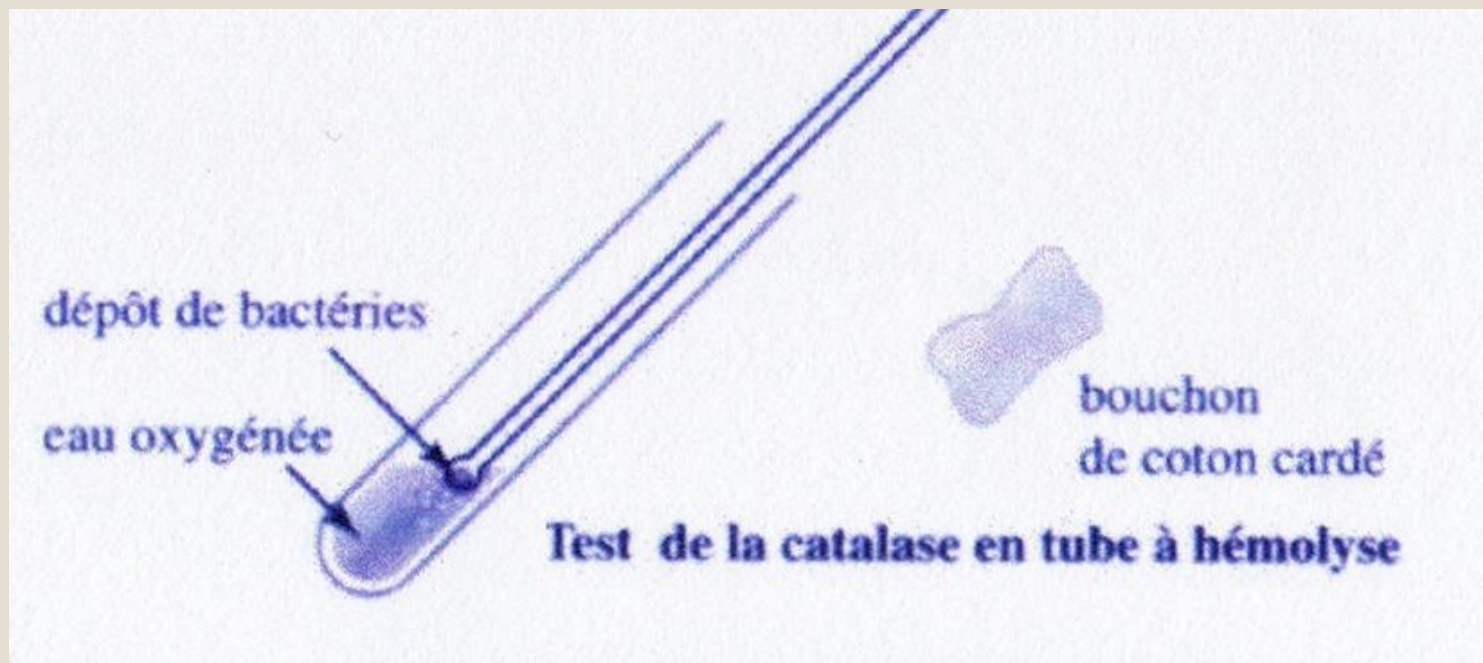
# Fermentation Butyrique

Elle aboutit à l'Acetate , le Butyrate,  $H_2$  et  $CO_2$  et qui est retrouvée chez les Clostridies dits Saccharolytiques.

# Application au laboratoire

**Recherche de la catalase** : on met en présence une colonie microbienne et une goutte d'eau oxygéné sur une lame .

L'apparition de bulles d'air signe la présence d'une catalase .



**Catalase -**



**Catalase +**





# Etude de la Voie d'Attaque des Glucides: épreuve de HUGH et LEIFSON

MEVAG

