

# Plan de cours Micro-organismes S3

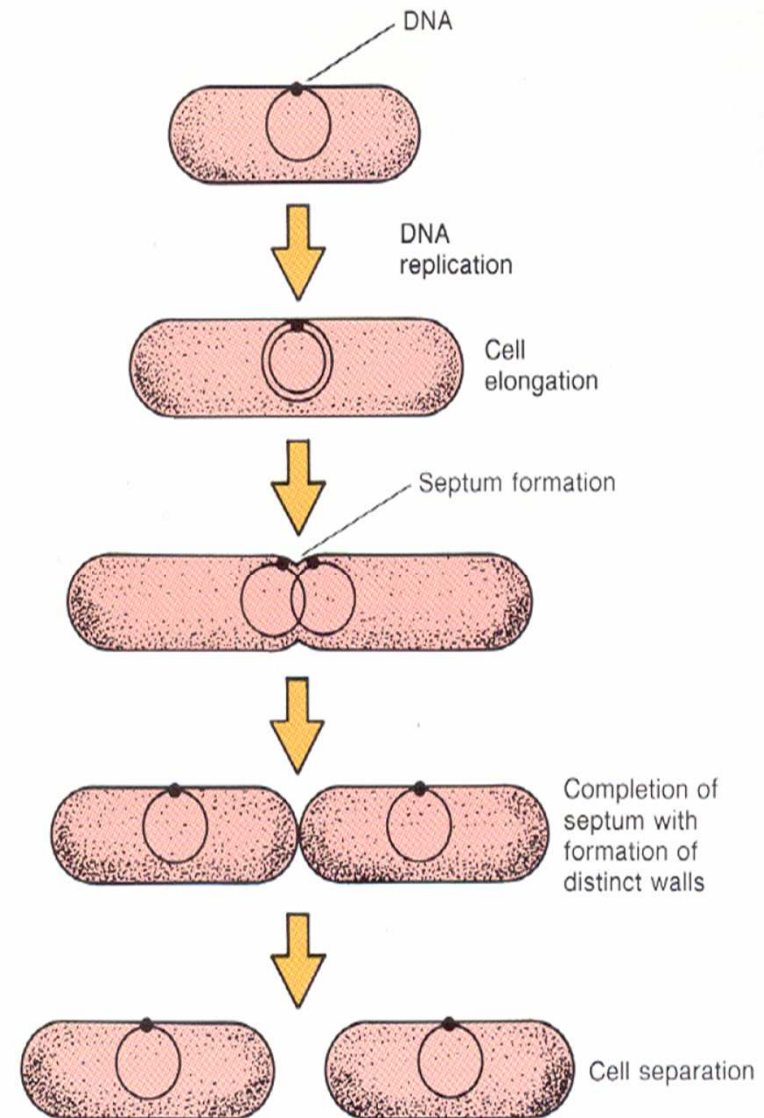
1. Microbiologie générale
2. Nutrition bactéries
- 3. Croissance bactérienne**
4. Métabolismes
5. Taxonomie

# 3 - Croissance bactérienne

- **Courbe de croissance**
  - ◆ Cinétiques de croissance en milieu non renouvelé
  - ◆ Paramètres mathématiques de la croissance
- **Méthodes de mesure de la croissance**
- **Facteurs externes influant sur la croissance**
- **Composés antimicrobiens**

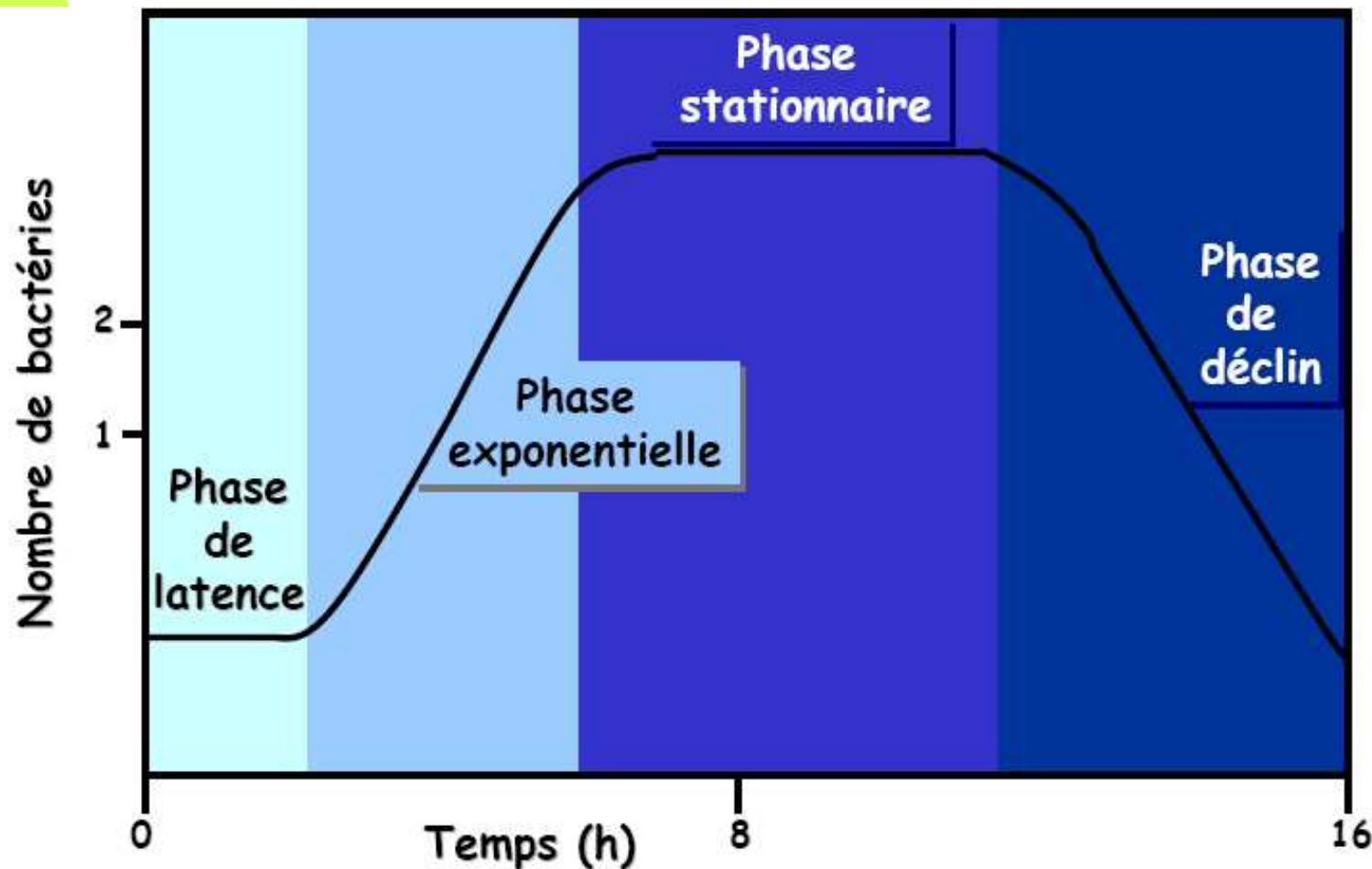
# Croissance

Croissance microbienne  
= augmentation des  
constituants cellulaires  
(taille ou nombre)



# Cinétiques de croissance en milieu liquide non renouvelé (culture batch = discontinue)

4 phases



# Cinétiques de croissance en milieu non renouvelé

**Courbe de croissance = étude en milieu liquide : 4 phases (milieu adapté non renouvelé)**

- **Phase de latence** : Croissance 0  
Accoutumance des bactéries à l'environnement
- **Croissance exponentielle** : Taux de croissance maximal
- **Phase stationnaire** : arrêt de la reproduction (facteur limitant)  
taux de croissance nul (division = autolyse)
- **Phase de déclin** : ressources épuisées, le nombre de bactéries ↘

# Croissance bactérienne

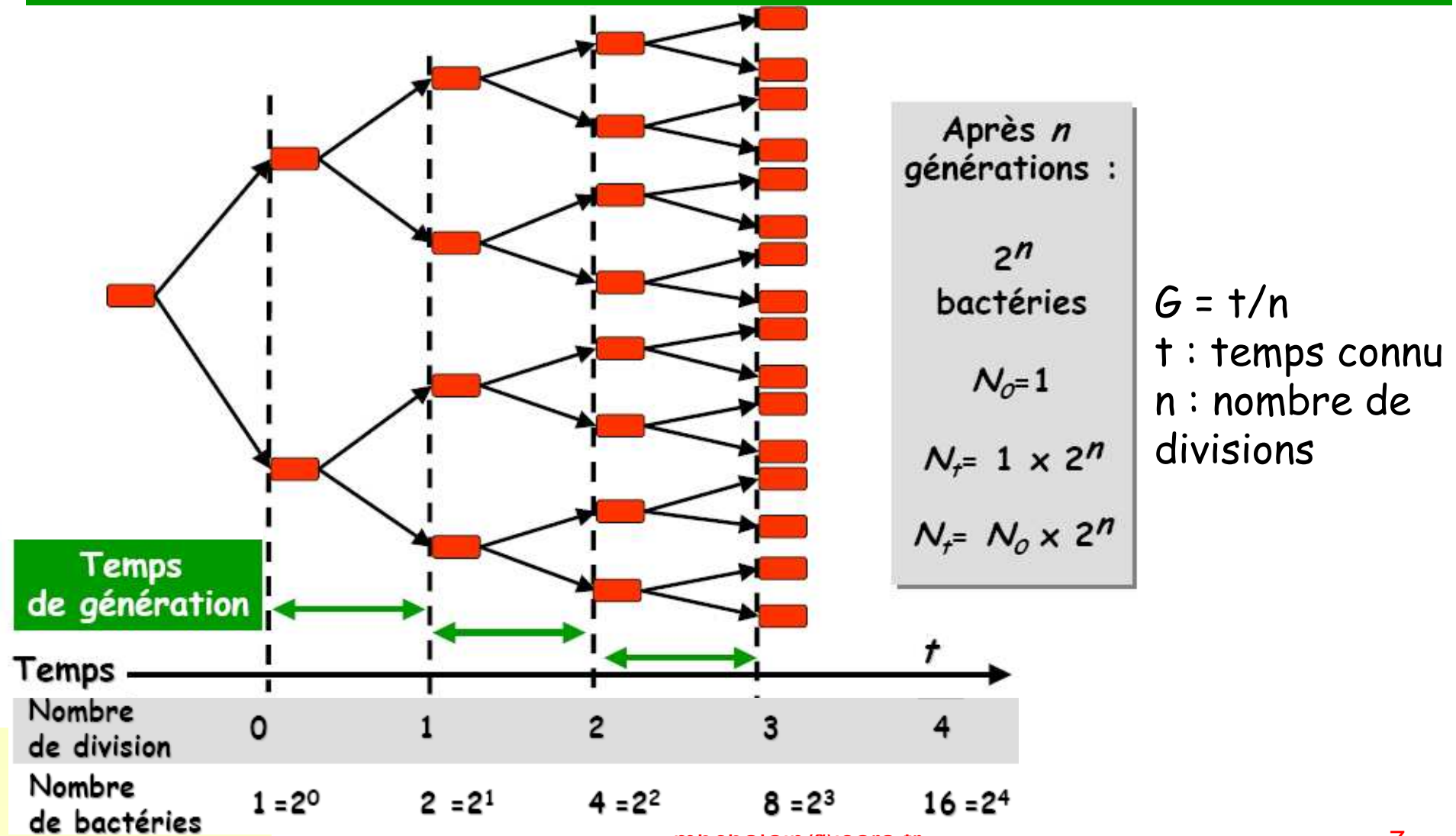
après 16 à 24 h de culture la croissance des bactéries s'arrête sinon :

en 48 heures, 4000 fois  
le poids du globe terrestre



# Paramètres mathématiques de la croissance

Temps de génération  $G$  = Temps pour une population doublée



# Temps de génération

- Temps de division et délais de croissance dépendent :
  - de la bactérie
  - des conditions du milieu extérieur (favorables/défavorables)

## Temps de génération de quelques espèces bactériennes

Bactérie	<i>In vitro</i> (min)	<i>In vivo</i> (h)
<i>Escherichia coli</i>	20-40	5
<i>Staphylococcus aureus</i>	40	3-5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	40	4
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	120-240	24-48



# Paramètres mathématiques de la croissance

## Le taux de croissance, $\mu$

C'est le nombre de générations par unité de temps

$$\mu = 1/G = n/t$$

Expression mathématique de la croissance :

$$N_n = 2^n N_0 = 2^{\mu t} N_0$$

$N_0$  : Nombre de bactéries au temps  $t_0$

$N_n$  : Nombre de bactéries à la  $n$ ème génération

(Population après  $n$  générations)

Sous forme logarithmique :

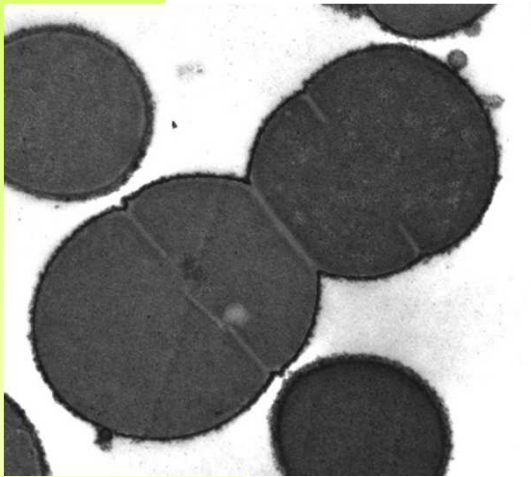
$$\log N_n / N_0 = \mu t \log 2$$

# 3 - Croissance bactérienne

- Courbe de croissance
  - ◆ Cinétiques de croissance en milieu non renouvelé
  - ◆ Paramètres mathématiques de la croissance
- **Méthodes de mesure de la croissance**
- Facteurs externes influant sur le croissance
- Agents antimicrobiens

## ■ Méthodes de mesure de la croissance

Ces techniques sont fondées sur l'évolution du nombre de micro-organismes ou de leur masse par unité de volume ou de poids.



### 1. Nombre de cellules

1.1 - Dénombrement au microscope

1.2 - Dénombrement après la culture

### 2. Masse cellulaire

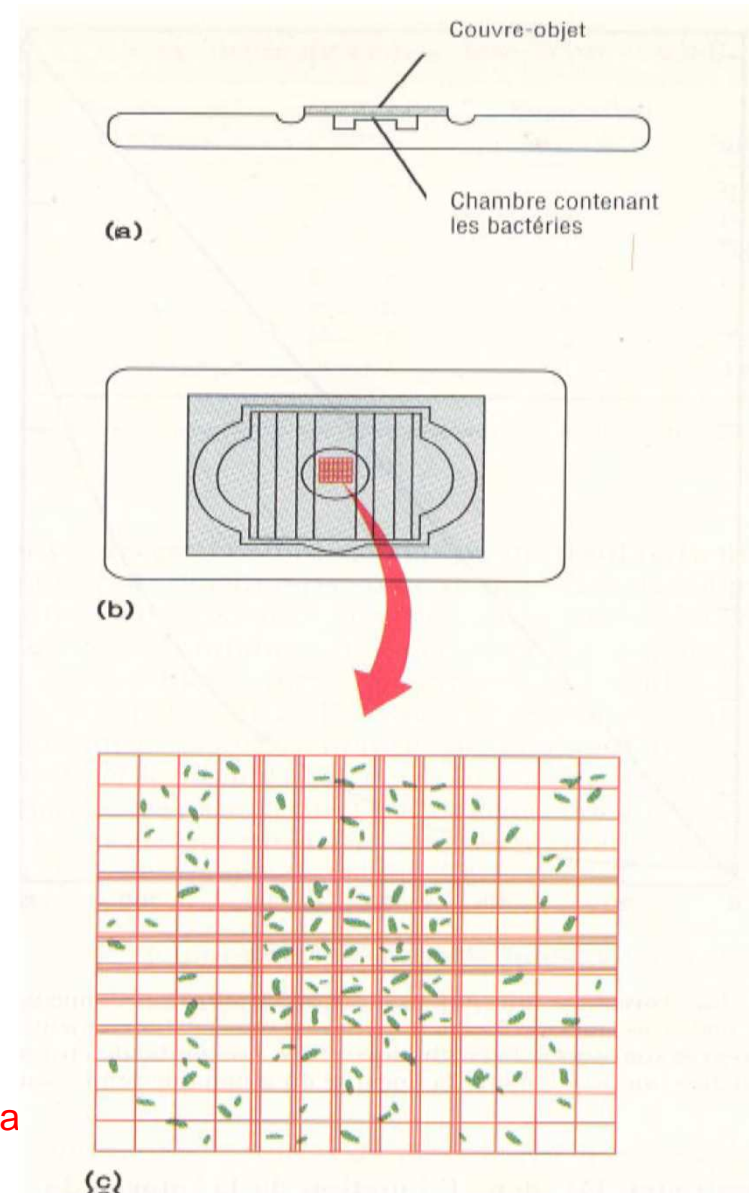
### 3. Activité cellulaire

# Méthodes de mesure de la croissance - Nombre de cellules

## 1.1- Dénombrement au microscope

### a) Lecture au microscope

- rapide
- peu sensible
- pas de distinction cellules mortes et vivantes

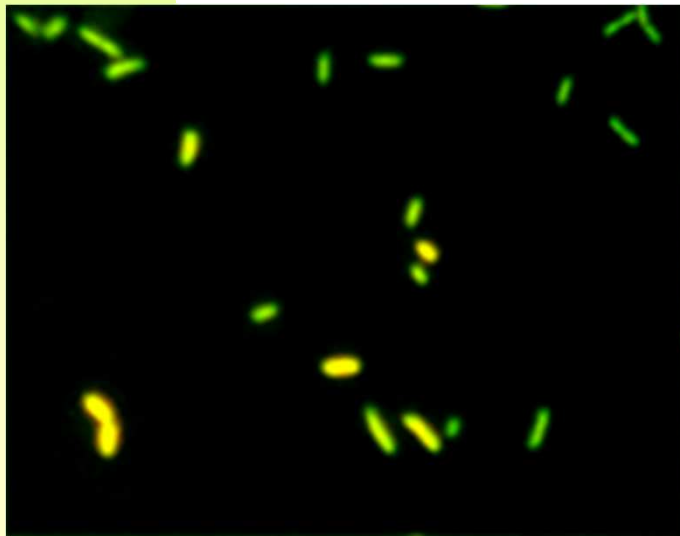


## 1.1 - Dénombrement au microscope

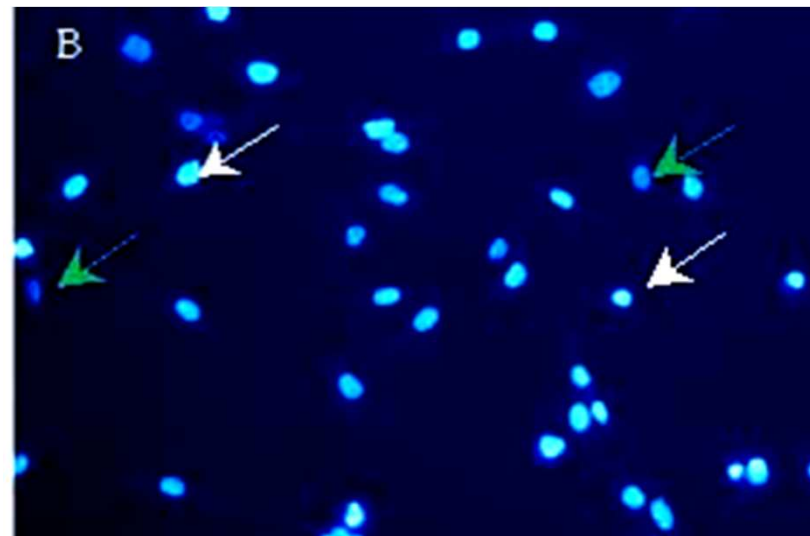
### b) Epifluorescence

- coloration par fluorochrome (ex : acridine orange)
- fixation sur ADN
- peu sensible
- distinction cellules mortes et vivantes

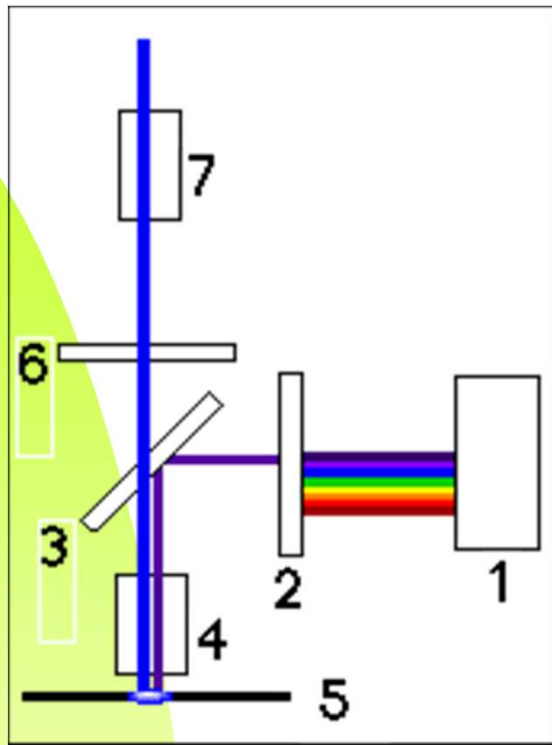
Bactéries colorée par  
acridine orange



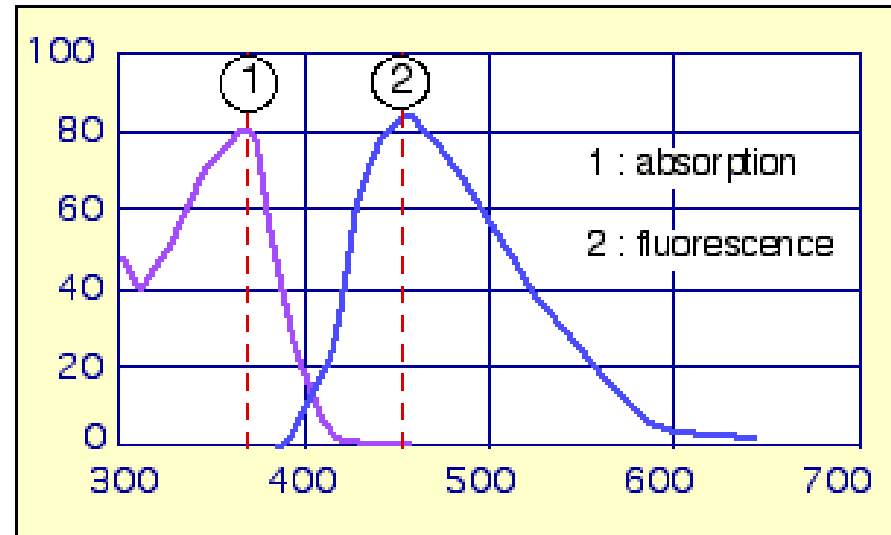
Bactéries colorée par Dapi



## 1.1 - Dénombrement au Microscope Epifluorescence



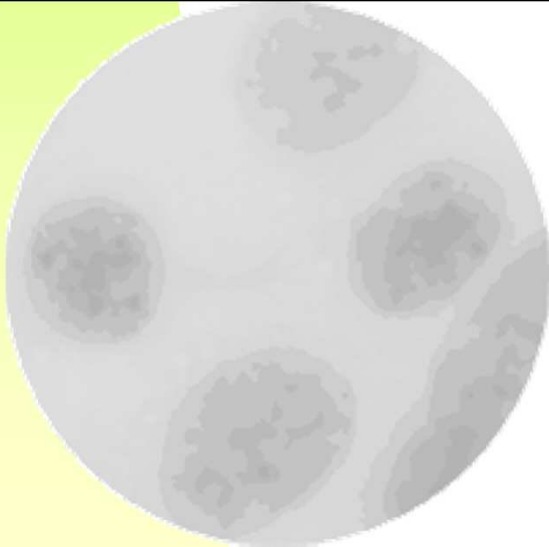
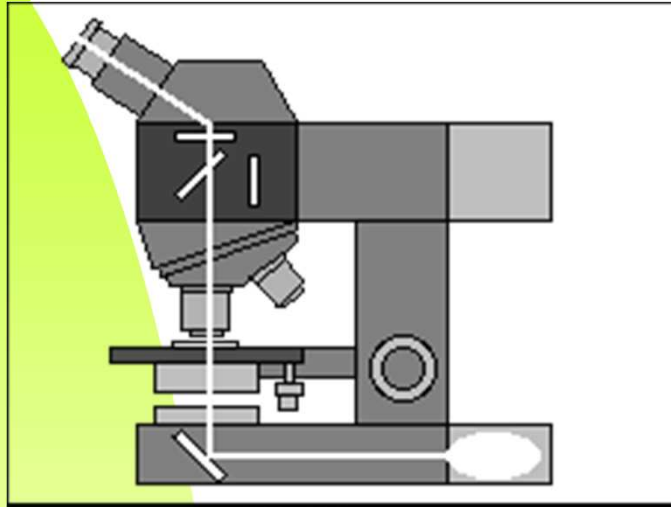
- 1-lampe à arc
- 2-filtre d'excitation
- 3-miroir dichroïque
- 4-objectif
- 5-préparation
- 6-filtre d'émission
- 7-oculaire



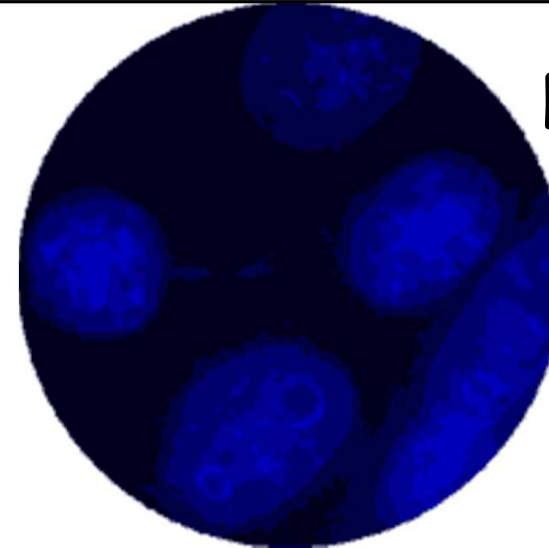
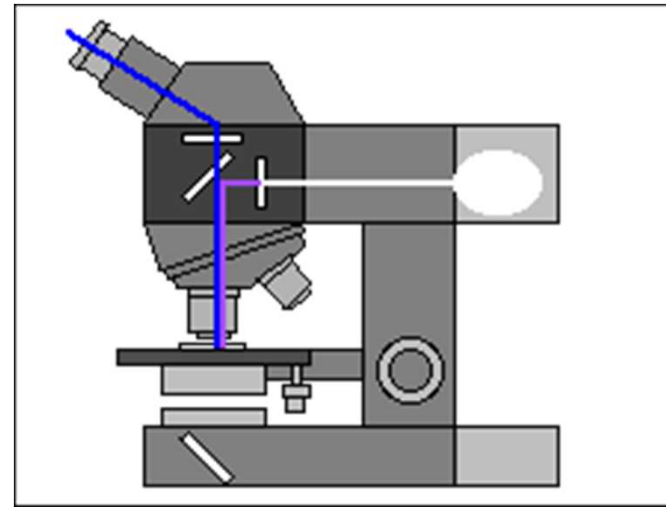
- coloration par fluorochrome (Dapi) fixation sur ADN
- peu sensible
- pas de distinction cellules mortes et vivantes

## 1.1 - Dénombrement au Microscope Epifluorescence

Microscope normal

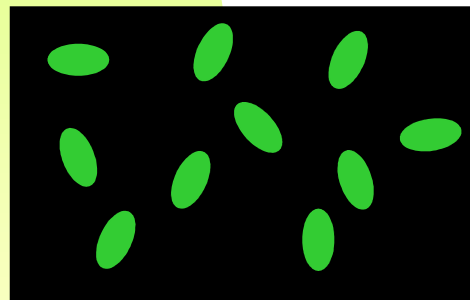
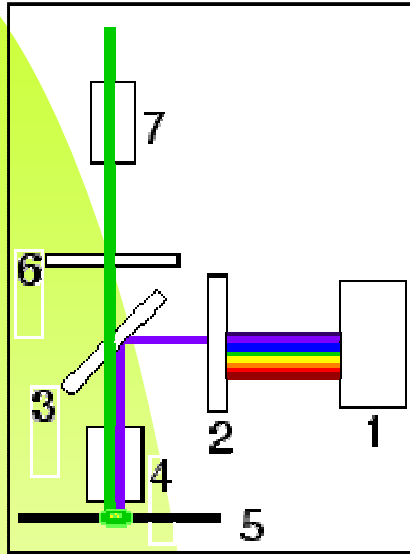


Microscope Epifluorescence

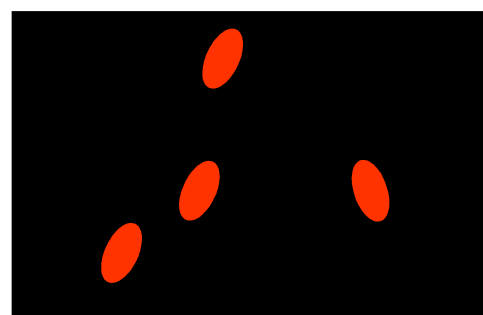
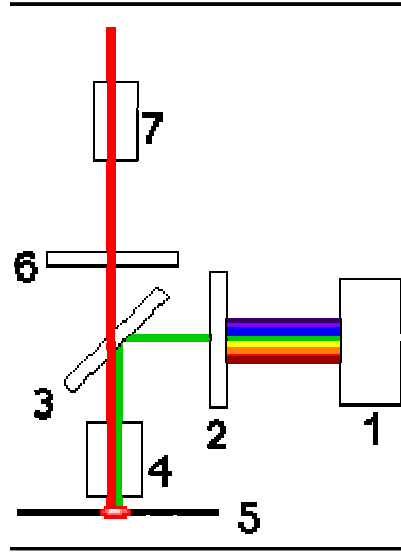


Dapi

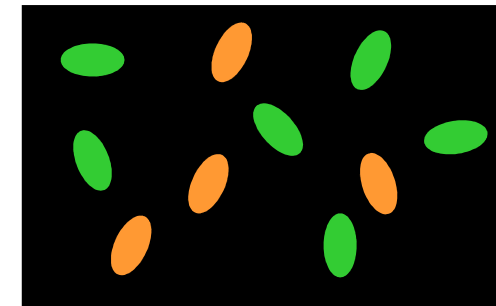
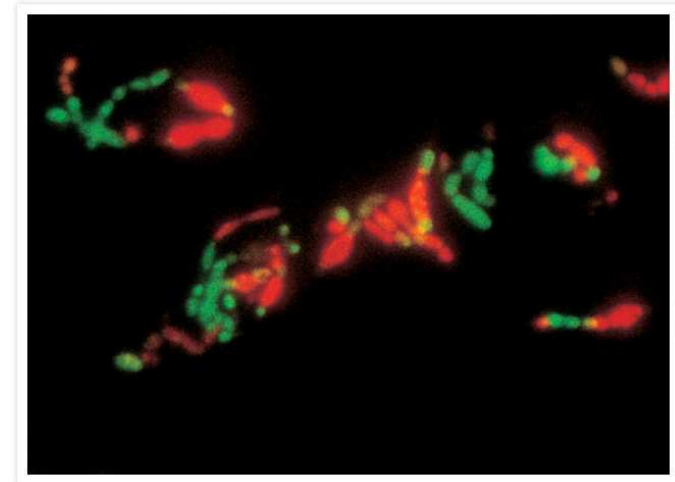
## 1.1 - Dénombrement au Microscope Epifluorescence



Fluorescence  
verte (SYTO 9)



Fluorescence  
rouge (IP)

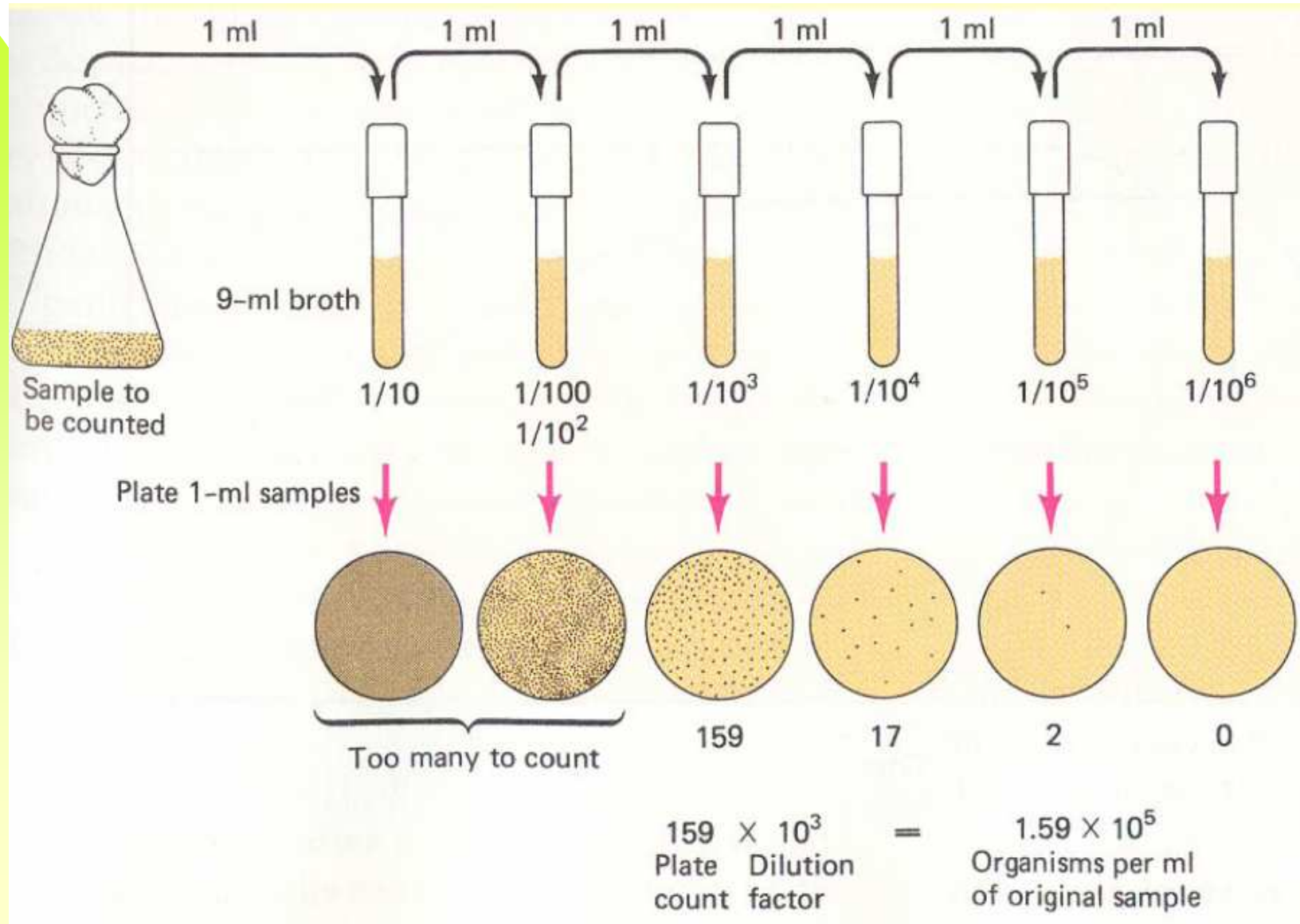


IP + SYTO 9

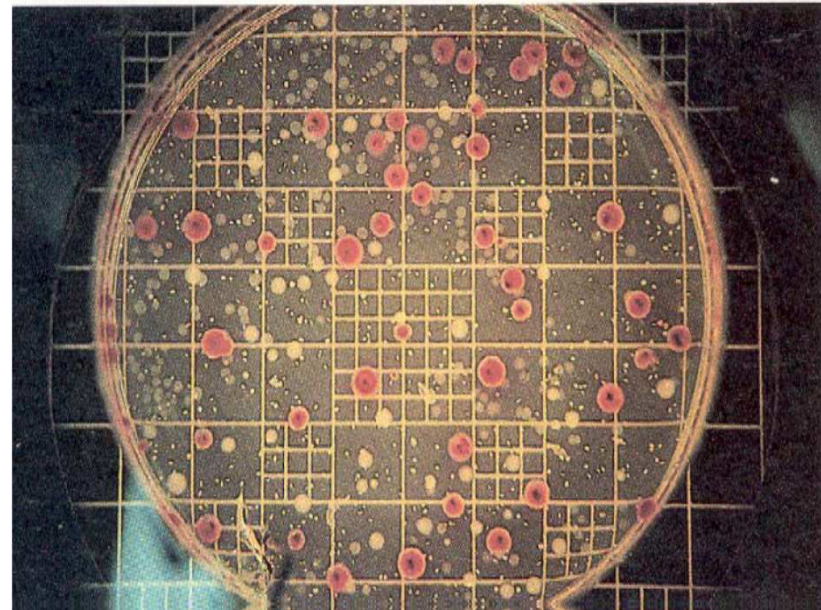


## Méthodes de mesure de la croissance - Nombre de cellules

### 1.2 - Dénombrement après culture



## 1. 2- Dénombrement après culture

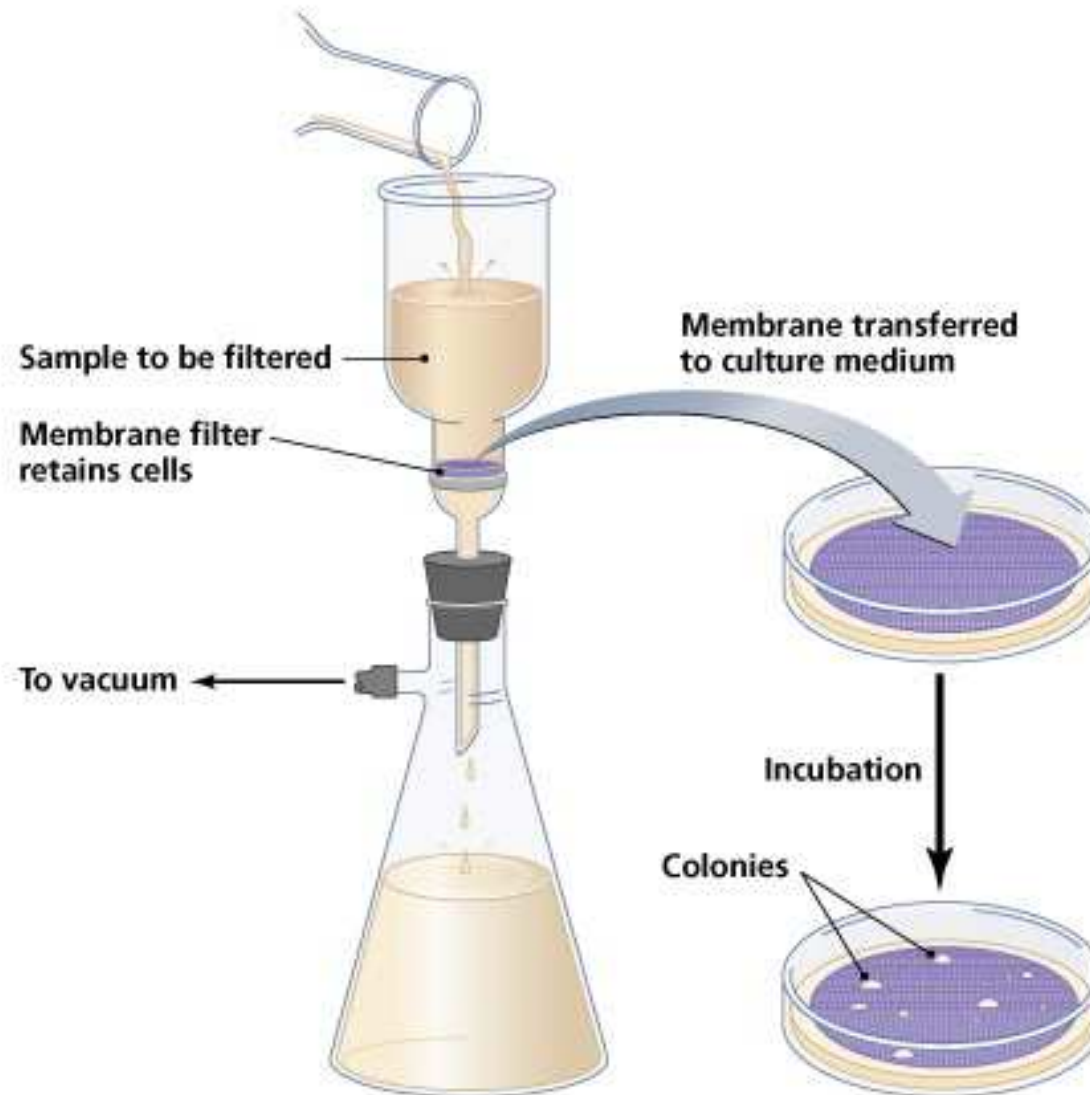


1 bactérie viable = 1 colonie

UFC = Unité Formatrice de Colonie

## Méthodes de mesure de la croissance - Nombre de cellules

### Dénombrement après filtration sur membrane et incubation sur gélose



## 2 - Mesure de la masse

### a) Détermination du poids sec

- centrifugation ou filtration
- séchage à 100-110°C
- inconvénients :
  - peu précis
  - pas de distinction cellules mortes et vivantes





## 2 - Mesure de la masse

### b) Mesure du trouble

$\text{Log}(I_0/I)$  représente l'absorbance (A)

$$\text{Log}(I_0/I) = k.C.L$$

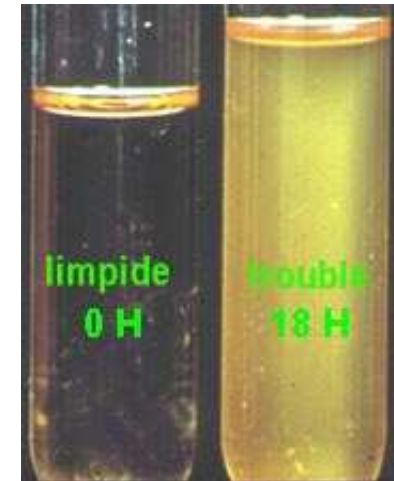
L : trajet optique, épaisseur de la cuve,

C : concentration ou biomasse,

k= constante ou coefficient d'absorption

Pour une cuve de 1cm de trajet optique,

$$\text{Log}(I_0/I) = k.C$$



En tubes

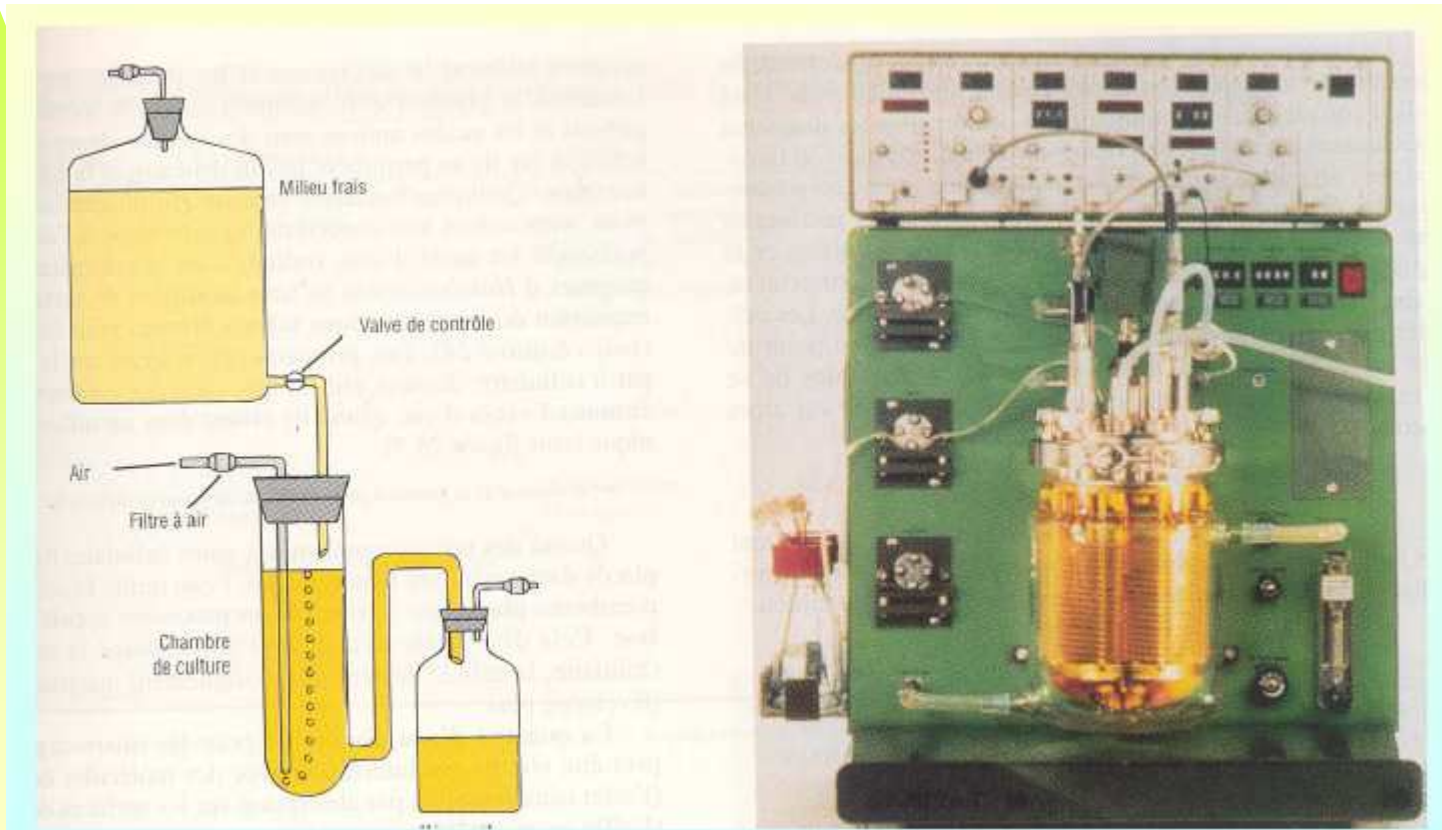
**Croissance bactérienne  
= trouble du bouillon**

### 3 - Mesure de l'activité

- a) Mesure de la consommation de substrat
  - Oxygène
- b) Mesure des produits d'excrétion
  - $^{14}\text{CO}_2$
- c) Mesure des constituants cellulaires
  - ATP (adénosine 5' triphosphate)
- d) Mesure des variations physico-chimiques du milieu
  - Mesure du pH
    - acidification au cours de la croissance

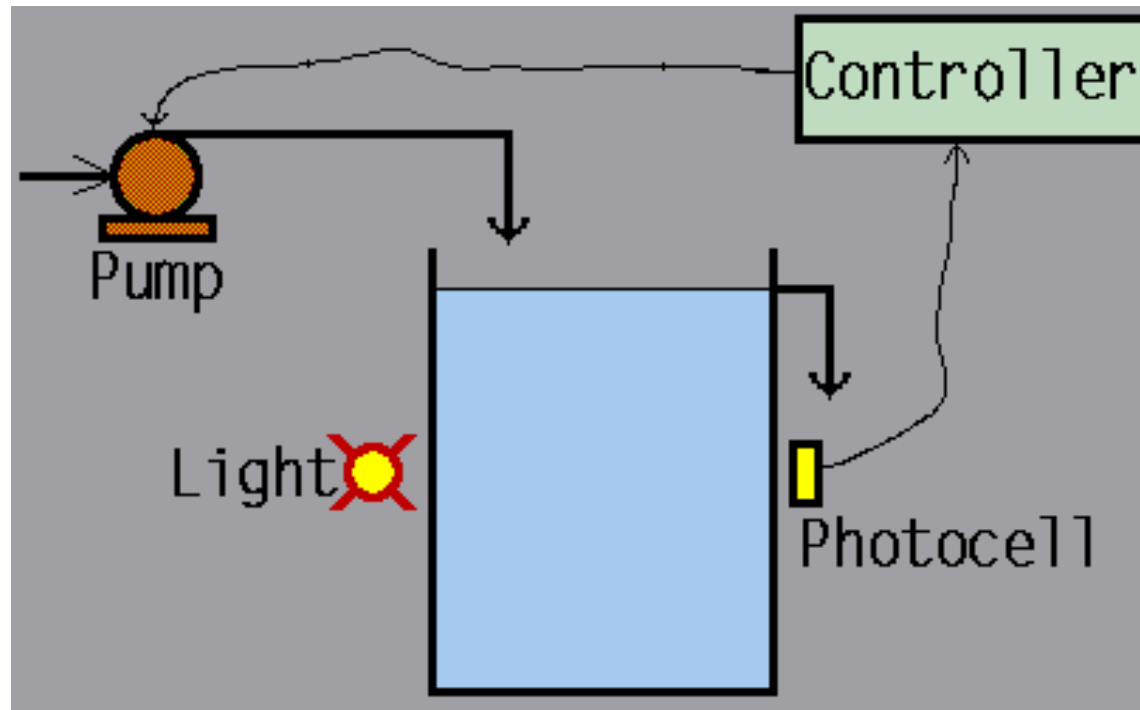
# Culture continue : Chémostat et Turbidostat

## ■ Chémostat



# Culture continue

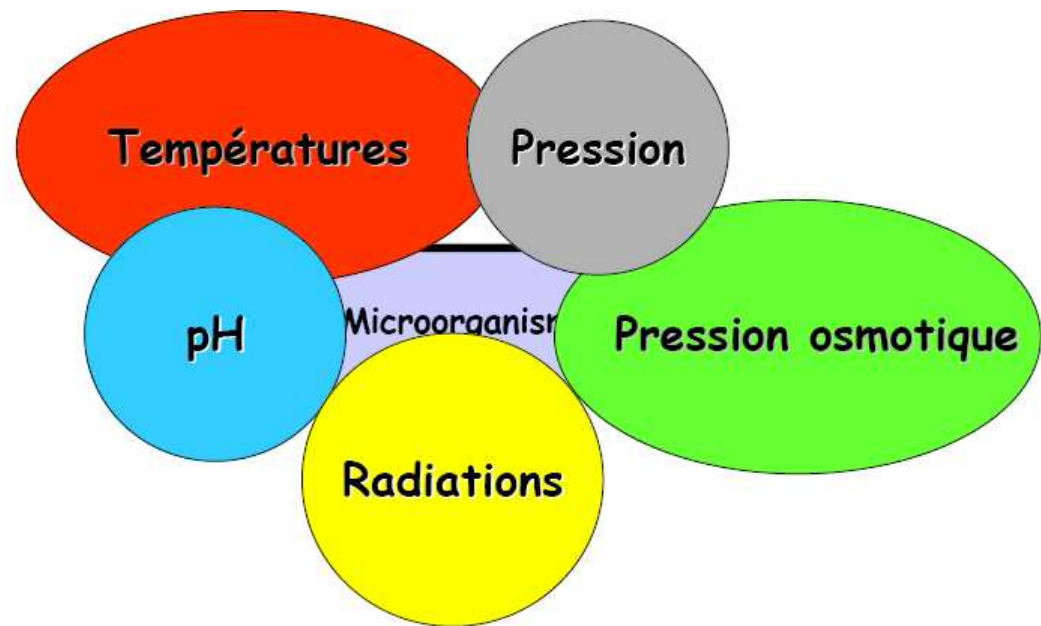
- Turbidostat





# Influence de l'environnement sur la croissance bactérienne

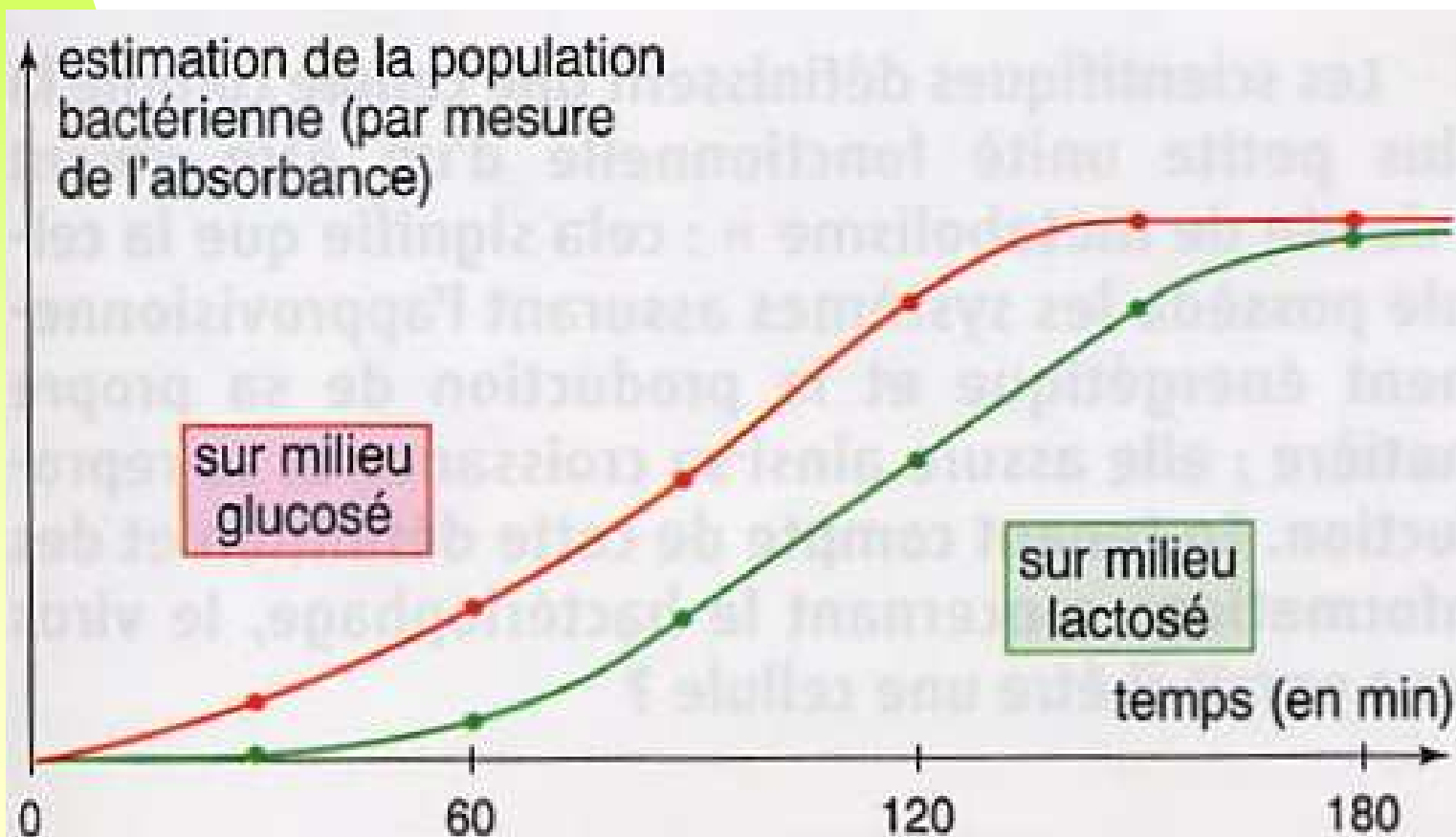
- Substrat
- Température
- pH
- Humidité ( $A_w$ )
- $O_2$
- Pression
- Radiation



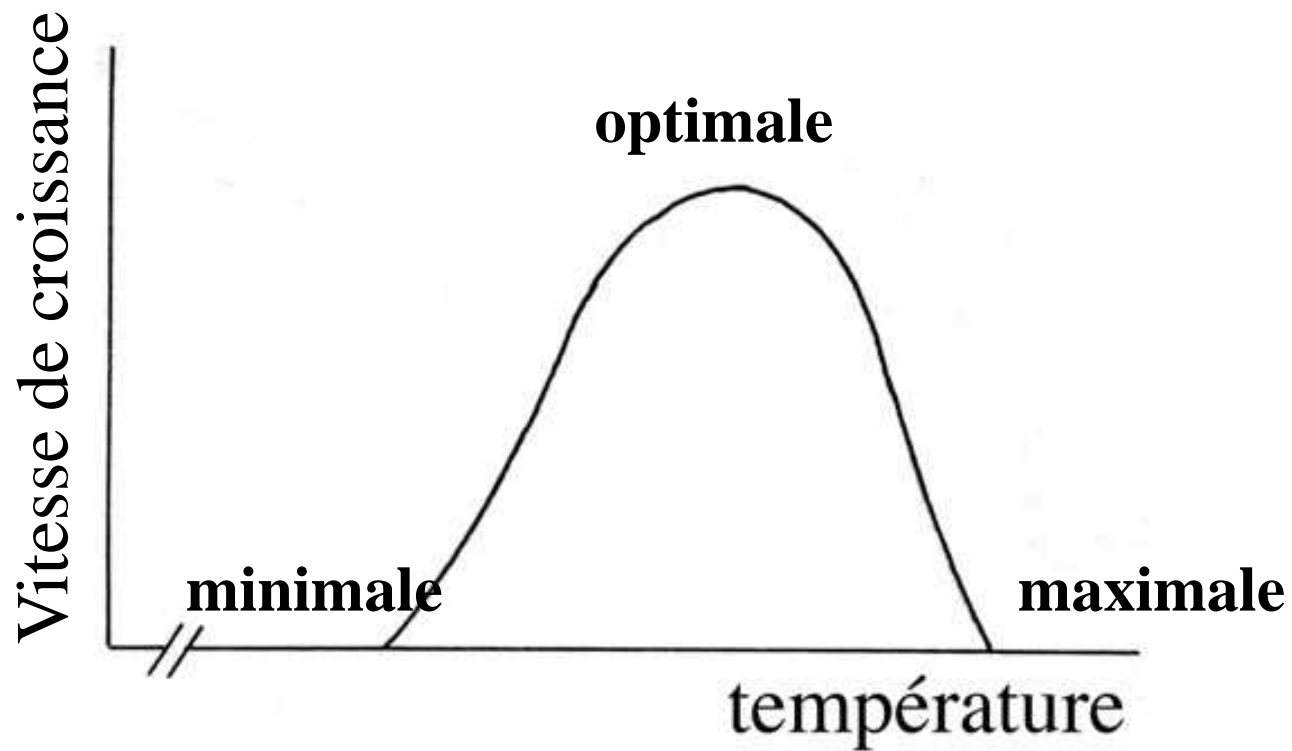
## Facteurs influençant la croissance

### Le substrat

- Prolonger la phase de croissance.
- Renouveler le milieu.
- Éliminer produits du métabolisme



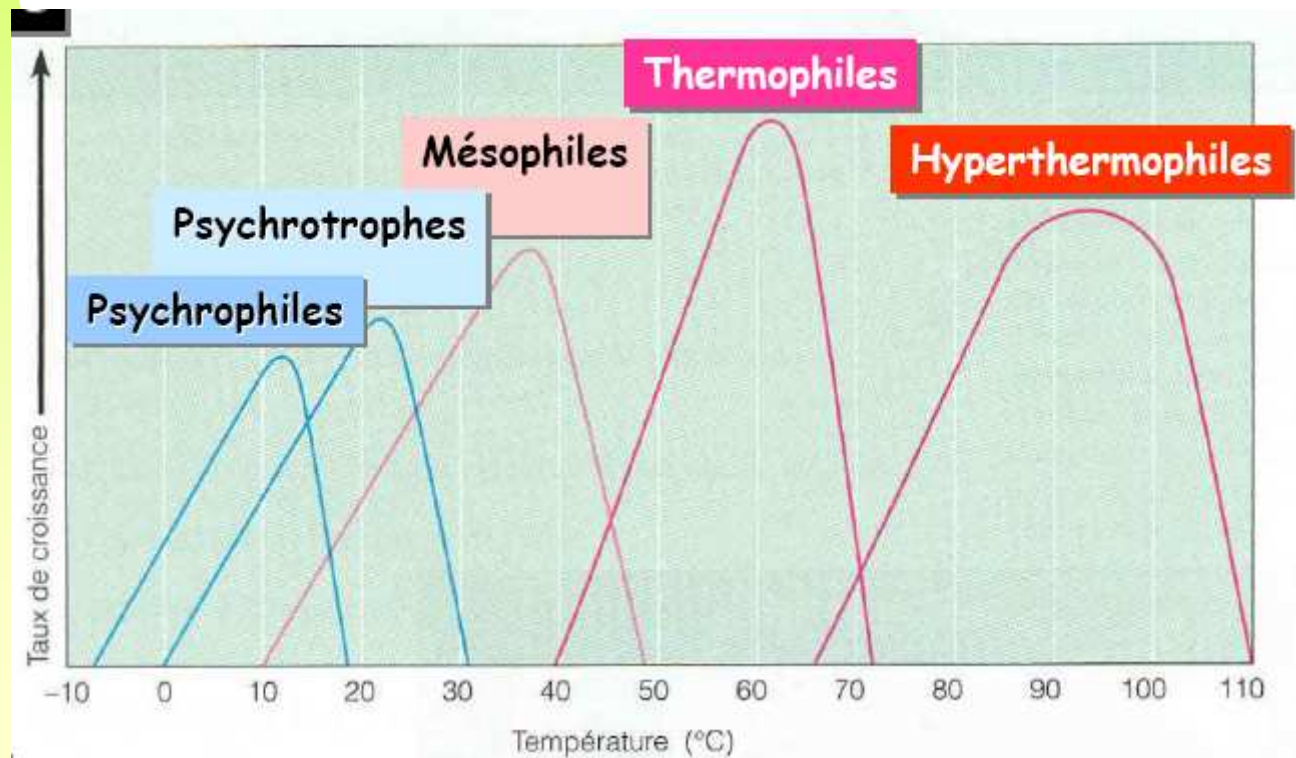
## Température



## Facteurs influençant la croissance

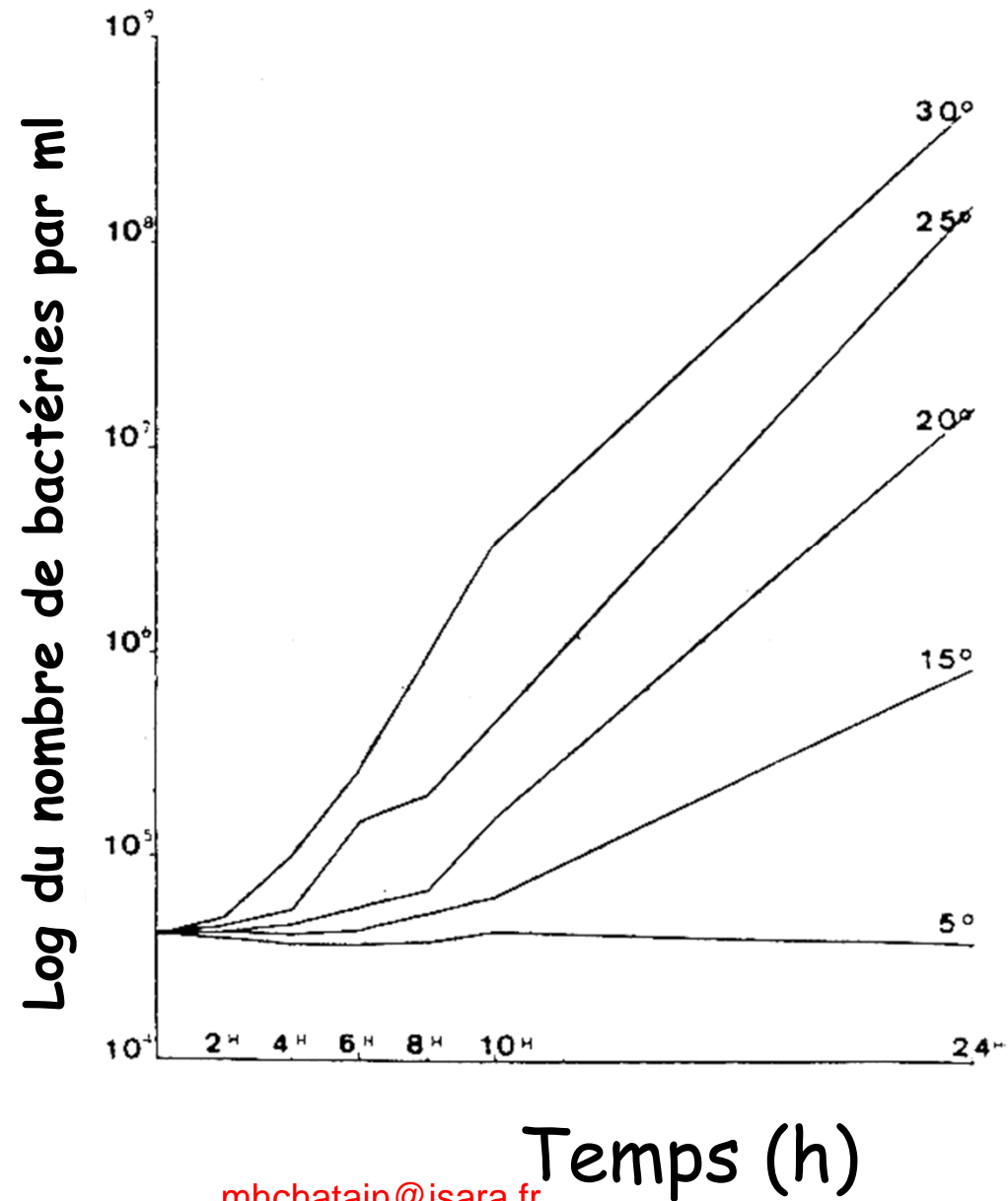
# Température

- bactéries mésophiles (20-45°C)
- bactéries psychrophiles (voisine 0°C)
- bactéries thermophiles (45-65°C)



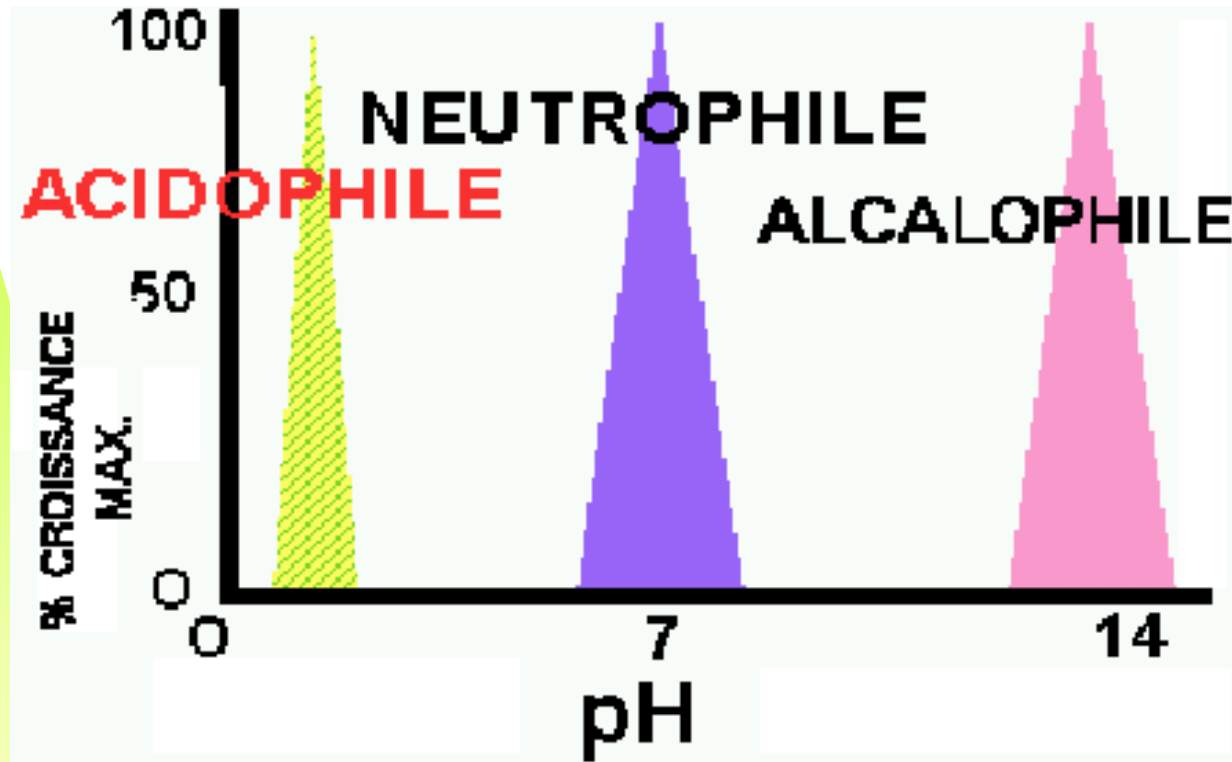
## Facteurs influençant la croissance

### Température



## Facteurs influençant la croissance

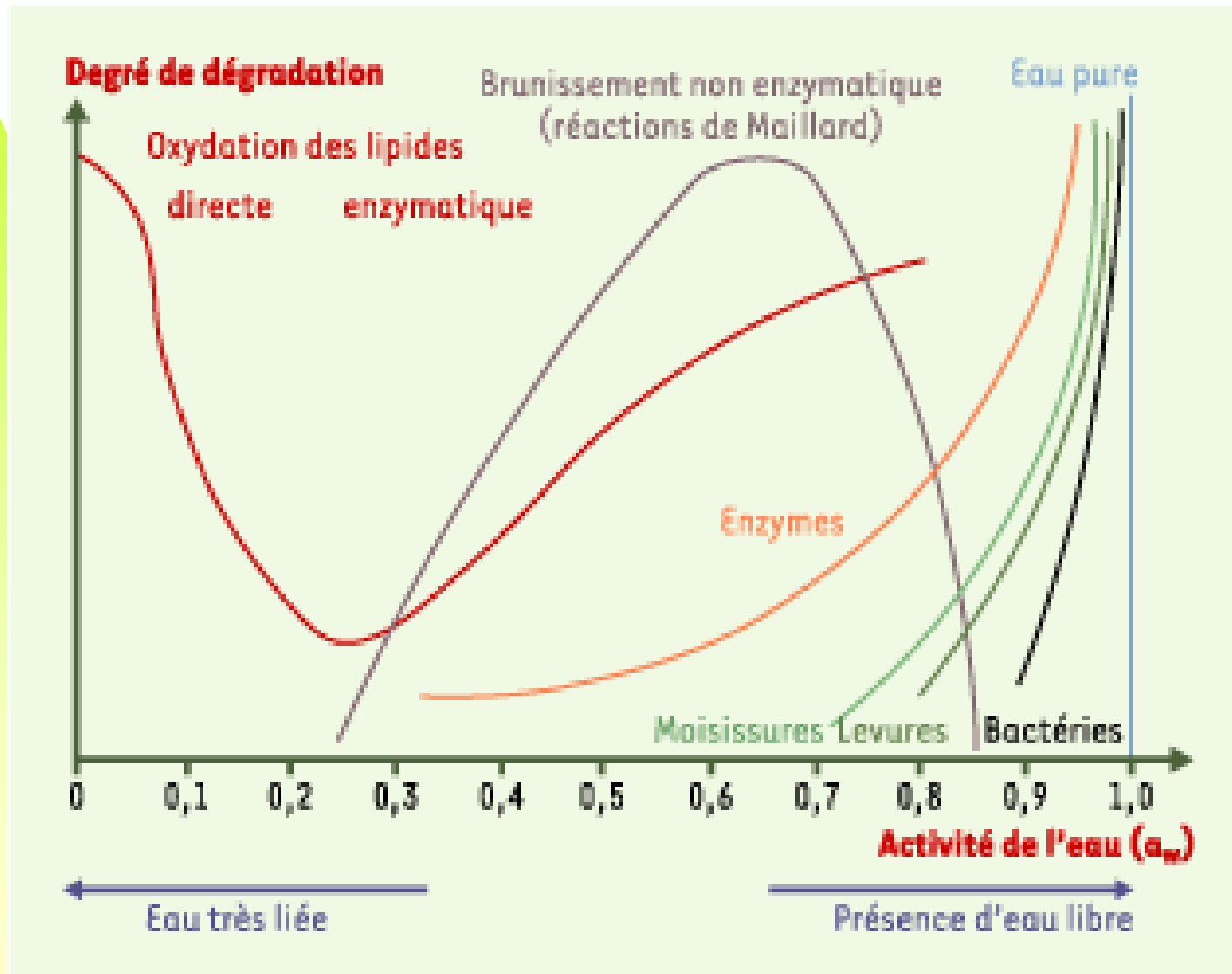
### le pH



- Neutrophiles : pH 5,5 - 8,5
- Alcalophiles : pH alcalin (pH 8,5-11,5)
- Acidophiles : pH acide (pH 1 - 5,5)

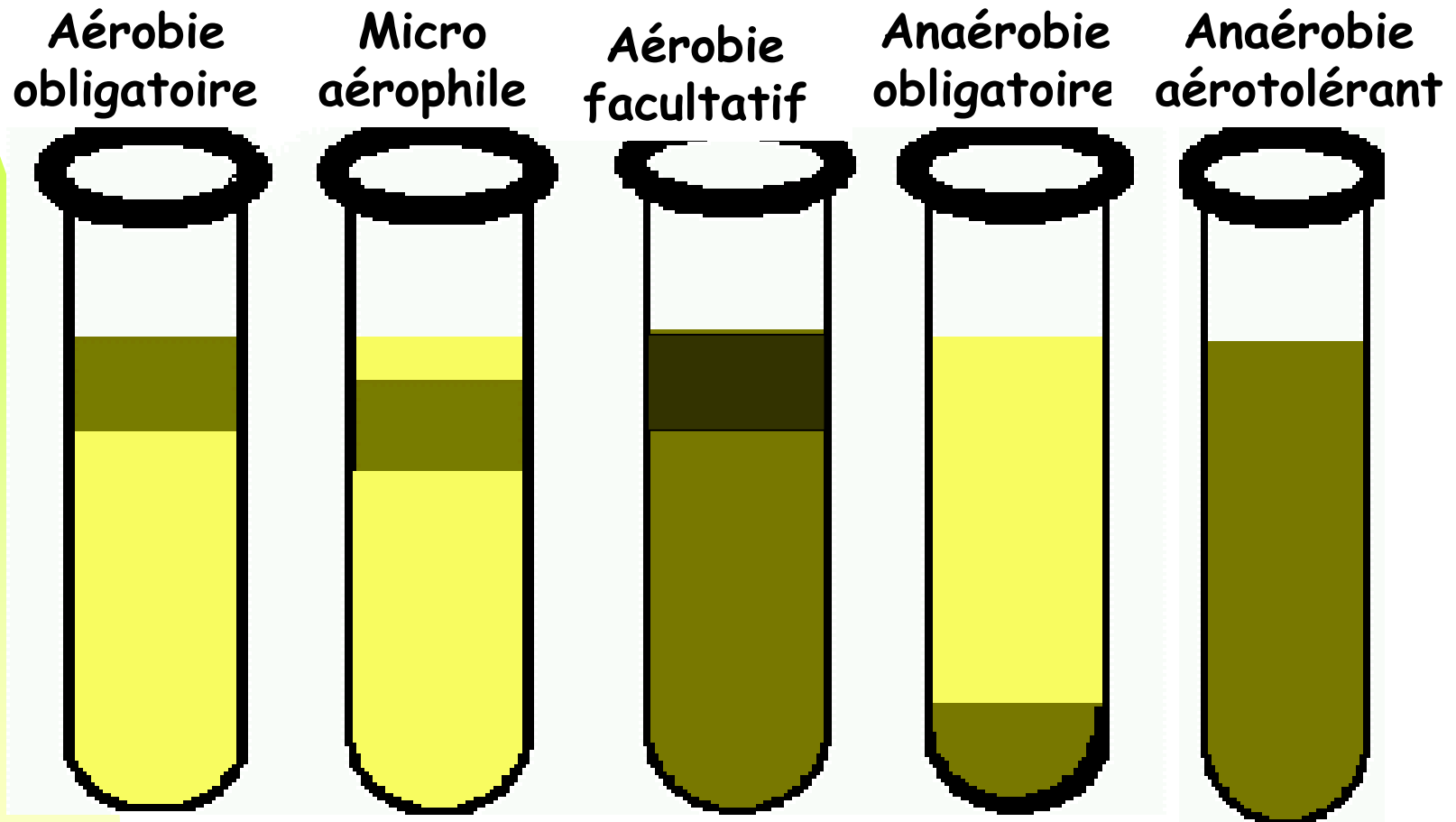
## Facteurs influençant la croissance ■ l'humidité ( $A_w$ )

Minimum  $a_w$  pour la croissance des micro-organismes



## Facteurs influençant la croissance

■ O<sub>2</sub>





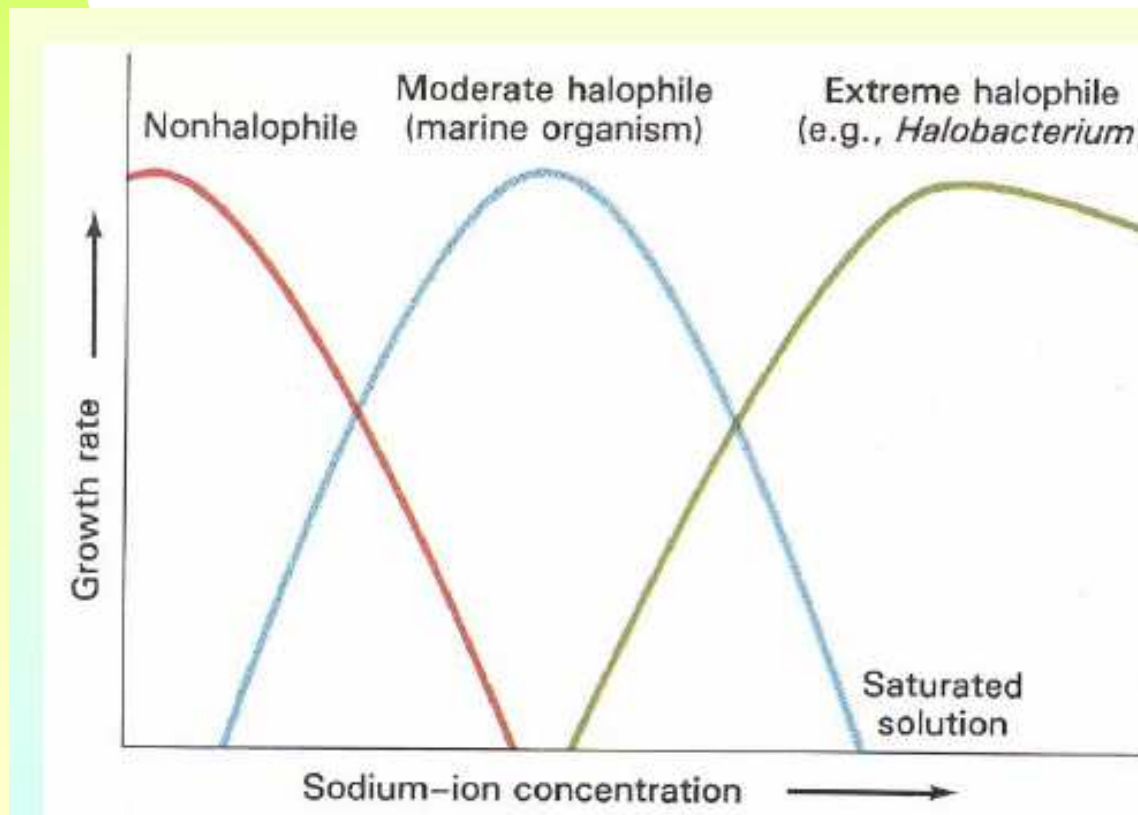
## Facteurs influençant la croissance

### La pression osmotique

**Les non-halophiles** :  $\text{NaCl} < 0,2\text{M}$

**Les halophiles** :  $0,2$  à  $5,2 \text{ M NaCl}$

**Les halophiles extrêmes** nécessitent  $6,2\text{M}$



# 3 - Croissance bactérienne

- Courbe de croissance
  - ◆ Cinétiques de croissance en milieu non renouvelé
  - ◆ Paramètres mathématiques de la croissance
- Méthodes de mesure de la croissance
- Facteurs externes influant sur le croissance
- **Agents antimicrobiens**

# Agents antimicrobiens

- Agents physiques

- ☞ T°

- ☞ Élimination mécanique

- ☞ Rayonnements

- Agents chimiques

- ☞ Désinfectants

- ☞ Antiseptiques

- ☞ Antibiotiques

# Traitement thermiques

Stérilisation : 100 -140 T°

destruction totale des germes et des spores

Pasteurisation : 60 -100 T°

destruction des formes végétatives

Zone critique : 10 -60 T°

Survie et prolifération possible

# Stérilisation

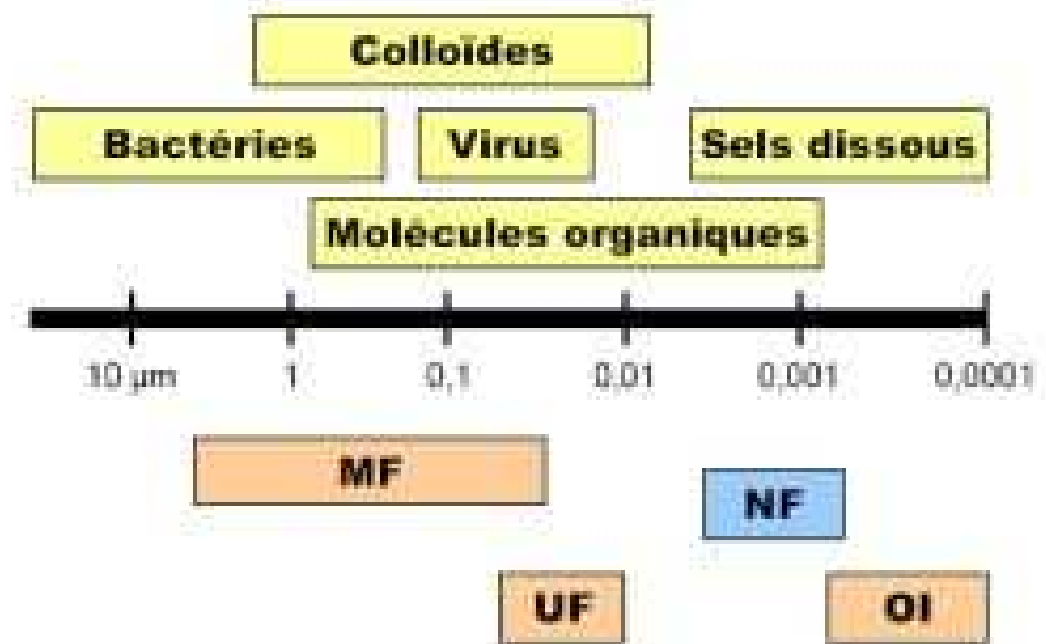
Chaleur humide :  
autoclave



Chaleur sèche :  
four



# Filtration sur membrane



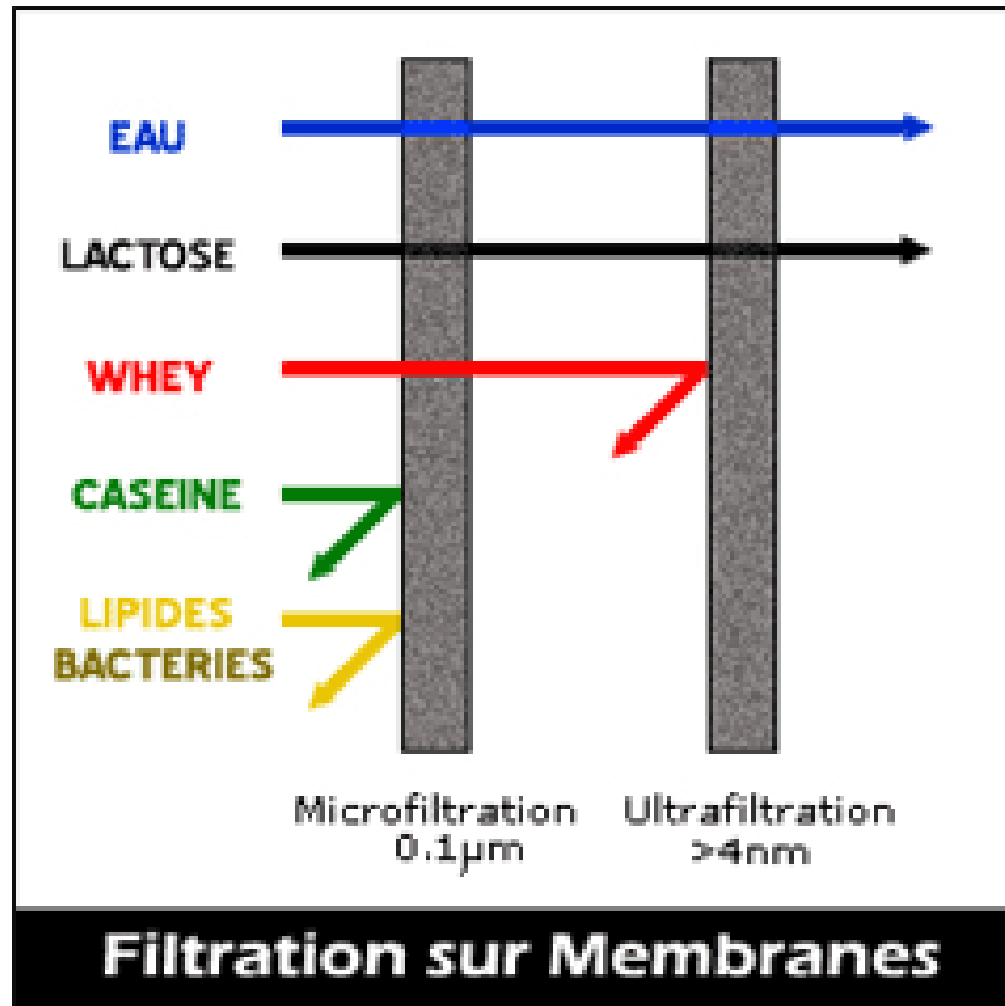
MF = microfiltration

UF = ultrafiltration

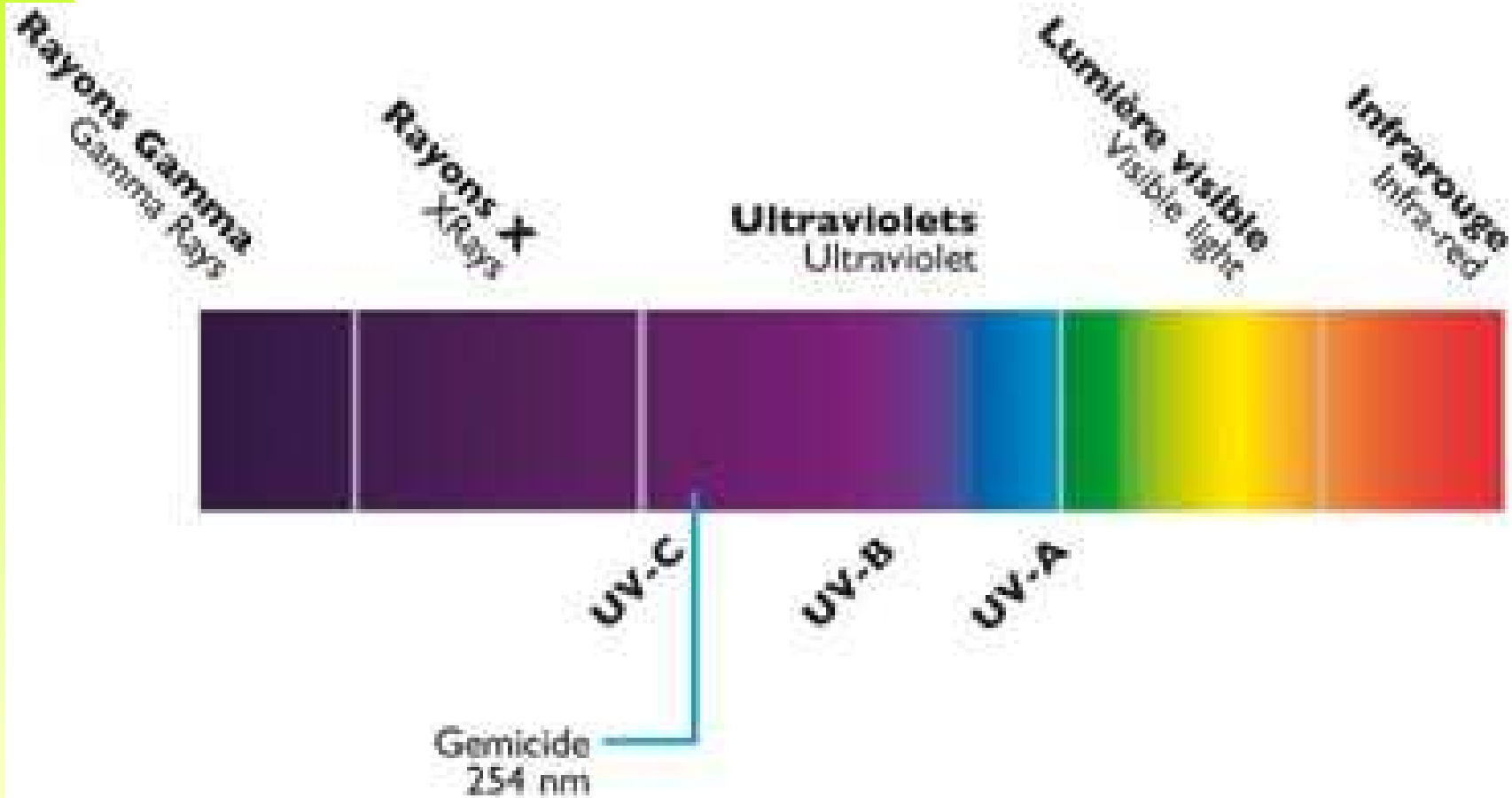
NF = nanofiltration

OI = osmose inverse

# Filtration sur membrane



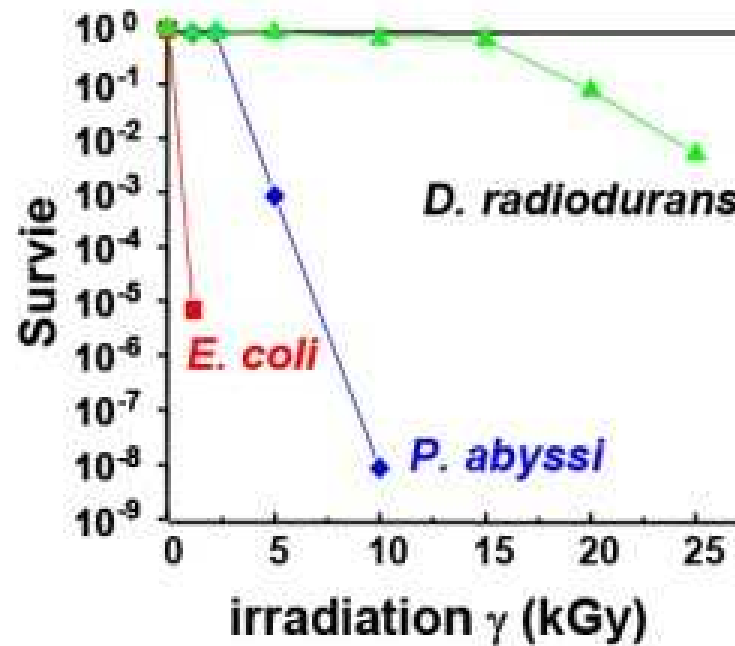
# Rayonnements UV





# Rayonnements UV

Figure 1. Courbes de survie des bactéries *E. coli* et *D. radiodurans* et de l'Archaeon *P. abyssi* après exposition au rayonnement ionisant.



# Autres

- $A_w$
- pH
- ....

# Agents antimicrobiens

## ◆ Agents chimiques

- Désinfectants
- Antiseptiques
- Antibiotiques

# Agents antimicrobiens

*Antimicrobien* est une famille de substances qui tuent (**bactéricide**) ou ralentissent (**bactériostatique**) la croissance des microbes tels :

- les bactéries (activité antibactérienne),
- les mycètes (activité antimycosique),
- les virus (activité antivirale),
- ou les parasites (activité antiparasitaire).

# Agents antimicrobiens

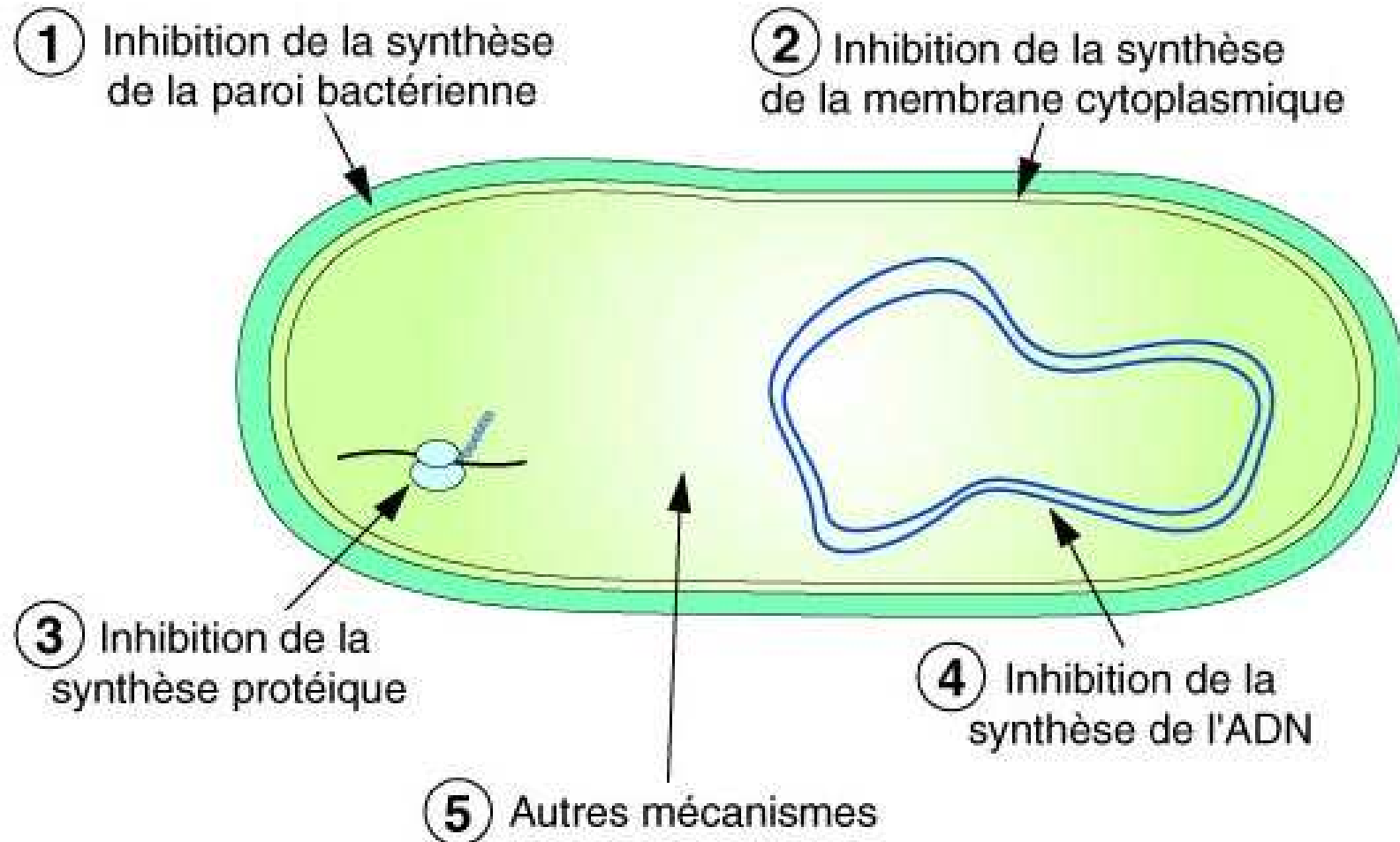
Mécanisme d'action :

« site d'action »

Les 4 cibles principales sont :

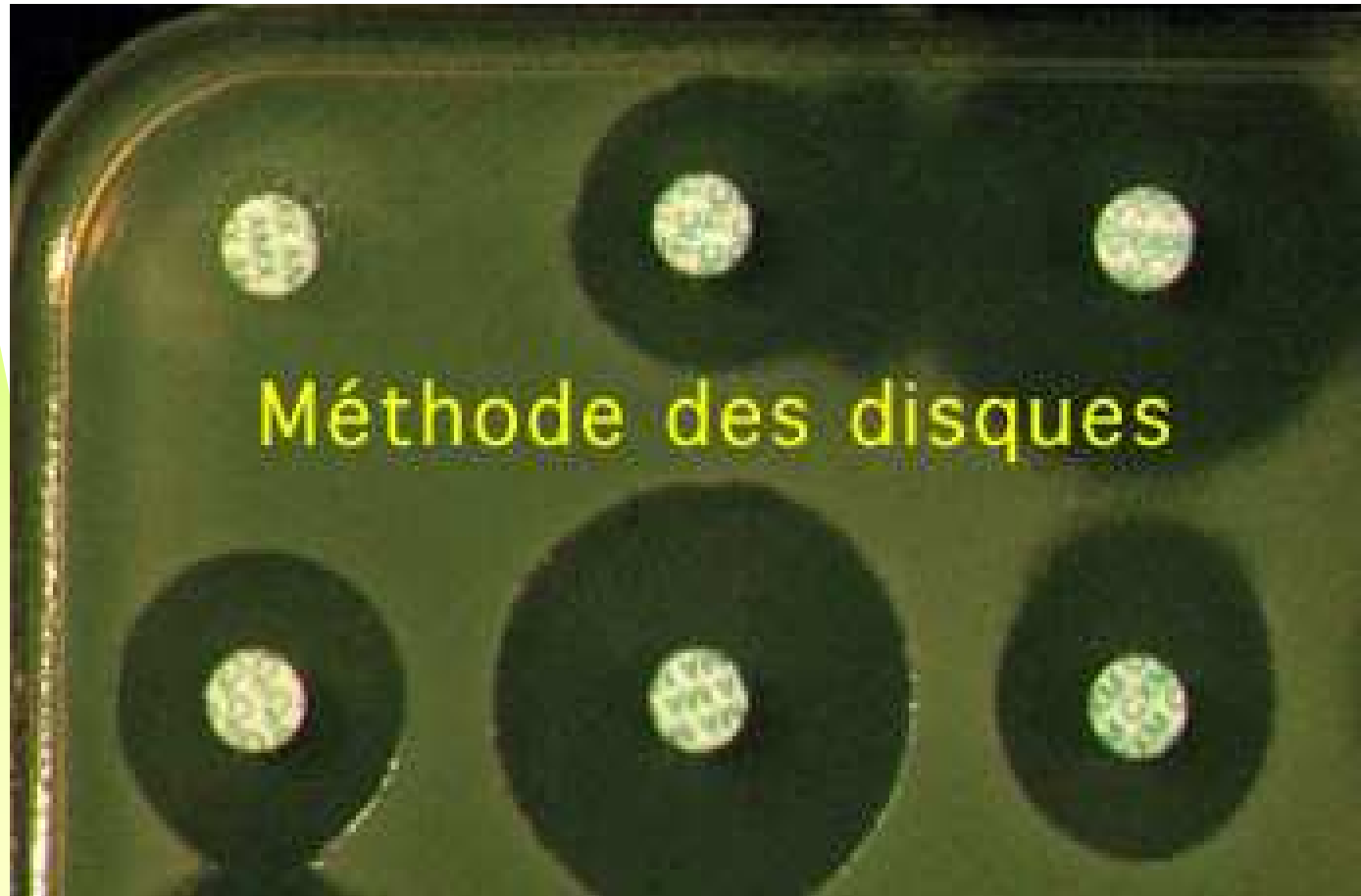
- La paroi
- La membrane cytoplasmique
- Le chromosome
- Le ribosome

# Mécanisme d'action des antimicrobiens



# Activité antibactérienne

méthode des disques ou diffusion (pratique)



# Spectre d'activité

- Le spectre d'activité
  - dépend de la sensibilité des espèces bactériennes à différents antibiotiques
- 
- Il existe 3 catégories :
    - Germe sensible (S)
    - Germe intermédiaire (I)
    - Germe résistant (R)



# Résumé

- Courbe de croissance
- Temps de génération
- Méthodes pour mesurer la croissance
- Facteurs de l'environnement sur la croissance
- Comment empêcher ou réduire la croissance des micro-organismes