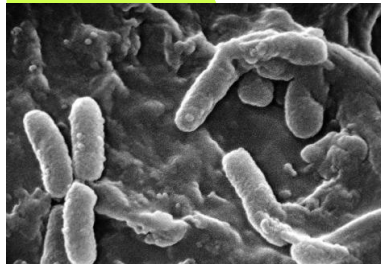
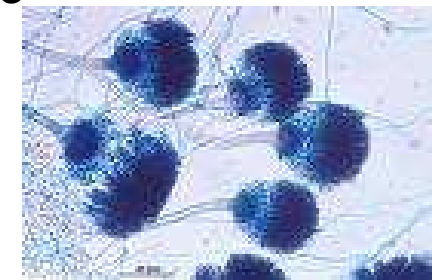


Levure



Bactéries

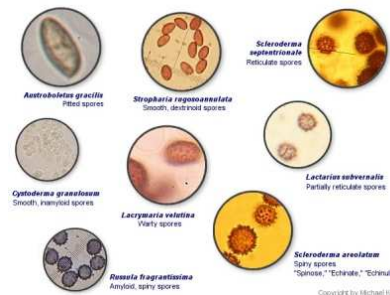
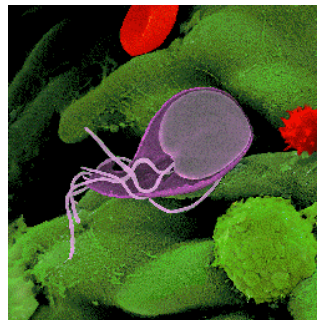
Microbiologie



Champignons



Virus



Spores

Parcours de la microbiologie à l'ISARA

- **1^{ère} année :**

1. Microbiologie Générale

- **2^{ème} année : SNV S3 et S4 (M-H. Chatain)**

Micro-organismes S3 (M-H. Chatain) :

2. Nutrition Bactéries
3. Croissance Bactérienne
4. Métabolismes
5. Taxonomie

Micro-organismes S4 :

1. Microbiologie de l'homme (M-H. Chatain)
Ecosystème digestif
2. Microbiologie des eaux (M-H. Chatain)
3. Microbiologie du sol (J-F. Vian)

- **3^{ème} année : UP transformation des produits alimentaires (Y. Demarigny)**

- **4^{ème} année : Qualité, Sécurité, Environnement**

- **5^{ème} année : CIPAL, GIDE, MFE**

Plan de cours Micro-organismes S3

1. Microbiologie générale (1^{ère} année)
2. Nutrition bactérienne
3. Croissance bactérienne
4. Métabolismes
5. Taxonomie

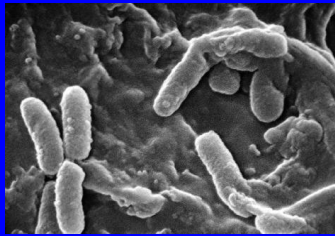
4 cours de 1,5 h et 4TPs de 2H

Contrôl du TP = 30 % de la note finale

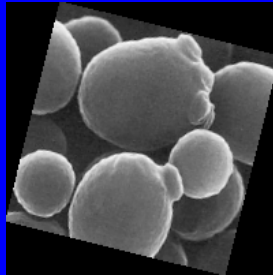
Examen écrit = 70 % de la note finale

Diversité des micro-organismes

Les microbes volent



Bactéries



Levures



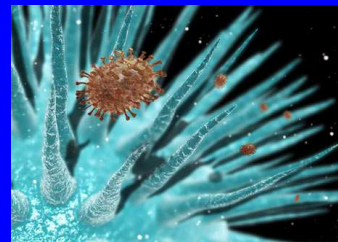
Champignons



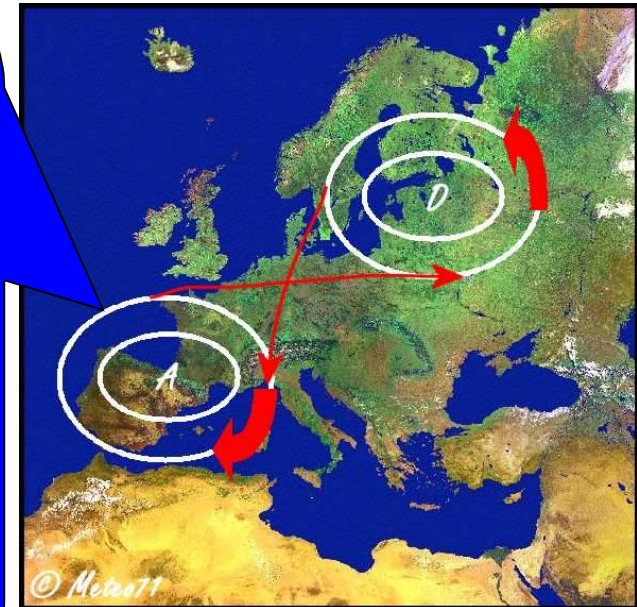
Protozoaires



Spores



Virus

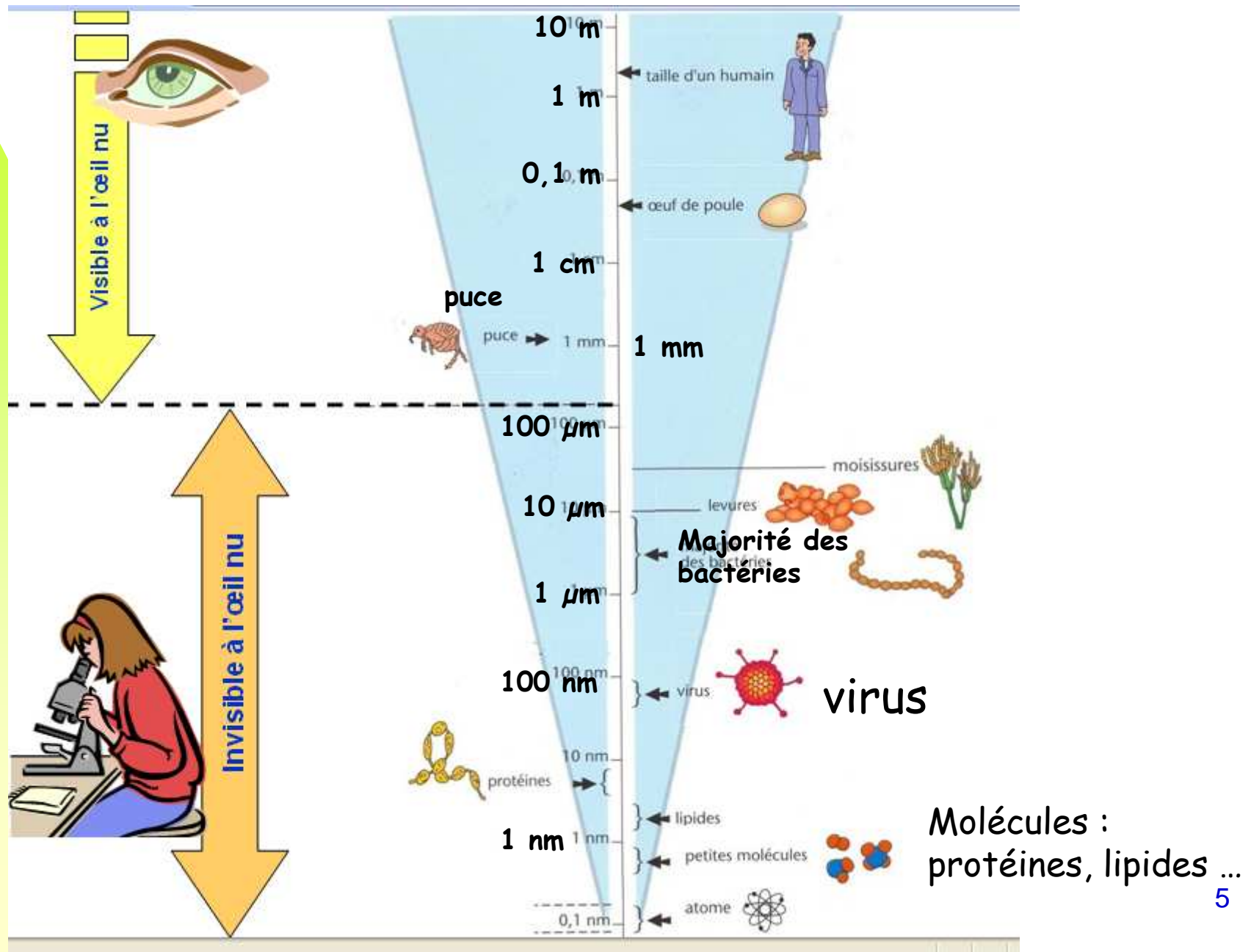


Procaryotes

Eucaryotes

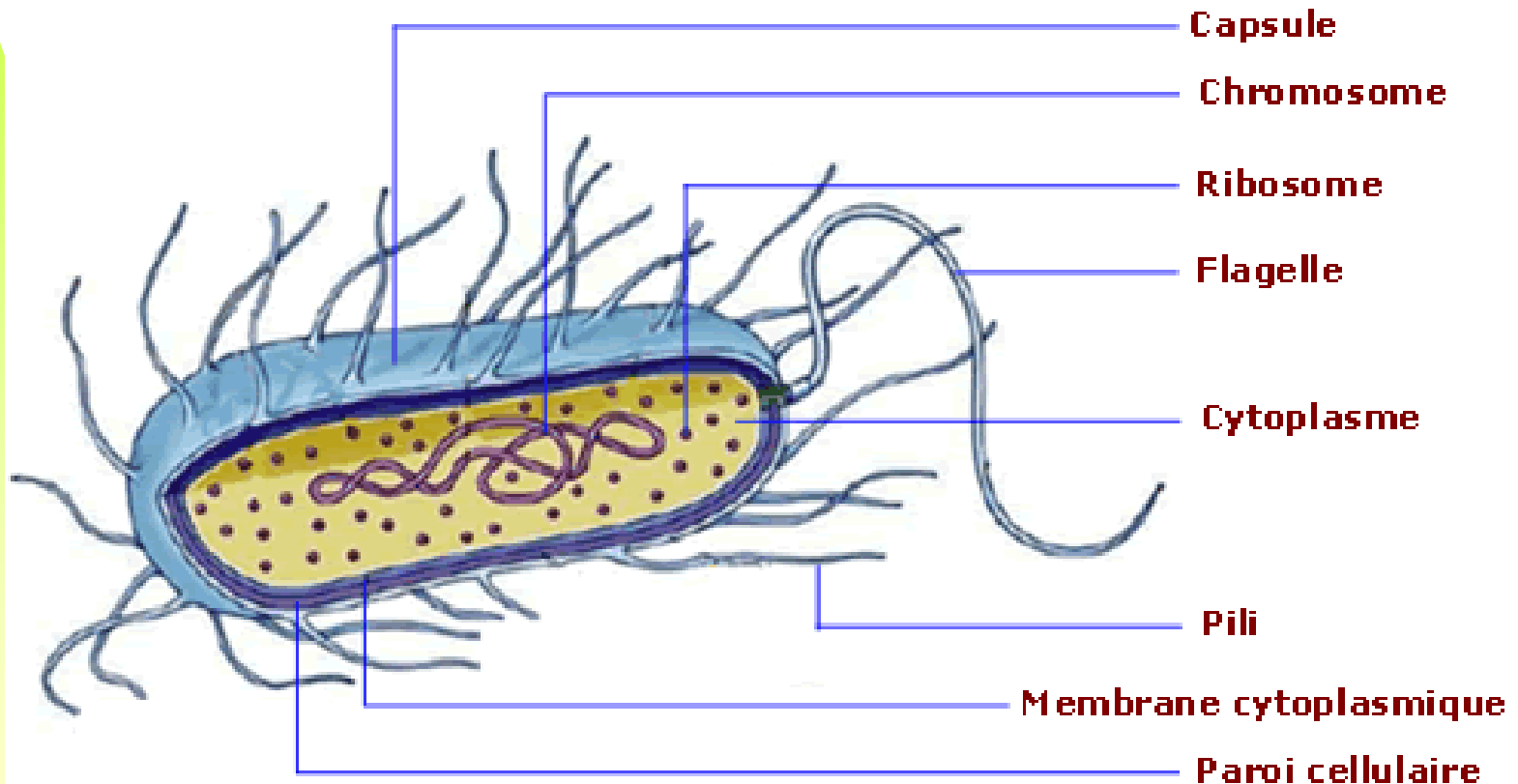
Virus

Introduction Taille des micro-organismes

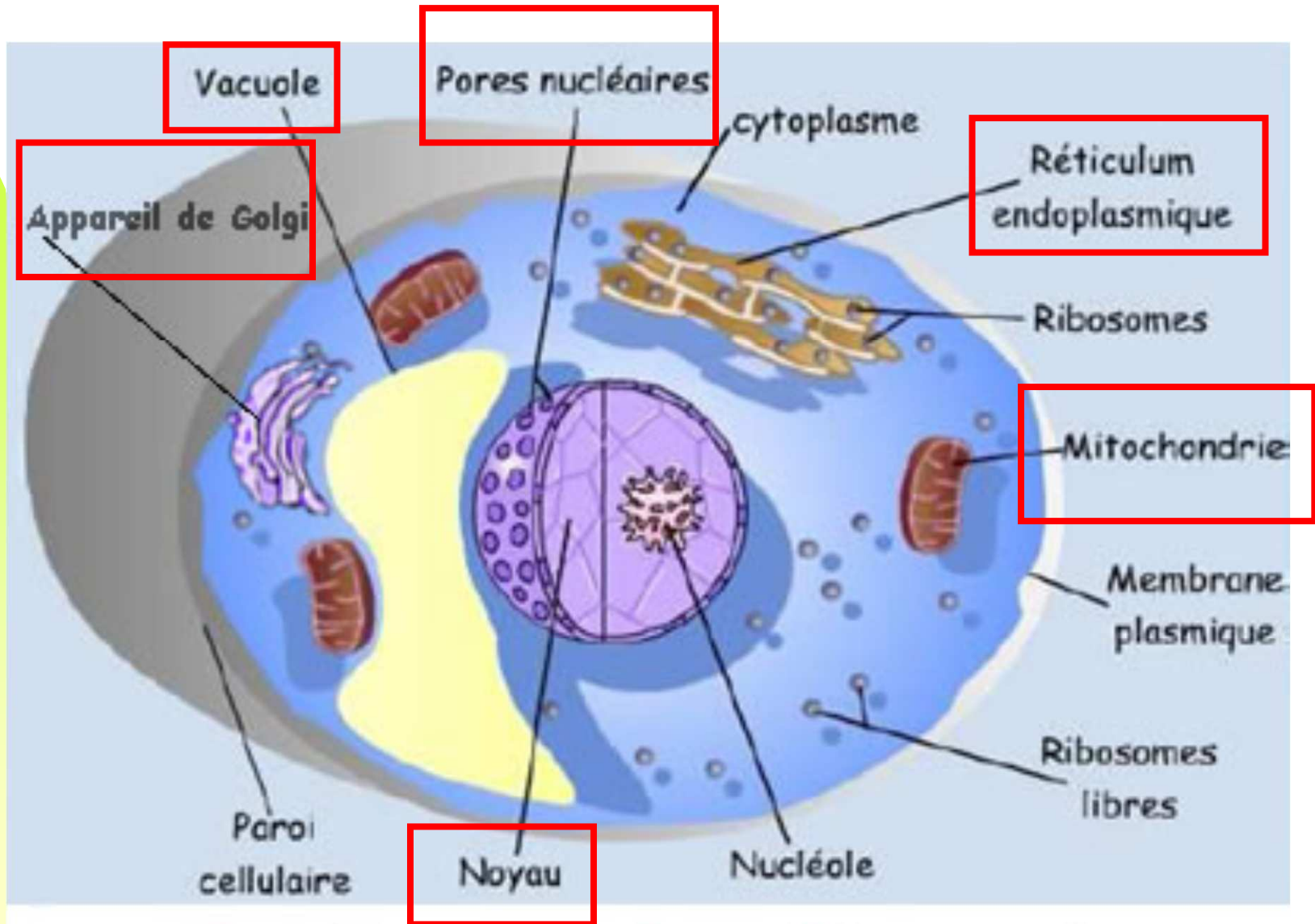


Rappel : Procaryotes

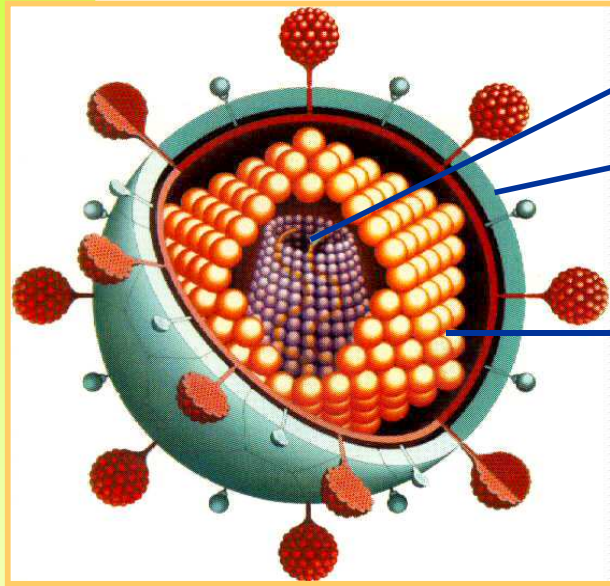
Structure d'une cellule procaryotes (bactéries)



Rappel : Eucaryotes



virus



Génome (AND ou ARN simple ou double brins)

Enveloppe

Spicule

Capside

Composants de base

Composants optionnels

= diamètre de 20nm

= ce ne sont que des gènes enfermés dans une coque protéique

Cours 2 : Nutrition des micro-organismes

I - Besoins nutritionnels

II - Entrée des éléments

III - Milieux de culture

I - Besoins nutritionnels

Tous les micro-organismes ont besoin :

eau, source de carbone, source d'énergie,
sources d'azote et d'éléments minéraux...



Prototrophes

Certains nécessitent un facteur de croissance



Auxotrophes

I - Besoins nutritionnels

A- Macro-éléments (macronutriments)

- 1 - Source de carbone
- 2 - Source d'azote
- 3 - Source de soufre et de phosphore

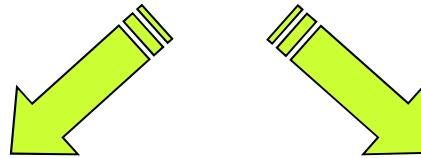
B- Micro-éléments (oligoéléments)

C- Source d'Énergie

D - Facteurs de croissances pour certains

A- Macroéléments

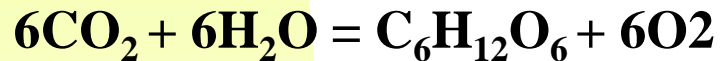
1- Source de carbone



Bactéries autotrophes

- CO₂ comme seule source de carbone

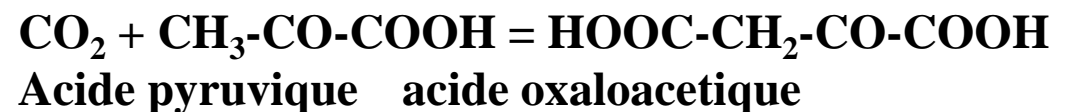
Exemples : Cyanobactéries



Bactéries hétérotrophes

- composés organiques
- rôle du CO₂

Exemples : *Escherichia coli*



A- Macroéléments

2-Source d'azote

- Composés inorganiques :
 - Ammoniaque, sels d'ammonium
 - Nitrites et Nitrates
- N2 organique : R-NH₂

3- Source de Soufre et de Phosphore

- Soufre : sous forme de sulfate ou composés soufrés organiques (biotine, thiamine)
- Phosphore : sous forme de phosphate inorganique.

B - Micro-éléments

Na, K, Mg et le Cl₂ (mg/l)

- Jouent un rôle dans l'équilibre physico-chimique de la cellule et le maintien d'un pH constant
- Activité enzymatique, stabilisation des ribosomes et des membranes.

D'autre éléments : Fer; Mn, Mg, Vanadium...

- Jouent le rôle de cofacteurs ou d'activateurs enzymatiques

C-Source d'énergie

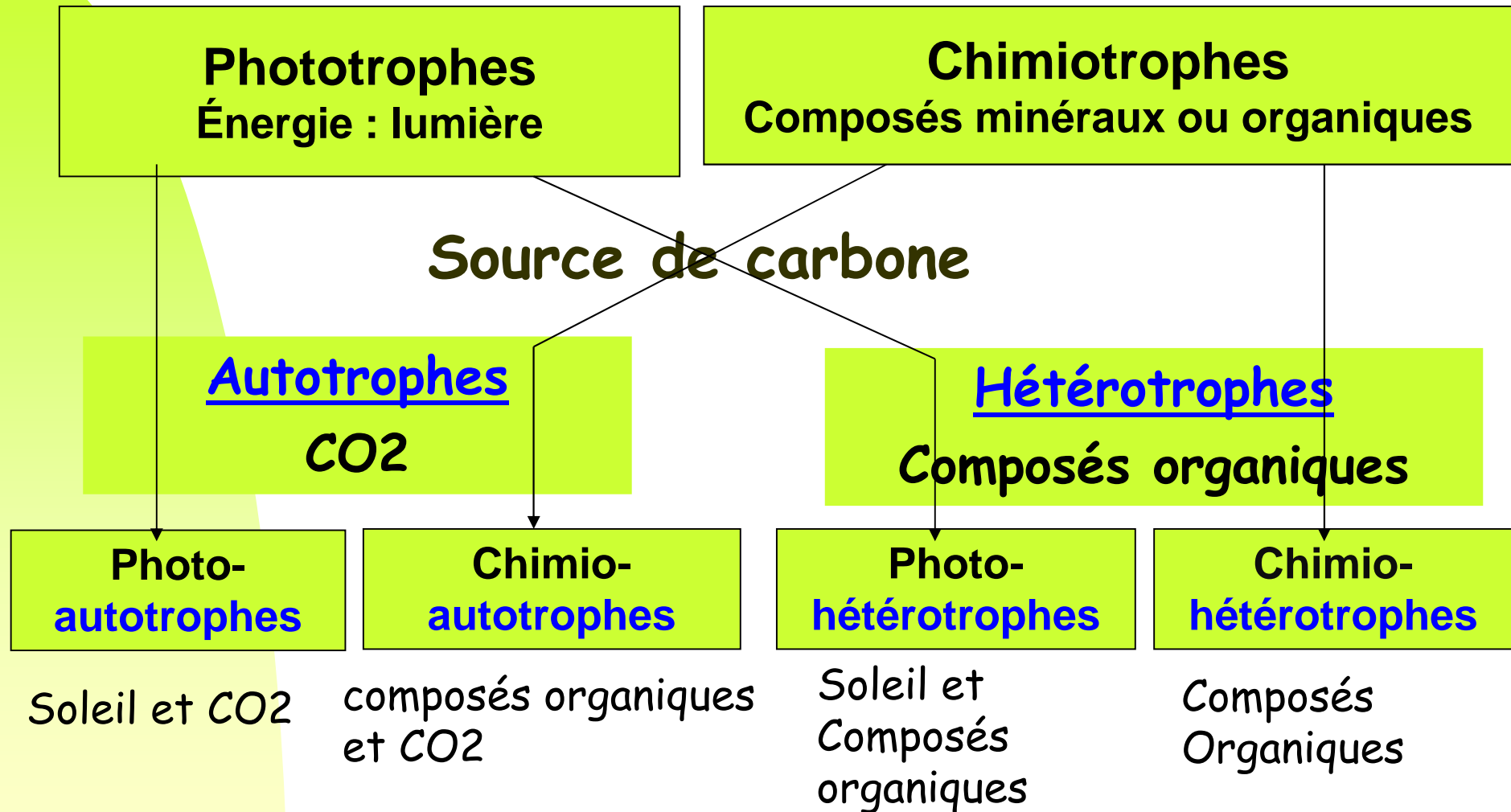
Deux types de sources d'énergie



Phototrophes
Énergie : lumière

Chimiotrophes
Composés minéraux ou organiques

Source d'énergie

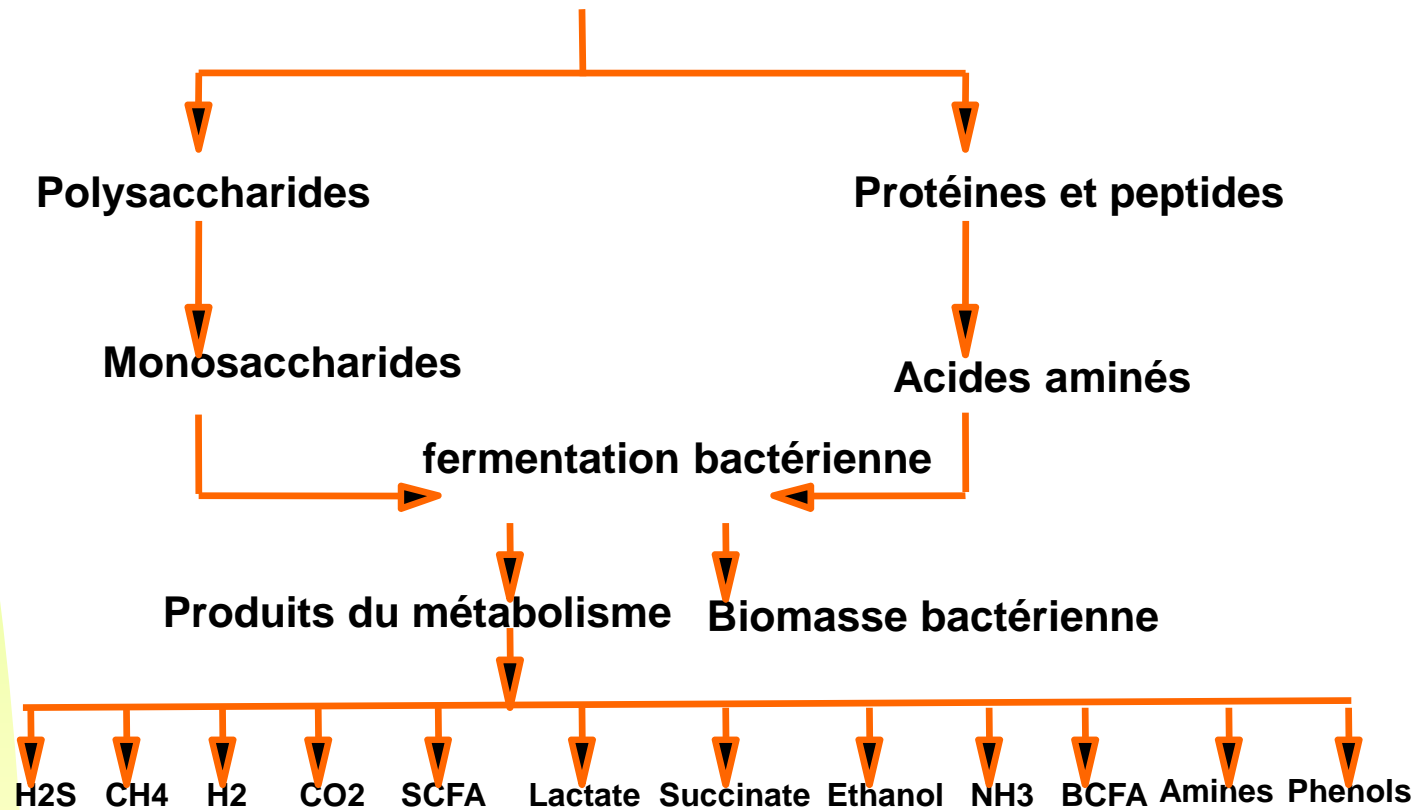


La diversité métabolique

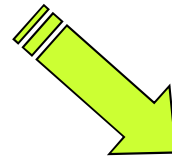
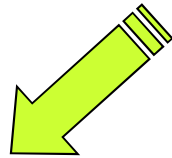
Type	Source d'énergie	Source de carbone
Photoautotrophes	Soleil	CO ₂
Chimioautotrophes	Matière inorganique	CO ₂
Photohétérotrophes	Soleil	Composés organiques
Chimiohétérotrophes	Composés organiques	Composés organiques

Exemples de Chimio-hétérotrophes

Substrats



B - Besoins spécifiques-Facteurs de croissance



Prototrophes

ne nécessitent pas de
facteurs de croissance

Auxotrophes

nécessitent des facteurs de
croissance

Facteur de croissance \neq Métabolite essentiel

Présent dans
l'environnement

Synthétisé par bactéries

Exemple : Facteurs de croissance

Ex : *E. coli* est capable de se développer dans un milieu avec une source de Carbone et d'N et des sels minéraux.

P. Vulgaris, une autre entérobactérie est totalement incapable.

A moins qu'on rajoute au milieu de la nicotinamide.

Cette substance est synthétisée chez *E. coli* mais pas chez *Pr. Vulgaris*.

Certaines bactéries n'exigent **qu'un seul** facteur de croissance, d'autres nécessitent un très grand nombre, certains *Lactobacillus* exigent **18 acides aminés** dans le milieu.

Facteurs de croissance

Trois classes principales :

- Acides aminés
- Purines et pyrimidines
- Vitamines

Peut être proportionnelle à la croissance

II - Entrée des nutriments

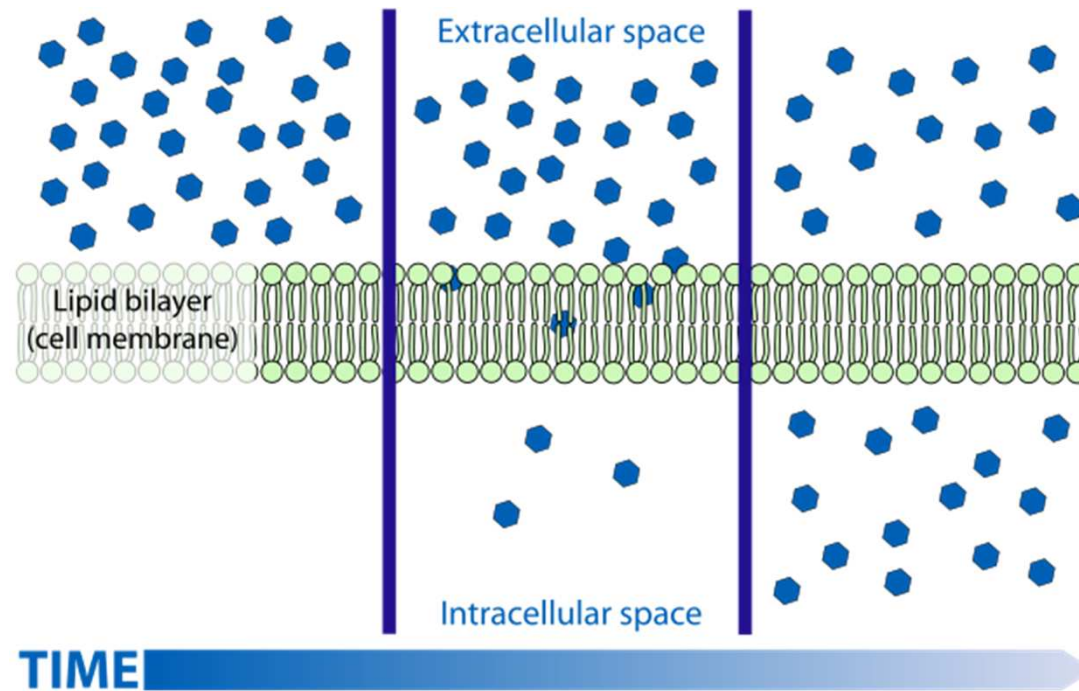
- Diffusion facilitée
 - Diffusion passive
 - Diffusion facilitée
- Transport actif
- Translocation de groupes

II - Entrée des nutriments

Diffusion simple = Passive

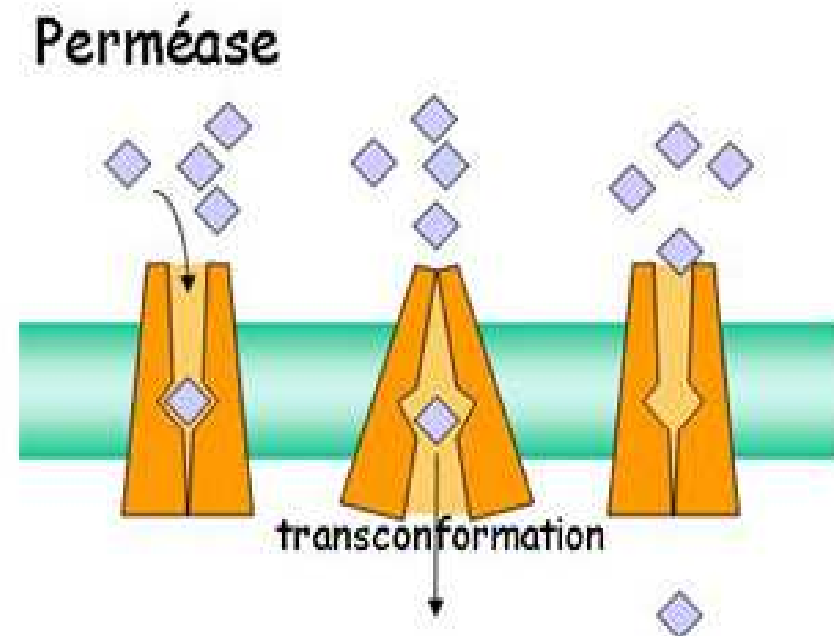
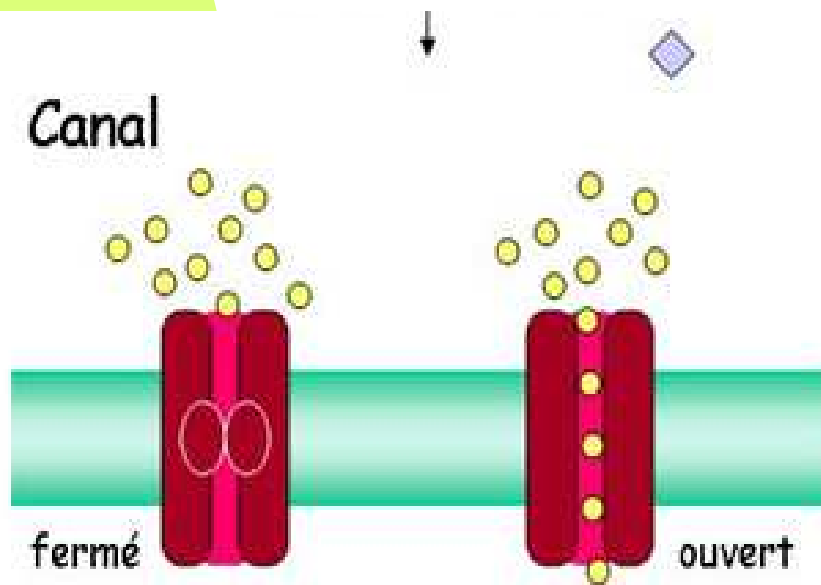
Suit le gradient de concentration

Va du plus concentré au moins concentré

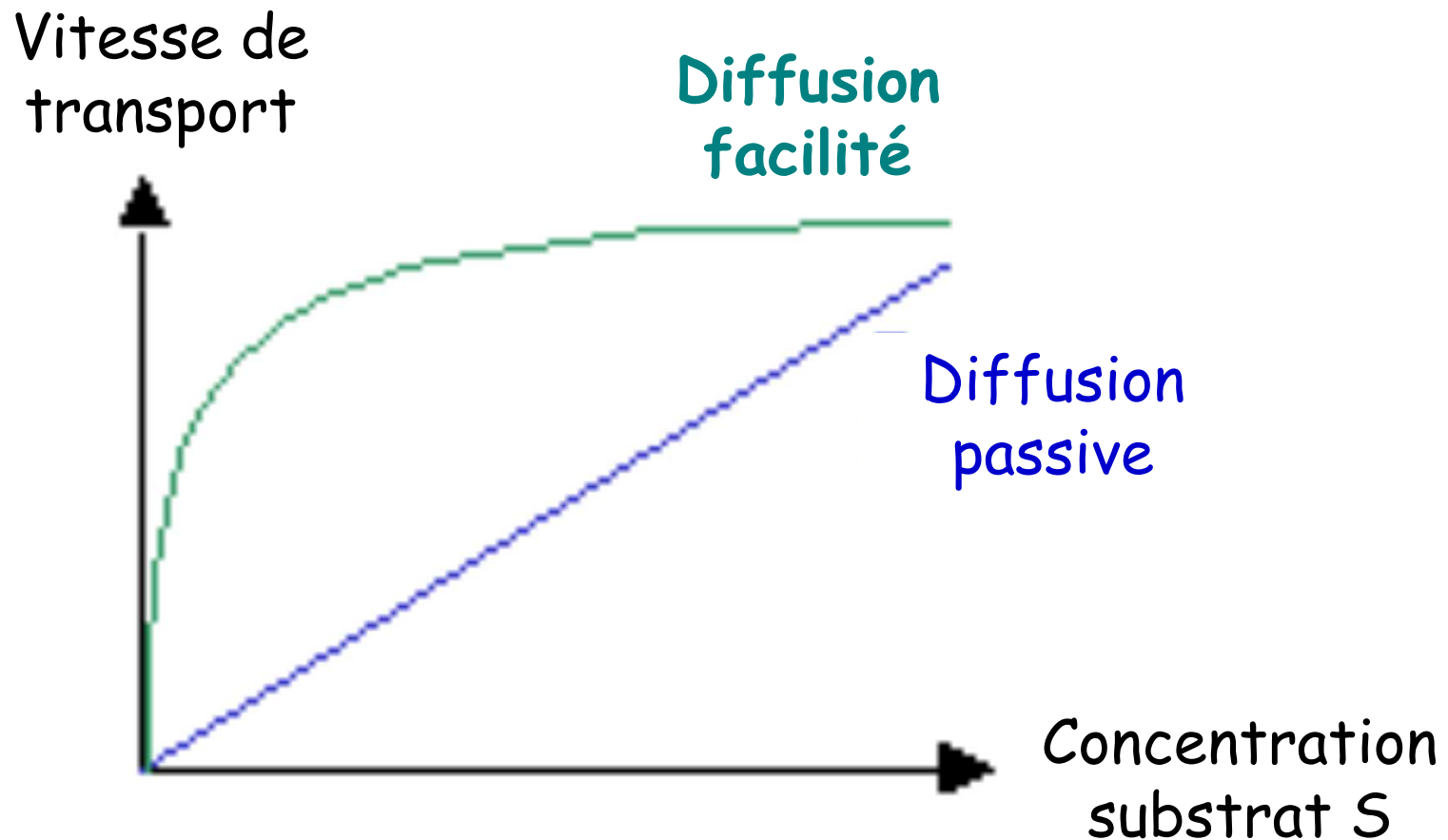


Diffusion facilitée

- Suit le gradient de concentration
- Grâce aux protéines de transport canal ou perméase

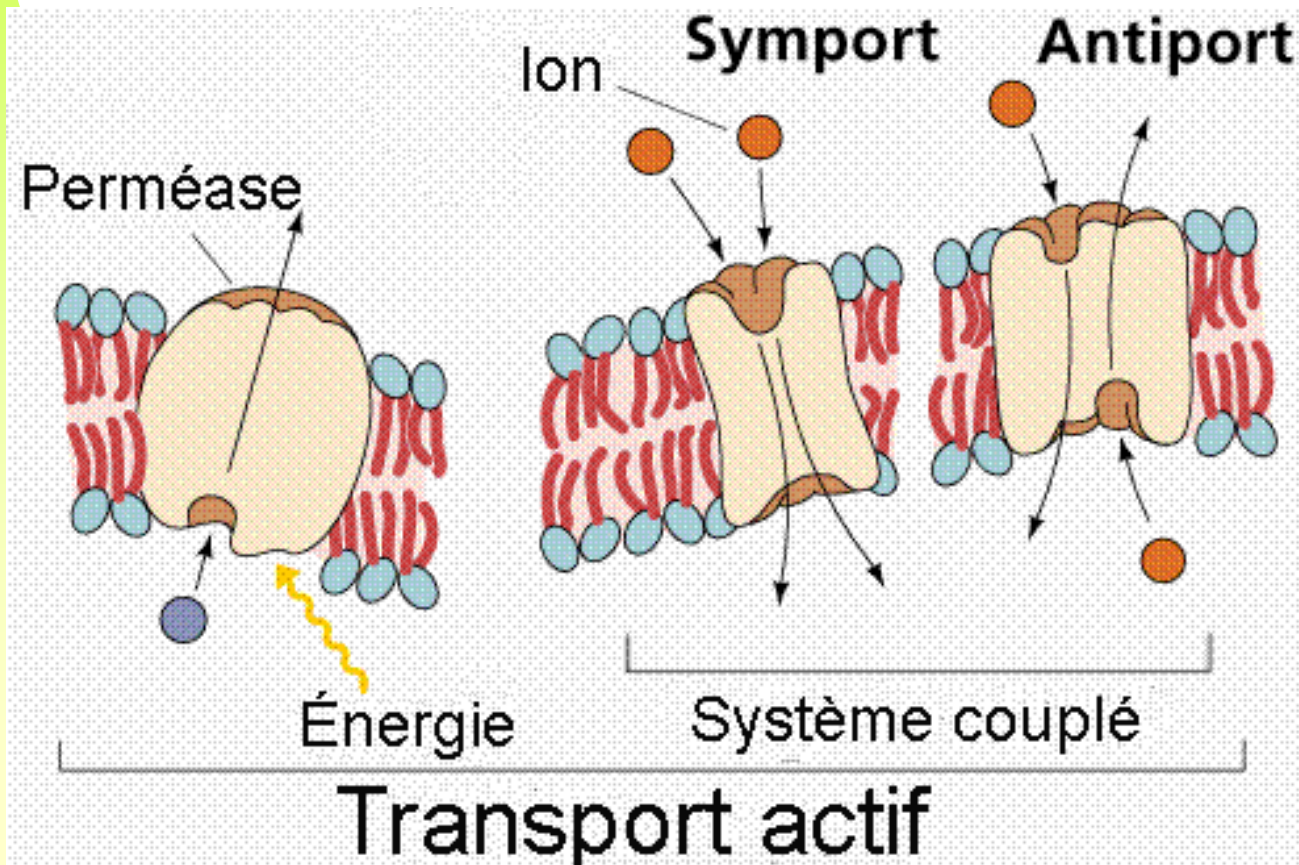


Diffusion passive et facilité



Transport actif

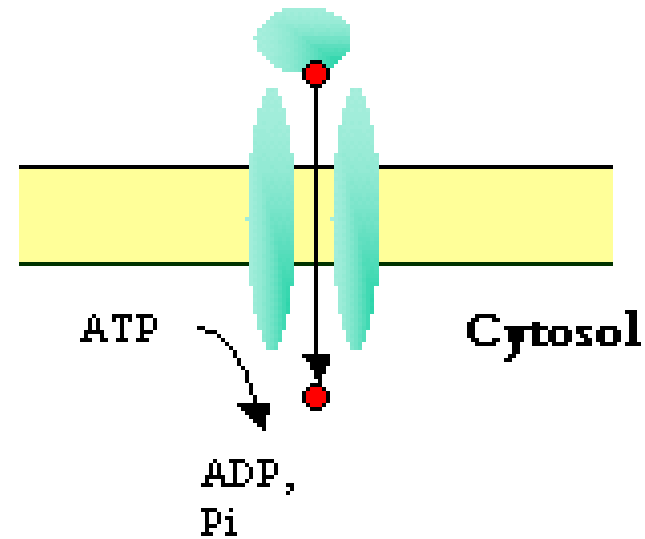
- Va à l'encontre du gradient de concentration
- Besoin d'une protéine transporteur et d'énergie



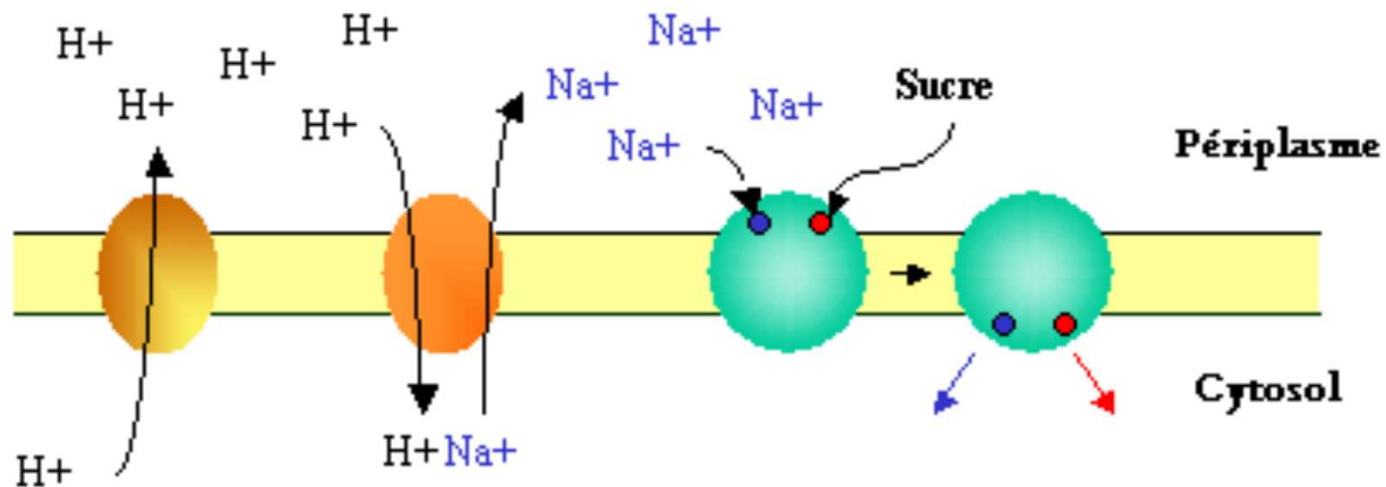
II - Entrée des nutriments

Transport actif

ATPasique



Gradient chimiques



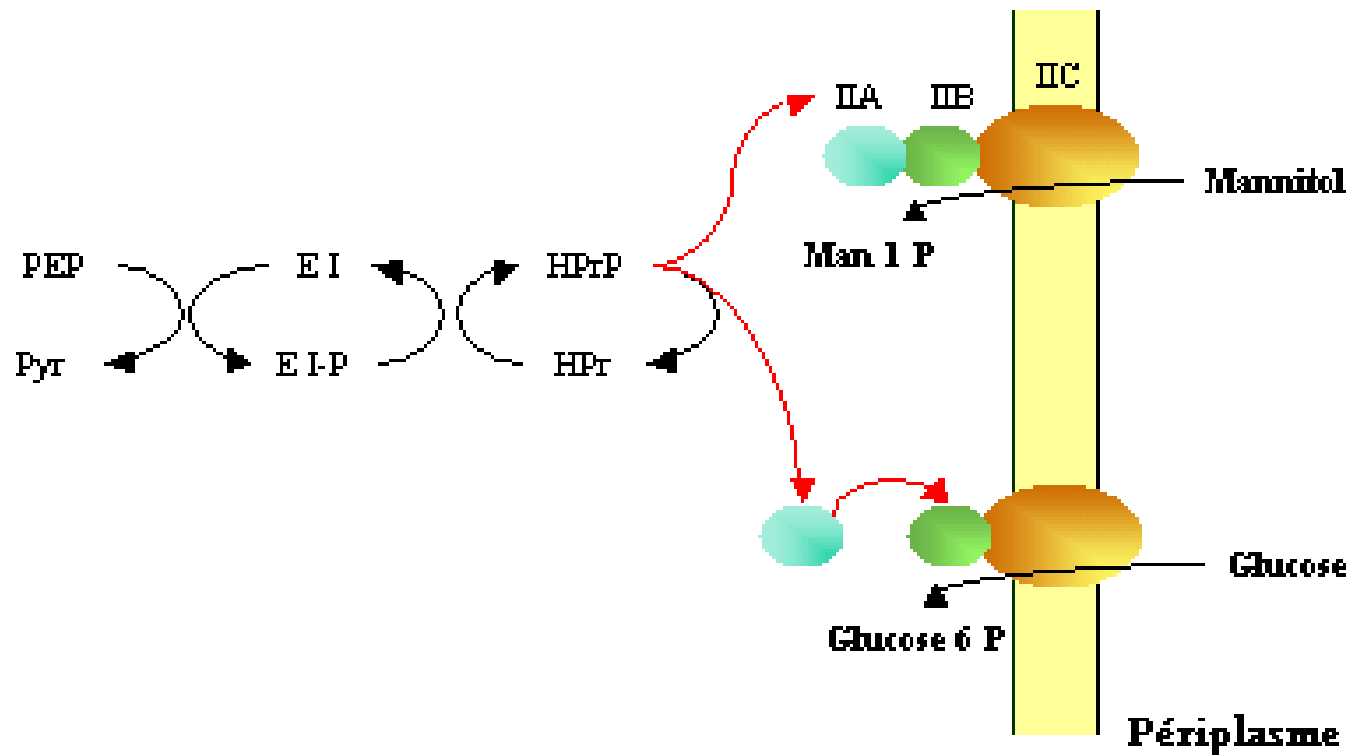
II - Entrée des nutriments

Translocation de groupe

Modification chimiques

Le plus connu est la **phosphotransférase**

PEP + sucre (extérieur) → pyruvate + sucre (intérieur) - P

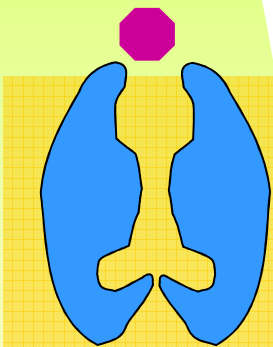


II - Entrée des nutriments

Exemple : Les transports chez *E.coli*

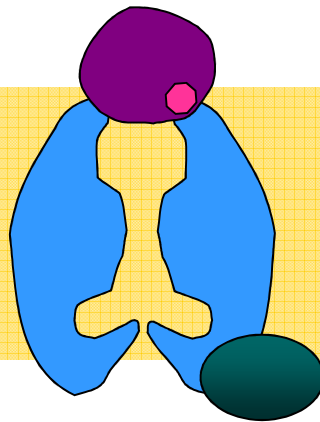
diffusion
facilitée

glycérol



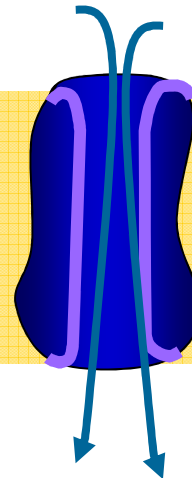
transport actif
sensible au choc
osmotique

maltose



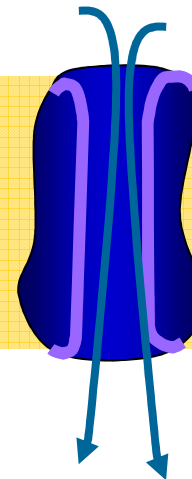
symport à
proton

lactose



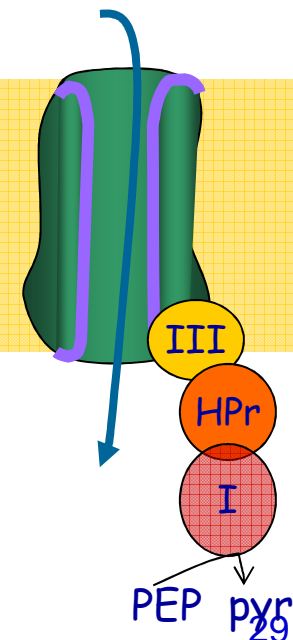
symport à
sodium

mélibiose



translocation
de groupe

glucose





III - Culture des bactéries

Milieus de culture : généralités

- Leurs caractéristiques varient de même que leur composition.
- Utilisés pour l'isolement et la maintenance de cultures pures et aussi pour les identifications.
- Recherche, diagnostic, fermentations industrielles.

Milieux de culture : généralités

Composition d'un milieu minimum:

- Une source de **carbone** et d'énergie, généralement le glucose.
- Une source de **potassium** et de **phosphore**: K_2HPO_4
- Une source d'**azote** et de **soufre**: $(NH_4)_2SO_4$
- Une source de **magnésium**: $MgCl_2$
- Une source de **calcium**: $CaCl_2$
- Une source de **fer**: on emploie le citrate de fer
- Une source d'**oligo-éléments**: sels de Cu, Zn, Co, Ni, B, Ti
- Une source d'eau, (*stérile*)
- Un **tampon pH**: KH_2PO_4 par exemple

Milieux de culture : Classification

- Selon la composition
- Selon la consistance
- Selon l'utilisation

Milieux de culture : Classification

● Selon la composition

Trois types de milieux

- a- Milieux naturels = milieux complexes non définie
- b- Milieux Synthétiques = Milieux Définis
- c- Milieux semi-synthétiques

α -Milieux naturels ou complexe

- ❖ Très utilisés
- ❖ Contenant des composants indéfinis :

- **Peptones**

Peptones pepsiques, peptones trypsiques... de viande
Source de carbone, d'énergie, d'azote

- **Extraits de viande**

Extrait de bœuf : riche en acides aminés, vitamines, peptides, nucléotides, acides organiques, minéraux...

- **Extraits de levures**

Vitamine B, carbone, azote...

a-Milieux naturels ou complexes

Exemple :

Bouillon nutritif (g/l)

Peptone	5
Extrait de bœuf	3

Bouillon de soja

Tryptone (Peptone de caséine)	17
Peptone	3
Glucose	2,5
NaCl	5
K ₂ HPO ₄	2,5

Milieux de culture : Classification selon la composition

b- Milieux Synthétiques = milieux définis

Importants pour bactéries exigent les nutriments

Exemple :

Component	Amount	Function of component
NH ₄ Cl	0.52 g	N source
KH ₂ PO ₄	0.28 g	P and K source
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.25 g	S and Mg ⁺⁺ source
CaCl ₂ 2H ₂ O	0.07 g	Ca ⁺⁺ source
soufre minérale	1.56 g	Energy source
CO ₂	5%*	C source
Water	1000 ml	
pH 3.0		

* Aerate medium intermittently with air containing 5% CO₂.

Milieux de culture : Classification selon la composition

c- Milieux semi-synthétiques

Ils contiennent en plus, **certains composés favorisant la croissance** comme l'extrait de levure (acides aminés + vitamines) ou une peptone

Ex : la gélose EMB (milieu de Teague-Levine)

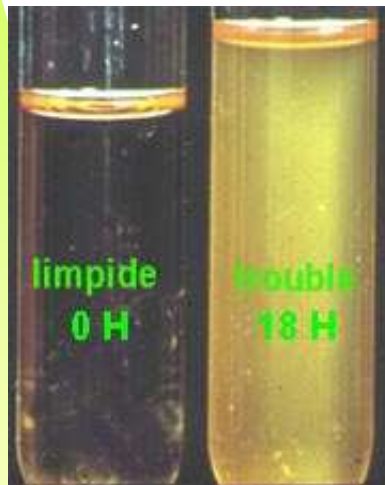
C'est un milieu qui est à la fois sélectif et différentiel utilisé pour isoler les Gram –, entériques.

Peptone	10g
Phosphate dipotassique	2g
Lactose	10g
Eosine	0,4g
Bleu de méthylène	0,065g
Agar-agar	15g
Eau distillée qsp	1000ml

Milieux de culture : Classification

● Selon la consistance : liquide et Solide

Liquides : Bouillons de culture



En tubes



En flacons

**Croissance bactérienne
= trouble du bouillon**

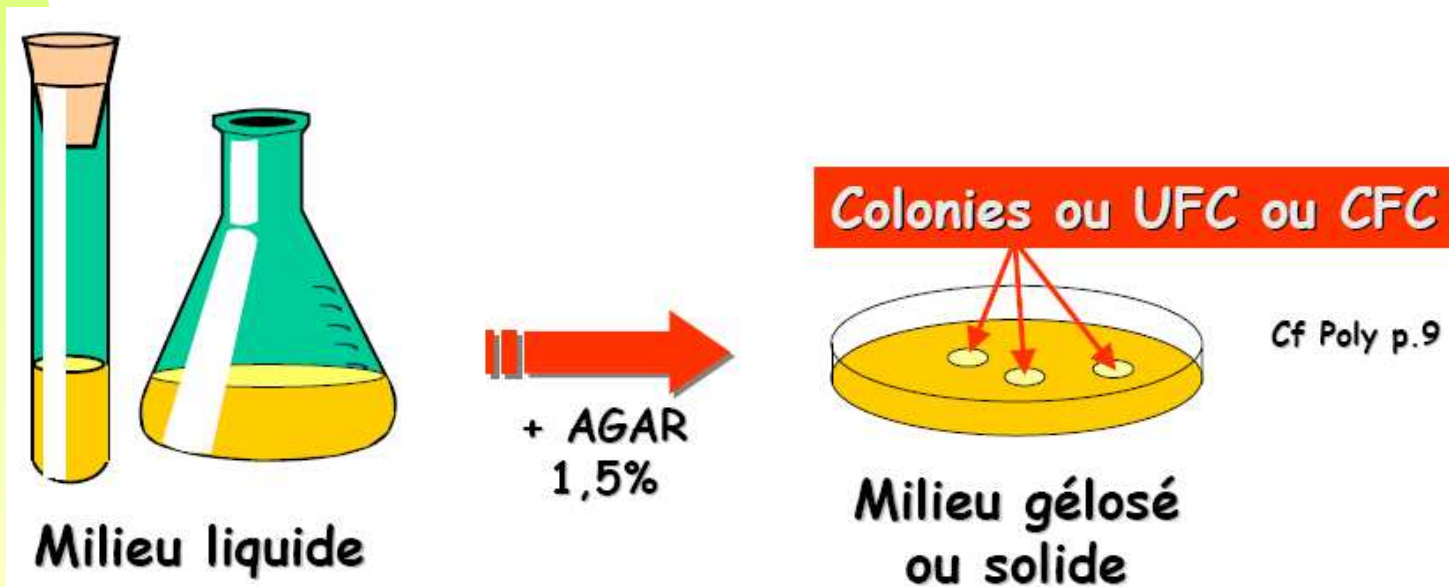
Ex : bouillons d'hémoculture

Milieux de culture : Classification

● Selon la consistance : liquide et Solide

Solides : Milieux gélosés en boîtes de pétri

L'agar : polysaccharide extrait d'algue marine → gélifiant



Milieux de culture : Classification

● Selon l'utilisation

a- Milieux sélectifs

b- Milieux d'enrichissement

a- Milieux sélectifs : exemples

Ex1 : Milieu de Chapman : *Staphylococcus*

Peptone	10g
Extrait de viande	1g
Mannitol	10g
NaCl	75g
Rouge de phénol	0,025g
Agar-agar	15g
Eau distillée	1000ml



L'agent inhibiteur est le NaCl à concentration de 75% qui permet principalement la culture de *Staphylococcus*.

Rouge de Phénol = indicateur de pH.

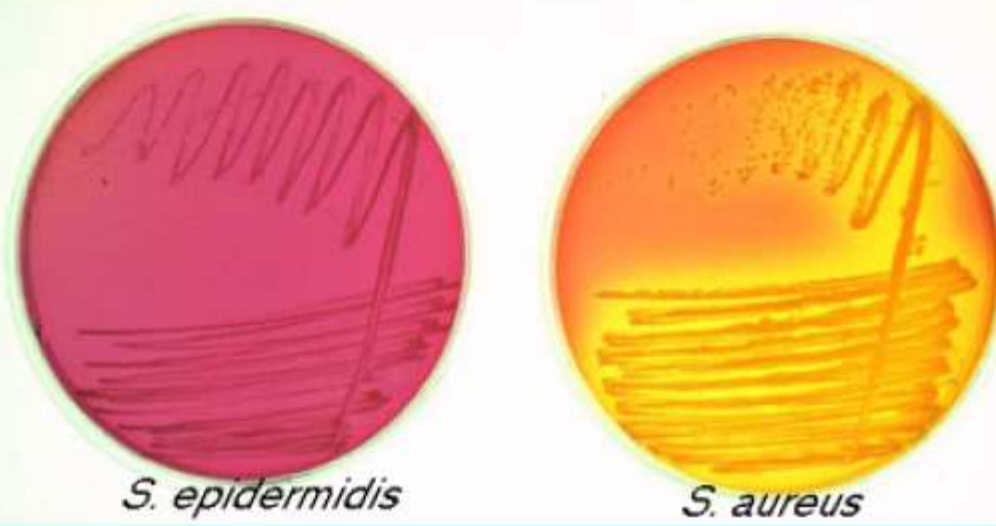
- Si le milieu reste rouge : pas de dégradation de mannitol
- Si le milieu devient jaune, acidification donc, dégradation du mannitol.

Exemple : Milieux sélectifs ou enrichissement

- *Staphylococcus aureus* (Chapman)

Staphylococcus aureus

- Milieu de Chapman
 - 75 g/l NaCl + mannitol



b- Milieux d'enrichissement

Exemple : Milieu de Muller-Kauffmann

Bouillon de viande	900ml
Carbonate de Ca (tampon)	0,5g
Thiosulfate de Na à 50%	100ml
Solution iodo-iodurée	20ml
Vert brillant	0,01g
Bile	50ml

Ce milieu est destiné à rechercher *Salmonella* par coproculture.

Il permet d'enrichir en *Salmonella* et inhiber et retarder la croissance des autres espèces fécales à Gram positif et à Gram négatif.

- La bile inhibe les Gram + et certains bacilles Gram- principalement *E. coli*.

Résumé

- Besoins nutritifs
- Facteurs de croissance
- Comment les micro-organismes transportent des nutriments
- Décrire des différents types de milieux de culture



Questions ???