

Popular Democratic Republic of Algeria
Ministry Of High Education and Scientific Research
Abbes Laghrour University, Khenchela
Faculty of Nature and Life Science
Department of Molecular and Cellular Biology



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة عباس لغرور خنشلة
كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم البيولوجيا الجزئية والخلوية

Polycopié pédagogique

Microbiologie

Cours destiné aux étudiants :

2^{ème} Année Tronc Commun Biologie

YAKHLEF Wahiba
Maître de conférences B

Année : 2021- 2022

Avant-propos

Ce document constitue une introduction à la microbiologie, l'étude des espèces généralement unicellulaires et microscopiques. L'univers microbien est un ensemble extrêmement hétérogène, encore plus diversifié que le monde qui nous est familier. Occupant toutes les niches écologiques de notre planète, les micro-organismes sont des agents indispensables de l'équilibre de l'ensemble des écosystèmes.

Ce polycopié est un support de cours de la matière Microbiologie, Unité d'Enseignement Fondamental (UEF4). Il est principalement destiné aux étudiants en Deuxième Année Tronc Commun Biologie (LMD) avec un volume horaire semestriel de 15 semaines.

Ce support s'articule en six grands chapitres. Le premier chapitre est voué à l'historique du développement de la microbiologie ainsi qu'à la place des microorganismes dans le monde vivant. Le deuxième chapitre présente tout ce qu'il faut savoir sur la cellule bactérienne (Morphologie, types de regroupement, structure, coloration de Gram, ...). Le troisième, le quatrième et le cinquième chapitre réunissent, la classification, la nutrition et la croissance bactérienne, respectivement. Le sixième et le dernier chapitre, traite des notions de Mycologie et de Virologie (taxonomie, morphologie, reproduction, ...).

Enfin, il s'avère judicieux de préciser que les renseignements contenus dans le présent document ne sont pas exhaustifs ; elles feront l'objet de révisions, et toute suggestion susceptible d'améliorer le contenu sera accueillie avec grand intérêt.

Contenu de la matière

Semestre : 4^{ème} Semestre

U.E : Unité d'Enseignement Fondamentale 2

Matière 1 : Microbiologie

Objectif de l'enseignement

L'étudiant doit acquérir les notions du monde microbien, les techniques utilisées pour observer les microorganismes, la croissance et la classification bactérienne.

Connaissances préalables recommandées (*descriptif succinct des connaissances requises pour pouvoir suivre cet enseignement – Maximum 2 lignes*).

L'étudiant doit avoir une notion globale sur les agents pathogène.

Contenu de la matière

1. Le Monde microbien

- 1.1. Historique
- 1.2. Place de microorganismes dans le monde vivant
- 1.3. Caractéristiques générales de la cellule procaryote

2. La Cellule bactérienne

- 2.1. Techniques d'observation de la cellule bactérienne
- 2.2. La morphologie cellulaire
- 2.3. La paroi
 - 2.3.1. Composition chimique
 - 2.3.2. Structure moléculaire
 - 2.3.3. Fonctions
 - 2.3.4. Coloration de Gram
- 2.4. La membrane plasmique
 - 2.4.1. Composition chimique
 - 2.4.2. Structure
 - 2.4.3. Fonctions
- 2.5. Le cytoplasme
 - 2.5.1. Les ribosomes
 - 2.5.2. Les substances de réserve
- 2.6. Le chromosome
 - 2.6.1. Morphologie
 - 2.6.2. Composition
 - 2.6.3. Réplication chimique
 - 2.6.4. Structure
- 2.7. Les plasmides
 - 2.7.1. Structure
 - 2.7.2. Réplication
 - 2.7.3. Propriétés
- 2.8. Pili
 - 2.8.1. Structure
 - 2.8.2. Fonction
- 2.9. La capsule
 - 2.9.1. Morphologie
 - 2.9.2. Composition chimique
 - 2.9.3. Fonctions
- 2.10. Les cils et flagelles
 - 2.10.1. Mise en évidence
 - 2.10.2. Structure

- 2.10.3. Fonctions
- 2.11. La spore
 - 2.11.1. Morphologie
 - 2.11.2. Structure
 - 2.11.3. Phénomènes de sporulation
 - 2.11.4. Propriétés
 - 2.11.5. Germination³.
- 3. Classification bactérienne**
 - 3.1. Classification phénétique
 - 3.2. Classification phylogénique
 - 3.3. Classification de Bergey
- 4. Nutrition bactérienne**
 - 4.1. Besoins élémentaires
 - 4.2. Facteurs de croissance
 - 4.3. Types trophiques
 - 4.4. Paramètres physico-chimiques (température, pH, O₂ et aW)
- 5. Croissance bactérienne**
 - 5.1. Mesure de la croissance
 - 5.2. Paramètres de la croissance
 - 5.3. Courbe de croissance (culture discontinue)
 - 5.4. Culture bactérienne
 - 5.5. Agents antimicrobiens.
- 6. Notions de mycologie et de virologie**
 - 6.1. Mycologie (levure et moisissure)
 - 6.1.1. Taxonomie
 - 6.1.2. Morphologie
 - 6.1.3. Reproduction
 - 6.2. Virologie
 - 6.2.1. Morphologie (capside et enveloppe)
 - 6.2.2. Différents types de virus

Travaux pratiques :

- TP N°1** : Introduction au laboratoire de microbiologie
- TP N°2** : Méthode d'étude des micro-organismes et les différents procédés de stérilisation
- TP N°3** : Méthodes d'ensemencement ;
- TP N°4** : Etude microscopique des bactéries, coloration simple
- TP N°5** : Etude morphologique des différentes colonies bactériennes sur milieu de culture
- TP N°6** : Coloration de gram
- TP N°7** : Les milieux de culture
- TP N°8** : Etude de la croissance bactérienne
- TP N°9** : Critères d'identification biochimique des bactéries
- TP N°10** : Levures et cyanobactéries
- TP N°11** : Les inhibiteurs de la croissance, l'antibiogramme
- TP N°12** : Isolement de la flore totale et spécifique de certains produits (eau, lait...).

Mode d'évaluation : Contrôle continu et examen semestriel

Références

1. Henri Leclerc, Jean-Louis Gaillard et Michel Simonet, 1999- Microbiologie générale. Ed. Doin, Paris, 535p.
2. Jerome Perry, James Staley et Stephen Lory, 2004- Microbiologie-Cours et questions de révision. Ed. Dunod, Paris, 889p.
3. Jean-Pierre Dedet, 2007- La microbiologie, de ses origines aux maladies émergentes. Ed. Dunod, Paris, 262p.

TABLE DES MATIERES

Avant-propos	I
Contenu de la matière	II
Liste des figures	IV
Liste des tableaux	V

Chapitre I : Le monde microbien

1. Historique	1
2. Place des microorganismes dans le monde vivant	2
3. Caractéristiques générales de la cellule procaryote	4
3.1. Taille et Structure	5
3.2. Reproduction	6
3.3. Métabolisme	6

Chapitre II : La cellule bactérienne

I. Techniques d'observation de la cellule bactérienne	7
1. La microscopie optique	7
2. La microscopie électronique	7
II. La morphologie cellulaire	8
1. Taille	8
2. Forme	8
3. Type de regroupement	9
4. Structure cellulaire	9
4.1. Paroi	10
4.1.1. Composition chimique	10
4.1.2. Structure moléculaire	10
4.1.3. Fonctions	13
4.1.4. Coloration de Gram	13
4.2. L'espace péri plasmique	14
4.3. La membrane cytoplasmique	14
4.3.1. Composition chimique	14
4.3.2. Structure	14
4.3.3. Fonctions	14
4.4. Le cytoplasme	15
4.4.1. Ribosomes	15
4.4.2. Les substances de réserve	16
4.5. Le chromosome	16
4.5.1. Morphologie et structure	16
4.5.2. Composition	16
4.5.3. Réplication chimique	16
4.6. Les plasmides	17
4.6.1. Structure	17

4.6.2. Réplication	17
4.6.3. Propriétés	17
4.7. Les Pili et les fimbriae	18
4.7.1. Structure	18
4.7.2. Fonction	18
4.8. La capsule	19
4.8.1. Morphologie	19
4.8.2. Composition chimique	19
4.8.3. Fonctions	19
4.9. Les flagelles	20
4.9.1. Mise en évidence	20
4.9.2. Structure	21
4.9.3. Fonctions	21
4.10. L'Endospore	22
4.10.1. Morphologie	22
4.10.2. Structure	22
4.10.3. Phénomènes de sporulation	23
4.10.4. Propriétés	23
4.10.5. Germination	24

Chapitre III : La classification bactérienne

1. Généralités	26
2. Codes de la nomenclature bactérienne	26
3. Classification bactérienne.....	27
3.1. Classification phénétique	27
3.2. Classification phylogénétique	28
3.3. Classification de Bergey	28
3.3.1. Embranchement : <i>Proteobacteria</i>	28
3.3.2. Embranchement : <i>Firmicutes</i>	29
3.3.3. Embranchement : <i>Actinobacteria</i>	30
3.3.4. Embranchement : <i>Chlamydiae</i>	30
3.3.5. Embranchement : <i>Cyanobacteria</i>	31
3.3.6. Embranchement : <i>Spirochaetae</i>	31

Chapitre IV : La nutrition bactérienne

1. Source d'énergie	32
2. Eléments majeurs (g/L)	32
2.1. Le carbone	32
2.2. L'azote	32
2.3. Le soufre et le phosphore	33
3. Les éléments mineurs (mg/L)	33
4. Oligo-éléments (ng/L)	34
5. Facteurs de croissance	34
6. Types trophiques	34
7. Paramètres physico-chimiques.....	35

7.1. Température	35
7.2. Potentiel hydrogène (pH)	37
7.3. Pression	37
7.4. Pression osmotique (P)	37
7.5. L'eau	38
7.6. Besoins en oxygène	38

Chapitre V : La croissance bactérienne

1. Mesure de la croissance	41
1.1. Dénombrement	41
1.1.1. Dénombrement au microscope	41
1.1.2. Épi-fluorescence	41
1.1.3. Dénombrement après culture	42
1.1.4. Mesure de la biomasse	42
1.1.5. Mesure de la turbidimétrie	43
1.1.6. Dosage de l'ATP	43
2. Paramètres de la croissance	43
3. Courbe de croissance (culture discontinue)	44
3.1. Phase de latence (I)	44
3.2. Phase d'accélération (II)	45
3.3. Phase exponentielle (III)	45
3.4. Phase de ralentissement (IV)	45
3.5. Phase stationnaire (V)	45
3.6. Phase de déclin (VI)	46
4. Croissance en Diauxie	46
5. Culture continue (Chémostat)	47
6. Culture bactérienne	47
6.1. Selon la consistance	48
6.1.1. Milieux liquides	48
6.1.2. Milieux solides	48
6.2. Selon la composition chimique	48
6.2.1. Milieux synthétiques	48
6.2.2. Milieux complexes (empirique)	48
6.2.3. Milieux semi-synthétiques	49
6.3. Selon le rôle	49
6.3.1. Milieux sélectifs	49
6.3.2. Milieux d'enrichissement	49
6.3.2. Milieux différentiels	49
7. Agents antimicrobiens	49
7.1. Définitions	49
7.2. Agents physiques	50
7.2.1. Chaleur	50
7.2.1.1. Chaleur humide	50
7.2.1.2. Chaleur sèche	51
7.2.2. Radiations	51
7.2.2.1. Rayons ultra-violet (UV)	51
7.2.2.2. Radiations ionisantes	51
7.2.3. Filtration	52

7.3. Agents chimiques	52
7.3.1. Alcools	52
7.3.2. Composés phénoliques	52
7.3.3. Aldéhydes	52
7.3.4. Peroxydes	52
7.3.5. Halogènes	53
7.3.6. Détergents et savons	53
7.3.7. Métaux lourds	53
7.4. Agents chimio-thérapeutiques	53
7.4.1. Définition des antibiotiques	53
7.4.2. Classification des antibiotiques	53
7.4.2.1. En fonction de leur origine	54
7.4.2.2. En fonction de leur spectre d'activité	54
7.4.2.3. En fonction de leur parenté chimique	54
7.4.2.4. En fonction de leur site d'action	55

Chapitre VI : Notions de Mycologie et de Virologie

1. Mycologie (levure et moisissure)	56
1.1. Taxonomie	56
1.1.1. Zygomycètes	56
1.1.2. Ascomycètes	57
1.1.3. Basidiomycètes	57
1.1.4. Deuteromycètes	58
1.2. Morphologie	58
1.2.1. Morphologie des levures	58
1.2.2. Morphologie des moisissures	59
1.3. Reproduction	60
1.3.1. Reproduction des levures	60
1.3.2. Reproduction des moisissures	61
2. Virologie	62
2.1. Découverte	62
2.2. Généralités	62
2.3. Morphologie (capside et enveloppe)	63
2.3.1. Génome viral	63
2.3.2. Capside virale	63
2.3.3. Enveloppe virale	64
2.4. Différents types de virus	64
2.5. Virus des bactéries (bactériophages)	65
2.6. Cycle de multiplication des virus	66
2.6.1. Adsorption	66
2.6.2. Pénétration	66
2.6.3. Réplication	67
2.6.4. Libération	68
Références bibliographiques	69

Liste des figures

Figure 1 : Les différentes classifications du monde vivant	04
Figure 2 : Différents types des microorganismes	05
Figure 3 : Les limites de résolution des microscopes	07
Figure 4 : <i>Staphylococcus aureus</i> en microscopie optique (a) et électronique (b)	08
Figure 5 : Les différentes formes bactériennes	09
Figure 6 : Schéma de la cellule bactérienne (en rouge : les éléments obligatoires ; en bleu : les éléments facultatifs)	10
Figure 7 : Structure du peptidoglycane	11
Figure 8 : Schéma de la paroi des bactéries à Gram positif	12
Figure 9 : Schéma de la paroi des bactéries à Gram négatif	12
Figure 10 : Etapes de la coloration de Gram.....	13
Figure 11 : Structure du ribosome bactérien	15
Figure 12 : La conjugaison bactérienne	18
Figure 13 : Localisation des flagelles	20
Figure 14 : Structure du flagelle de bactéries Gram négatives et positives	21
Figure 15 : Les différentes formes et positions de l'endospore bactérienne	22
Figure 16 : Le cycle sporal	24
Figure 17 : Taux de croissance en fonction de la température	36
Figure 18 : Division cellulaire par scissiparité	40
Figure 19 : Dénombrement des cellules bactériennes à l'aide de la cellule de Petroff-Hausser	41
Figure 20 : Dénombrement des bactéries viables sur gélose	42
Figure 21 : Aspects théoriques de la division bactérienne	43
Figure 22 : Cinétique de croissance bactérienne en système discontinu (Batch)	45

Figure 23 : Schéma graphique de la croissance cryptique chez les bactéries	46
Figure 24 : Phénomène de diauxie	46
Figure 25 : Schéma d'un chémostat	47
Figure 26 : Les différents sites d'action des antibiotiques	55
Figure 27 : <i>Rhizopus nigricans</i>	57
Figure 28 : <i>Penicillium</i>	58
Figure 29 : Schéma d'une Levure bourgeonnante	59
Figure 30 : Schéma d'un hyphe de moisissure	60
Figure 31 : Le cycle cellulaire de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	61
Figure 32 : Cycle de développement d'un basidiomycète	62
Figure 33 : Constituants d'un virus	63
Figure 34 : Types de capsides virales	64
Figure 35 : Virus nu et virus enveloppé	64
Figure 36 : Structure d'un bactériophage	66
Figure 37 : Cycle de réplication virale	67

Liste des tableaux

Tableau 1 : Quelques évènements importants dans le développement de la microbiologie ...	01
Tableau 2 : Principaux caractères différenciant les cellules procaryotes et eucaryotes	03
Tableau 3 : Les éléments majeurs et mineurs, leurs sources et leurs fonctions	33
Tableau 4 : Les différents types trophiques	35
Tableau 5 : Températures de croissance de quelques espèces bactériennes	36
Tableau 6 : pH de croissance de quelques espèces bactériennes	37
Tableau 7 : Les types respiratoires	39
Tableau 8 : Exemples d'antiseptiques et de désinfectants et leurs domaines d'utilisation	53
Tableau 9 : Principales familles d'antibiotiques	54
Tableau 10 : Classification de quelques virus selon le système LHT	65

Le monde microbien

Depuis la plus haute Antiquité, les micro-organismes ont été utilisés empiriquement pour produire et conserver les aliments : la découverte du vin, par Noé selon la Bible ou par Dionysos selon les Grecs, témoigne d'une tradition remontant vraisemblablement à la préhistoire. De même, la fabrication des laits fermentés et des fromages a été pratiquée depuis des millénaires dans les différentes régions du globe. Il s'agissait dans tous les cas de procédés permettant la conservation d'aliments hautement putrescibles comme le lait ou de productions saisonnières comme les jus de fruits.

1. Historique

Antony VAN LEEUWENHOEK (1632-1723), drapier hollandais et grand amateur de loupes et instruments d'optique, découvre et décrit entre 1674 et 1687 le monde microbien (« les animalcules »). Mais celui-ci n'est véritablement reconnu qu'à partir du milieu du XIXe siècle à la suite de travaux de Louis PASTEUR et de ses élèves (Tab.1).

Tableau 1 : Quelques événements importants dans le développement de la microbiologie.

Découvertes	Auteurs	Années
Premier microscope	Van Leeuwenhoek	1715
Utilisation de la vaccine pour se protéger de la variole	Jenner	1796
Fermentation lactique	Pasteur	1857
Etude de la fermentation alcoolique	Pasteur	1858
Antisepsie chirurgicale, asepsie	Lister	1865
Techniques de fixation et de coloration des bactéries	Koch	1875
Tyndallisation	Tyndall	1877
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Koch	1881
<i>Vibrio cholerae</i>	Koch	1883
Vaccination contre la rage	Pasteur	1884
Méthode de coloration différentielle des bactéries	Gram	1884
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Loeffler	1884
<i>Salmonella typhi</i>	Gaffky	1884
Staphylocoques et Streptocoques	Rosenbach	1884

<i>Escherichia coli</i>	Escherich	1885
Boite de Pétri	Petri	1887
<i>Clostridium tetani</i>	Kitasato	1889
Existence des virus	Beijerinck	1898
<i>Shigella dysenteriae</i>	Shiga	1898
Vaccin antitétanique		1914
Les bactériophages	Twort	1915
Vaccin contre la tuberculose BCG	Calmette et Guérin	1920
Découverte de la pénicilline	Fleming	1929
Les anatoxines	Ramon	1930
Reconnaissance des archéobactéries comme un groupe distinct		1977
Vaccin contre l'hépatite B		1980
Séquençage du génome du virus du SIDA		1984
Séquençage du génome d' <i>E.coli</i>		1997

2. Place des microorganismes dans le monde vivant

Avant la découverte des microorganismes, tous les êtres vivants étaient classés, par Carl LINNE (naturaliste suédois) en 1735, à l'intérieur du règne animal ou du règne végétal. Les organismes animaux tirent leur énergie de l'oxydation de matériaux organiques, accumulent des substances de réserve sous forme de graisses ou de glycogène, sont animés de mouvement actifs ; ils sont aussi dépourvus de parois cellulaires. Les végétaux, au contraire, sont photosynthétiques, utilisant la lumière comme source d'énergie ; ils synthétisent de l'amidon comme réserve nutritive, sont dépourvus de mouvements et possèdent une paroi cellulaire.

Les premières observations des microorganismes grâce à l'invention du microscope optique nécessitaient de les classer dans le monde du vivant. Ernst HAECKEL (entomologiste allemand) propose en 1886 de ranger l'ensemble des microorganismes dans le règne des Protistes (tout organisme vivant ayant une taille microscopique et une organisation simple) ce qui a abouti à la classification des organismes vivants en trois règnes :

- Le règne *Animalia* (Animaux) : regroupe les Métazoaires ;
- Le règne *Plantae* (Végétaux) : regroupe les plantes, les algues et les champignons ;

- Le règne *Protista* (Protistes) : regroupe les protozoaires, les bactéries et les myxomycètes.

Cette classification a été controversée suite à la découverte de l'ultra-structure cellulaire à l'aide du microscope électronique. Édouard CHATTON (zoologiste français) propose, en 1937, une classification du monde du vivant en deux types cellulaires qu'il nomme Procaryotes (organismes à cellules sans noyau) et Eucaryotes (organismes à cellules avec noyau) (Tab.2).

Tableau 2 : Principaux caractères différenciant les cellules procaryotes et eucaryotes.

	Procaryotes <i>Pro = avant / Karyon = noyau</i>	Eucaryotes <i>Eu = propre / Karyon = noyau</i>
Représentants	Bactéries et Archées	Animaux, Plantes, Mycètes et Protistes
Structure	Unicellulaire	Uni ou Pluricellulaire
Taille typique	01 à 10 µm	10 à 100 µm
Type de noyau	Absence d'un véritable noyau Absence d'une membrane nucléaire	Présence d'un vrai noyau Présence d'une membrane nucléaire
ADN	Chromosome unique Circulaire	Plusieurs chromosomes Linéaires
Métabolisme	Aérobic ou Anaérobic	Aérobic généralement
Division	Scissiparité	Mitose / Méiose
Ribosomes	70 S	80 S
Paroi	Présence presque constante Paroi de structure complexe	Absence ou présence Paroi de structure simple
Organites intra-cellulaires	Absence	Présence

En 1969, Robert WHITTAKER (botaniste américain) étudie les champignons et propose d'en faire un règne à part entière. Il identifie aussi les caractéristiques des bactéries qu'il nomme Monères. Le monde vivant est alors classé en cinq règnes :

- Le règne *Animalia* : organismes eucaryotes, hétérotrophes, dépourvus de paroi ;
- Le règne *Plantae* : organismes eucaryotes, autotrophes, possédant une paroi ;

- Le règne *Fungi* : organismes eucaryotes, hétérotrophes, possédant une paroi ;
- Le règne *Protista* : organismes eucaryotes, unicellulaires et dépourvus de paroi ;
- Le règne *Monera* : organismes procaryotes, unicellulaires et possédant une paroi.

Cette classification s'est révélée par la suite inadaptée à certaines disciplines biologiques telles la microbiologie. En 1977, Carl WOESE (microbiologiste américain) a mis en évidence le règne des Archébactéries à la suite de ses études sur l'ARN ribosomique (ARNr). Les analyses phylogénétiques semblaient montrer que les Archébactéries sont plus proches des Eucaryotes que des bactéries malgré leur structure cellulaire apparentée.

WOESE proposa alors, en 1990, une nouvelle classification (Fig.1) des organismes vivants en trois domaines (le premier rang taxonomique) :

- Le domaine des *Archaea* : procaryotes unicellulaires à histone ;
- Le domaine des *Bacteria* : procaryotes unicellulaires sans histone ;
- Le domaine des *Eucarya* : regroupe les organismes vivants eucaryotes (quatre règnes = *Animalia*, *Plantae*, *Fungi* et *Protista*).

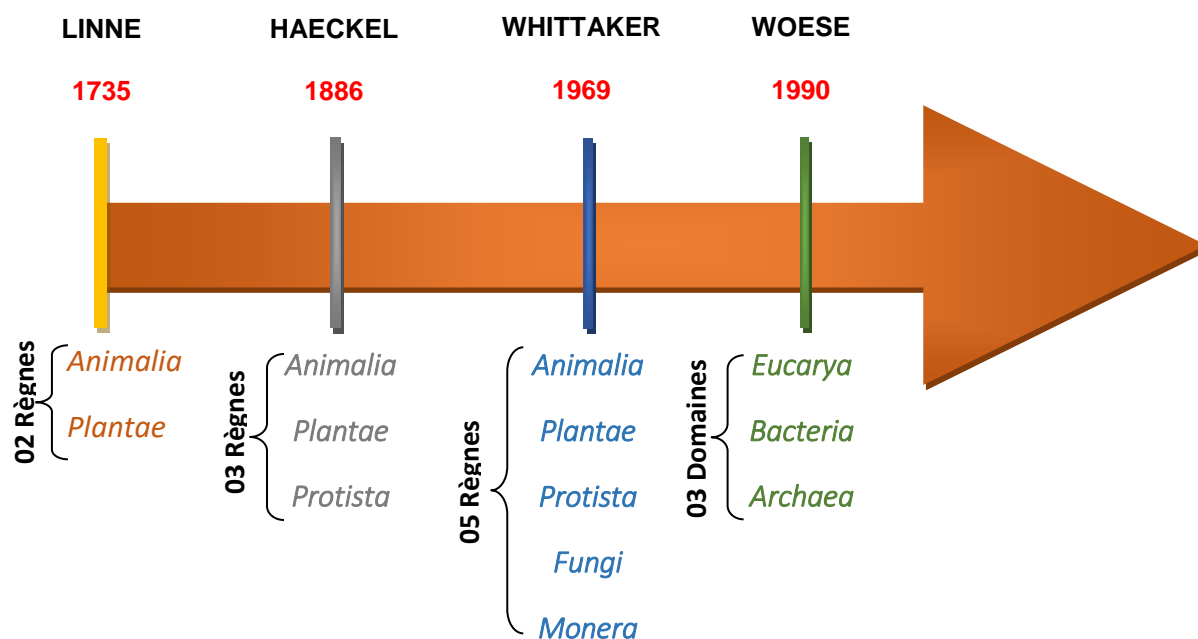


Figure 1 : Les différentes classifications du monde vivant.

3. Caractéristiques générales de la cellule procaryote

Les microorganismes, communément aussi appelés microbes (Fig. 2), forment un ensemble d'organismes vivants de taille microscopique. Ils sont donc invisibles à l'œil nu et

ne peuvent être observés qu'à l'aide d'un microscope. C'est en fait leur seule propriété commune car ils sont, par ailleurs, extrêmement variés et différents par leur morphologie, leur physiologie, leur mode de reproduction et leur écologie.

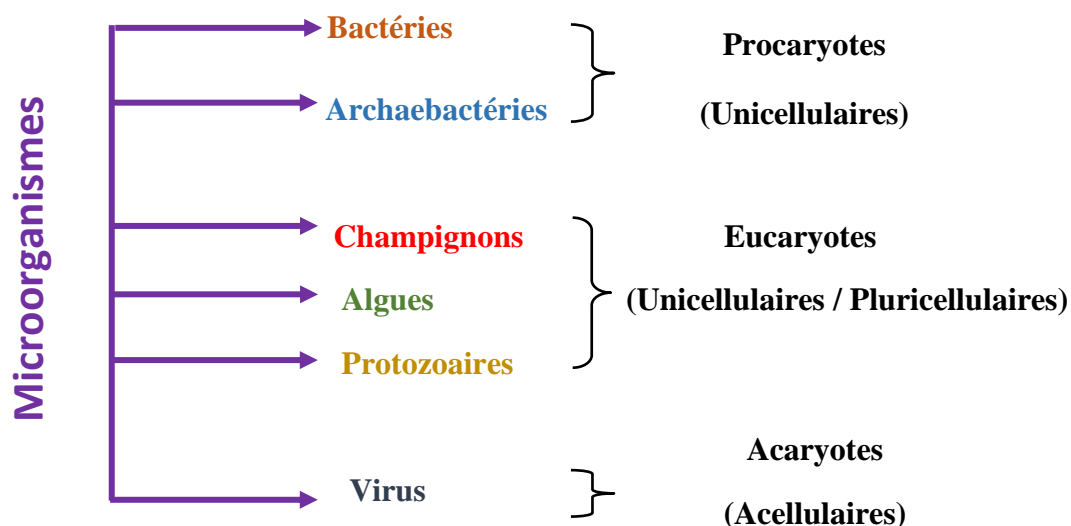


Figure 2 : Différents types des microorganismes.

Les microorganismes se présentent sous des formes, des tailles et des organismes biologiques très diverses. De même que certains groupes se caractérisent par des structures et des fonctions cellulaires spécifiques. Ils possèdent, dans leur ensemble, des propriétés métaboliques extrêmement variées qui leurs permettent des capacités d'adaptation exceptionnelles.

Cette situation explique, par ses différents aspects, leur présence permanente et généralisée dans tous les types d'écosystèmes de la planète: du fond des océans à la moindre parcelle de sol aussi bien en zones tempérées que désertiques (chaudes ou arctiques), en passant par l'homme, les animaux et les végétaux, les nuages, l'atmosphère, etc.

3.1. Taille et Structure

Les cellules microbiennes ont une taille considérablement très réduite que celle des cellules animales et végétales. Mais malgré son échelle microscopique, leur taille peut être très différente d'une catégorie de microorganismes à l'autre et d'une espèce à l'autre au sein d'une même catégorie. Les virus sont les plus petits des microorganismes, suivis des bactéries, puis des champignons et des parasites (Fig.3).

Ils sont pour la plupart unicellulaires mais certains sont pluricellulaires. Dans ce cas, leurs cellules sont équivalentes et sans différenciations morphologiques ou fonctionnelles significatives entre-elle.

3.2. Reproduction

Les microorganismes ont des modes de reproduction relativement simples et spécifiques et des temps de générations extrêmement courts qui engendrent des taux de croissance exceptionnels. Ainsi, les bactéries et de nombreux autres microorganismes peuvent se reproduire par une simple division binaire, souvent en quelques minutes seulement si le milieu possède des conditions nutritionnelles et physico-chimiques convenables.

3.3. Métabolisme

Les micro-organismes et en particulier les bactéries ont une propriété fondamentale qui est la diversité de leur métabolisme. Individuellement, chaque micro-organisme est spécifiquement adapté à la métabolisation d'un nombre plus ou moins limité de substrats. Ce qui explique leur distribution en fonction des caractéristiques nutritionnelles et physicochimiques du milieu. Mais, pris dans leur ensemble, les micro-organismes peuvent métaboliser toutes les substances organiques naturelles et même synthétiques.

La cellule bactérienne

I. Techniques d'observation de la cellule bactérienne

1. La microscopie optique

La mise au point du premier microscope qui utilise un rayonnement lumineux par Antony Van Leeuwenhoek au cours du XVII^e siècle marque le point de départ de la microbiologie. Le microscope photonique a été constamment amélioré depuis, et atteint actuellement des grossissements pouvant aller jusqu'à 2500 (1000 étant l'utilisation courante) et permet d'observer des structures dont la taille est de l'ordre de $1\mu\text{m}$. Le pouvoir de résolution reste cependant limité ; pour révéler des éléments d'une taille de 5 à 10 nm, on fait appel à la microscopie électronique (Fig. 3).

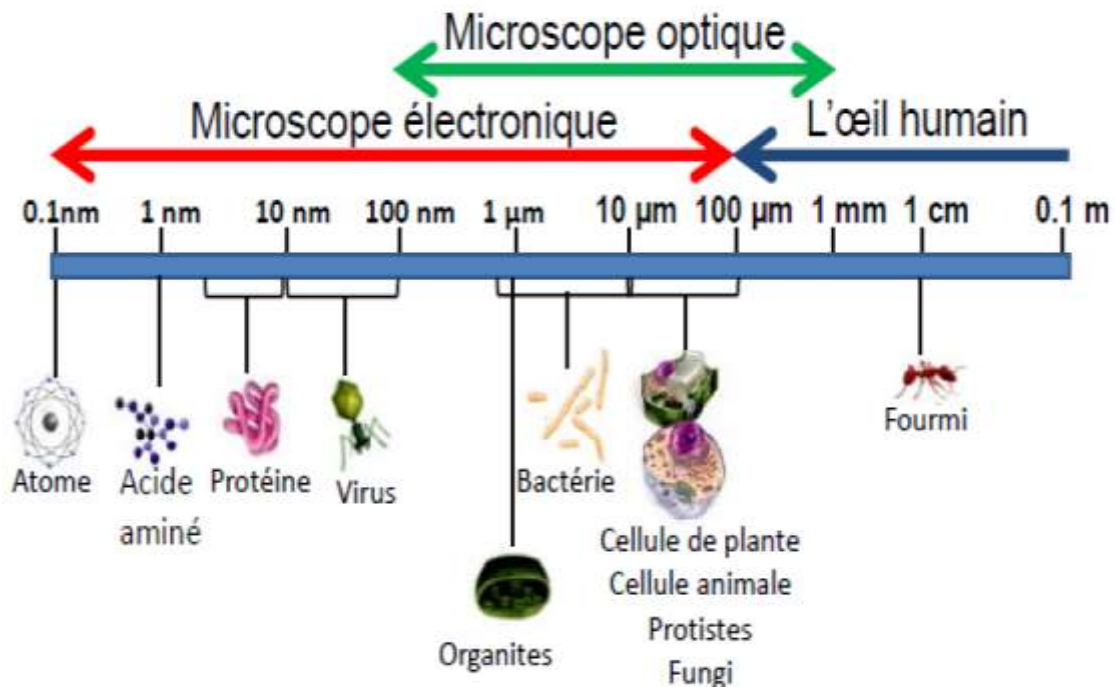


Figure 3 : Les limites de résolution des microscopes.

2. La microscopie électronique

Le microscope électronique utilise la propriété des différentes structures de retenir ou de laisser passer un faisceau d'électrons. Cette technique exige une préparation préalable du matériel cellulaire (fixation). Il existe deux types de microscopes électroniques :

- ✓ Le microscope électronique à transmission (MET) qui peut donner des détails sur le contenu des cellules ;
- ✓ Le microscope électronique à balayage (MEB) qui permet d'obtenir des images en « relief » de la cellule bactérienne.

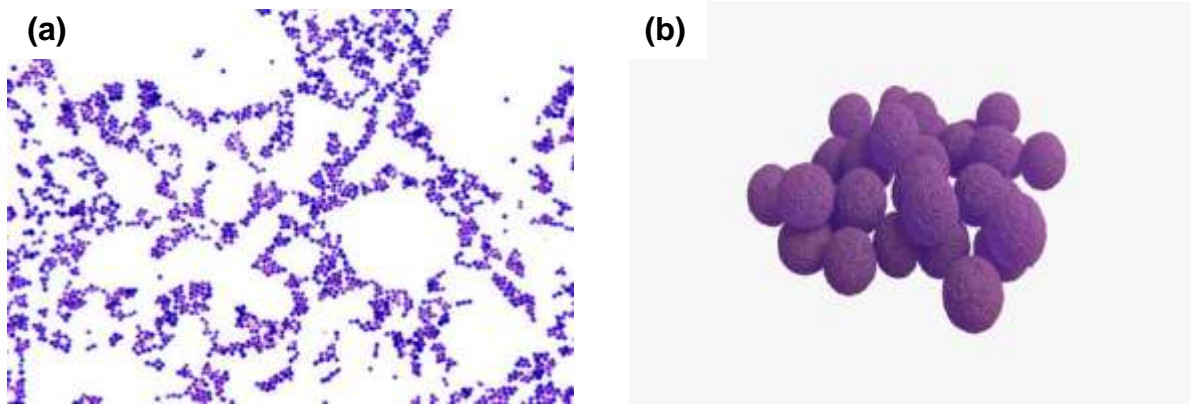


Figure 4 : *Staphylococcus aureus* en microscopie optique (a) et électronique (b).

II. La morphologie cellulaire

Lorsqu'on observe des bactéries au microscope optique à partir de prélèvements pathologiques ou d'un milieu de culture, on reconnaît rapidement la forme des cellules, leurs dimensions, enfin les types de regroupements qu'elles constituent entre elles. Toutes ces informations définissent la morphologie bactérienne et constituent un des critères de reconnaissance et d'identification.

1. Taille

Les bactéries sont les plus petits des microorganismes (en dehors des virus) : en moyenne 0,1 à 2 μm de diamètre pour 0,5 à 5 μm de long.

2. Forme

Les formes des bactéries sont extrêmement diverses. Nous en retiendrons trois principales :

- ✓ **La forme cylindrique ou bacilles** : ce sont des cellules en forme de bâtonnets plus au moins épais, droit ou incurvés en virgule (*Vibrio*), de longueur variable, avec des bords arrondis ou rectangulaires (*Bacillus*) ;
- ✓ **La forme sphérique ou coccoïde** : les cocci possèdent des diamètres variables. Ils peuvent être en chaînette (*Streptococcus*), en amas (*Staphylococcus*) et certains d'entre eux (*Neisseria*) sont légèrement aplatis à un pôle, ce qui leur donne une forme en « grain de café » ;
- ✓ **La forme spiralée ou hélicoïdale** : on les rencontre chez un petit groupe de microorganismes possédant une structure typique, un corps hélicoïdal et extrêmement allongé. On les distingue entre eux par leur longueur, le nombre et l'amplitude de leurs ondulations (*Leptospira*).

Ces formes sont les plus répandues, d'autres formes bactériennes peuvent être observées : bactéries filamenteuses, mycéliennes, pléomorphes (de forme variable), ...etc.

3. Type de regroupement

Une espèce bactérienne peut apparaître sous forme de cellules isolées séparées ou en groupements caractéristiques variables selon les espèces : association par paires (diplobacilles, diplocoques), en amas réguliers, en chaînette, par quatre (tétrades) ou par huit cellules (sarcine).

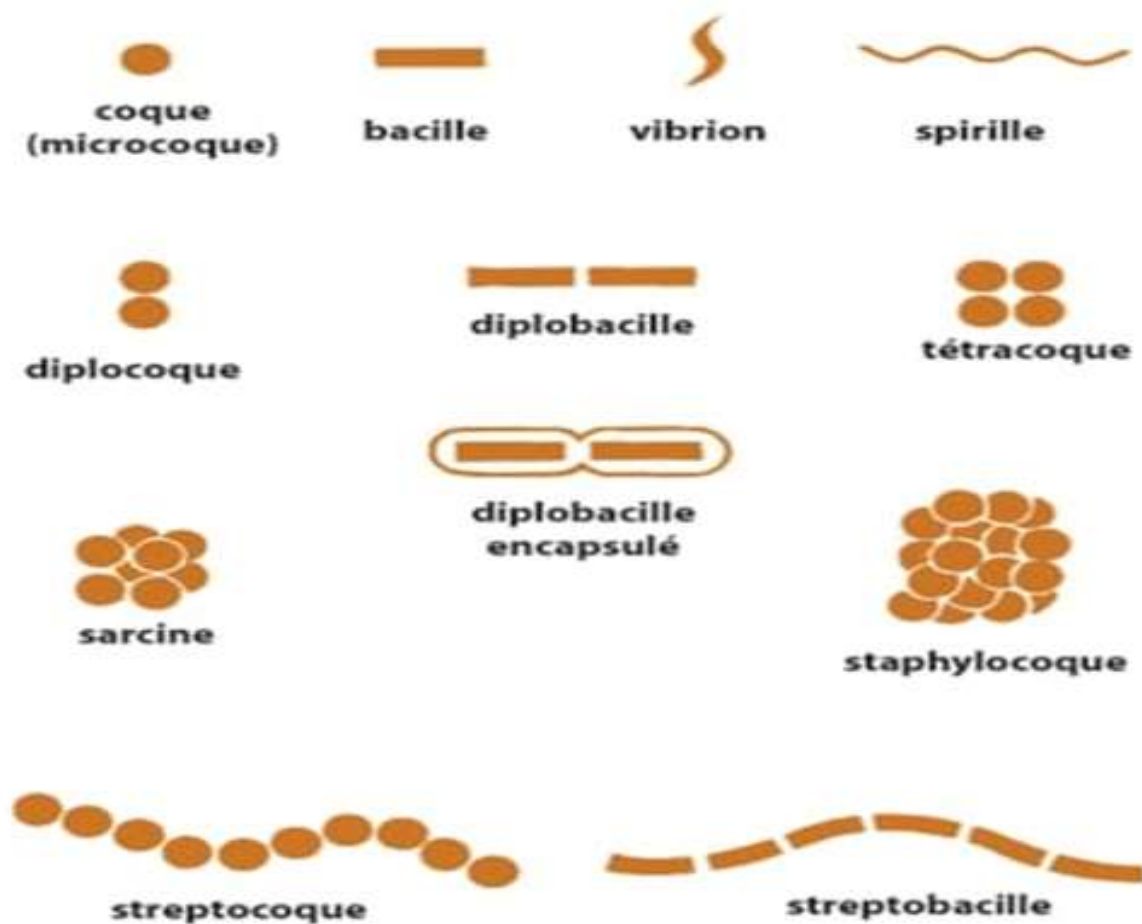


Figure 5 : Les différentes formes bactériennes.

4. Structure cellulaire

La structure interne bactérienne est simple. Les bactéries sont dépourvues de membrane nucléaire et leur cellule ne comporte pas les organites intracellulaires (mitochondrie, chloroplastes, appareil de Golgi...). Leurs structures cellulaires externes (paroi, membrane cytoplasmique) sont d'une grande complexité et douées de fonctions vitales.

La connaissance des différentes structures est nécessaire pour comprendre leur métabolisme. Certaines de ces structures sont obligatoires « ou constants », présents chez toutes les bactéries, d'autres sont retrouvés seulement chez certaines bactéries : ce sont des éléments non-obligatoires « ou facultatifs » (Fig. 6).

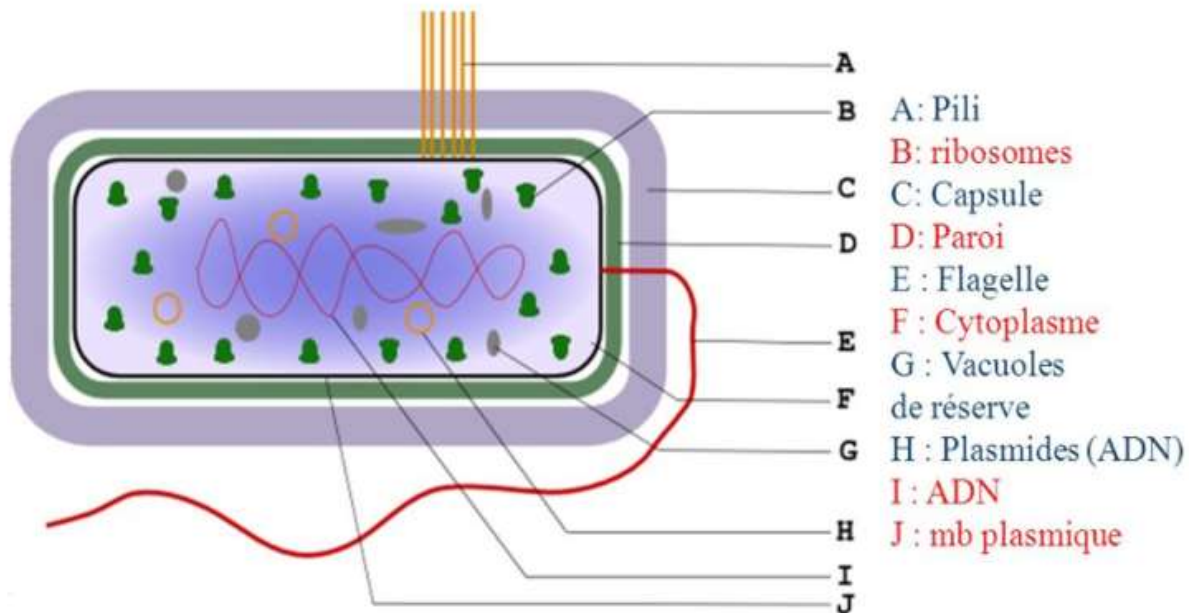


Figure 6 : Schéma de la cellule bactérienne (en rouge : les éléments obligatoires ; en bleu : les éléments facultatifs).

4.1. Paroi

4.1.1. Composition chimique

Enveloppe rigide entourant la bactérie retrouvée de manière quasi constante, sauf chez les mycoplasmes (naturellement dépourvues de paroi). L'originalité de la paroi des bactéries réside dans la composition et la structure chimique du complexe macromoléculaire, appelé peptidoglycane, qui est une structure typiquement bactérienne.

4.1.2. Structure moléculaire

Le peptidoglycane (ou muréine) est un hétéropolymère constitué d'une partie glucidique (= polysaccharide) et d'une partie peptidique. Le polysaccharide est un polymère du N-acétylglucosamine (AG) et de l'acide N-acétyl-muramique (AM) qui sont liés par des liaisons osidiques (β 1-4). Les chaînes polysaccharidiques sont liées par des ponts peptidiques, au niveau de l'AM, formés par différents acides aminés : D-alanine, L-alanine, acide D-glutamique, L-lysine et l'acide diaminopimélique (Fig. 7).

Il est à noter que l'acide muramique, la D-alanine, l'acide D-glutamique et l'acide diaminopimélique sont uniquement rencontrés chez les procaryotes, on ne les retrouve jamais ailleurs. La composition de la paroi bactérienne est donc très caractéristique.

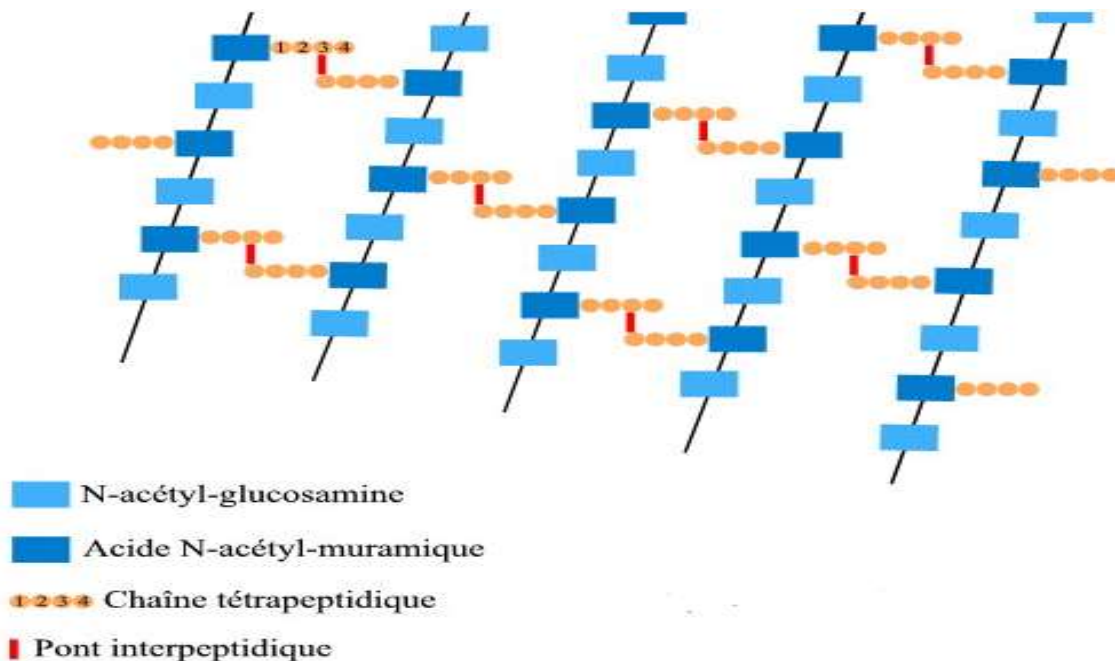


Figure 7 : Structure du peptidoglycane.

L'épaisseur de la paroi est nettement supérieure chez les bactéries dites à Gram positif et est en contact direct avec le milieu extracellulaire. À l'inverse chez les bactéries à Gram négatif, le peptidoglycane est plus fin et enchâssé entre deux membranes cytoplasmiques. C'est cette différence qui confère une réactivité différente de ces deux types de cellules aux colorants de Gram, à l'origine de la classification des bactéries en « Gram positives » et « Gram négatives ».

- **Bactéries à Gram positif**

Il y a de nombreuses couches de peptidoglycane (20 à 80 nm d'épaisseur) qui représentent jusqu'à 90 % des constituants de la paroi bactérienne. Celle-ci contient aussi un feutrage d'acides teichoïques (polymères du glycérol ou du ribitol phosphate, absent chez les bactéries Gram négatif) associés étroitement au peptidoglycane. D'autres lipides complexes : les acides lipoteichoïques, sont placés transversalement et s'enfoncent jusqu'à la membrane cytoplasmique (Fig. 8).

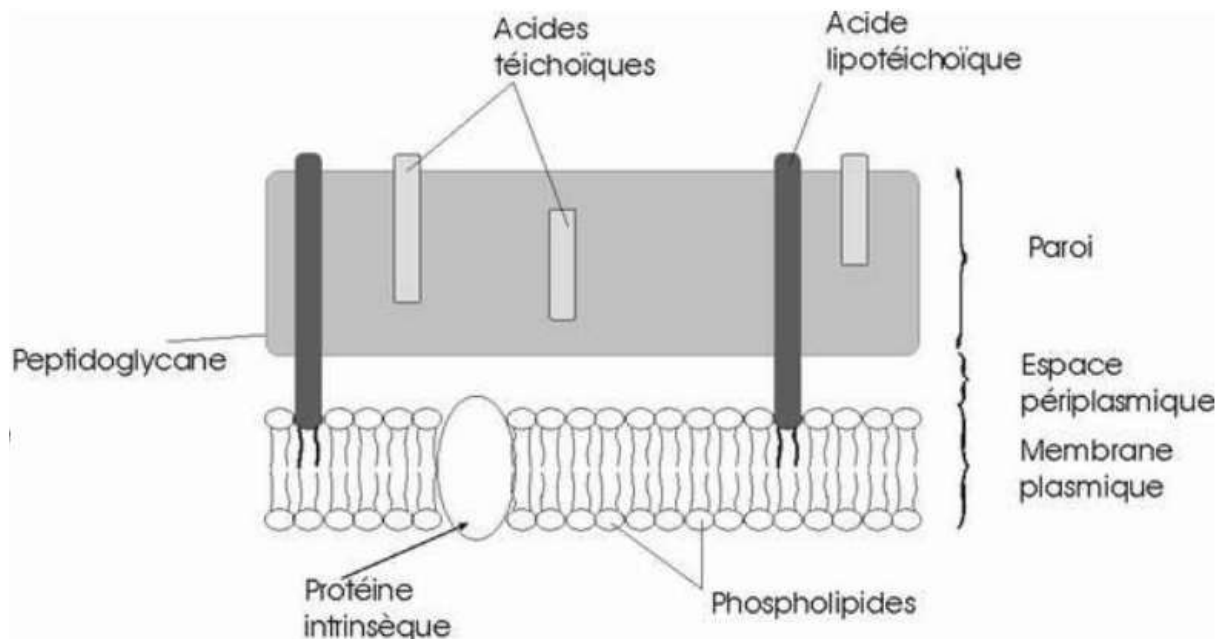


Figure 8 : Schéma de la paroi des bactéries à Gram positif.

- **Bactéries à Gram négatif**

Il n'y a qu'une seule ou au plus deux couches de peptidoglycane (6 à 15 nm d'épaisseur) qui ne représente que 5 à 20 % des constituants de la paroi bactérienne (Fig. 9). Mais deux polymères situés en dehors du peptidoglycane viennent compléter la paroi : les lipoprotéines de Braun et une membrane cytoplasmique externe qui contient les lipopolysaccharide. L'LPS est une molécule complexe constituée : du lipide A, d'un polysaccharide central et d'une chaîne latérale (antigène O).

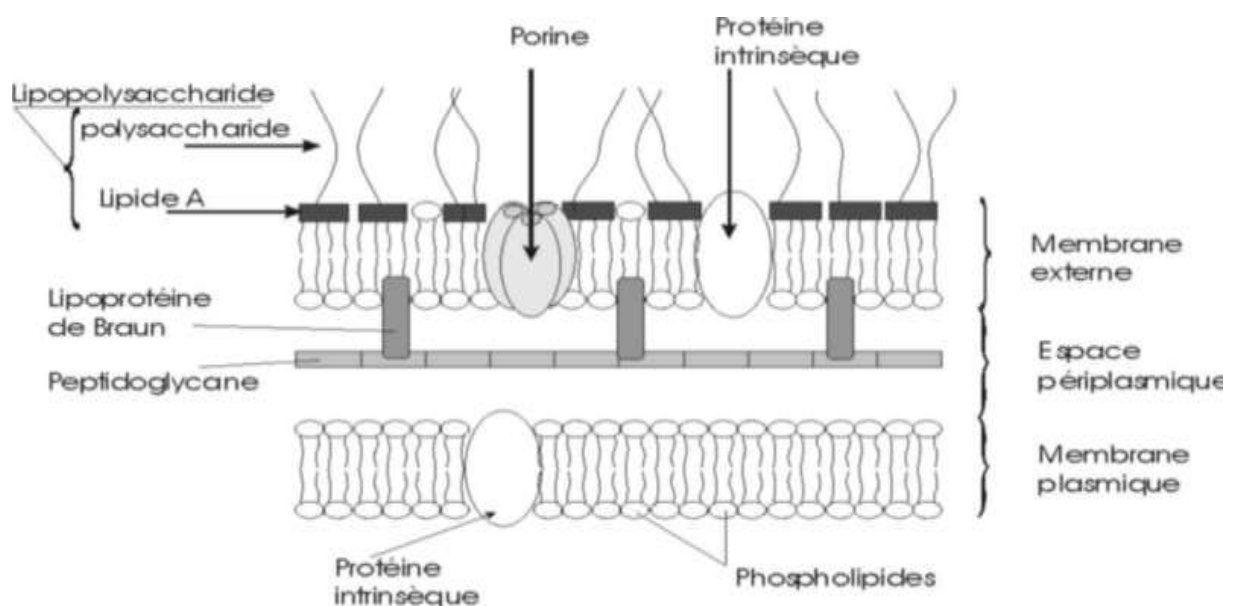


Figure 9 : Schéma de la paroi des bactéries à Gram négatif.

4.1.3. Fonctions

- **Forme** : la paroi confère à la bactérie sa morphologie véritable. Elle constitue le squelette externe de la bactérie et représente 25 à 35 % du poids total de la bactérie ;
- **Protection** : contre la pression osmotique. Les bactéries peuvent survivre sans paroi et même se multiplier (on les appelle alors formes L) à condition d'être placées dans un milieu dont la pression osmotique est équilibrée avec la pression osmotique qui règne à l'intérieur de la bactérie ;
- **Propriétés antigéniques** : elle joue un rôle déterminant dans la spécificité antigénique des bactéries ;
- **Fixation des bactériophages** : ils reconnaissent des récepteurs localisés sur le peptidoglycane des Gram positif ou la membrane externe des Gram négatif ;
- **Perméabilité** : la paroi laisse passer de petites molécules comme l'eau, les sels minéraux ou des métabolites simples. Par contre elle est plus ou moins perméable à certains solvants (exemple l'alcool). Cette propriété est mise à profit au cours de la coloration de Gram.

4.1.4. Coloration de Gram

Les différences de constitution et de structure chimique des parois Gram positif et Gram négatif permettent d'établir le principe de la coloration élaborée par Christian GRAM (1884). Après fixation du frottis on colore avec le violet de gentiane. On rince avec de l'eau. On rajoute un fixateur qui est le Lugol. On rince avec de l'eau distillée. On procède ensuite à une étape de décoloration par un mélange d'alcool et d'acétone. Ce dernier pénètre dans les bactéries Gram négatives et non dans les bactéries Gram positives dont les pores ont fermés par déshydratation par l'alcool. On rince et on procède à une contre coloration à la safranine. Les Gram positives vont apparaître **violet**s et les Gram négatives **roses**. Ajouter enfin un colorant rose (la fuchsine), les bactéries incolores deviennent roses (Fig. 10).

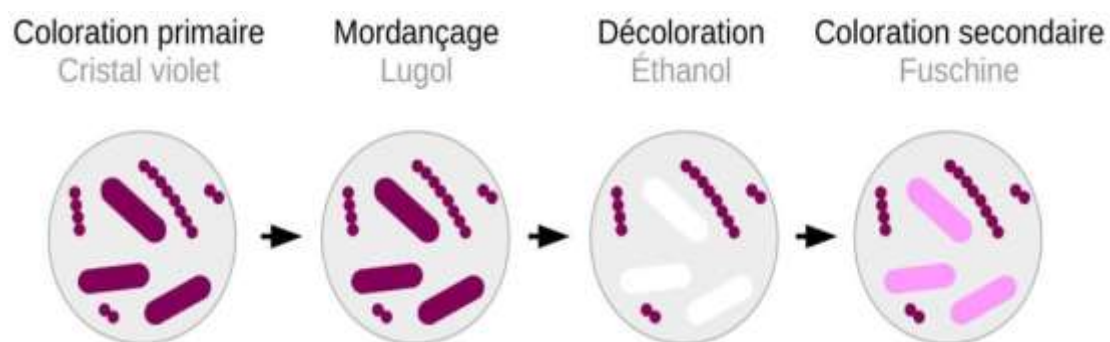


Figure 10 : Etapes de la coloration de Gram.

4.2. L'espace péri plasmique

Il désigne l'espace situé entre la membrane cytoplasmique et la paroi chez les bactéries à Gram positifs et l'espace situé entre les deux membranes cytoplasmiques membrane externe chez les Gram négatif.

Le périplasma est le siège de nombreuses enzymes aux activités essentielles pour les bactéries, notamment les bactéries à Gram négatif : enzymes hydrolytiques (les protéases, les phosphatases et les nucléases) impliquées dans la dégradation extra-cytoplasmique des nutriments absorbés à travers la paroi. D'autres enzymes sont impliquées également dans le transport des nutriments et de métabolites ou même dans la détoxification (protection de la cellule bactérienne contre les substances toxiques telles les β -lactamases).

4.3. La membrane cytoplasmique

4.3.1. Composition chimique

C'est une structure fine qui entoure la cellule en séparant son intérieur de l'environnement. Elle possède le même type de structure que celle d'une cellule eucaryote (bicouche phospholipidique) mais avec beaucoup moins de glucides et jamais de stérols. Elle est douée d'une haute perméabilité sélective, permettant à la cellule de concentrer certains métabolites spécifiques et d'excréter ces déchets métaboliques.

Elle a une épaisseur de 8 nm environ et comporte deux feuillets denses limitant un feuillet interne transparent. Elle est composée de 60 à 70 % de protéines et 30 à 40 % de lipides. Les lipides sont de loin les plus abondantes et sont à la base de la structure de la membrane.

4.3.2. Structure

Les lipides sont à la base de la structure de la membrane. Chaque molécule de lipide est amphipathique ; formée d'une partie hydrophobe soluble dans l'huile insoluble dans l'eau et une partie hydrophile ayant des propriétés opposées et portant un groupement phosphate chargé négativement. Ces deux couches moléculaires induisent une organisation en double feuillet. Cette organisation n'est pas statique, elle répond au modèle dit en mosaïque fluide (Les molécules peuvent se déplacer latéralement en échangeant leurs places).

On distingue deux catégories de protéines : les protéines périphériques et les protéines intégrales qui traversent complètement le double feuillet

4.3.3. Fonctions

La membrane a un rôle métabolique majeur :

- ✓ **La respiration cellulaire** : correspond à une chaîne de transport d'électrons et de protons. Cette chaîne se situe au niveau de la membrane cytoplasmique bactérienne, alors qu'elle se situe au niveau des mitochondries chez les cellules eucaryotes. Elle aboutit à la création d'un gradient protonique qui peut être utilisé de différentes façons, le rôle essentiel étant la production d'ATP ;
- ✓ **Rôle de transport** : la membrane cytoplasmique est une barrière osmotique semi-perméable qui permet aux bactéries de concentrer des substances dans leur cytoplasme et d'empêcher la pénétration de substances indésirables grâce aux perméases ;
- ✓ **Excrétion d'enzymes hydrolytiques** : qui dégradent les polymères en sous-unités suffisamment petites pour pouvoir traverser la membrane cytoplasmique et être importés dans la bactérie ;
- ✓ **La biosynthèse des polymères** de la paroi (peptidoglycane) et des lipides membranaires.

4.4. Le cytoplasme

C'est un gel à pH neutre contenant de l'eau (80 %), des substances organiques et minérales (substances de réserve) et dans lequel baignent les différents éléments intracellulaires (chromosome, ribosomes, ARN solubles, plasmides, enzymes, ...). Le cytoplasme représente le siège de la plupart des réactions métaboliques cellulaires (glycolyse, ...).

4.4.1. Ribosomes

Les ribosomes sont de petites granulations sphériques de 20 à 30 nm de diamètre, au nombre de 15000 environ par bactérie, qui sont très abondantes dans le cytoplasme des bactéries en croissance. Les ribosomes sont constitués d'ARNr (60%) et de protéines (40%). Ils sont constitués d'une grande sous-unité et d'une petite sous-unité, comme les ribosomes des cellules eucaryotes mais les constantes de sédimentation diffèrent (80S pour les eucaryotes et 70S pour les procaryotes) (Fig. 11).

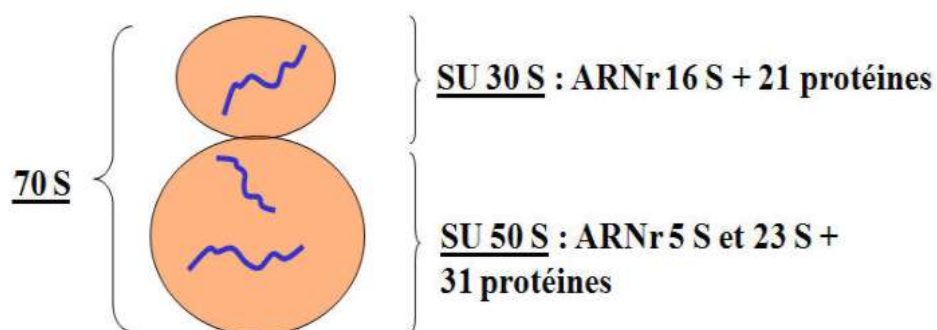


Figure 11 : Structure du ribosome bactérien.

Les ribosomes sont associés en chapelets sur l'ARNm sous forme de polysomes. Ils jouent un rôle fondamental dans la biosynthèse des protéines. C'est à leur niveau que les acides aminés s'unissent les uns aux autres par liaison peptidique pour former une protéine.

4.4.2. Les substances de réserve

Certaines bactéries accumulent dans leur cytoplasme des réserves de substrats nutritifs, quand leurs précurseurs sont présents dans le milieu en excès par rapport aux besoins de croissance. En général, chaque groupe de bactéries synthétise une seule catégorie de substances de réserve qui forment des agrégats, parfois de grande taille. Cela peut être des glucides (amidon et glycogène), des lipides (poly-hydroxy-butyrates), du polyphosphate, et parfois des minéraux (fer, soufre).

Au niveau de cytoplasme bactérien il existe aussi des organites spécialisés comme :

- ✓ **Les chromatophores** : qui ont un rôle dans la photosynthèse chez les algues ;
- ✓ **Les vacuoles à gaz** : permettant à certains groupes d'habitats aquatiques de flotter à la surface de l'eau.

4.5. Le chromosome

4.5.1. Morphologie et structure

Chez les bactéries, l'absence de membrane nucléaire conduit à parler d'appareil nucléaire ou de nucléoïde ou de chromosome plutôt que de noyau. Le chromosome bactérien est composé d'une molécule **unique** (haploïde) d'ADN circulaire, bi-caténaire, surenroulé (en pelote). Il stocke et contrôle toutes les informations génétiques nécessaires aux activités et aux fonctions bactériennes. Le chromosome bactérien a près de 1 mm de long (1000 fois la longueur de la bactérie).

4.5.2. Composition

L'ADN est un polymère de poids moléculaire élevé, composé d'unités appelées nucléotides. Chaque nucléotide est composé : d'un Groupement phosphoré + un sucre à 5 atomes (Désoxyribose) + une base purique (Adénine A et Guanine G) ou pyrimidique (Cytosine C et Thymines T). Le rapport (A+T)/(G+C) mieux connu sous le nom de coefficient de Chargaff varie selon les espèces. On l'exprime en GC%. 50% chez *E.coli*, 60% chez *Pseudomonas*,

4.5.3. Réplication chimique

La réplication est bidirectionnelle et semi-conservative : Chaque chaîne parentale reste associée à la nouvelle chaîne pour qui elle sert de matrice. La réplication débute en un

point spécifique (le point origine ou point d'initiation). Durant la réplication, la double hélice d'ADN doit être déroulée pour séparer les brins. Les hélicases sont responsable du déroulement de l'ADN. Les brins séparés sont maintenus à l'état monocaténaire grâce à des protéines se liant à l'ADN simple brin (les protéines SSB). Les enzymes catalysant l'addition des nucléotides sont des ADN polymérases de plusieurs sortes avec des fonctions bien spécifiques. Toutes les polymérases connues synthétisent de l'ADN dans le sens 5'—> 3' mais elles ne peuvent ajouter un nucléotide qu'à un groupement 3'-OH préexistant. Débuter la synthèse d'une nouvelle chaîne d'ADN nécessite donc la présence d'une amorce nucléotidique. Dans la plupart des cas, cette amorce est un court fragment d'ARN synthétisé par une enzyme, la primase.

L'une des chaînes de l'ADN, le brin avancé, est synthétisé de façon continue par l'ADN polymérase III. L'autre chaîne, le brin retardé est synthétisée de façon discontinue sous forme de petits fragments (fragments d'Okazaki). Dès que la plus grande partie du brin retardé a été répliquée par la formation des fragments d'Okazaki, l'ADN polymérase I ou RNase H retire l'amorce d'ARN. La polymérase I synthétise de l'ADN complémentaire pour remplir la brèche formée par l'élimination de l'ARN. Finalement, les fragments sont reliés par l'ADN ligase.

4.6. Les plasmides

4.6.1. Structure

En plus du chromosome, la bactérie peut contenir des éléments génétiques (ADN circulaire) de petite taille (0,5 à 5 % du chromosome bactérien), extra-chromosomiques. Ils portent très peu de gènes, moins de 30. Une bactérie peut héberger de nombreux plasmides distincts les uns des autres.

4.6.2. Réplication

La réplication des plasmides de grande taille est synchrone de celle du chromosome dont elle utilise les systèmes enzymatiques de réplication. Ce n'est pas le cas des petits plasmides qui se répliquent indépendamment de la machinerie enzymatique de la cellule hôte et sans synchronisation avec la multiplication de son chromosome.

4.6.3. Propriétés

Les plasmides sont transmissibles d'une bactérie à une autre, et peuvent s'intégrer au chromosome bactérien (épisode). Ils ne sont pas indispensables à la vie de la bactérie mais lui

confèrent de nouvelles propriétés. Les principales fonctions codées par les plasmides sont les suivantes :

- ✓ Résistance aux antibiotiques (90% plasmidique) les 10% restant (chromosomique) ;
- ✓ Production de substances à rôle pathogène (toxines) ;
- ✓ Production de bactériocines ;
- ✓ Caractères métaboliques.

4.7. Les Pili et les fimbriae

4.7.1. Structure

L'existence d'appendices filiformes différents des flagelles a été révélée par le microscope électronique. On peut parler de :

- **Les fimbriae** : mot latin, signifie filament. C'est un appendice court (de l'ordre de $1\mu\text{m}$), creux, rigide, composé de protéines disposées en hélice. Il est largement retrouvé en grand nombre autour du corps bactérien (1000) chez les Gram négatives et exceptionnellement chez les Gram positives.
- **Les pili sexuels** : mot latin signifie cheveu. Ils sont plus longs et plus épais que les fimbriae ($10\mu\text{m}$, 9nm respectivement) et moins nombreux (1 à 4 par cellule).

4.7.2. Fonction

- **Les fimbriae** : jouent un rôle dans l'adhésion des bactéries aux différents supports vivants ou non. Ils favorisent la formation de biofilm.
- **Le pili sexuel** : Il a un rôle dans la conjugaison bactérienne (Fig. 12). Les pili sexuels de la bactérie donatrice vont permettre de reconnaître une bactérie réceptrice et entraîner la création d'un pont cytoplasmique entre les deux bactéries, permettant ainsi le passage d'une molécule de plasmide.

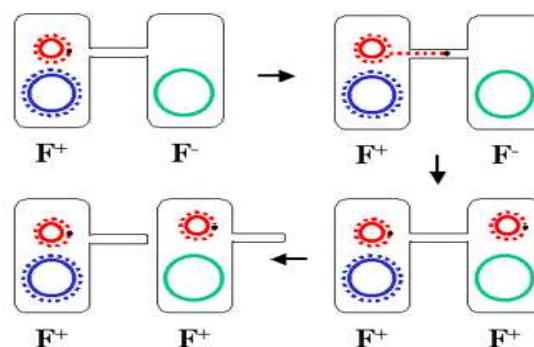


Figure 12 : La conjugaison bactérienne.

4.8. La capsule

4.8.1. Morphologie

De nombreuses bactéries élaborent des substances organiques visqueuses qui entourent leur paroi. On distingue en réalité 3 types de couches, la capsule, les couches mucoïde et la couche S selon les bactéries.

- ✓ **La capsule**, est bien organisée, bien définie et elle est difficilement détachable de la bactérie ;
- ✓ **La couche mucoïde**, retrouvée chez les bactéries aquatiques est moins bien organisée, diffuse, elle est facilement détachable de la bactérie.
- ✓ **La couche S**, plus rigide, très structurée. C'est une couche de surface mise en évidence que par microscopie électronique. Elle est constituée de sous unités protéiques organisées de façon.

La capsule se présente sous une forme amorphe. Elle est communément mise en évidence au microscope optique par une coloration à l'encre de chine. Sa présence donne aux colonies bactériennes obtenues sur milieux gélosés, un aspect muqueux caractéristique.

4.8.2. Composition chimique

La capsule et les couches mucoïdes peuvent être regroupées sous le terme de glycocalyx. Le glycocalyx est un réseau de polysaccharides. La couche mucoïde est fréquente chez les bactéries aquatiques. Certains polysaccharides produits par des bactéries ont un intérêt industriel et sont produits comme gélifiant notamment en industries alimentaires.

La couche S, quant à elle, est composée de protéines et de glycoprotéines, organisés en pavement.

4.8.3. Fonctions

Les bactéries peuvent vivre sans la capsule, mais cette dernière lui confère des avantages grâce à ses rôles :

- ✓ De protection : contre les Ultraviolets, la dessiccation, les agents physiques et chimiques et les bactériophages ;
- ✓ De Virulence : elle s'oppose à la phagocytose en diminuant l'adhésion de bactéries aux macrophages. Elle exerce un chimiotactisme négatif sur les leucocytes ;
- ✓ Antigénique : les Ag capsulaires sont responsables de la spécificité sérologique (Ag K) ;
- ✓ D'Adhésion aux supports ;
- ✓ De filtration : excluant l'entrée et la sortie des molécules trop grosses.

4.9. Les flagelles

Ce sont des organes locomoteurs spécialisés. Ils sont très rares chez les coques. Les flagelles sont des filaments qui mesurent en moyenne 16 à 20 μm (beaucoup plus que la bactérie) et sont très fins (300 Å d'épaisseur). Ils sont constitués d'une seule protéine, la flagelline, permettant le mouvement des bactéries (1 à 30 flagelles par bactérie), à localisation polaire ou péritriche (Fig. 13).

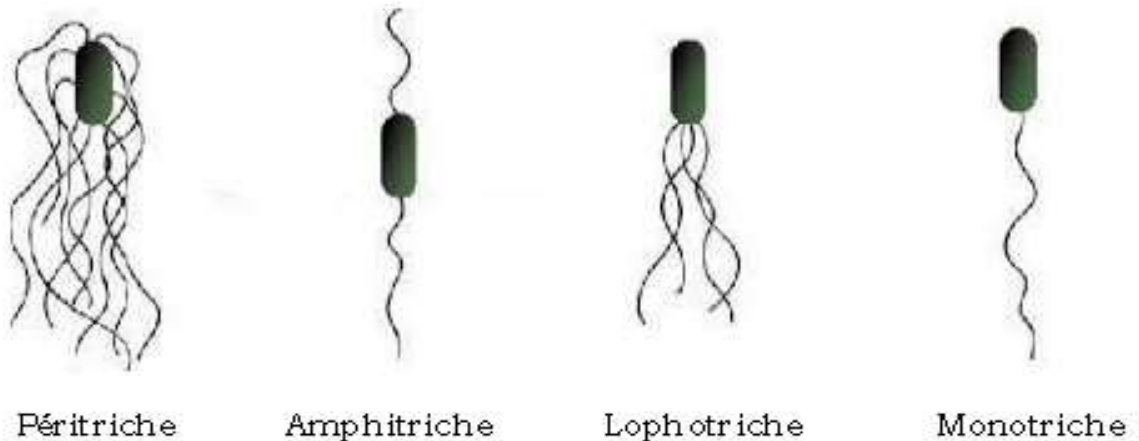


Figure 13 : Localisation des flagelles.

- ✓ **Dans le système polaire** : le ou les cils sont insérés à une ou aux deux extrémités de la cellule. La cellule est :
 - **Monotriche** si l'on ne rencontre qu'un seul flagelle à l'une de ses extrémités
 - **Amphitriche** lorsqu'un flagelle émerge à chacun des pôles
 - **Lophotriche** lorsqu'une touffe de cils apparaît à l'une ou aux deux extrémités
- ✓ **Dans le système péritriche** : la bactérie porte de très nombreux cils insérés sur tout le pourtour de la cellule. L'intérêt de ces notions est évident en taxonomie.

4.9.1. Mise en évidence

- ✓ Indirecte : état frais (bactéries en mouvement) ou en milieu semi-gélosé ;
- ✓ Directe : en microscopie optique après avoir épaissi les flagelles par des colorations spéciales (coloration de Leifson : fuchsine basique). Cependant, la meilleure méthode d'étude est l'observation au microscope électronique qui, seule, permet de détailler leur forme, leur mode d'insertion et leurs dimensions.

4.9.2. Structure

Les flagelles sont fixés à la bactérie par insertion dans la membrane cytoplasmique. Ils sont mobiles par rotation, comme une hélice, grâce à un mécanisme similaire à un « rotor » fonctionnant grâce à l'énergie fournie par un gradient de protons. Le flagelle bactérien est constitué de 3 parties :

- ✓ **Le filament hélicoïdal** : c'est un cylindre creux constitué d'une seule protéine multimérique : la flagelline ;
- ✓ **Le crochet** : Il lie le filament au corpuscule basal. Il a la même composition que le filament, mais à cet endroit, la flagelline ne possède pas le même pas d'hélice, ce qui permet la formation d'un coude. Le crochet est plus court que le filament, mais plus large. Très flexible, il permet d'induire le mouvement de la bactérie.
- ✓ **Le corpuscule basal** : Enfoui dans la cellule, il insère le flagelle dans le corps cellulaire. Son architecture, assez complexe, peut être simplifiée en 3 parties (Une partie mobile : le rotor ; Une partie fixe : le stator ; Un inverseur qui déclenche le mouvement soit dans le sens des aiguilles d'une montre soit dans le sens inverse).

Le mouvement du flagelle qui engendre le déplacement de la bactérie dans une direction donnée est produit par la rotation du crochet dans un sens ou dans l'autre. La bactérie est capable de choisir le sens de rotation puisqu'elle est capable de se diriger vers : certaines substances (chimiotactisme), la lumière (phototactisme) et l'oxygène (aérotactisme).

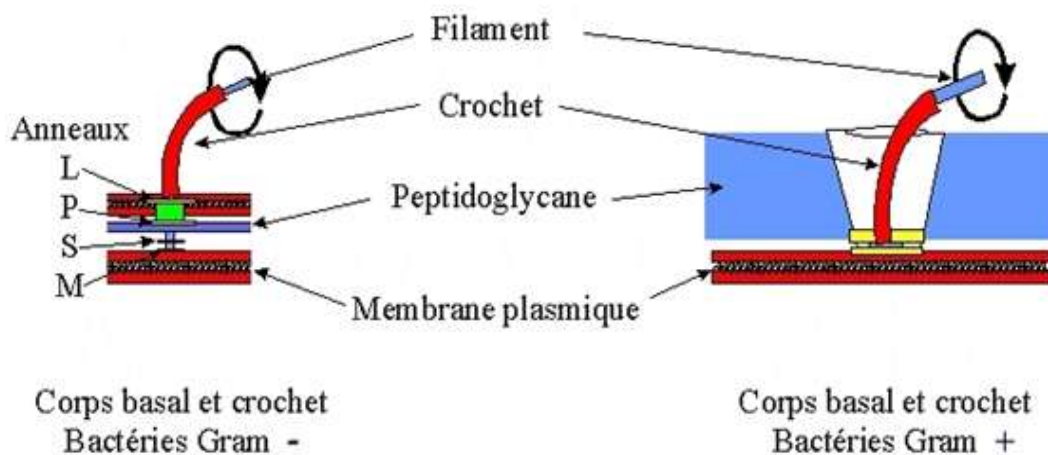


Figure 14 : Structure du flagelle de bactéries Gram négatives et positives.

4.9.3. Fonctions

- ✓ La locomotion : mises en évidence sur des milieux semi-gélosés (diffusion dans la gélose) ou sur milieu solide (envahissement de la surface de la boîte. Ex : *Proteus*) ;

✓ Rôle antigénique : les antigènes flagellaires (Ag H) déterminent différents sérotypes.

4.10. L'Endospore

Un certain nombre de bactéries acquièrent une structure spéciale, résistante, dormante appelée endospore. Les endospores se développent dans les cellules végétatives de quelques genres bactériens (*Bacillus* et *Clostridium* comme exemple). Ces structures sont extraordinairement résistantes aux conditions sévères de l'environnement comme la chaleur, les radiations ultraviolet, les désinfectants chimiques et la dessiccation.

4.10.1. Morphologie

Les spores sont de petites unités ovales ou sphériques. Elles peuvent déformer ou non le corps bactérien. Leur position dans la cellule est variable : centrale, terminale, subterminale. Elles servent également dans l'identification bactérienne. La spore peut-être libre ou non. La recherche de tous ces caractères se fait dans un but taxonomique (Fig. 15).

Position	Forme	Déformation
Centrale	Ovale	Non déformante
Subterminale		
Terminale	Sphérique	Déformante

Figure 15 : Les différentes formes et positions de l'endospore bactérienne.

4.10.2. Structure

La spore possède une paroi et une membrane plasmique identiques à celle de la cellule végétative. L'enveloppe la plus externe est mince, appelée exosporium. Sous l'exosporium on trouve le manteau ou la tunique, composée de plusieurs feuillets protéiques. Le cortex est localisé juste sous la tunique. Enfin le protoplaste (cytoplasme) ou cœur de la spore, contient les ribosomes, le nucleoïde et des enzymes inactives.

4.10.3. Phénomènes de sporulation

La sporulation est un phénomène (dure environ 10 heures) de différenciation qui conduit de la forme végétative à la spore. Elle est provoquée par l'épuisement du milieu en substrat nutritif et elle peut nécessiter des conditions particulières ; absence d'oxygène pour les clostridies et présence d'oxygène pour *Bacillus anthracis*. Le processus de sporulation débute à la fin de la phase de croissance exponentielle et il se déroule en 6 étapes (Fig. 16) :

Stade I : formation du filament axial : la division nucléaire n'étant pas suivie d'une division cellulaire, les deux génomes fusionnent donnant un filament chromatique axial ;

Stade II : les deux génomes se séparent et en même temps la membrane cytoplasmique s'invagine près d'un pôle de la cellule pour former un septum de sporulation qui partage la cellule en deux parties inégales. Ce septum va envelopper le cytoplasme de la plus petite partie pour former une pré-spore caractéristique ;

Stade III : Engloutissement de la pré-spore ;

Stade IV : entre les deux membranes limitant la pré-spore se forme la paroi sporale puis apparaît rapidement le cortex ;

Stades V and VI : apparition des tuniques et après maturation ;

Stade VII : la cellule végétative se lyse et libère la spore.

4.10.4. Propriétés

La spore possède de nouvelles propriétés par rapport à la cellule végétative. Dans la nature (conditions naturelles), la spore permet de résister aux manques d'eau et de nutriments. Expérimentalement on a démontré les propriétés suivantes :

- ✓ **La thermo résistance** : La spore résiste en général à des températures de 70-80°C pendant 10 minutes, parfois plus. Cette propriété est due à la présence de l'acide dipicolinique, la déshydratation de la spore et aux protéines « SASP » (petites protéines acides et solubles pouvant se fixer à l'ADN).
- ✓ **Résistance aux agents physiques et chimiques** : La spore résiste aux rayons Ultraviolets, aux rayons gamma (Calcium, et SASP). Aux antiseptiques, désinfectants, antibiotiques (la tunique).
- ✓ **Synthèse de substances actives** : Certaines bactéries synthétisent des antibiotiques au début de la phase de sporulation (Exp : *Bacillus licheniformis* synthétise ainsi la Bacitracine). Mais aussi des toxines (Exp : entérotoxine de *Clostridium perfringens*) ou des

substances à activité bio-pesticide (exp : le corps parasporal de *Bacillus thuringiensis* provoque la paralysie et puis la mort de l'insecte qui l'ingère).

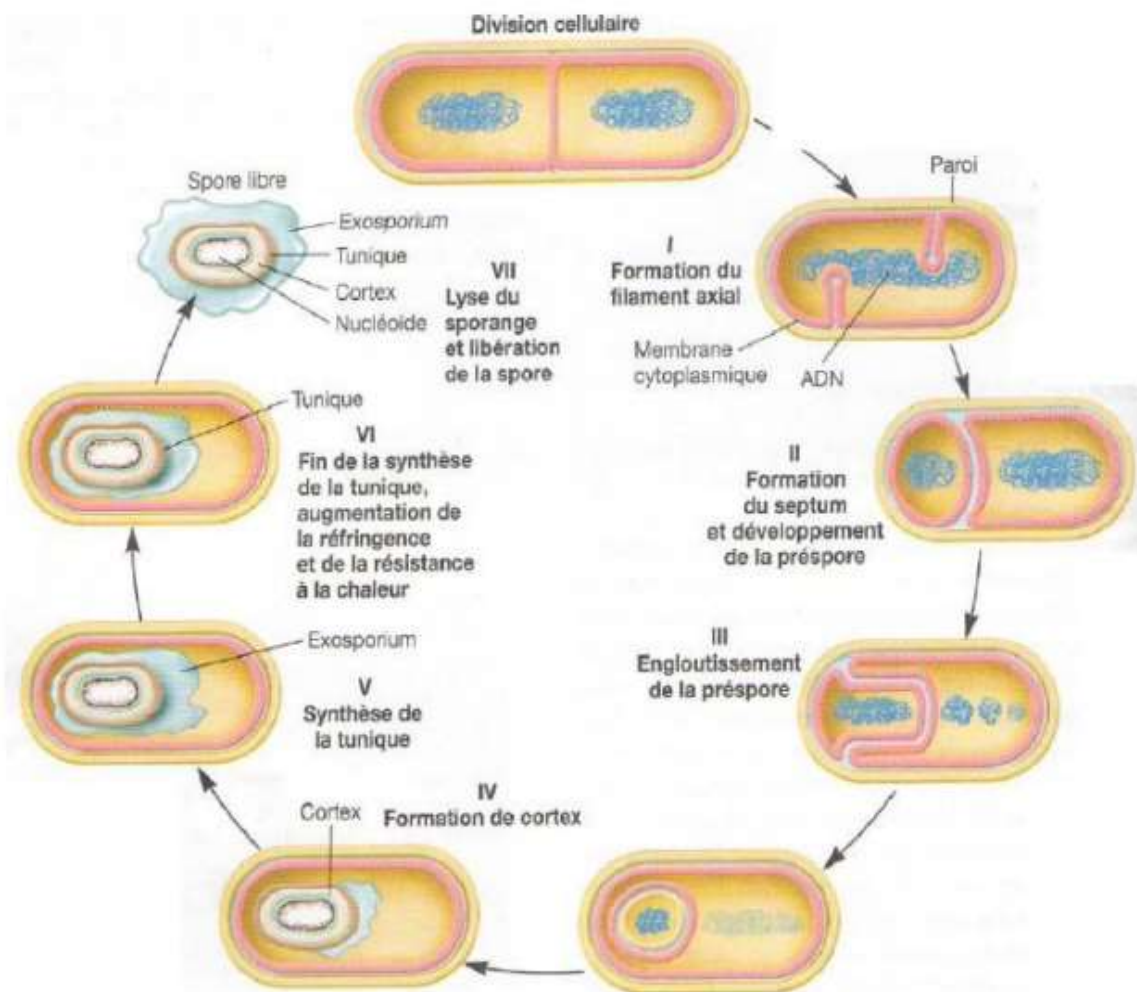


Figure 16 : Le cycle sporal.

4.10.5. Germination

Après une période de dormance plus ou moins longue, l'endospore peut retourner rapidement à son état initial de cellule végétative. Cette transformation se déroule en trois phases :

- ✓ **Activation** : elle survient seulement dans des conditions favorables de milieu et la suite d'une activation exercée soit par des chocs physiques, soit par des chocs mécaniques ou chimiques. L'activation résulte donc principalement d'une lésion des tuniques sporales qui peut aussi résulter d'un chauffage de quelques minutes à température élevée mais sub-létale ou d'un stockage de plusieurs semaines à température ambiante.

- ✓ **Initiation (ou germination)** : elle intervient dès que les spores sont mises en présence de nutriments spécifiques et dans des conditions d'hydratation favorable. Cette phase implique pour la spore la perte de sa réfractilité, la perte de sa résistance, parallèlement à la libération du dipicolinate de calcium et à l'autolyse du cortex et des tuniques sporales.
- ✓ **Excroissance** : cette phase implique un gonflement visible de la cellule dû à une absorption d'eau et la synthèse de nouveaux ARN, protéines et ADN. La cellule émerge de la tunique sporale rompue et commence éventuellement à se diviser. La cellule demeure ensuite à l'état végétative jusqu'à ce que des signaux environnementaux déclenchent à nouveau la sporulation.

La classification bactérienne

1. Généralités

La science du classement des individus est appelée **Taxonomie** ou **Systematique**. Un classement consiste à former des groupes d'individus (taxons) qui se ressemblent selon des critères prédéfinis et à éliminer ceux qui s'en distinguent qui pourront former un autre groupe avec leurs semblables.

Comme pour l'ensemble des organismes vivants, l'unité de base de la classification bactérienne est l'**Espèce**. Plusieurs espèces présentant entre elles suffisamment de caractères communs sont réunies en un **Genre**. Sur le même principe, plusieurs genres composent une **Famille** et ainsi de suite. Plusieurs familles forment un **Ordre**, plusieurs ordres constituent une **Classe**, plusieurs classes sont réunies en un **Embranchement** (ou **phylum**), plusieurs phylums forment un **Règne** et enfin, plusieurs règnes forment un **Domaine**. On utilise parfois des échelons intermédiaires : sous-embranchement, sous famille, ou sous espèce.

Un moyen mnémotechnique connu permettant de retenir cette classification est le suivant : "**R**este **E**n **C**lasse **O**ù **F**ais **G**randes **É**tudes".

2. Codes de la nomenclature bactérienne

La nomenclature représente un langage internationale qui permet d'appeler, par un même nom, des choses identiques dans n'importe quel laboratoire ou clinique du monde entier. La nomenclature des bactéries est établie selon les règles définies par le système de Carl Van LINNE.

Certains rangs taxonomiques ont une terminaison dérivée du latin et définie par convention, selon leur rang taxonomique hiérarchique :

- ✓ Les noms de familles se terminent par "**acea**" (exp : *Enterobacteriaceae*) ;
- ✓ Les noms des ordres par "**ales**" (exp : *Pseudomonadales*).

L'espèce est désignée par un système **binominal** (deux noms) et est réglementée par le code international de la nomenclature bactérienne, qui est, encore une fois, une création purement humaine. En premier le nom du genre dont seule la première lettre est écrit en majuscule, suivi de l'épithète. Le tout souligné ou écrit en caractères italiques (Exp : *Staphylococcus aureus*).

Les noms scientifiques sont donnés sous forme latinisée. Ces noms sont issus du grec et/ou du latin, mais aussi de plus en plus souvent du français, de l'anglais, ou d'autres langues

modernes, auxquels des préfixes ou suffixes latins sont ajoutés. Certains noms rappellent :

- ✓ Une maladie (exp : *Mycobacterium tuberculosis* = la tuberculose) ;
- ✓ Un scientifique (exp : *Escherichia* = *Monsieur Escherich*) ;
- ✓ Un métabolisme (exp : *Nitrobacter* = oxydation des nitrites) ;
- ✓ Un lieu géographique (exp : *Saccharothrix algeriensis* = Algérie) ;
- ✓ Une couleur (exp : *Staphylococcus aureus* = couleur jaune-doré).

La nomenclature prévoit encore quelques cas particuliers :

- ✓ Habituellement, après avoir mentionné une première fois le nom scientifique de l'espèce en entier dans le texte, on l'abrège par la suite (exp : *E.coli* pour *Escherichia coli*) ;
- ✓ L'appartenance d'une souche isolée au laboratoire à un genre, sans précision de l'espèce, est notée du nom du genre suivi de *sp.* tant que cet isolat n'est pas identifié à une espèce (exp : *Pseudomonas sp.*) ;
- ✓ Lorsque l'on veut désigner toutes les espèces d'un genre, pour souligner un caractère biochimique ou pathologique commun, le nom du genre est suivi de *spp.* (exp : *Streptococcus spp.*) ;

3. Classification bactérienne

La classification des organismes supérieurs en espèces est relativement simple car basée sur la description de caractères morphologiques généralement significatifs et sur la reproduction sexuée (possible seulement entre individus de la même espèce = inter-fécondité). Ainsi, on peut distinguer, par exemple, du premier coup d'œil un lion d'un éléphant ou encore un pin d'un olivier. Mais chez les procaryotes, la problématique de définition de l'espèce est plus complexe et différente. Deux types de classifications sont généralement utilisés pour les procaryotes :

3.1. Classification phénétique

C'est une classification artificielle basée sur l'étude des caractères observables telles que :

- La coloration de Gram, la forme cellulaire, la mobilité, la capacité à sporuler
- La température et le pH de croissance
- Les besoins nutritionnels
- Le type respiratoire
- L'utilisation des différentes sources de carbone ou d'azote

Ce type de classification est d'un grand intérêt pratique puisqu'il limite le champ d'investigation aux seules bactéries partageant la priorité spécifique, commune et discriminante. Mais d'un autre côté, il peut réunir des bactéries par ailleurs très hétérogènes.


3.2. Classification phylogénétique



C'est une classification naturelle. Elle a pour principe de base l'étude comparative de marqueurs moléculaires qui sont liés soit au génome (ADN, ARN) ou les protéines qui en dérivent, soit des molécules structurales stables, telles que les composants membranaires (acides gras) ou pariétaux (peptidoglycane).

3.3. Classification de Bergey


Selon la dernière édition du *BERGEY's Manual of Systematic Bacteriology* (le guide officiel de la classification des Procaryotes), le règne *Bacteria* comprend **33** Embranchements. Les embranchements cités ci-dessous sont les plus étudiés et les plus riches en espèces :


3.3.1. Embranchement : *Proteobacteria*

Classe	Ordre	Famille	Genre et espèce
<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Neisseriales</i>	<i>Neisseriaceae</i>	<p style="text-align: center;"><i>Neisseria meningitidis</i></p> <p>également connue sous le nom de méningocoque, elle est responsable des méningites, elle se caractérise par un type de regroupement particulier en diplocoques à face aplatie qui ont un aspect de grains de café. Les <i>Neisseria</i> sont des germes fragiles et exigeants. Ils se cultivent à 36°C sur des milieux de culture enrichis telle la gélose au sang cuit (chocolat) et sélectifs (addition des antibiotiques) pour inhiber la croissance des bactéries commensales.</p> 


Classe	Ordre	Famille	Genre et espèce
<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Pseudomonadales</i>	<i>Pseudomonadaceae</i>	<p style="text-align: center;"><i>Pseudomonas aeruginosa</i></p> <p>Des bâtonnets de 1,5 à 5µm de long, aérobies strictes, mobiles par flagelle monopolaire. Ce sont des Bacilles Non-Fermentaires (BNF), ils n'attaquent pas les sucres par fermentation. Cette espèce est productrice de deux types de pigments pyocyanine (bleu) et pyoverdine (jaune-vert). C'est une souche multi-résistante aux antibiotiques et responsable des infections nosocomiales.</p> 
	<i>Enterobacteriales</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	<p style="text-align: center;"><i>Escherichia coli</i></p> <p>C'est une bactérie que l'on trouve couramment dans le tube digestif de l'être humain (80% de la flore intestinale). C'est une entérobactérie mobile capable de fermenter le lactose. La plupart des souches sont inoffensives. Cependant, certaines souches d'<i>E.coli</i> peuvent être pathogènes, entraînant alors des gastro-entérites, infections urinaires, méningites, ou septicémies.</p> 

3.3.2. Embranchement : *Firmicutes*


Classe	Ordre	Famille	Genre et espèce
<i>Clostridia</i>	<i>Clostridiales</i>	<i>Clostridiaceae</i>	<p style="text-align: center;"><i>Clostridium tenani</i></p> <p>Responsable du tétanos. Ce sont des grands bâtonnets isolés, anaérobies obligatoires. C'est un genre sporulant. On trouve les spores de la bactérie dans le sol. Les spores sont résistantes à la chaleur et germent dans des conditions d'anaérobie.</p> 

Classe	Ordre	Famille	Genre et espèce
<i>Bacilli</i>	<i>Bacillales</i>	<i>Staphylococcaceae</i>	<p style="text-align: center;"><i>Staphylococcus aureus</i></p> <p>Communément appelé : le staph doré. Des coques arrondis, anaérobies facultatifs, apparaissent en amas dits en grappes de raisin. C'est l'une des principales causes d'intoxications alimentaires.</p> 


3.3.3. Embranchement : *Actinobacteria*

Classe	Ordre	Famille	Genre et espèce
<i>Mycobacteriaceae</i>	<i>Mycobacteriaceae</i>	<i>Mycobacteriaceae</i>	<p style="text-align: center;"><i>Mycobacterium tuberculosis</i></p> <p>Responsable de la tuberculose. Les mycobactéries sont des bacilles assez longs et fins, aérobies stricts. Ils sont caractérisés par un temps de génération très long (20 heures). Ce sont des bactéries dites Acido-Alcool-Résistantes (BAAR). Cette résistance est liée à la richesse de leur paroi en cires.</p> 


3.3.4. Embranchement : *Chlamydiae*

Classe	Ordre	Famille	Genre et espèce
<i>Chlamydiae</i>	<i>Chlamydiales</i>	<i>Chlamydiaceae</i>	<p style="text-align: center;"><i>Chlamydia trachomatis</i></p> <p>Responsable du trachome (inflammation aiguë des cellules épithéliales de l'œil). Les chlamydies sont des bacilles de petite taille (300-500 nm), non colorables en Gram et non mobiles. Tout comme les virus, ce sont des parasites intracellulaires obligatoires (PIO).</p> 

3.3.5. Embranchement : *Cyanobacteria*

Classe	Ordre	Famille	Genre et espèce
<i>Cyanophyceae</i>	<i>Nostocales</i>	<i>Nostocaceae</i>	<p>Les cyanobactéries sont des bactéries aquatiques, appelées aussi algues bleu-vert (Cyan = bleu-vert), Elles ont des formes structurales très diverses qui vont des organismes unicellulaires à des organismes pluricellulaires filamenteux présentant ou non des ramifications. Les cyanobactéries sont des bactéries photosynthétiques. On connaît plus de 7500 espèces (Exp de Genre : <i>Nostoc</i>).</p> 

3.3.6. Embranchement : *Spirochaetae*

Classe	Ordre	Famille	Genre et espèce
<i>Spirochaetes</i>	<i>Spirochaetales</i>	<i>Leptospiraceae</i>	<p><i>Leptospira interrogans</i></p> <p>Responsable de la leptospirose. Ce sont des bactéries Gram négatif, hélicoïdales flexibles et fines, formés de 18 à 30 tours de spires. Leurs extrémités sont souvent en forme de crochet.</p> 

La nutrition bactérienne

Pour assurer sa croissance ou sa survie, une bactérie doit trouver dans son environnement de quoi satisfaire ses besoins nutritifs : sources d'énergie, de carbone, d'azote, etc. Ces éléments doivent être apportés dans un milieu où règnent des conditions physicochimiques favorables (température, pH, pression osmotique, etc...).

1. Source d'énergie

Selon le type d'énergie utilisée, on reconnaît deux types de bactéries : les bactéries **phototrophes** ou **photosynthétiques** puisent leur énergie dans le rayonnement lumineux, et les bactéries **chimiotrophes** utilisent l'énergie de l'oxydation de produits chimiques organiques ou minéraux.

Lorsque les donneurs d'électrons sont des minéraux (comme H_2S , H_2 , Fe^{2+} ou NH_3), on parlera de bactéries **photo-lithotrophes** ou de bactéries **chimio-lithotrophes**, S'il est organique, on parlera de bactéries **photo-organotrophes** ou de bactéries **chimio-organotrophes** (Tab. 4).

2. Eléments majeurs (g/L)

Comme le carbone (C), l'hydrogène (H), l'oxygène (O), l'azote (N), le soufre (S) et le phosphore (P) qui sont nécessaires pour la synthèse des glucides, des lipides et des protéines.

2.1. Le carbone

Le carbone est l'élément constitutif le plus abondant chez les bactéries. Certaines bactéries peuvent utiliser le gaz carbonique de l'air ou ses sels (carbonates) comme seule source de carbone ; elles sont dites **Autotrophes**. Elles sont donc capables de synthétiser la matière organique à partir de cette source minérale. Pour la majorité des bactéries, la source de carbone est **organique** ; elles sont dites **Hétérotrophes** (Tab. 3 et 4).

2.2. L'azote

La synthèse des protéines nécessite des substances azotées. Pratiquement toutes les bactéries sont capables d'assimiler l'ammoniac (NH_3) ou les sels d'ammonium (Tab. 3). Quelques-unes peuvent utiliser les nitrates (NO_3^-), les nitrites (NO_2^-) ou même l'azote organique (acides aminés). D'autres bactéries peuvent fixer l'azote atmosphérique gazeux (N_2) (exemple : *Rhizobium*).

2.3. Le soufre et le phosphore

Les bactéries ont besoin de soufre pour élaborer certains acides aminés soufrés. Les sources de soufre peuvent être minérales (S, SO₄, thiosulfates) ou organiques.

Le phosphore est nécessaire en tant que constituant des acides nucléiques, de nombreuses coenzymes et de l'ATP. Il est souvent incorporé sous forme de phosphate inorganique (Tab. 3).

3. Les éléments mineurs (mg/L)

Comme le potassium (K), le calcium (Ca), le magnésium (Mg) et le fer (Fe) qui sont nécessaires pour l'équilibre physico-chimique des cellules sous forme de cation et jouent un rôle dans la catalyse enzymatique. Ces éléments sont trouvés en faible quantité dans le milieu environnant et ils sont assimilés directement sous formes de cations (Tab. 3).

Tableau 3 : Les éléments majeurs et mineurs, leurs sources et leurs fonctions.

Elément	% Poids sec	Source	Fonction
Oxygène	20	H ₂ O, matière organique, CO ₂ et O ₂	Constituant du matériel et de l'eau cellulaires, accepteur d'électrons dans la respiration
Hydrogène	8	H ₂ O, matière organique, H ₂	Constituant majeur de la matière organique et de l'eau cellulaire
Carbone	50	Matière organique ou CO ₂	Constituant majeur du matériel cellulaire
Azote	14	NH ₃ , NO ₃ , matière organique, N ₂	Constituant des acides aminés, nucléotides et coenzymes
Phosphore	3	Phosphate inorganique (PO ₄)	Constituant des acides nucléiques, d'ATP, des LPS et des acides téichoïques
Soufre	1	SO ₄ , H ₂ S, S [°] , matière organique	Constituant de la cystéine et la méthionine.

Potassium	1	Sels de Potassium	Cations cellulaires et cofacteurs pour certaines réactions enzymatiques
Magnésium	0,5	Sels de Magnésium	
Calcium	0,5	Sels de Calcium	
Fer	0,2	Sels de Fer	

4. Oligo-éléments (ng/L)

Les bactéries ont également besoin d'autres ions (Mn, Zn, Cu, Co) mais en faibles quantités (trace) ; ils sont appelés micro-éléments. Ils agissent en tant que cofacteurs pour les réactions enzymatiques essentielles dans les cellules. Ajoutés en grandes quantités, ils deviennent toxiques.

5. Facteurs de croissance

En présence d'eau, d'une source d'énergie, d'une source de carbone, d'une source azote et d'éléments minéraux (milieu minimum), de nombreuses bactéries sont capables de croître et elles sont qualifiées de **Prototrophes**. A partir de cette source, elles sont capables de synthétiser tout ce dont elles ont besoin comme substance organique. D'autres bactéries sont incapables de synthétiser certaines substances indispensables à leur croissance (facteurs de croissance) à partir de la seule source de carbone organique fournie ; il faut donc les leur apporter dans le milieu ; elles sont dites **Auxotrophes**.

Les facteurs de croissance regroupent les acides aminés, les vitamines et les bases azotées. Exemple : *Proteus vulgaris* a besoin du nicotinamide (auxotrophe), alors qu'*Escherichia coli* fabrique elle-même cette vitamine (prototrophe). Certaines bactéries exigent qu'un seul facteur de croissance, d'autre plusieurs. Exemple : *Lactobacillus* a besoin de 18 facteurs de croissance.

6. Types trophiques

Le type trophique (du grec *trophus* : nourriture) définit la façon dont un organisme produit sa matière organique selon trois critères : la source de carbone, la source d'énergie et le donneur d'électrons. Différents types trophiques sont rencontrés chez les bactéries (Tab. 4).

Tableau 4 : Les différents types trophiques.

Source d'énergie	Source d'électrons	Source de carbone	Type trophique	Exemple
Photo (Lumière)	Litho (minérale)	Auto (minérale)	Photo-litho-autotrophe	Certaines bactéries
		Hétéro (organique)	Photo-litho-hétérotrophe	<i>Thiobaca</i>
	Organo (organique)	Auto (minérale)	Photo-organo-autotrophe	Athiorhodacées
		Hétéro (organique)	Photo-organo-hétérotrophe	Quelques Cyanobactéries
Chimio (matière chimique)	Litho (minérale)	Auto (minérale)	Chimio-litho-autotrophe	Bactéries nitrifiantes
		Hétéro (organique)	Chimio-litho-hétérotrophe	<i>Albibacter</i>
	Organo (organique)	Auto (minérale)	Chimio-organo-autotrophe	Rares bactéries
		Hétéro (organique)	Chimio-organo-hétérotrophe	La plupart des bactéries

7. Paramètres physico-chimiques

Les facteurs environnementaux, comme la température, le pH, la salinité, l'osmolarité l'activité de l'eau et l'oxygène influencent et contrôlent la croissance bactérienne. Chaque bactérie possède des valeurs optimales pour chaque facteur et par conséquent, selon les valeurs optimales, on définit différentes catégories de bactéries.

7.1. Température

Une bactérie est en général capable de croître dans un intervalle de température plus ou moins important, selon les espèces. Il est limité par une valeur minimale en dessous de laquelle il n'y a plus de développement et une valeur maximale au-dessus de laquelle la croissance s'arrête (Tab.5). La croissance est meilleure dans un intervalle de température optimum.

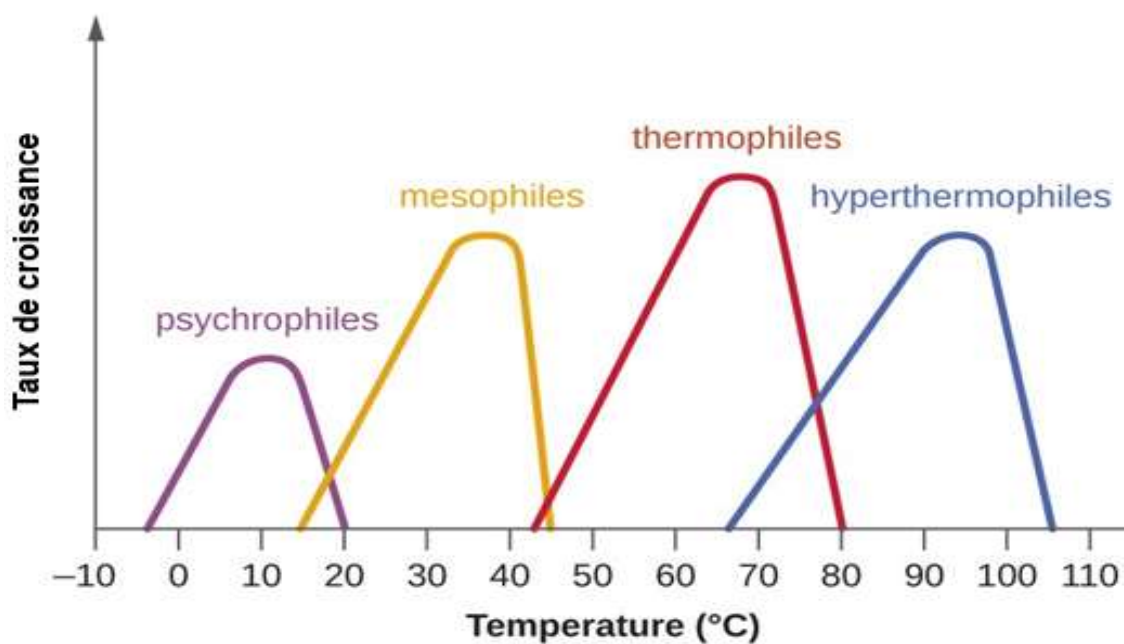
Tableau 5 : Températures de croissance de quelques espèces bactériennes.

Bactérie	Températures (°C)		
	Minimum	Optimum	Maximum
<i>Vibrio marinus</i>	4	15	30
<i>Escherichia coli</i>	10	37	45
<i>Thermus aquaticus</i>	40	70	80
<i>Pyrobacterium brockii</i>	80	105	115

La température influence profondément la multiplication et le métabolisme bactérien (action sur la vitesse des réactions biochimiques). Selon la température optimale moyenne (TOM) de développement, on distingue généralement quatre catégories de bactéries (fig. 17) :

- ✓ Les **psychrophiles** dont la TOM est située aux environs de 4°C ;
- ✓ Les **mésophiles** qui préfèrent une température comprise entre 20 et 40°C ;
- ✓ Les **thermophiles** qui se multiplient préférentiellement entre 45 et 65°C ;
- ✓ Les **hyperthermophiles** ont une température optimale de croissance entre 70 °C et 110°C.

Il est impératif de signaler que la majorité des microorganismes sont mésophiles.

**Figure 17** : Taux de croissance en fonction de la température.

7.2. Potentiel hydrogène (pH)

Le pH traduit la concentration en H⁺ dans un milieu. C'est un facteur très important qui influence beaucoup la croissance des bactéries. En fonction du pH optimum, on distingue trois groupes bactériens :

- ✓ **Les acidophiles** qui préfèrent un pH acide (< à 6) ;
- ✓ **Les neutrophiles** pH optimum proche de la neutralité (≈ 7) (la majorité des bactéries)
- ✓ **Les alcalophiles** qui préfèrent des pH alcalins (≥ 8).

Tableau 6 : pH de croissance de quelques espèces bactériennes.

Bactérie	Minimum	Optimum	Maximum
<i>Thiobacillus</i>	0.5	2	4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6	7	8
<i>Nitrobacter</i>	6.5	8.5	10

7.3. Pression

Les bactéries **barophiles** (du grec *baros*, poids, pesanteur), ont une La croissance optimale dans une atmosphère dont la pression est supérieure à la pression atmosphérique. Ce sont les bactéries des eaux profondes des mers et des océans.

7.4. Pression osmotique (P)

La pression osmotique d'un milieu traduit la concentration totale des ions et molécules en solution dans ce milieu. Les bactéries, à l'exception des Mycoplasmes, sont peu sensibles aux variations de pression osmotique car elles sont protégées par leur paroi. Toutefois, certaines espèces marines sont adaptées à des milieux contenant environ 35 g de NaCl par litre. Selon leur sensibilité à la pression osmotique, on distingue trois grandes catégories de bactéries :

- ✓ **Les halophiles** : nécessitent du sel (NaCl) pour leur croissance. La concentration peut varier de 4 à 6% pour les halophiles modérés et jusqu'à 30% pour les bactéries halophiles extrêmes ;
- ✓ **Les halotolérantes** : acceptent des concentrations plus au moins élevés de sel (2 à 3 %) mais non obligatoires pour leur croissance (Ex. : *Staphylococcus aureus*) ;
- ✓ **Les non-halophiles** : se développent dans des concentrations de NaCl comprises entre 0.5 et 1% (Exemple : *Escherichia coli*).

Il faut signaler que les anciens conservent les aliments en rajoutant du sel ou du sucre ce qui entraîne une augmentation de la pression osmotique. La croissance des bactéries est donc limitée.

7.5. L'eau

L'eau représente 70% du poids cellulaire total chez *Escherichia coli*. Elle solubilise les nutriments, elle joue un rôle important dans leur transport et ceci dans les deux sens. C'est le solvant de la vie, où se déroulent toutes les réactions métaboliques (catabolisme plus anabolisme).

Un paramètre appelé « *activity of water* », A_w , ou activité de l'eau) quantifie la disponibilité de l'eau libre, non associée aux nutriments. Elle varie de 0 à 1. On note que dans un nutriment, une partie de l'eau est plus ou moins liée aux composants (sels, protéines) et elle n'est pas disponible pour les micro-organismes qui ont besoin d'eau libre pour se développer.

Les bactéries peuvent, généralement, se développer dans des milieux ayant une A_w comprise entre 1 et 0,7. Exemples :

- ✓ *Acinetobacter spp.* ne se développe que pour une valeur d' $A_w > 0,99$;
- ✓ *Listeria monocytogenes* peut supporter une valeur de l' $A_w = 0,83$;
- ✓ Certaines bactéries sont capables de vivre dans des milieux où l' A_w est inférieur à 0,6. On les qualifie de **Xérophiles** ;
- ✓ Les endospores peuvent survivre dans un environnement dépourvu d'eau libre ($A_w = 0$).

Le degré d'humidité des aliments a une influence sur leur conservation et leur séchage. C'est un procédé de conservation basé en partie sur la diminution de l' A_w .

7.6. Besoins en oxygène

Plusieurs groupes bactériens peuvent être distingués en fonction de leurs besoins en oxygène (Tab. 7) :

- ✓ Les **aérobies stricts (AS)**: ne se développent qu'en présence d'oxygène. Leur source principale d'énergie est la respiration où l'oxygène moléculaire est accepteur final d'électrons (Exp : *Bacillus*) ;
- ✓ Les **microaérophiles (MicroA)**: peuvent croître lorsque la pression partielle d'oxygène est faible ;
- ✓ Les **aérobies anaérobies facultatives (AAF)**: peuvent se développer en présence d'oxygène, en utilisant la respiration, et en anaérobiose en utilisant la fermentation (Exp : *Escherichia coli*) ;

- ✓ Les **anaérobies facultatifs aérotoleérantes (AnFA)** : se développent en présence et en absence d'oxygène mais sans l'utiliser. Elles utilisent exclusivement des voies fermentaires pour leur métabolisme (Exp : Lactobacillus) ;
- ✓ Les **anaérobies stricts (AnS)** : sont incapables de croître en présence d'oxygène ; il leur est toxique. Pour leur métabolisme, elles utilisent la fermentation (Exp : *Clostridium*)

Tableau 7 : Les types respiratoires.

	AS	MicroA	AAF	AnFA	AnS
Croissance en aérobiose	+	+ (P faible)	+	+	-
Croissance en anaérobiose	-	-	+	+	+
Respiration	+	+	+	-	-
Fermentation	-	-	+	+	+
Besoin en O₂	Impératif	Impératif	Facultatif	Nul	Nul
Toxicité à l'O₂	-	-	-	-	+

La croissance bactérienne

Chez les organismes pluricellulaires, la croissance se manifeste par l'augmentation de taille ou de masse. Chez les microorganismes unicellulaires, elle se manifeste par l'augmentation du nombre d'individus (augmentation de la population).

La "fission binaire" (ou **scissiparité**) est la forme de reproduction et de division cellulaire la plus commune des procaryotes (reproduction asexuée). Lorsqu'une cellule bactérienne est placée dans un milieu de culture convenable, elle va assurer ses biosynthèses, augmente de taille puis se divise en deux cellules filles identiques à la cellule mère comme entre-elle. La chronologie est la suivante (Fig. 18) :

- ✓ Elongation de la cellule bactérienne ;
- ✓ Dédoublment du matériel génétique, puis séparation de ce matériel en deux parties égales
- ✓ Formation d'un septum transversale ;
- ✓ Séparation de la cellule mère en deux cellules filles.

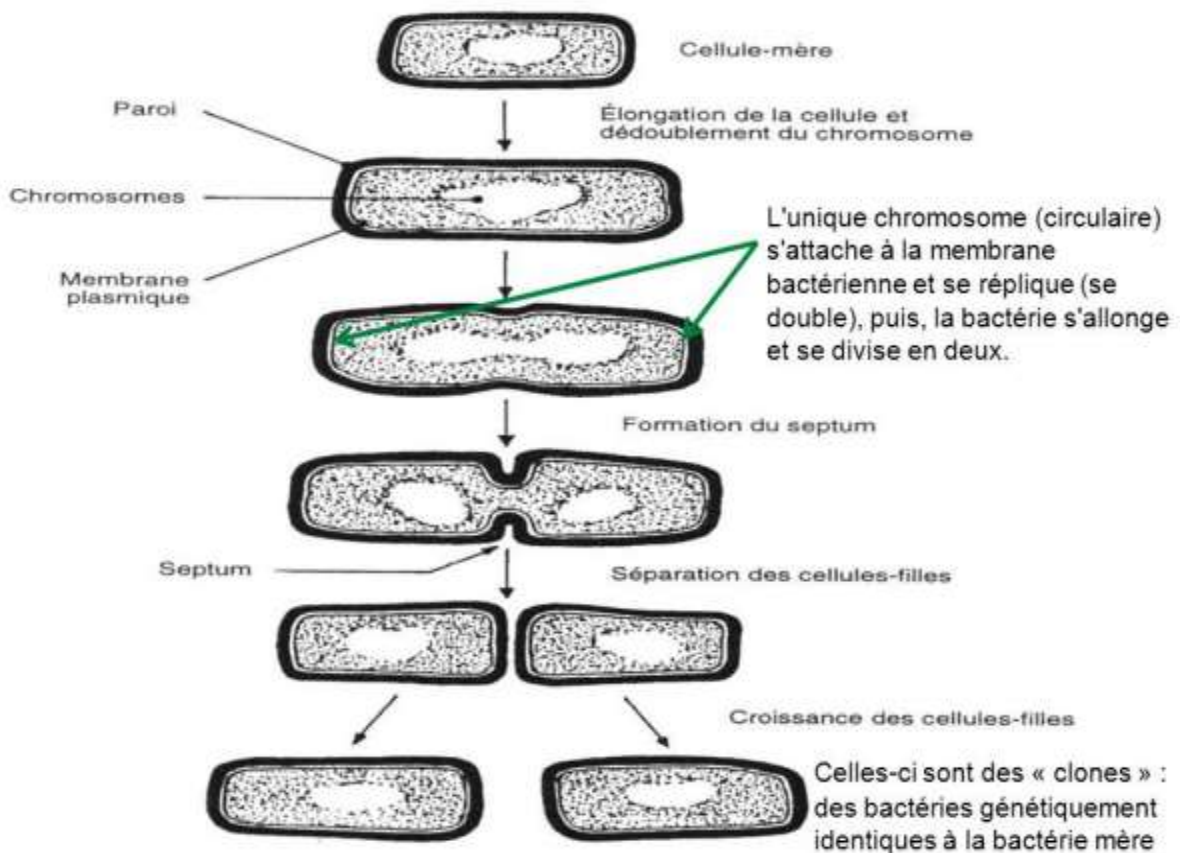


Figure 18 : Division cellulaire par scissiparité.

D'autres mécanismes de division existent chez des bactéries, mais moins classiquement rencontrées :

✓ Reproduction par bourgeonnement

Observé généralement chez les Cyanobactéries. La cellule fait une copie de son noyau. Ensuite, un petit bourgeon se forme sur la paroi cellulaire. Il commence à grandir et, après quelque temps, devient un organisme indépendant.

✓ Reproduction par fragmentation

On l'observe généralement chez les bactéries filamenteuses (*Streptomyces*). Le processus débute par la réplication du matériel génétique en plusieurs copies (chromosomes multiples) et ensuite la septation (séparation) du mycélium en plusieurs compartiments. Chaque morceau devient un nouvel individu.

1. Mesure de la croissance

La mesure de la croissance bactérienne consiste à estimer, à un moment donné ou en cinétique de temps, la population bactérienne ou sa biomasse. Mais comme ces deux paramètres sont normalement proportionnels, la détermination de l'un permet aussi d'évaluer l'autre par corrélation. Il existe pour cela de nombreuses techniques directes ou indirectes :

1.1. Dénombrement

1.1.1. Dénombrement au microscope

Les cellules bactériennes peuvent être dénombrées au microscope optique, directement dans des suspensions en milieu liquide, déposées sur des lames de verre aménagées en cellules spéciales de comptage (chambre de comptage de Petroff-Hausser). Les résultats sont alors immédiats (Fig. 19).

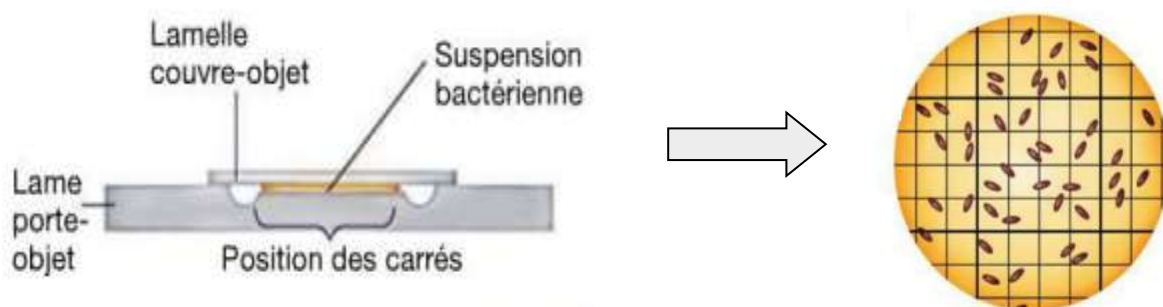


Figure 19 : Dénombrement des cellules bactériennes à l'aide de la cellule de Petroff-Hausser.

1.1.2. Épi-fluorescence

Cette méthode permet de dénombrer et de distinguer les cellules viables des cellules mortes. Elle utilise l'acridine orange, un colorant qui se fixe sur l'ADN. En microscopie sous

ultraviolet, les bactéries vivantes apparaissent vertes alors que les bactéries mortes apparaissent rouges.

1.1.3. Dénombrement après culture

Les bactéries viables peuvent également être dénombrées par les méthodes culturales classiques, sur milieux solides ou liquides, à partir de l'échantillon et de ses décimales. Dans ce cas, les résultats ne sont obtenus qu'après le délai d'incubation des cultures qui est en général de 24 à 48h.

Plusieurs procédés sont suivis pour ce genre de dénombrement de cellules. Partant du principe que chaque cellule microbienne donne naissance à une colonie, l'étalement puis l'incubation d'un volume précis d'une suspension microbienne ou de sa dilution à la surface d'une gélose donne des colonies visibles à l'oeil nu et facilement dénombrables. Cependant, le résultat est exprimé en Unités Formants Colonies (UFC) /ml (Fig. 20).

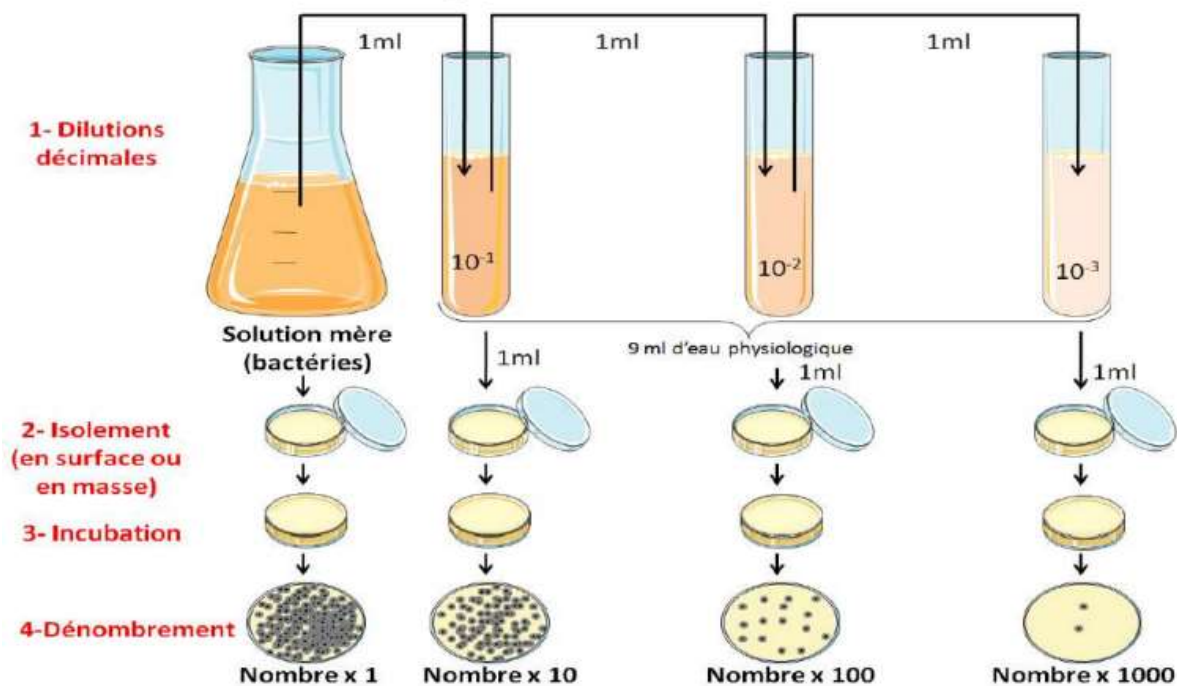


Figure 20 : Dénombrement des bactéries viables sur gélose.

D'autres méthodes, comme le dénombrement sur un milieu liquide (technique du Nombre le Plus Probable NPP) ou celle de la filtration sur membrane sont également utilisées pour le dénombrement des bactéries.

1.1.4. Mesure de la biomasse

Les micro-organismes filamenteux ne se prêtent pas facilement aux techniques décrites ci-dessus. Leur culture en milieu liquide, peut être centrifugée ou bien filtrée, puis séchée dans un dessiccateur. On procède ensuite au pesage. Plus la biomasse est élevée plus le

nombre de bactérie est grand. Cette technique ne différencie pas les bactéries vivantes des mortes.

1.1.5. Mesure de la turbidimétrie

Plus une bactérie pousse dans un liquide plus ce dernier devient trouble. Il y a formation d'un voile. On utilise un spectrophotomètre pour mesurer cette turbidimétrie à travers une mesure appelée densité optique (DO) ou Absorbance (A). La quantité de lumière transmise à une cellule photosensible est inversement proportionnelle au nombre de bactérie. Plus, il y a de bactéries, plus l'absorbance est basse. On peut tracer des courbes de corrélation entre le nombre de bactéries et l'absorbance.

1.1.6. Dosage de l'ATP

Parmi les paramètres moléculaires de mesure corrélatrice de la biomasse, l'ATP s'est imposée ces dernières années comme un indicateur biologique très avantageux, en raison de ses caractères spécifiques (existe dans toute les cellules vivantes, disparaît dès la mort de la cellule, sa teneur est relativement constante durant les différentes phases de croissance d'une même espèce, ..) l'ATP peut être quantifiée par diverses techniques mais son dosage enzymatique par **Bioluminescence** est le plus répandu. La mesure de l'émission de lumière correspond à une quantité d'ATP qui est elle-même corrélatrice de la population de bactéries.

2. Paramètres de la croissance

Théoriquement, une bactérie, placée dans un milieu convenable peut se multiplier indéfiniment, par fission binaire. La croissance se fait selon une progression géométrique : 1, 2, 4, 8, etc... ou $2^0, 2^1, 2^2, 2^3, \dots, 2^n$ (où **n** = **Nombre de générations** ou de divisions). Il s'agit d'une croissance exponentielle.

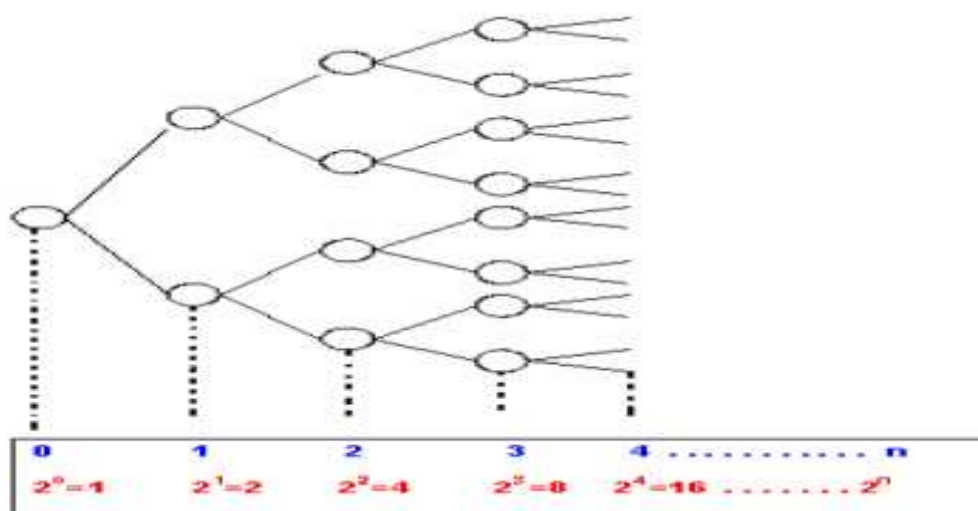


Figure 21 : Aspects théoriques de la division bactérienne.

Si on part d'une population bactérienne initiale X_0 , au bout de n divisions, on aura un nombre théorique de bactéries :

$$X_n = 2^n \cdot X_0$$

Afin de simplifier et faciliter les calculs, on va lui faire subir une transformation logarithmique :

$$\log X_n = n \log 2 + \log X_0$$

Et donc :

$$n = (\log X_n - \log X_0) / \log 2$$

Le temps qui sépare deux divisions successives (ou temps nécessaire au doublement d'une population) est appelé **Temps de génération (θ)**.

$$\theta = t_n - t_0 / n$$

$(t_n - t_0)$: représente le temps d'incubation.

Le **Taux de croissance (μ)** exprime la vitesse de multiplication des bactéries ; c'est le nombre de divisions effectuées par unité de temps. Le μ maximum peut être déterminé graphiquement, durant la phase exponentielle de croissance, comme suit :

$$\mu = \ln (X/X_0) / t$$

3. Courbe de croissance (culture discontinue)

Une croissance bactérienne peut être limitée par des changements physico-chimiques de l'environnement. Quand on place les bactéries dans un milieu liquide **non renouvelé**, leur croissance sera limitée dans le temps car les nutriments vont s'épuiser.

La courbe de croissance est obtenue en traçant l'évolution de la biomasse en fonction du temps. Cette évolution est la vitesse volumique de croissance par unité de temps, $X = f(t)$. Dans des conditions de croissance **discontinue**, la courbe de croissance est constituée de six phases distinctes (Fig. 22).

3.1. Phase de latence (I)

C'est une phase de courte durée, elle varie d'une espèce à l'autre. Durant cette phase, les bactéries s'adaptent au milieu nutritif (adaptation enzymatique) et le nombre de bactéries reste inchangé et égale au nombre initial. Ainsi, le taux de croissance (μ) **est nul**.

La phase de latence peut être considérablement réduite et peut même être supprimée par l'inoculation de cellules en bon état physiologique, obtenues en **pré-culture** sur le même milieu.

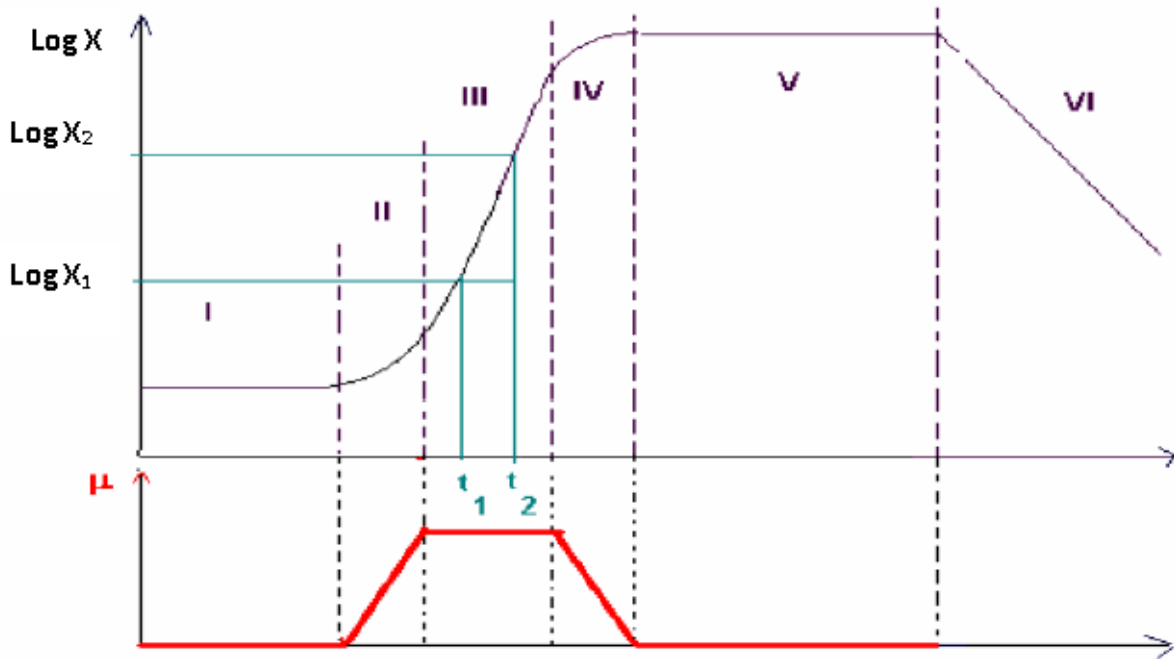


Figure 22 : Cinétique de croissance bactérienne en système discontinu (Batch).

3.2. Phase d'accélération (II)

C'est la phase pendant laquelle commence la division bactérienne qui s'accélère régulièrement, jusqu'à devenir maximale et constante.

3.3. Phase exponentielle (III)

Durant cette période, la majorité des bactéries sont dans un bon état physiologique et se divisent de façon exponentielle. μ est **maximum et constant**, et le temps de génération (θ) est le plus court.

3.4. Phase de ralentissement (IV)

Le taux de croissance (μ) **diminue** progressivement, entraînant parallèlement une augmentation de plus en plus réduite du nombre de cellules bactériennes.

Pendant cette phase de stress nutritionnel ou autre, survient souvent le processus de sporulation, ainsi que la libération des métabolites secondaires comme les antibiotiques ou les toxines (chez les organismes qui en sont capables).

3.5. Phase stationnaire (V)

Lorsque la culture est faite dans un flacon ou un tube (milieu non-renouvelé), à un moment donné, les nutriments s'épuisent, les produits toxiques s'accumulent et le pH change (**facteur limitant**). Le nombre de cellules ne varie plus. Il y a autant de division que de mort cellulaire. Le taux de croissance (μ) **est constant**.

3.6. Phase de déclin (VI)

A ce stade de croissance, le taux de mortalité est plus important que la division cellulaire et le nombre de cellules diminue considérablement, induisant un taux de croissance négatif ($\mu < 0$).

Dans certains cas, les bactéries survivantes peuvent amorcer une nouvelle croissance au dépend des nutriments libérés par la lyse des cellules mortes. Ce phénomène est connu sous le nom de **croissance cryptique** (Fig.23).

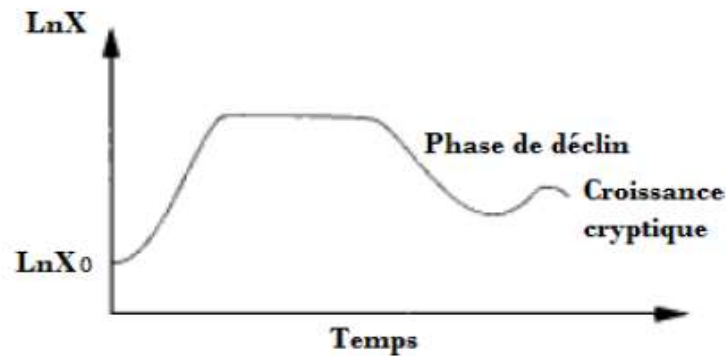


Figure 23 : Schéma graphique de la croissance cryptique chez les bactéries.

4. Croissance en Diauxie

Lorsque les bactéries sont cultivées dans un milieu qui contient plusieurs substrats alimentaires, on peut observer des phases de croissance décalées (**courbe biphasique**). Elles commencent par l'utilisation du substrat le plus simple (qui demande moins d'énergie et moins de synthèse enzymatique) jusqu'à son épuisement. On observe ensuite un temps de latence, durant lequel les bactéries vont synthétiser les enzymes nécessaires à l'utilisation du deuxième substrat, avant la reprise de la multiplication bactérienne. Ce phénomène est appelé Diauxie.

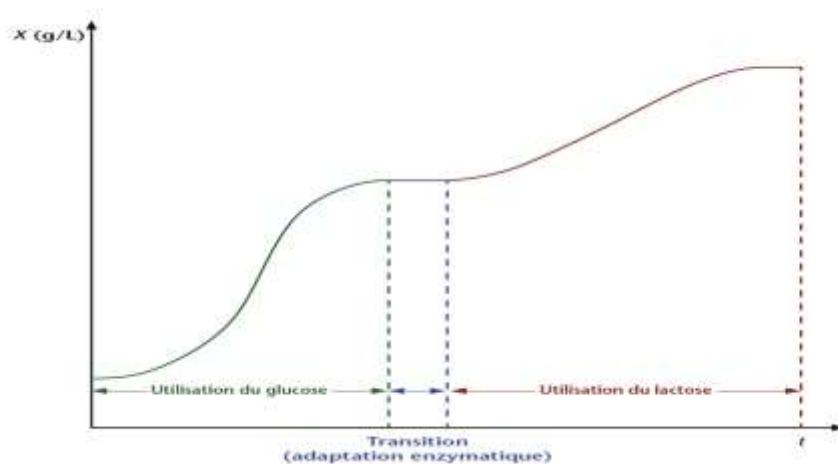


Figure 24 : Phénomène de diauxie.

Exemple : Dans un milieu contenant du glucose et du lactose, les bactéries vont utiliser en premier le glucose grâce à des enzymes constitutives. La dégradation du lactose est sous la dépendance d'enzymes inductibles dont l'induction est réprimée en présence de glucose. Lorsque le glucose est consommé, les bactéries utiliseront le lactose et initieront une nouvelle phase de croissance exponentielle après un temps de latence adaptatif (Fig 24).

5. Culture continue (Chémostat)

Contrairement à la croissance discontinue ou les conditions de croissance changent en permanence dans un système clos, du fait du développement bactérien, la croissance continue correspond à un **système ouvert** dans lequel la population bactérienne est maintenue dans un état de croissance équilibrée et optimale, c'est-à-dire en phase de croissance exponentielle. Cette situation est stabilisée par le **renouvellement permanent** du milieu de culture, assuré par un apport régulier de milieu nutritif qui est compensé par le retrait simultané du même volume de culture bactérienne. Les paramètres physico-chimiques de culture : pH, température, concentration d'oxygène, formation de mousse, peuvent également être régulés en permanence en cours de culture par leur correction chaque fois que nécessaire (Fig. 25).

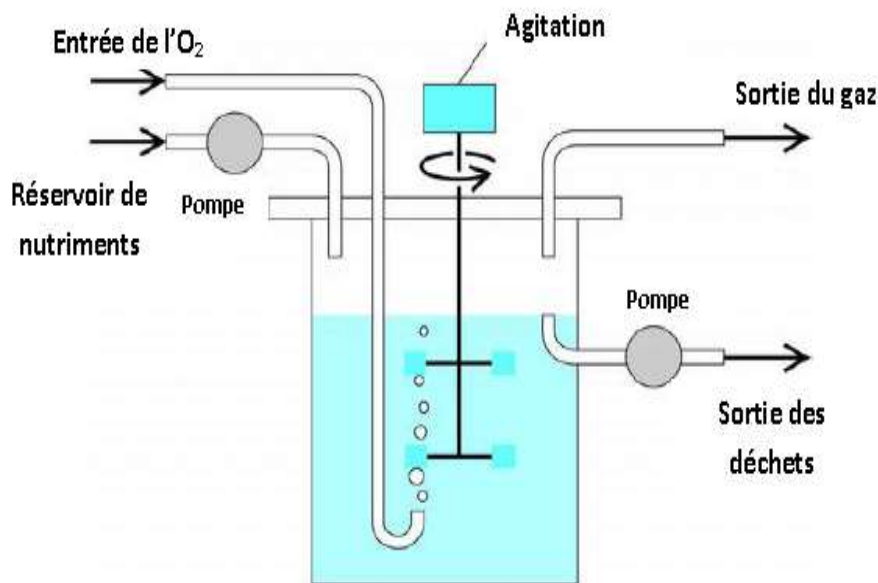


Figure 25 : Schéma d'un chémostat.

6. Culture bactérienne

Une préparation nutritive qu'on prépare au laboratoire pour cultiver les micro-organismes est appelé **milieu de culture**. Les bactéries introduites dans le milieu de culture constituent l'**inoculum**. Les micro-organismes qui s'y développent forment **une culture**.

Un milieu de culture est composé d'un mélange de substrats nutritifs (acides aminés, peptides, sucres, etc), d'un système tampon pour éviter les variations importantes du pH, de sels minéraux et de vitamines. Il est possible d'ajouter d'autres facteurs de croissance (sang, protéines, hémoglobine, vitamines). De très nombreux milieux de culture sont utilisés en bactériologie. Ils peuvent être classés selon de nombreux critères :

6.1. Selon la consistance

6.1.1. Milieux liquides

Appelés également **bouillons** de culture. Les micro-organismes se développent, dans les milieux liquides, sous forme d'un **trouble** ou voile en suspension.

6.1.2. Milieux solides

Appelés également **gélose**. Ils sont obtenus après l'ajout de **l'agar-agar** (polysaccharides isolés des algues, non toxique et non dégradable) aux milieux liquides. Les milieux solides peuvent être préparés sur boîte de Pétri ou en tube (gélose inclinée, gélose profonde). Selon la quantité d'agar rajoutée, on a des géloses solides (1,5%) et des géloses molles (0,75%). L'agar fond lorsqu'on la réchauffe à 100°C et se solidifie lorsqu'elle se refroidit (dès 50°C).

Les bactéries se développent sous forme de colonies, dont la forme, la couleur, l'odeur, dépendent à la fois de l'espèce et du milieu utilisé. La colonie s'agrandit radialement avant de pousser verticalement à une taille et une hauteur limites.

6.2. Selon la composition chimique

6.2.1. Milieux synthétiques

On connaît avec exactitude la composition chimique de type de milieu, qualitativement et quantitativement. Exemple : Milieu urée – indole (L-tryptophane (0,3 g), KH₂PO₄ (0,1 g), K₂HPO₄ (0,1 g), NaCl (0,5 g), urée (2 g), alcool à 95 (1 ml), rouge de phénol 1%, eau distillée (100 ml).

6.2.2. Milieux complexes (empirique)

Des milieux dont on ne connaît pas exactement la composition car obtenus par l'hydrolyse globale de tissus ou de cellules de diverses origines (extrait de levure, extrait de viande, extrait de foie, ...). Exemple : bouillon nutritif (Peptone (5g), extrait de boeuf (3g), NaCl (8g), Eau distillée (1 litre)).

6.2.3. Milieux semi-synthétiques

Comme leur nom l'indique c'est un mélange de composés chimiques purs et de substances naturelles empiriques.

6.3. Selon le rôle

6.3.1. Milieux sélectifs

Ils contiennent une association d'agents sélectifs capables de promouvoir la croissance de l'espèce bactérienne recherchée, tout en inhibant celle des bactéries concurrentes du milieu. On fait, généralement, intervenir un pH acide ou une concentration de sel élevée (sels biliaires). Exemple : gélose Hektoen, Sélectionne les bactéries Gram négatives.

6.3.2. Milieux d'enrichissement

Ils contiennent, outre les composants de base, des composants indispensables aux bactéries, que celles-ci ne peuvent pas synthétiser. Ce sont des milieux utilisés pour l'obtention des bactéries dites exigeantes ou auxotrophes. Exemple : la gélose au sang.

6.3.2. Milieux différentiels

Contiennent un indicateur (colorant) qui permet de différencier deux types bactériens qui poussent sur le même milieu, mais ne dégradent pas tous les deux un substrat particulier. Exemple : la gélose MacConkey qui différencie la fermentation du lactose.

7. Agents antimicrobiens

Au cours du 20^e siècle, les scientifiques ont développé une série de méthodes physiques et chimiques pour lutter et contrôler la croissance des micro-organismes. Tous ces efforts étaient dans un cadre de pratique médicale pour diminuer le pourcentage de décès post chirurgicaux ou après des accouchements. L'altération des aliments et le développement d'approches efficaces pour leur conservation constituaient également une motivation d'ordre sanitaire et économique.

7.1. Définitions

✓ **Stérilisation** : Action de tuer toutes les formes de vie microbienne contenues dans une préparation ou présents à la surface d'un objet. Le matériel traité est dit stérile lorsqu'aucun micro-organisme ne peut être revivifié. Il faut souvent emballer les objets avant leur stérilisation et bien fermer les préparations pour éviter la contamination postérieure.

✓ **Désinfection** : Mesure qui a comme objectif de détruire les microbes pathogènes. Elle est inefficace sur les endospores. Elle utilise un produit chimique qu'on nomme **désinfectant** sur

des produits inertes. C'est une opération au résultat **momentané**. Elle détruit les microbes présents, mais il faut répéter le traitement en cas de contamination postérieure.

✓ **Antiseptie** : Mesure de détruire les microbes pathogènes sur des tissus vivants. Le produit utilisé est un **antiseptique**. On n'utilise pas les mêmes produits pour les tissus vivants et les objets inertes. L'antiseptique doit être non toxique et non irritant pour l'homme ou l'animal.

Selon l'effet de l'agent antimicrobien sur la croissance des micro-organismes, on distingue :

- ✓ **Bactéricide** : agent qui tue les bactéries ;
- ✓ **Bactériostatique** : agent qui inhibe la croissance des bactéries, sans les tuer ;
- ✓ **Algicide** : agent qui tue les algues ;
- ✓ **Fongicide** : agent qui tue les champignons ;
- ✓ **Anti-parasitaire** : agent qui tue les protozoaires ;
- ✓ **Virucide** : agent qui inactive les virus.

De multiples agents physiques et chimiques et chimio-thérapeutiques sont utilisés pour inhiber ou tuer les micro-organismes selon plusieurs procédés :

7.2. Agents physiques

7.2.1. Chaleur

L'utilisation de la chaleur est certainement la méthode la plus répandue pour réduire ou pour éliminer les bactéries d'un milieu. Par rapport aux autres méthodes de stérilisation, elle présente l'avantage de ne pas introduire d'élément exogène, susceptibles de laisser des résidus indésirables dans le milieu.

La chaleur entraîne plusieurs dommages cellulaires comme la coagulation et la dénaturation des protéines, la dégradation des acides nucléiques, la fusion des lipides,etc.

7.2.1.1. Chaleur humide

La chaleur humide est employée de manière routinière en laboratoire, dans des **autoclaves** qui sont des enceintes fonctionnant sous pression saturée de vapeur d'eau, généralement à une température de 121°C pour une pression de 1 bar pendant 20 minutes. Ce protocole est largement utilisé pour la stérilisation des milieux de culture.

✓ **Pasteurisation** : est un traitement thermique à la chaleur humide. Son objectif est de détruire les microorganismes responsables de l'altération des produits sans modifier leurs qualités organoleptiques ou leur texture. Elle est appliquée dans la conservation de diverses

boissons et des produits laitiers selon différents cycles : 15 min / 75-80°C ou 2 s / 85-87°C (Flash pasteurisation).

✓ **Tyndallisation** : (du nom de TYNDALL, son inventeur) est une stérilisation à la chaleur humide. Son application est fractionnée en un cycle de trois phases de chauffage (60°C), alternées de deux phases d'incubation (température ordinaire), réparties dans leur ensemble sur trois jours. Le chauffage permet de détruire les formes végétatives microbiennes, alors que les phases d'incubation sont destinées à permettre la germination des endospores éventuellement présentes, détruites alors par la phase de chauffage suivante.

7.2.1.2. Chaleur sèche

La stérilisation par la chaleur sèche a des applications relativement limitées car, à même température, elle est bien moins efficace que la chaleur humide.

Son usage nécessite un temps d'application et des températures relativement importantes qui endommagent de nombreux matériaux et engendrent des coûts élevés. La chaleur sèche n'est utilisée que sur du matériel résistant ou devant rester sec (instruments chirurgicaux, huiles et poudres, ...). En pratique, on applique un protocole de stérilisation standard de 180°C (30 mn) - 170°C (1h) - 160°C (2h).

NB : Les endospores de *Clostridium botulinum* sont détruites en 2h à 160°C par la chaleur sèche et seulement en 5 min à 121°C par la chaleur humide.

7.2.2. Radiations

7.2.2.1. Rayons ultra-violet (UV)

Le principal effet létal des UV est du à leur action sur les acides nucléiques. Ils provoquent la dénaturation des molécules, en altérant leur structure et leur fonction par l'induction de mutations et de dommages chimiques cellulaires. Les radiations UV sont, en général, employé sous la forme de lampes UV placées dans des pièces (blocs opératoires, laboratoires, chambres froides, ...) ou elles agissent en stérilisant l'air ambiant et les surfaces exposés.

7.2.2.2. Radiations ionisantes

Ces radiations provoquent l'ionisation chez les organismes vivants. Cette dernière engendre la formation d'électrons et de radicaux libres chimiquement très réactifs comme le radical hydroxyde (OH) qui est capable de dénaturer toutes les molécules biologiques dont l'ADN et les protéines, ce qui provoque la mort des cellules irradiées.

Les radiations ionisantes sont d'excellents agents de stérilisation qui, à l'inverse des UV, pénètrent profondément la matière. Elles sont employées dans la décontamination et la stérilisation à **froid** de différents produits et matériels d'usage pharmaceutique et médical, non-stérilisables par la chaleur (vaccins, hormones, fils de suture, seringues, gants, ...).

7.2.3. Filtration

C'est le meilleur moyen pour stériliser des solutions renfermant des substances **thermolabiles**, comme des protéines, vitamines, sérum, antibiotiques... La filtration stérilisante est appelée stérilisation à froid. Il y a différents dispositifs de filtrations selon les volumes traités.

7.3. Agents chimiques

Ils sont très actifs mais toxiques pour l'homme. Ils ne peuvent être ingérés. Leur action est **brutale** et **non spécifique** (à la différence des antibiotiques) (Tab. 06). Les agents chimiques possèdent divers modes d'action notamment l'oxydation et la dénaturation des protéines et l'altération de la membrane cytoplasmique, ...

7.3.1. Alcools

Les alcools (Ethanol, Isopropanol) sont les antiseptiques les plus employés. Ils tuent rapidement les formes végétatives bactériennes et fongiques mais ils sont inactifs sur les endospores.

7.3.2. Composés phénoliques

Les phénols (lysol, crésol) sont largement utilisés comme désinfectants en milieu hospitalier. Ils agissent par la dénaturation des protéines et l'altération de membranes cellulaires.

7.3.3. Aldéhydes

L'aldéhyde le plus commun est le formaldéhyde, souvent commercialisé en solution à 40% (formol). C'est un désinfectant très efficace, il est capable de tuer les formes végétatives bactériennes et les endospores (sporicide) à des dilutions de 1%.

7.3.4. Peroxydes

Le peroxyde d'hydrogène (l'eau oxygénée : H_2O_2) est le produit d'utilisation le plus courant, notamment dans la désinfection usuelle des plaies superficielles. C'est aussi un désinfectant efficace des matériaux inertes et même sporicide à température élevée.

7.3.5. Halogènes

Le chlore est le désinfectant halogène le plus commun. Il est largement utilisé dans les activités domestiques humaines (eau de JAVEL). Il sert aussi de désinfectant majeur des eaux potables ou il est utilisé sous forme d'hypochlorite de sodium ou potassium.

7.3.6. Détergents et savons

Seuls les détergents cationiques sont des désinfectants efficaces. Les plus communs d'entre eux sont des composés d'ammoniums quaternaires qui détériorent les membranes microbiennes et peuvent aussi dénaturer et inactiver les enzymes cellulaires.

7.3.7. Métaux lourds

En solution aqueuse, les ions métalliques ont la propriété de se complexer aux protéines et de neutraliser leur activité en les précipitant ou en se fixant sur leurs groupements sulfhydryles (nitrate d'argent, sulfate de cuivre).

Tableau 08 : Exemples d'antiseptiques et de désinfectants et leurs domaines d'utilisation.

Antiseptiques		Désinfectants	
Agents	Domaine d'utilisation	Agents	Domaine d'utilisation
Nitrate d'argent	Yeux de nouveau-nés	Sulfate de cuivre	Algicide (piscines)
Solution iodées	Peau	Formaldéhyde	Matériel hospitalier
Alcool (70%)	Peau	Composés chlorés	Eau potable, industrie
Biphényles	Savons, lotions	Détergents	Instruments médicaux
H ₂ O ₂	Peau	Ozone	Eau potable

7.4. Agents chimio-thérapeutiques

7.4.1. Définition des antibiotiques

Antibiotiques : terme issu du Grec (*Anti* : contre, et *Bios* : la vie). Les antibiotiques sont des substances chimiques organiques exerçant à faible dose une action toxique envers les bactéries pathogènes. Ce sont dépourvues de toxicité pour les autres cellules, humaines ou animale.

7.4.2. Classification des antibiotiques

Les antibiotiques sont très nombreux et peuvent être classés selon divers critères :

7.4.2.1. En fonction de leur origine

- ✓ Certains antibiotiques sont **naturels**, c'est-à-dire en totalité synthétisés par des microorganismes dont principalement des bactéries du genre *Streptomyces* et des moisissures des genres *Penicillium* et *Cephalosporium* ;
- ✓ Les antibiotiques peuvent être aussi **synthétiques**, ils sont alors entièrement produits par voie chimique (exp : les sulfamides) ;
- ✓ Les antibiotiques **semi-synthétiques** sont des antibiotiques naturels, chimiquement modifiés par l'ajout à la molécule de base de groupements chimiques spécifiques.

7.4.2.2. En fonction de leur spectre d'activité

Aucun antibiotique n'est efficace contre toutes les bactéries. Beaucoup d'entre eux sont à **spectre étroit** (n'exercent une efficacité que sur un nombre limité d'espèces bactériennes (Gram positifs ou Gram négatifs). D'autres sont, au contraire, à **large spectre** (agissent sur un nombre important d'agent pathogènes (Gram positif et négatif).

7.4.2.3. En fonction de leur parenté chimique

La classification chimique est la plus souvent utilisée, elle repose sur la composition chimique de chaque antibiotique (Tab. 09).

Tableau 09 : Principales familles d'antibiotiques.

Famille	Mode d'action	Spectre d'action	Exemple
Béta-lactamines	Action bactéricide	GRAM + / -	Pénicillines
Aminosides	Action bactéricide	GRAM + / -	Streptomycine
Macrolides	Action bactériostatique	GRAM +	Erythromycine
Phénicolés	Action bactériostatique	GRAM + / -	Chloramphénicol
Tétracyclines	Action bactériostatique	GRAM + / -	Tétracycline
Polypeptides	Action bactéricide	GRAM +	Vancomycine
Quinolones	Action bactéricide	GRAM -	Acide nalidixique
Sulfamides	Action bactériostatique	GRAM -	Sulfanilamide

7.4.2.4. En fonction de leur site d'action

Les cibles habituellement visées par l'action des antibiotiques sont celles qui constituent un élément indispensable et constant pour la survie de la cellule bactérienne (Fig. 26).

✓ **Action sur la paroi** : ces antibiotiques sont actifs sur les bactéries en phase de croissance en inhibant la synthèse de leur peptidoglycane. La différence de pression osmotique entre le milieu intra-cellulaire de la bactérie et son environnement externe entraîne alors la lyse et la mort des bactéries (Exemple : les β -lactamines).

✓ **Action sur la membrane cytoplasmique** : ils agissent par la désorganisation des fonctions normales de la membrane cytoplasmique, en altérant sa structure par la formation de pores et par la dérégulation du transport des ions et d'autres substrats. L'intégrité de la membrane n'étant plus maintenue, les constituants cellulaires vitaux s'échappent, entraînant ainsi la mort de la bactérie (Exemple : les polypeptides).

✓ **Action sur la synthèse des protéines** : de nombreux antibiotiques : Tetracyclines, Macrolides, Chloramphénicol, ont pour cible primaire les sous unités des ribosomes bactériens.

✓ **Action sur la synthèse des acides nucléiques** : certains antibiotiques : Quinolones, Aminosides, perturbent le métabolisme de synthèse des acides nucléiques, essentiellement en inhibant l'ADN-polymérase.

✓ **Anti-métabolites** : Les anti-métabolites sont des substances ayant une structure chimique analogue à celle de métabolites primaires bactériens. Ils agissent par inhibition compétitive : ils sont reconnus et fixés par une enzyme clé de la bactérie, à la place de leur substrat normal mais ils ne peuvent être métabolisés, ce qui a pour effet de bloquer la voie métabolique concernée (Exemple : les sulfamides).

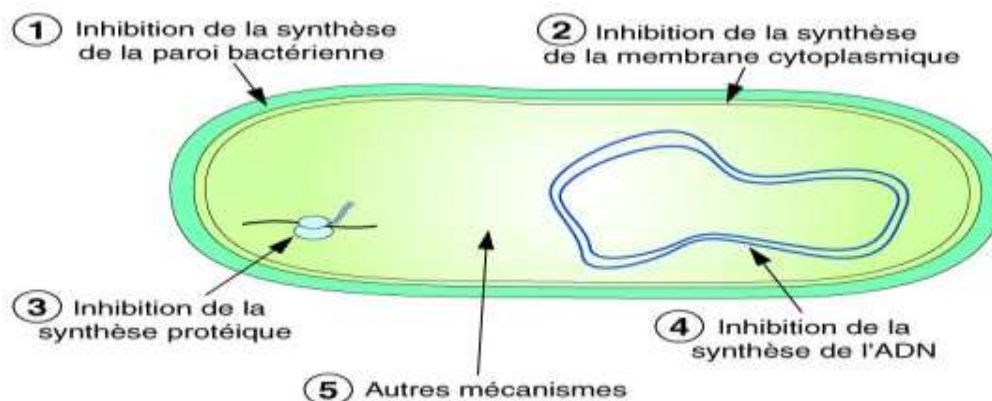


Figure 26 : Les différents sites d'action des antibiotiques.

Notions de Mycologie et de Virologie

1. Mycologie (levure et moisissure)

La mycologie est la science étudiant les champignons. Appelés aussi "*Fungi*" (du latin) ou mycètes (du grec *mukês*, champignon), les champignons constituent un large groupe diversifié qui possède des caractéristiques communes avec les plantes inférieures et les animaux inférieurs. Ils se répartissent en deux grands groupes : les levures (champignons unicellulaires) et les moisissures (champignons filamenteux).

La plupart des champignons sont immobiles (l'exception de quelques espèces aquatiques) et mésophiles avec des températures optimales moyennes comprises entre 25 et 35°C. Le maximum observé est de 62°C. Ils croissent dans une gamme de pH entre 5,5 et 7,5, avec une préférence pour les milieux acides. Parmi les microorganismes, ils sont les moins exigeants en humidité du milieu et capables de se développer dans des milieux relativement secs ($A_w < 0.65$). De même que les champignons peuvent se développer dans des milieux à la pression osmotique relativement élevée.

Il est à noter que les **Lichens** ne sont pas en soi des organismes unitaires, puisqu'ils sont formés de l'association symbiotique de deux organismes différents : un champignon et un microorganisme photosynthétique, le plus souvent une algue et parfois une cyanobactérie.

1.1. Taxonomie

Les champignons sont actuellement classés dans un règne spécifique : le règne des Mycètes, au sein du domaine *Eucarya*. Leur règne comprend deux divisions : la division *Myxomycota* (« champignons visqueux », dépourvus de filaments) formée de quelques classes et la division *Eumycota* (« champignons vrais », filamenteux) composée de plusieurs sous divisions, classes et ordres. Les sous-divisions sont désignées par certains auteurs comme des embranchements.

La division *Eumycota* comporte la plupart des espèces connues de champignons, réparties en particulier dans les sous divisions suivantes :

1.1.1. Zygomycètes

Ce sont des champignons **coénocytiques**, appelés aussi champignons à conjugaison. Ils sont saprophytes et présents surtout dans les sols ou certaines espèces forment des

mychorizes, il existe aussi des zygomycètes parasites. Ils possèdent de nombreuses similitudes avec les Actinomycètes qui sont des bactéries mycéliennes.

Rhizopus nigricans est une moisissure typique des Zygomycètes. Elle colonise le pain ou elle développe un mycélium noirâtre familier qui résulte de la germination initiale d'une spore asexuée ayant atterri au hasard sur un morceau de pain (Fig. 27).

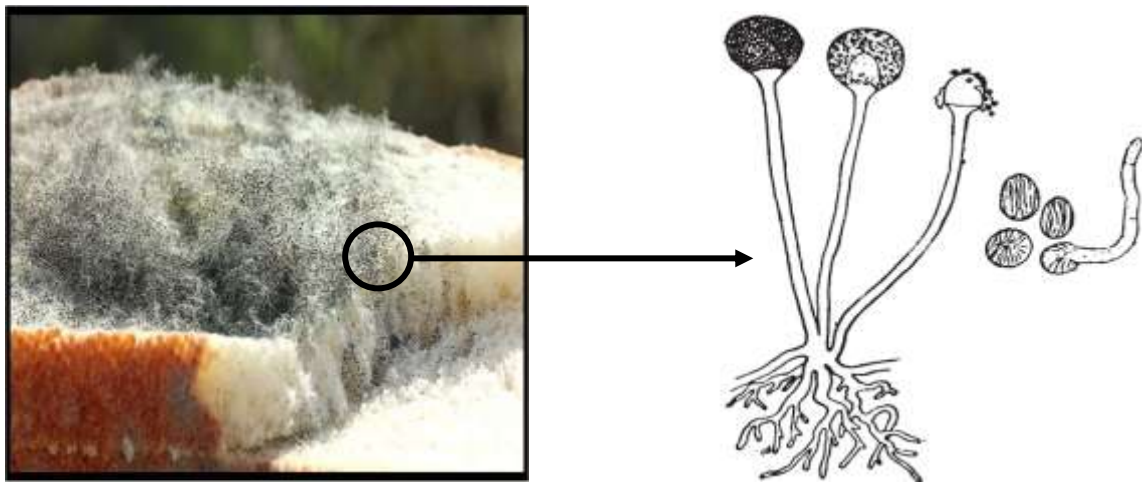


Figure 27 : *Rhizopus nigricans*.

1.1.2. Ascomycètes

Ils sont aussi appelés **champignons à asques**. Ils possèdent des hyphes à cloisons perforées et se définissent par une reproduction sexuée aboutissant à la formation d'un asque caractéristique : une structure en forme de sac, contenant les spores appelées ascospores.

Les Ascomycètes constituent un ensemble important et diversifié dont le groupe le mieux connu est certainement celui des levures, dont *Saccharomyces cerevisiae*. Un autre groupe important des Ascomycètes est composé des moisissures, dont le genre *Neurospora*, présent dans tous les types d'écosystèmes, et des agents phyto-pathogènes tels que les Mildious qui parasitent les graines de céréales et représentent un véritable fléau pour l'agriculture.

1.1.3. Basidiomycètes

Ils sont considérés comme les champignons les plus évolués et sont qualifiés, avec les champignons des groupes Ascomycètes et Deutéromycètes, de **champignons supérieurs**. Leurs hyphes sont complètement cloisonnés par des septa. Ils se caractérisent par une structure reproductive en forme de masse, appelée baside, qui se situe à l'extrémité de l'hyphe et constitue le site d'émission des basidiospores. La germination de ces derniers donne de nouveaux hyphes.

Parmi les Basidiomycètes, de nombreuses espèces sont phyto-pathogènes et s'attaquent à toutes sortes de plantes, telles la rouille du blé et les Charbons qui parasitent diverses céréales.

1.1.4. Deuteromycètes

Cette subdivision regroupe les champignons dont la nature du cycle de reproduction sexuée reste encore inconnue. Ils sont aussi appelés pour cette raison, **champignons imparfaits**. C'est par nature une « catégorie transitoire », les espèces qui y sont classées étant en attente de caractérisation de leur cycle de reproduction sexuée. Mais les techniques actuelles de séquençage de l'ARNr permettent d'identifier et de classer de nombreuses espèces de Deutéromycètes, sur la base de leur parenté génomique et sans attendre donc de connaître leur cycle reproductif. Pour la plupart, ils se sont révélés des Ascomycètes et les autres des Basidiomycètes.

Certaines espèces de Deutéromycètes sont responsables de pathologies humaines : pied d'athlète, Herpès circiné. Ils comprennent également des espèces parmi les plus bénéfiques pour l'homme, comme les *Penicillium* dont certains sont producteurs de pénicilline et d'autres utilisés dans la fabrication de fromage (type Camembert, Roquefort, ...) (Fig. 28).

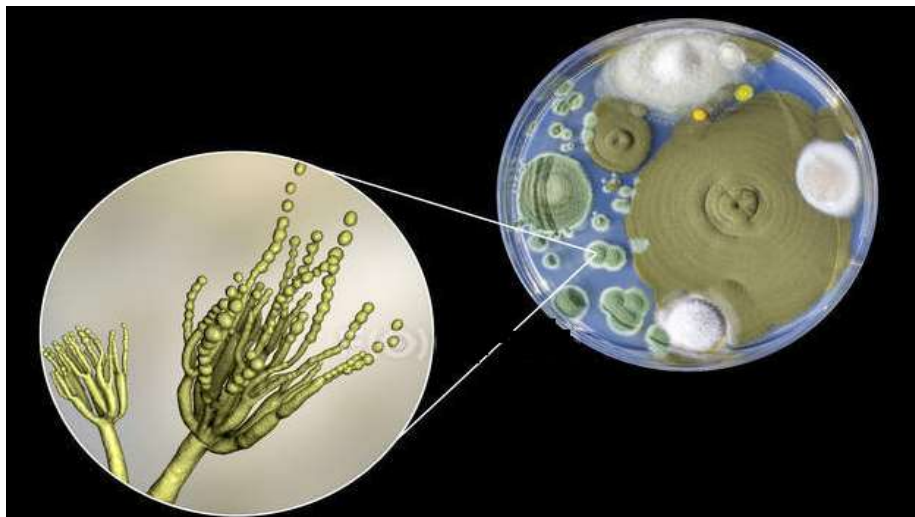


Figure 28 : *Penicillium*.

1.2. Morphologie

1.2.1. Morphologie des levures

Champignons unicellulaires et non filamenteux, ont une taille qui varie de 1 à 10 μm de large et jusqu'à 50 μm de long. En général, les levures ont des formes plus ou moins

sphériques ou ovoïdes, ces dernières étant caractéristiques de *S. cerevisiae* ou communément appelée la levure de boulangerie.

Les levures possèdent une paroi rigide responsable de leur forme et constituée principalement de polysaccharides (mannanes, glucanes). Le cytoplasme renferme des organites intracellulaires caractéristiques des cellules eucaryotes : mitochondrie, appareil de Golgi, réticulum endoplasmique, ribosomes, ... Les plasmides sont également présents chez la plupart des levures. Le noyau, de petite taille, renferme 16 chromosomes (Fig. 29).

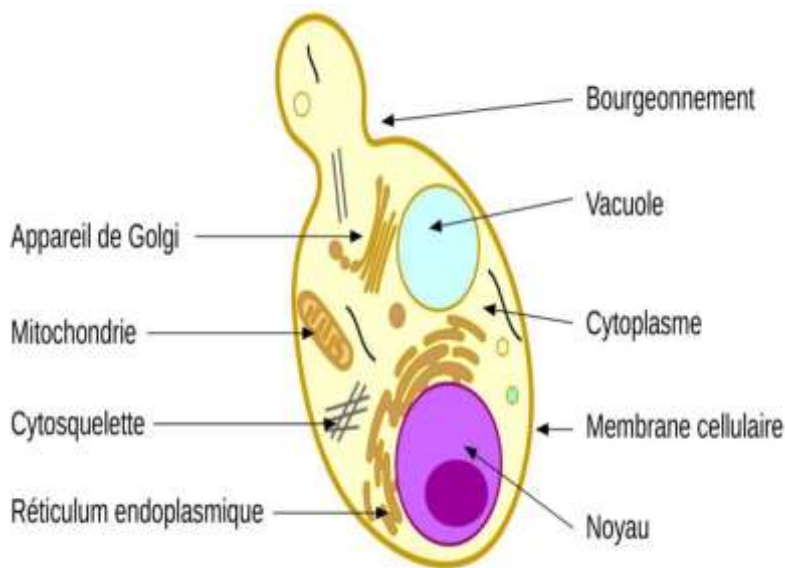


Figure 29 : Schéma d'une Levure bourgeonnante.

Les levures sont abondamment très importantes dans la fabrication du pain levé. *Saccharomyces cerevisiae* est le microorganisme à l'utilisation domestique et industrielle la plus répandue au monde. *S. cerevisiae* possèdent un type respiratoire aérobie anaérobie facultatif. En présence de l'oxygène, elle métabolise les différentes sources de carbone par glycolyse. En l'absence de l'oxygène, elle oriente son métabolisme vers les voies fermentaires.

1.2.2. Morphologie des moisissures

Ce sont pour la plupart pluricellulaire. Elles se représentent typiquement sous la forme d'un amas de filaments enchevêtrés et ramifiés dans tous les sens, appelés hyphes (Fig. 30). L'organisme dans son ensemble est qualifié de thalle. Ce dernier peut être siphonné ou cloisonné. L'hyphe a un diamètre moyen de 5 μ m. Il constitue la structure de base du mycélium et se compose d'une paroi cellulaire rigide composée de chitine.

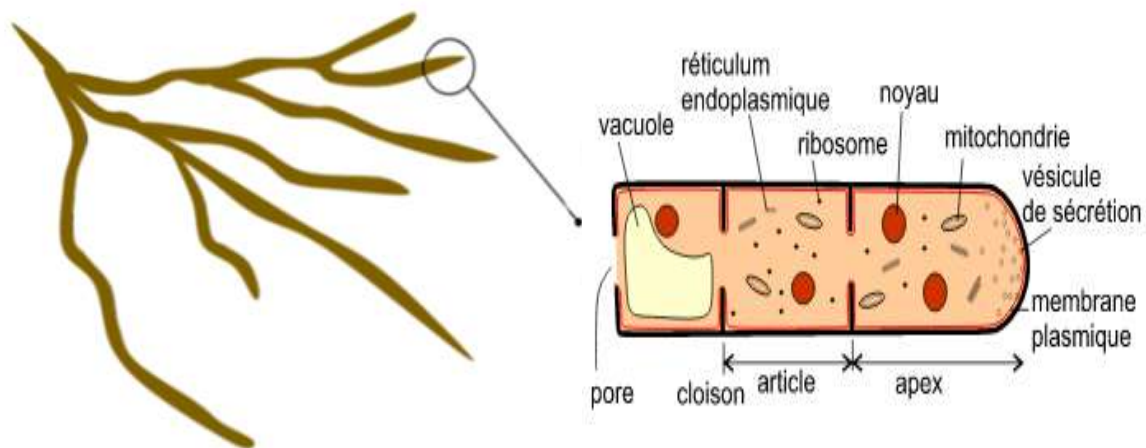


Figure 30 : Schéma d'un hyphes de moisissure.

La plupart des moisissures sont aérobies. Ils colonisent de manière naturelle tous les types d'écosystèmes. Ils sont pour la plupart saprophytes et dégradent au profit de leur croissance toute sorte de débris organiques. De nombreuses espèces sont commensales ou symbiotiques, elles vivent donc en diverses associations neutres ou mutuellement bénéfiques avec d'autres organismes. Alors que certains sont parasites et se développent aux dépens d'autres organismes vivants, comme les végétaux et les êtres humains (dermatoses, infections pulmonaires, ...).

1.3. Reproduction

13.1. Reproduction des levures

Les levures se reproduisent aussi bien par un cycle asexué (végétatif) que par un cycle sexué, en fonction des conditions nutritionnelles favorables ou défavorables du milieu.

Souvent la multiplication végétative des levures résulte de la simple scission binaire de leurs cellules ou, plus couramment, de leur bourgeonnement. Cette dernière situation est observée dans des conditions favorables de milieu (temps de génération environ 80 minutes). Ce type de division est asymétrique par la taille, la cellule mère étant plus grande que la cellule fille. Le phénomène de bourgeonnement est limité chez les levures car elles ne peuvent engendrer qu'un nombre défini de bourgeons, estimé jusqu'à 24 par cellule. Il en résulte un processus de sénescence, suivi de la mort de la levure mère (Fig. 31).

Dès que les conditions du milieu deviennent défavorables, les levures se reproduisent en un cycle de reproduction sexué, en formant des spores reproductrices haploïdes de type sexuel **a** et **α**. Ces derniers fusionnent par conjugaison pour donner une nouvelle cellule de levure

diploïde. La levure diploïde produit par méiose 4 spores haploïdes, enfermées dans un sac appelé asque. Les ascospores a et α peuvent elles-mêmes se diviser par mitose et générer ainsi des clones.

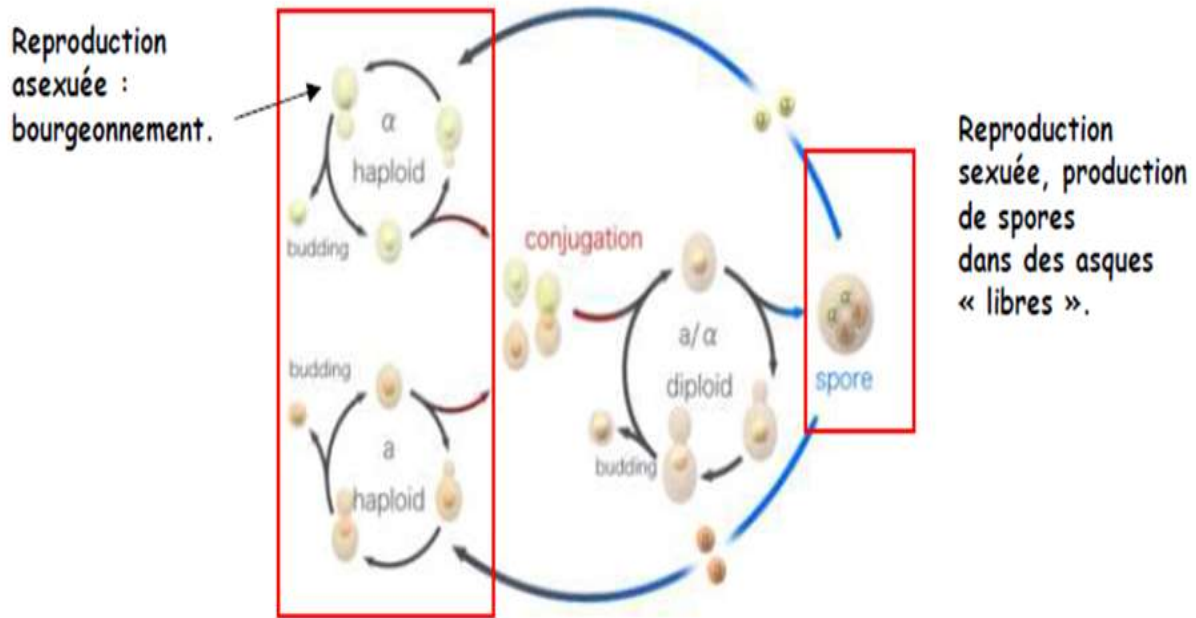


Figure 31 : Le cycle cellulaire de *Saccharomyces cerevisiae*.

Il est à noter que les spores fongiques peuvent être asexuées ou sexuées et elles sont fondamentalement différentes des spores bactériennes. Ces dernières sont exclusivement des structures de résistance aux conditions défavorables du milieu, une seule spore est produite par bactéries sporulant, et leur germination restaure le même individu. Alors que les spores fongiques sont des structures de reproduction formées par dizaines ou centaines chez un même organisme et chacune d'elles peut donner naissance à un nouvel organisme.

1.3.2. Reproduction des moisissures

Les moisissures se reproduisent communément par un cycle asexué, à partir de la germination d'une spore disséminée dans un milieu favorable. Cette dernière donne naissance à des hyphes qui se développent dans toutes les directions jusqu'à former un mycélium. Les spores asexuées des moisissures sont de plusieurs types : sporangiospores (formées dans un sporange à l'extrémité d'un hyphe), conidiospores (produites à la périphérie des hyphes), ... La reproduction des moisissures peut se faire également par fragmentation des hyphes ou selon un cycle sexué, par la formation de spores sexuellement différenciées. Leur appariement croisé formera un nouveau mycélium (Fig. 32).

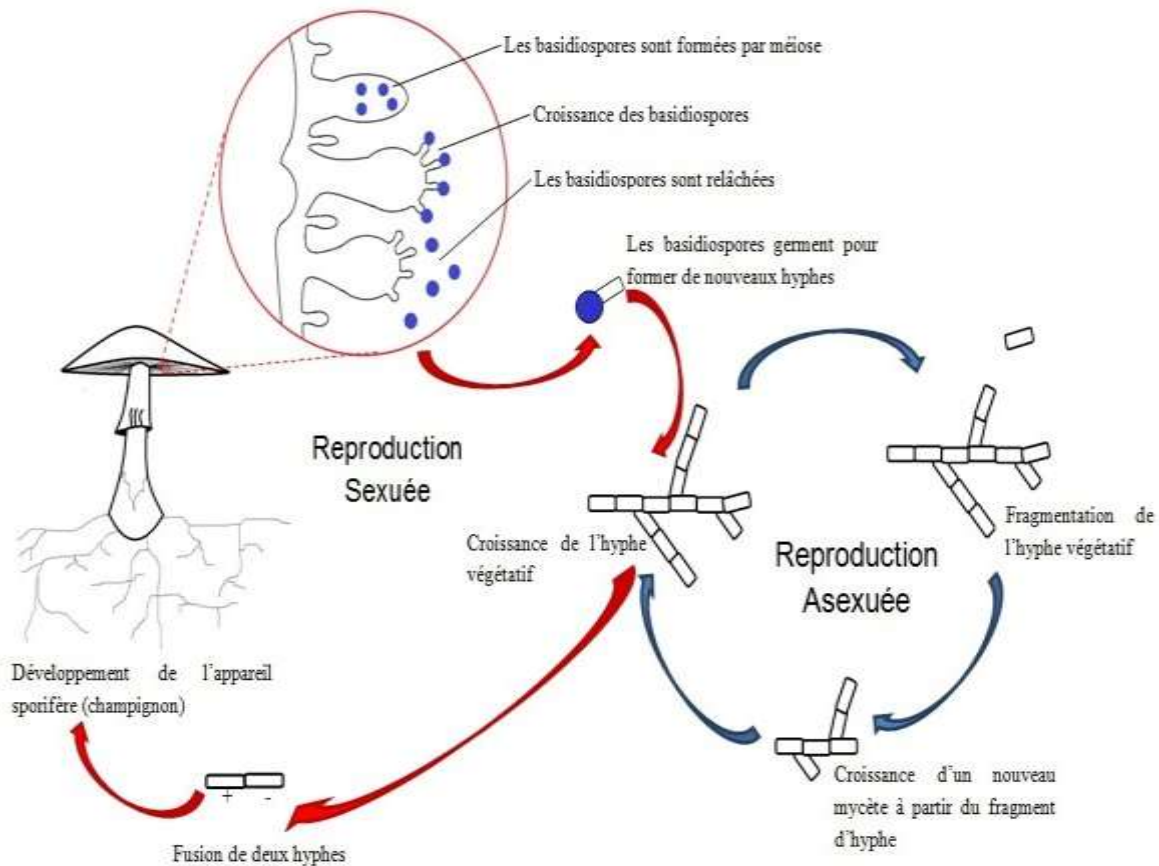


Figure 32 : Cycle de développement d'un basidiomycète.

2. Virologie

2.1. Découverte

En 1892, le biologiste russe Dmitri Ivanovski fit un premier pas vers la découverte des virus. Travaillant sur la maladie de la mosaïque du tabac, il filtra un extrait broyé de feuilles malades, à travers un filtre de porcelaine conçu pour arrêter les bactéries. À sa surprise, le filtrat obtenu était infectieux. Toutefois, Ivanovski incrimina des toxines ou des spores bactériennes. Ce n'est que dans les années 1930 que des virus purent enfin être vus en microscopie électronique.

2.2. Généralités

Les virus sont des particules non cellulaires (**acellulaire / acaryotes**), c'est-à-dire qu'ils ne forment pas de cellules qui constituent la structure biologique de base de tous les organismes vivants. Ils ont la propriété spécifique d'infecter les cellules d'organismes vivants : animaux, végétaux, champignons et bactéries. Les virus sont des Parasites Intracellulaires Obligatoires (PIO) car ils se multiplient exclusivement à

l'intérieur des cellules hôtes dont ils détournent l'ensemble du métabolisme au profit de leur propre reproduction, avec pour conséquence commune la mort de la cellule infectée.

L'infection virale est **spécifique** : chaque espèce de virus n'infecte que des cellules de nature définie, ce qui implique la présence de structures moléculaires de surface spécifiques de reconnaissance et d'adhésion entre le virus et sa cellule cible. Ainsi, les virus des hépatites n'infectent que les hépatocytes, le virus du Sida (VIH) infecte seulement les lymphocytes, ...

2.3. Morphologie (capside et enveloppe)

Une particule virale complète est composée d'un filament d'acide nucléique, en position centrale, enfermé dans une coque protéique protectrice appelée capsid qui constitue leur membrane protectrice. La taille des virus se situe entre 10 et 300 nanomètres (Fig. 33).

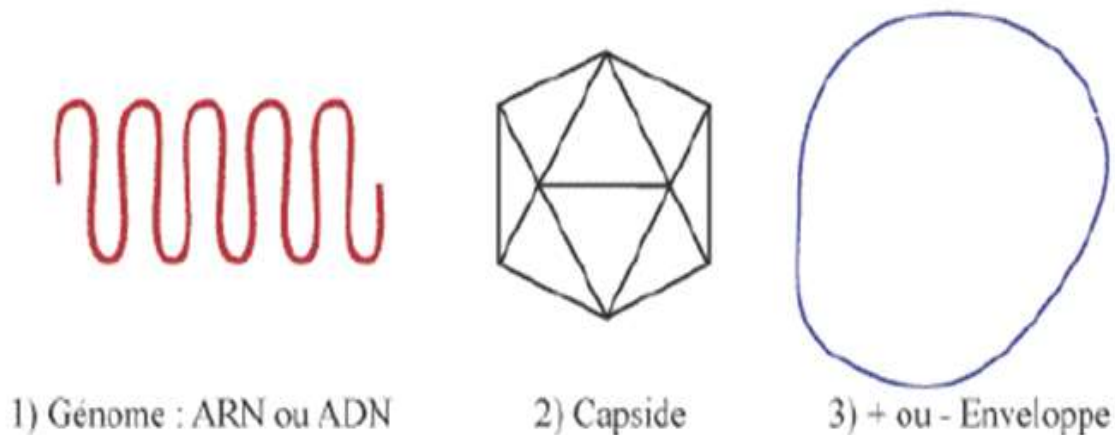


Figure 33 : Constituants d'un virus.

2.3.1. Génome viral

Les virus possèdent un seul type d'acide nucléique : ADN ou ARN (les virus spécifiques des animaux et des bactéries sont essentiellement à ADN, alors que les virus parasitant les végétaux sont à ARN). Il peut être circulaire ou linéaire, bicaténaire (double brin) ou monocaténaire (simple brin). Le génome sous forme d'ADN est généralement bicaténaire. Le génome sous forme d'ARN est généralement monocaténaire. Le génome viral est extrêmement limité, il ne comporte que quelques gènes.

2.3.2. Capside virale

La capsid est une coque qui entoure et protège l'acide nucléique viral. Elle donne aux virus leur forme caractéristique. Elle participe aussi à la liaison spécifique du virus avec la cellule hôte. La capsid est constituée par l'assemblage de sous-unités protéiques appelées

capsomères. La structure de la capside peut présenter plusieurs formes. On distingue en général deux groupes principaux de virus : les virus à symétrie **cubique** (icosaédrique) et les virus à symétrie **hélicoïdale** (tubulaire) (Fig. 34).

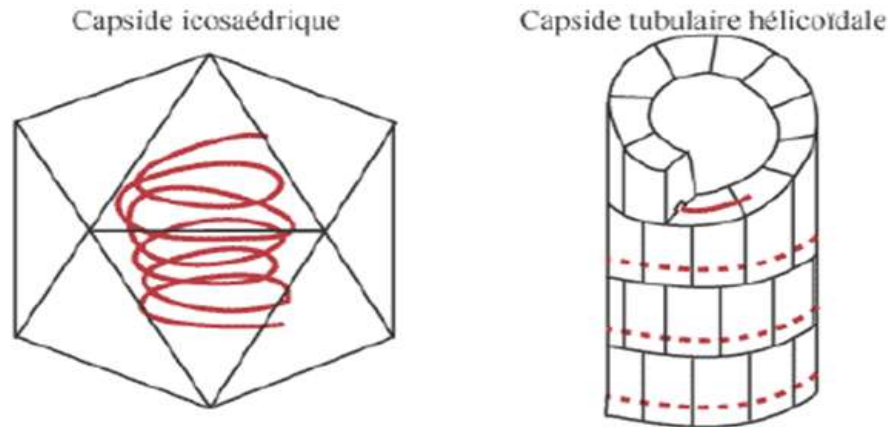


Figure 34 : Types de capsides virales.

2.3.3. Enveloppe virale

En plus de leur capsidic, certains virus possèdent une enveloppe (ou péplos) lipidique qui prend naissance au cours de la traversée des membranes cellulaires. Les virus possédant une enveloppe sont les **virus enveloppés**. Les virus ne possédant pas d'enveloppe sont les **virus nus** (Fig. 35). La présence d'une enveloppe donne quelques avantages aux virions par rapport à ceux composés d'une capsidic seule, comme la protection vis-à-vis d'enzymes ou de composés chimiques. Le virus de la grippe et le VIH sont des exemples de virus enveloppés.

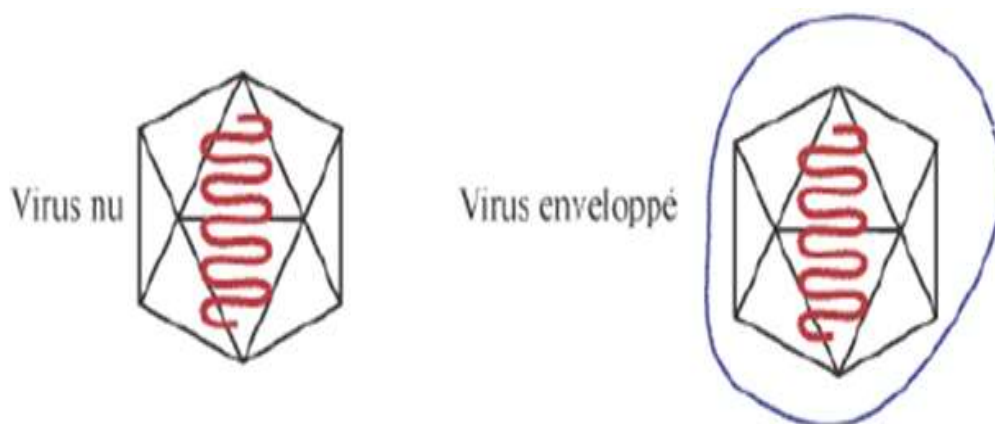


Figure 35 : Virus nu et virus enveloppé.

2.4. Différents types de virus

Lwoff, Horne et Tournier ont décrits une classification appelée système LHT. 74 familles sont, par conséquent, définies (Tab. 10). Cette classification prend en considération :

- La nature ribonucléique (R) ou désoxyribinucléique (D) du génome ;
- Le nombre de brins, simple (SB) ou double (DB) ;
- La présence d'une enveloppe (E) ou non (N=nu) ;
- La Symétrie de la capsid, cubique (C), hélicoïdale (H)

La classification courante fait référence au type de génome, ainsi les virus à ADN sont couramment appelés adénovirus, ceux à ARN, des rétrovirus. Cependant, certains virus ne sont pas encore classés, tel que le virus de Norwalk, responsable de diarrhée et l'agent d'encéphalite spongiforme, appelé **prion**.

Tableau 10 : Classification de quelques virus selon le système LHT.

Type d'acide nucléique	Nombre de brins	Enveloppe	Symétrie de la capsid	Exemple de virus
ADN	SB	N	C	Hépatite B
ADN	DB	E	C	Herpès, varicelle
ARN	SB	N	C	Poliovirus, hépatite A
ARN	SB	E	C	Rubéole
ARN	SB	E	H	Rage, Oreillons, Rougeole
ARN	DB	N	C	Réovirus

2.5. Virus des bactéries (bactériophages)

Leur existence a été révélée en 1915 par Twort puis c'est Herelle qui en 1917 a découvert dans les selles des particules virales capables de détruire les Shigelles et qui les a appelés bactériophages.

Un bactériophage, ou phage, est un virus n'infectant que des bactéries. On les appelle également virus bactériens. Comme les virus qui infectent les eucaryotes, les phages sont constitués : d'une capsid externe protégeant le matériel génétique (ADN double-brin pour le 95 % des phages), d'une queue de longueur variable (par laquelle transite l'acide nucléique) et de fibres caudales assurant la reconnaissance de l'hôte (Fig. 36). Exemples : les bactériophages T4 et Lambda qui s'attaquent à *Escherichia coli*.

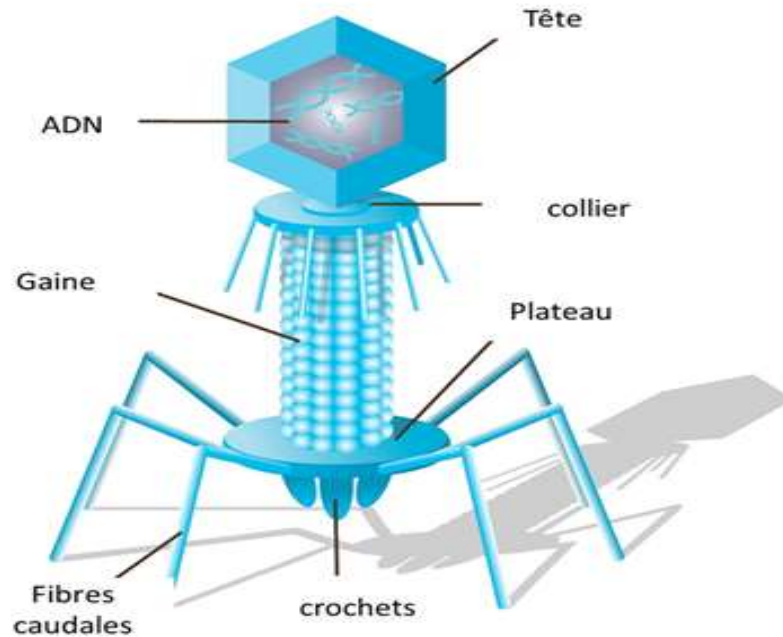


Figure 36 : Structure d'un bactériophage.

2.6. Cycle de multiplication des virus

Les virus ne peuvent se répliquer qu'au sein de cellules vivantes. C'est l'interaction du génome viral et de la cellule hôte qui aboutit à la production de nouvelles particules virales. L'infection d'une cellule par un virus, puis la multiplication du virus peuvent se résumer en quatre différentes étapes (fig. 37) :

2.6.1. Adsorption

C'est l'**attachement** du virus à la surface de la cellule potentiellement infectée. Le contact se fait au hasard d'une collision, entre le virus et sa cellule cible, présents dans le même milieu. L'adsorption se fait par complémentarité spécifique des sites de fixation du virus et des récepteurs de la cellule hôte. L'adsorption est donc spécifique : un virus donné ne peut fixer qu'une cellule donnée. Mais une cellule peut avoir plusieurs types de récepteurs pour fixer différents virus. C'est le cas, par exemple, des hépatocytes qui possèdent des récepteurs spécifiques pour plusieurs virus, dont le parasitisme engendre les différents types d'hépatites (A, B, ...).

2.6.2. Pénétration

Elle se fait différemment selon la nature du virus. Les virus infectant les animaux sont intégralement incorporés à travers la membrane cytoplasmique. Dans le cytoplasme cellulaire,

intervient leur **décapsidation** totale ou partielle et les virus cessent d'exister en tant qu'entité infectieuse. L'acide nucléique viral est libéré dans le cytoplasme. Il prend alors le relais en contrôlant et en détournant au profit de sa reproduction le métabolisme cellulaire dans son ensemble.

Quant aux virus des végétaux et aux bactériophages ils doivent traverser une paroi avant d'atteindre la membrane cytoplasmique. Ainsi, une fois fixés à leur cible, ils injectent leur acide nucléique dans le cytoplasme cellulaire.

2.6.3. Réplication

Elle consiste à la multiplication séparée des différents composants de la particule virale, le génome viral et les protéines de la capsid, selon les instructions de l'acide nucléique viral, en utilisant les enzymes et les nucléotides de la cellule hôte.

Parallèlement, ou successivement, se réalise l'assemblage spontané des constituants protéiques de la capsid qui s'associent à l'acide nucléique, donnant ainsi de nouveaux virions identiques au virus infectant.

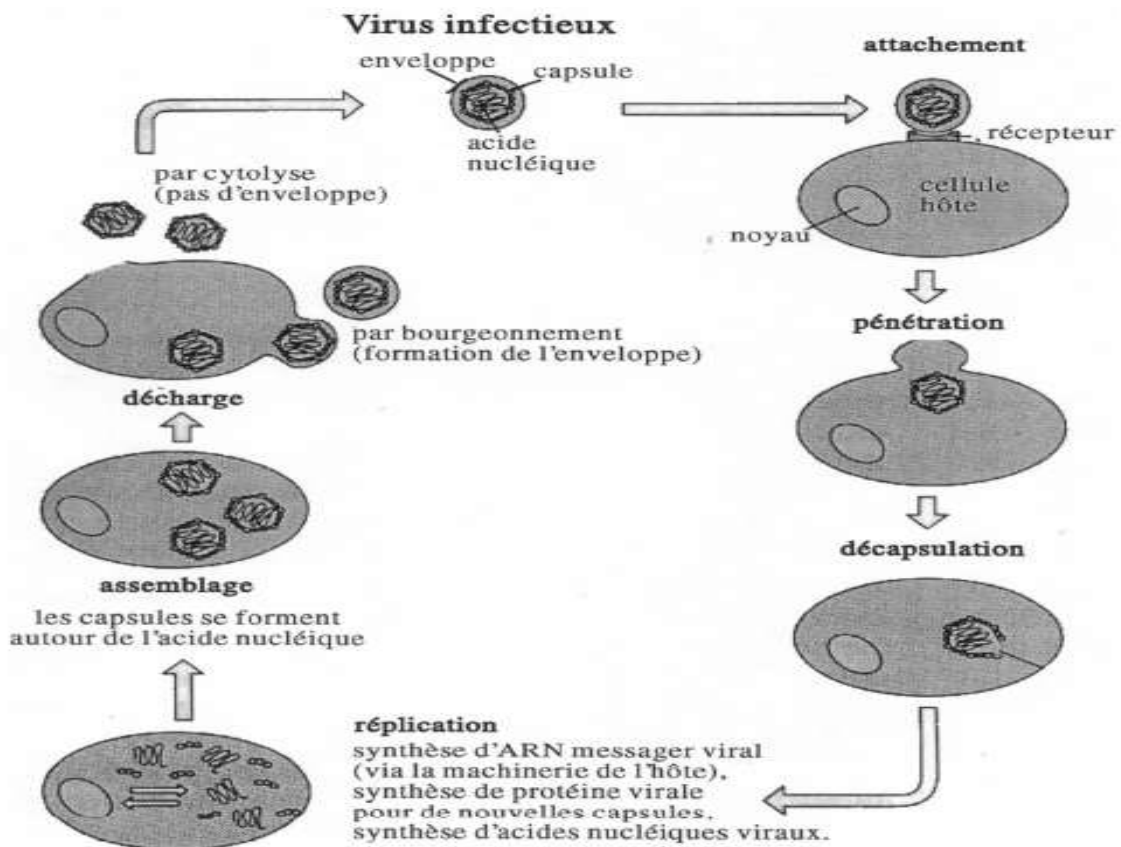


Figure 37 : Cycle de réplication virale.

2.6.4. Libération

Les virus sont libérés dans le milieu extracellulaire, selon deux mécanismes : les virus nus par la lyse et donc la mort de la cellule hôte, tandis que les virus à enveloppe sont exclus différemment, le plus souvent par bourgeonnement au niveau de certaines zones de la membrane cytoplasmique.

Ainsi pour les virus à péplos, la nucléocapside provoque une invagination de la membrane cellulaire qui est ensuite progressivement individualisée et isolée, avant de se détacher à l'extérieur. Ce processus d'exclusion du virus lui permet en même temps d'acquérir son enveloppe qui est donc finalement formée de la membrane de la cellule hôte. Les virus libérés peuvent à leur tour infecter d'autres cellules du même type, rencontrées au hasard. Ils initient alors, dans les mêmes conditions, de nouveaux cycles de multiplication virale.

Références bibliographiques

1. **Boussebouaa H. (2002)** Elément de microbiologie générale. Editions de l'Université Mentouri Constantine-Algérie, 303p.
2. **Callen J-C. (2005)** Biologie cellulaire : Des molécules aux organismes. 2ème Edition. Dunod-Paris, 492p.
3. **Cau P., Seïte R. (2012)** Cours de Biologie Cellulaire. 5^{ème} Edition. Ellipses, 580p.
4. **Hart T., Shears P. (1997)** Atlas de Poche de Microbiologie. 1^{ère} Edition. Flammarion, 310 p.
5. **Huraux J-M. (2007)** Virologie, Faculté de Médecine, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI, 307p.
6. **Leclerc H., Gaillard J-L., Simonet M. (1999)** Microbiologie générale : La bactérie et le monde bactérien. Doin-Paris, 535p.
7. **Meyer A., Deiana J., Bernard A. (2004)** Cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés. 2^{ème} Edition. Dion-Paris, 423p.
8. **Nauciel C., Vildé J-L. (2005)** Bactériologie médicale : Connaissances et pratique. 2ème Edition. Elsevier / Masson, 273p.
9. **Paolozzi L., Liébart J-C. (2015)** Microbiologie : Biologie des procaryotes et de leurs virus. 2^{ème} Edition. Dunod-Paris, 509p.
10. **Prescott L-M., Harley J., Klein D-A. (2003)** Microbiologie., 2ème Edition Française. De Boeck, 1137p.
11. **Singleton P. (2005)**. Bactériologie : Pour la médecine, la biologie et les biotechnologies. 6^{ème} édition. Dunod-Paris, 542p.