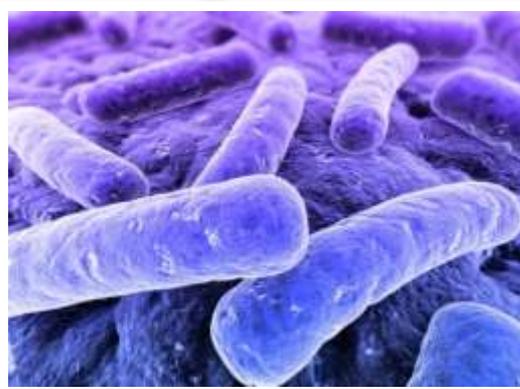


# Microbiologie Générale



*Dr AIDOUZ Aziouz*  
*University of Boumerdes*

# Contenu de la matière

# Microbiologie

## 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. Germination

### 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, O<sub>2</sub> et A<sub>w</sub>)

### 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

# 1. Le Monde microbien

## 1.1. Historique

*Dès l'Antiquité, on postulait sur l'existence d'agents infectieux transmissibles invisibles à l'œil nu.*

**1546** : Jérôme Fracastor impute la transmission des maladies à des germes vivants, qu'il appelait « *seminaria* ».

**1677** : Découverte des bactéries par le microscopiste hollandais Antoine van Leeuwenhoek

**1796**: Edward Jenner Médecin britannique qui découvre vaccin contre la variole

**1828** : Christian Gottfried Ehrenberg utilise pour la première fois le terme bactérie.

**1857-1876** : Louis Pasteur met en évidence les rôles des micro-organismes dans la fermentation lactique et alcoolique. Il développe les techniques de pasteurisation et de stérilisation

**1877-1895** : Louis Pasteur démontre que des maladies sont la conséquence de la présence de ces micro-organismes ,Premières recherches sur l'origine de certaines maladies, ainsi que la vaccination

**1885** : réalisation du vaccin contre la rage

**1882 : Robert Koch** découvre *Mycobacterium tuberculosis* (bacille de Koch), responsable de la tuberculose

**1884 : Hans Christian Gram** développe une technique de coloration qui est la plus utilisée dans l'étude et la classification des bactéries en deux grands groupes : les bactéries à Gram positif et celles à Gram négatif.

**1921:** mise au point du BCG, vaccin contre la tuberculose.

**1928 :** l'écossais Sir Alexander Fleming découvre les propriétés antibactériennes de la pénicilline produite par *Penicillium*. L'humanité entre dans l'ère des antibiotiques.

•

Les organismes vivants avaient été répartis en deux ensembles biotiques : les Procaryotes (de pro = primitif et karyon = noyau) et les Eucaryotes (eu = vrai)

Et cinq Règnes (Procaryotes, Protistes, Mycètes, Animaux et Plantes).

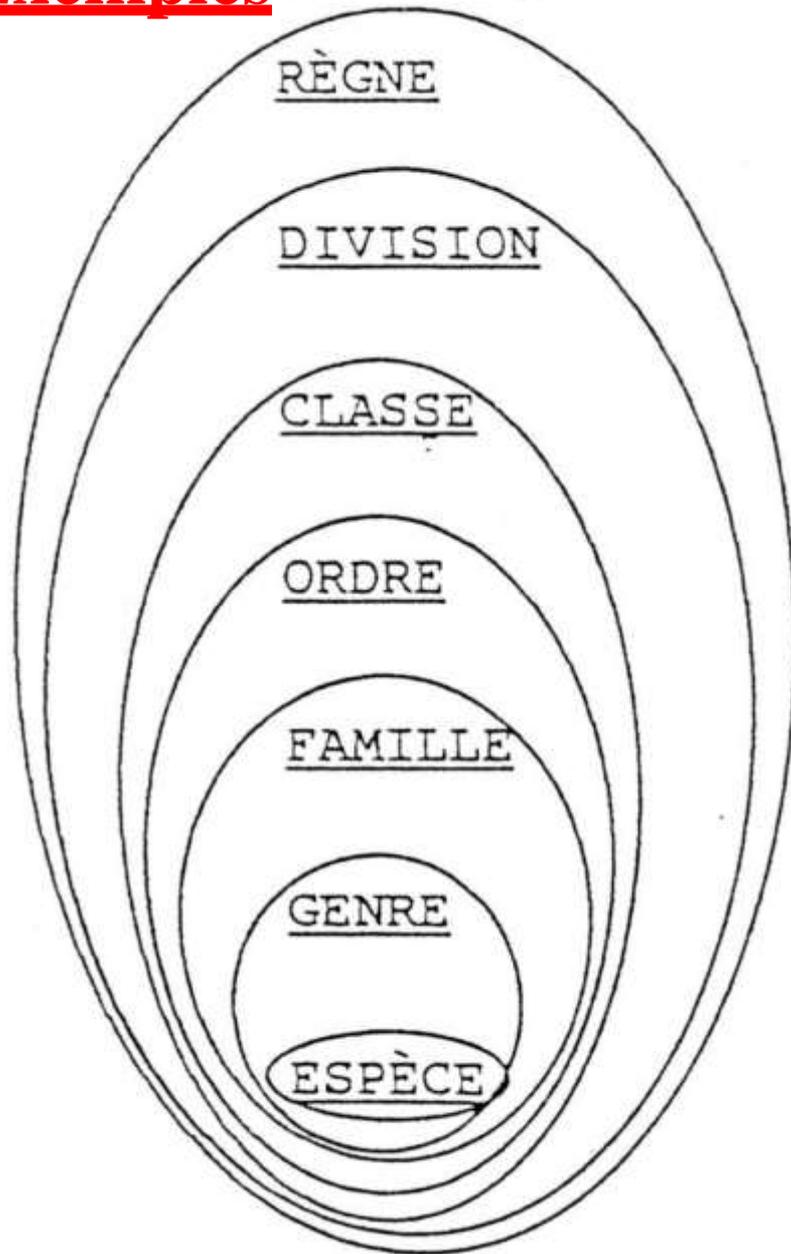
Ensuite un autre groupe

**Acaryote** a été admis pour regrouper les Virus. Cependant d'autres microbiologistes ne considèrent pas les virus comme des êtres vivants pour les critères évoqués précédemment.

Les Domaines sont subdivisés en Règnes(R) qui peuvent, comporter des sous –Règnes (sR).

Puis l'Embranchement (E) et si la nécessité l'exige, le Super –  
Embranchement (sE), la Classe (C) et la sous-Classe (sC).

# Exemples



Procaryotae

Gracilicutes

Scotobacteria

Bacilles à Gram négatif AAF

Enterobacteriaceae

*Escherichia*

*Escherichia coli*

Aucun signe diacritique (á, à, â, ä, ã, é, è, ê, ë, í, î, ï, ñ, ó, ò, ô, ö, õ, ú, ù, û, ü, æ...) n'est toléré et les mots ne doivent pas contenir de trait d'union.

Ex: on doit écrire *Bacteroides* et non *Bacteroides* ou *Nocardia otitidiscaviarum* et non *Nocardia otitidis-caviarum*.

Toutes les nomenclatures sont des mots latins et de tels mots sont traditionnellement écrits *en italiques* ou ils sont **soulignés dans un manuscrit.**

## 1.2. Place des microorganismes dans le monde

- Les microorganismes représentent la forme dominante de la vie sur terre.
- Les microbes représentent plus de 60% de toute la matière organique sur terre.
- Les microbes ont dominé la terre pendant plus de 3 milliards d'années et sont la source de toutes les autres formes de vie.
- Bien avant, les êtres vivants étaient classés dans le règne des végétaux ou dans le règne des animaux.
- Un troisième règne, protiste, est alors proposé par **Haeck en 1886**

**Les protistes** rassemblent :

- Les algues
- les protozoaires
- les champignons
- et les bactéries

## **- Structure et reproduction**

Les protistes sont définis par des propriétés communes et spécifiques : leur taille microscopique, leur organisation simple et unicellulaire pour la plus part.

Les protistes ont une taille plus réduites que celles des cellules animales et végétales.

\* ***Escherichia coli*** par exemple, se reproduit par simple division binaire en 20 minutes. Cela se produit bien sûr en conditions optimales de culture en laboratoire. Ces taux de croissance exceptionnels induisent des rendements de croissances incomparables

## - **Métabolisme et écologie**

Les microorganismes ont une propriété fondamentale qui est la diversité de leur métabolisme. 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

## 1.3. les organismes procaryotes et eucaryotes

Toute vie est cellulaire et possède les caractéristiques communes suivantes:

- Toutes les cellules ont une **MEMBRANE CELLULAIRE** . Toute cellule sans une membrane n'est PAS UNE CELLULE.
- Toute vie cellulaire **CONTIENT DE L'ADN** qui constitue son bagage génétique.
- Toutes les cellules contiennent un grand nombre de **molécules d'ARN** et de **PROTEINES** (la plupart des enzymes) différentes.
- Toutes les cellules **RÉGULENT** les flux de nutriments et de déchets qui entrent et sortent de la cellule.
- Toutes les cellules se **REPRODUISENT** et sont le résultat d'une reproduction.
- Toutes les cellules ont besoin d'une **SOURCE D'ÉNERGIE**.

- Toute les cellules ont UNE ORGANISATION COMPLEXE qui leur permettent de réguler les réactions biochimiques internes en fonction des concentrations de substances externes.
- Toutes les cellules ont un SYSTÈME ÉLABORÉ DE SENSEURS qui leur permettent de déterminer le caractère de leur environnement immédiat et d'utiliser ces informations afin d'opérer des AJUSTEMENTS BIOCHIMIQUES nécessaires.

Ces critères sont les **EXIGENCES MINIMALES** de la vie.

**DEUX TYPES GÉNÉRAUX DE CELLULES** ont évolué

Ils se nomment les **PROCARYOTES** et les **EUCARYOTES**

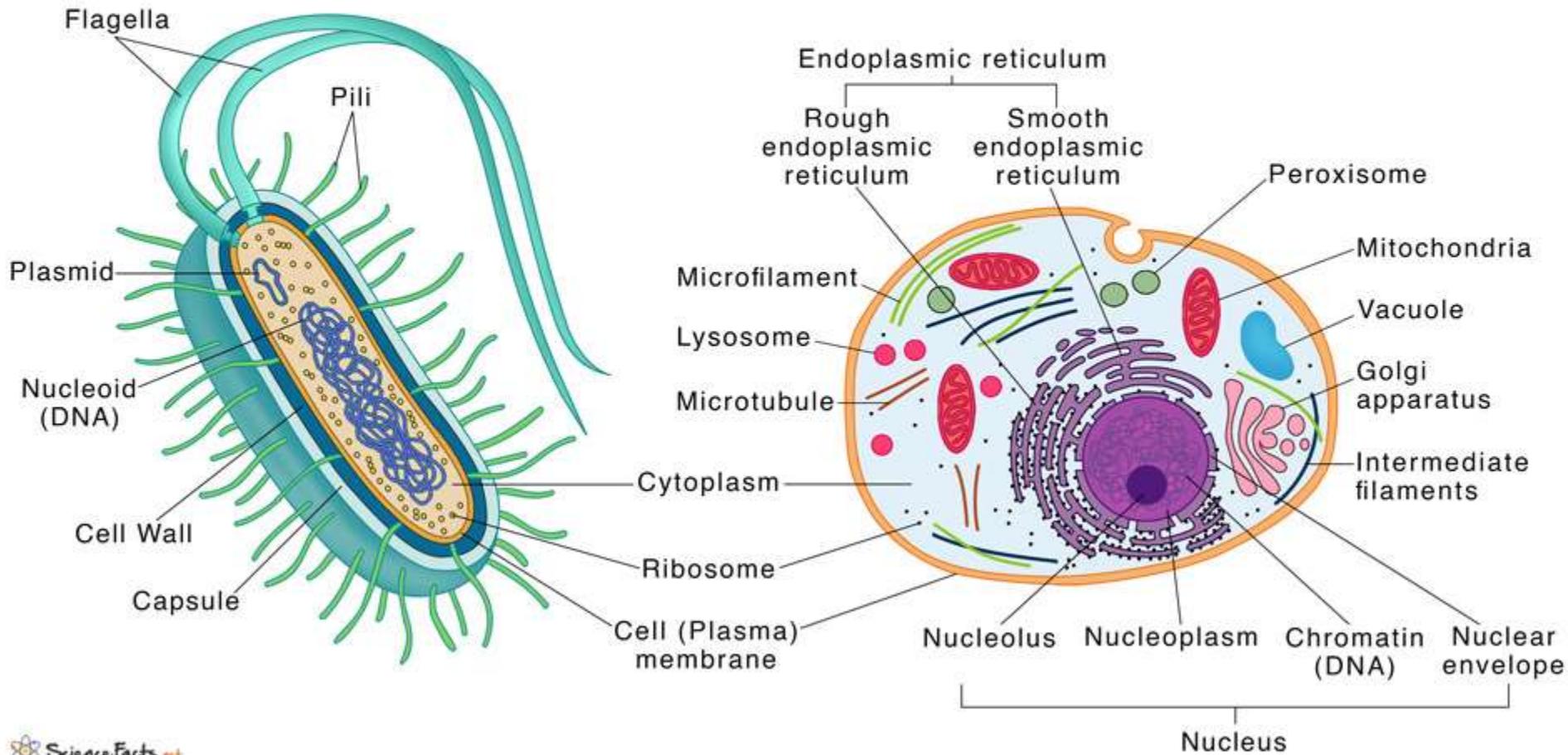
# Différences principales entre les cellules eucaryotes et les procaryotes

Eucaryote	Procaryote
Cellule grande avec un vrai noyau (membrane nucléaire)	Cellule petite sans vrai noyau (ADN non entouré d'une membrane nucléaire)
Division cellulaire par mitose (classique)	Division cellulaire directe par scission binaire
Présence d'organites (réticulum endoplasmique, mitochondries, Etc)	Absence d'organites cellulaires
Endocytose	Pas d'entocytose
Ribosomes 80S	Ribosomes 70S

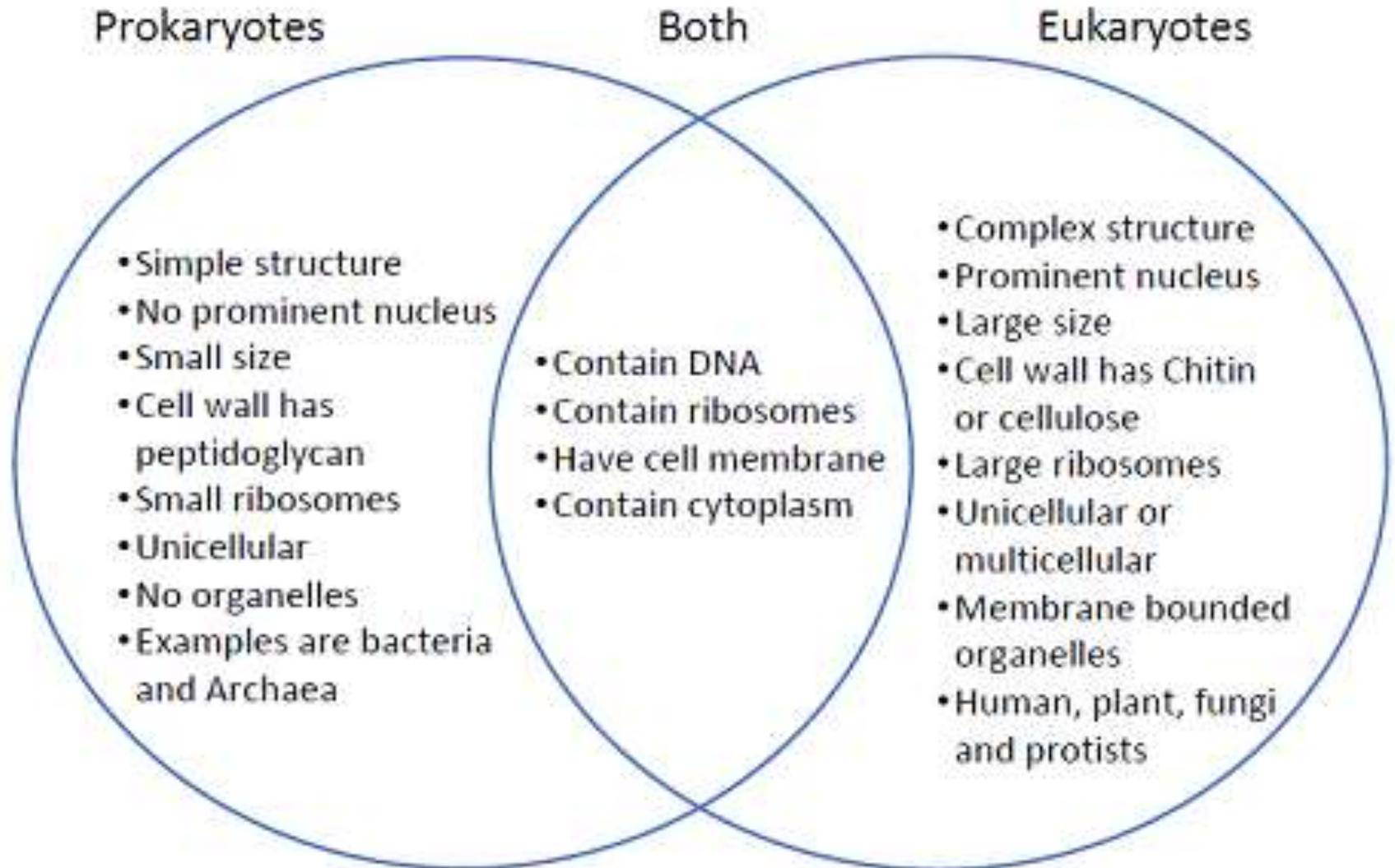
# Prokaryotic Cells

VS

# Eukaryotic Cells



# Venn Diagram of Prokaryotes and Eukaryotes



# 1-3 Caractéristiques générale de la cellule procaryote

## 1.3-1 Les Protistes

- Les protistes sont définis par des propriétés communes et spécifiques : leur taille microscopique, leur organisation simple et unicellulaire pour la plus part.
- Si pluricellulaires, alors leurs cellules sont équivalentes, sans aucune différence morphologique, physiologique ou fonctionnelle.
- Les protistes se distinguent des animaux et des végétaux par leur structure, leur physiologie et leur écologie.

## 1.3.2 Structure et fonction

- Une taille de loin plus réduites que celles des cellules animales et végétales.
- Les cellules animales et végétales sont incapables d'exister indépendamment de leur organisme.
- La taille réduite des protistes confère des avantages physiologiques.
- Un rapport surface /volume supérieur à celui de tous les autres organismes vivants.

Ce qui permet des échanges et des interactions remarquables avec le milieu.

- Sans oublier une dissémination et une distribution dans la nature unique et impressionnante.

### 1.3.3 Reproduction

- Les protistes et en particulier les bactéries ont des modes de reproduction simples, spécifiques et rapides (temps de génération courts)..
- Escherichia coli par exemple, se reproduit par simple division binaire en 20 minutes
- Cela se produit bien sûr en conditions optimales de culture en laboratoire. Ces taux de croissance exceptionnels induisent des rendements de croissances incomparables

### 1.3.4 Métabolisme

- Les micro-organismes et en particulier les bactéries ont une propriété fondamentale qui est la diversité de leur métabolisme
- 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
- les micro-organismes peuvent métaboliser toutes les substances organiques naturelles et même synthétiques.
- Ce processus constitue la minéralisation de la matière vivante et le recyclage des éléments chimiques qui forment la matière organique.  
Ceci permet de préserver l'environnement

- Une des armes métaboliques des bactéries est la synthèse d'enzymes inductibles uniquement en présence de leurs substrats spécifiques.  
Une adaptation exceptionnelle aux conditions du milieu

### 1.3.5- Ecologie

Les micro-organismes sont ubiquitaires, ils sont présent dans tous les écosystèmes :

- Dans **les mers et les océans**, ils constituent la biomasse (base du 1er échelon de la chaîne alimentaire) qui nourrit l'ensemble de la faune marine.
- Dans **le sol**, ils jouent un rôle dans la décomposition de la matière organique, la fourniture de l'azote assimilable aux plantes, la minéralisation de la matière organique

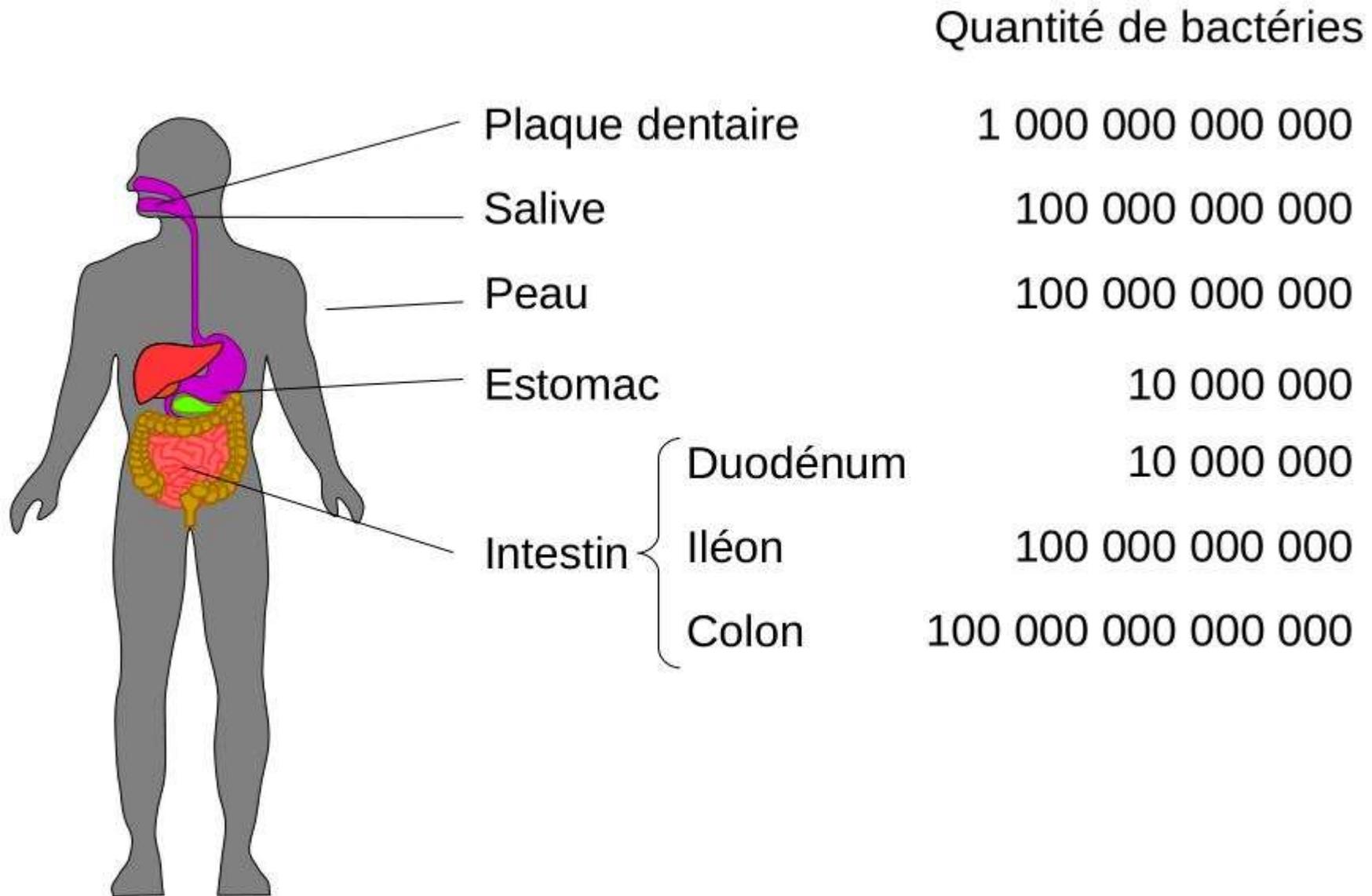
Les micro-organismes participent activement aux **équilibres gazeux** de l'atmosphère, en étant à la fois **producteurs et consommateurs**, d'O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>.

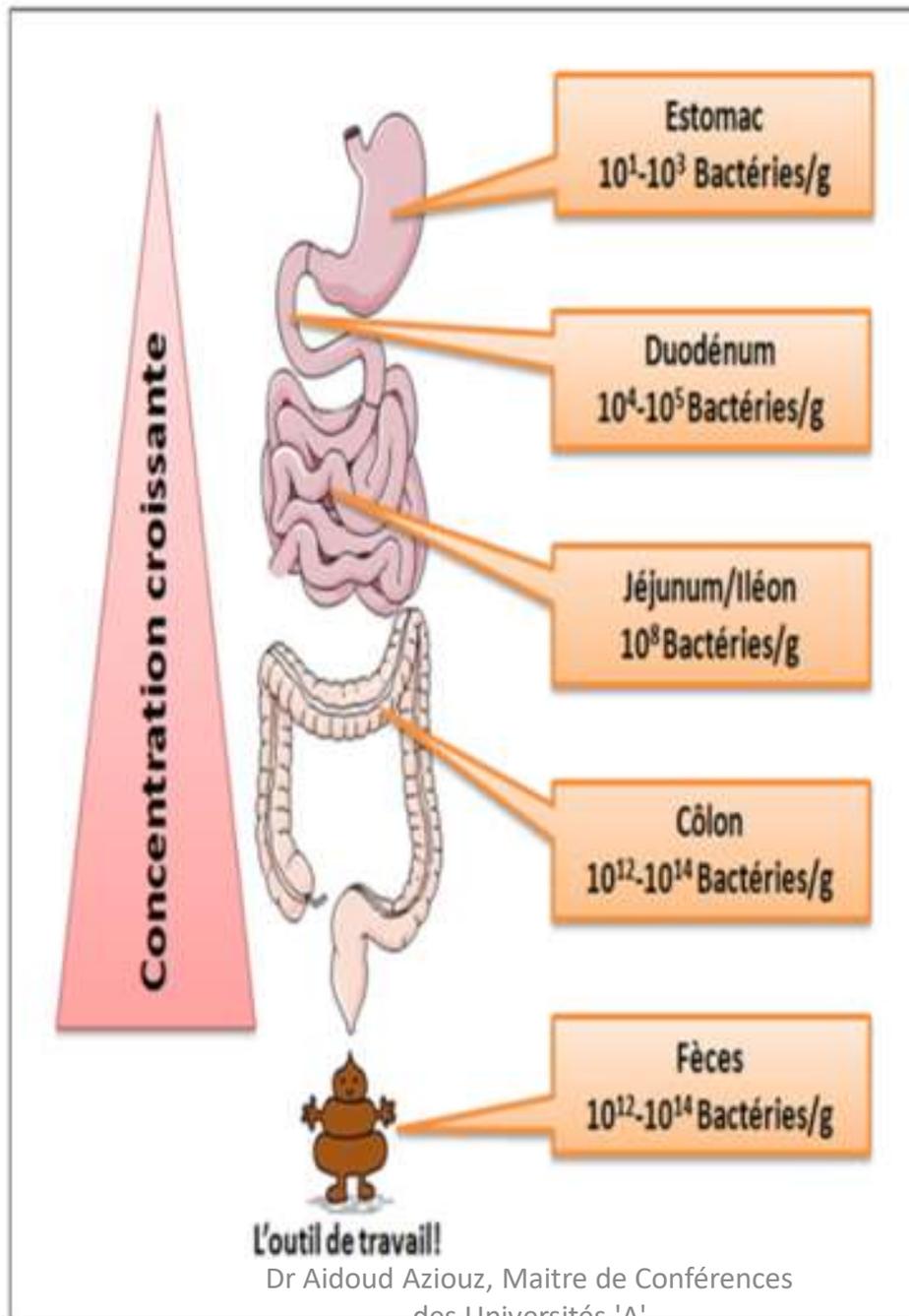
➤ Le **long de l'appareil digestif des animaux**. En effet, ce dernier est tapissé de bactéries très utiles à notre bien-être digestif, puisqu'elles nous procurent les enzymes nécessaires à la digestion de certains aliments.

De plus, elles évitent que d'autres micro-organismes dangereux colonisent le tube digestif et nous rendent malades.

La majorité d'entre elles sont apportées à la naissance par la mère, puis, par l'environnement et la nourriture

Tout au long de la vie, les populations évoluent





Dr Aidoud Aziouz, Maitre de Conférences  
des Universités 'A'

## 1.4. Organisation biologique des protistes

Les protistes se présentent selon trois types différents d'organisation biologique :

➤ Unicellulaires

➤ Pluricellulaires

➤ Coénocytiques

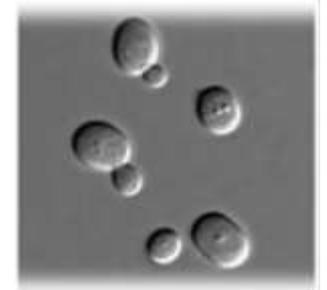
### 1.4.1. Protistes unicellulaires

- C'est le cas de la plus part des protistes, bactéries, protozoaires, levures et de nombreuses algues.

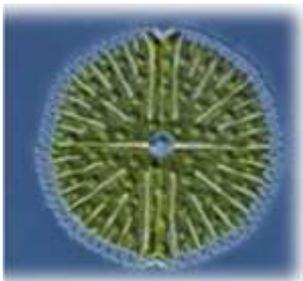
- doué de toutes les fonctions de la vie :  
nutrition, croissance et reproduction



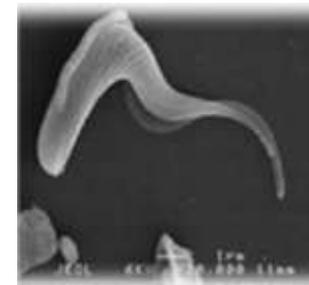
Bactérie



Levures



Algue unicellulaire



Protozoaire

## 1.4.2. Protistes pluricellulaires

Ce sont principalement des champignons (Fungi) et des algues formés de plusieurs cellules identiques, sans aucune différence structurale ou physiologique.



*Penicillium camemberti*



*Penicillium notatum*



Algue bleu

## 2. La cellule bactérienne

- Les bactéries typiques sont des organismes unicellulaires procaryotes
- Elles n'ont pas de noyau et leur génome est le plus petit des cellules vivantes.
- Les bactéries se divisent en **eubactéries** et en **archaebactéries**

### 2.1. Techniques d'observation de la cellule bactérienne

#### Observation de la cellule

La mise au point du premier microscope par A. Van Leeuwenhoek marque le point de départ de la microbiologie.

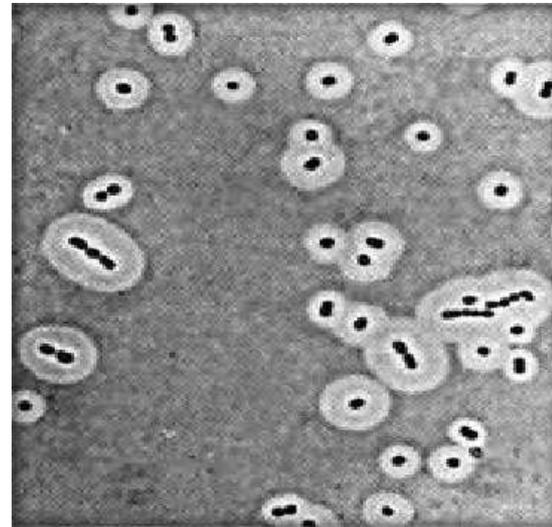
cet appareil a été largement amélioré. Avec des grossissements pouvant aller jusqu'à 2500 x, on peut observer des structures de l'ordre de 1  $\mu\text{m}$

**On distingue :**

**L'observation entre lame et lamelle**, dite **à l'état frais** de bactéries en milieu liquide et sa variante, la coloration à l'encre de Chine (pour la mise en évidence de la capsule).



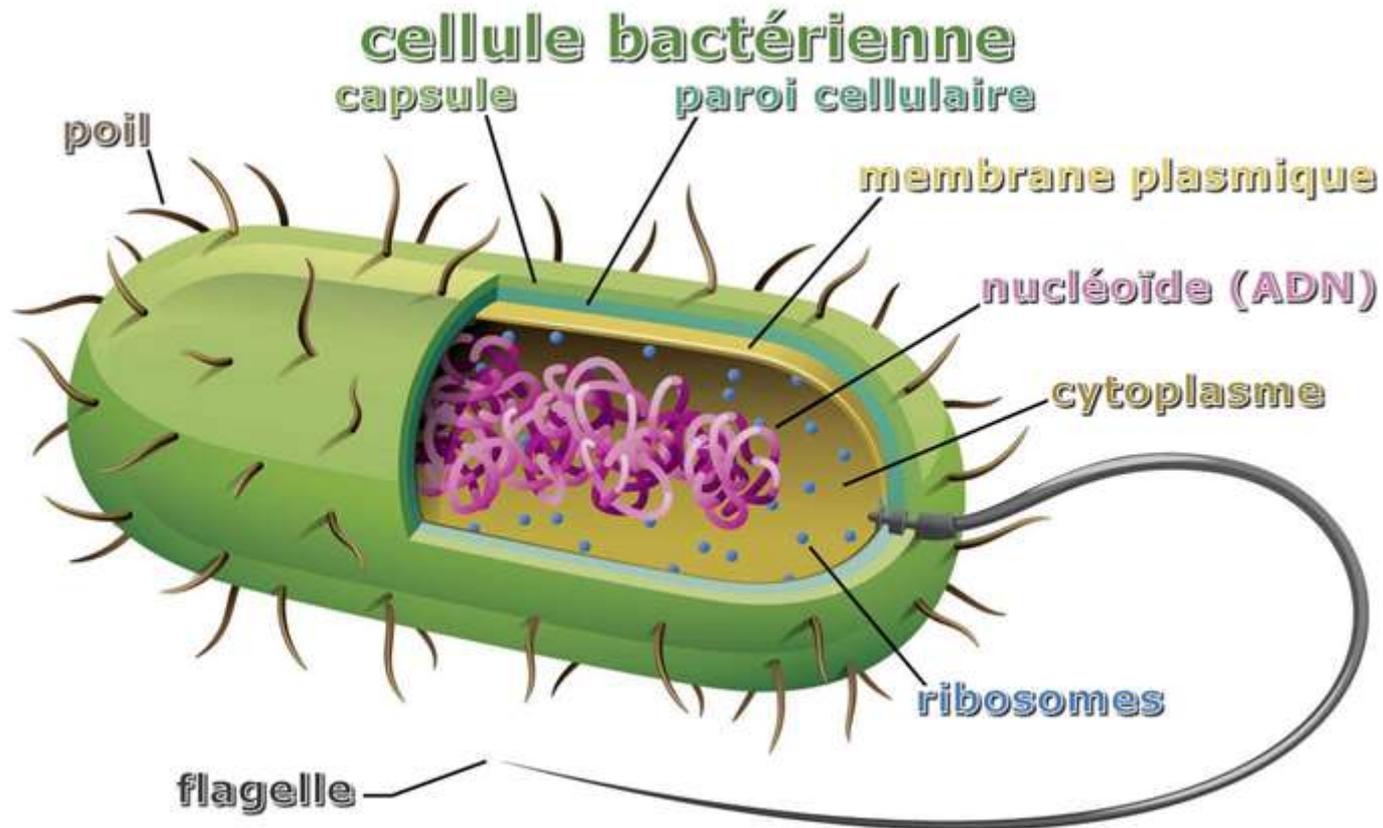
**Observation à l'état frais**



**Coloration à l'encre de chine**

## Observation des frottis séchés, fixés et colorés

Les colorations de Gram et de Ziehl-Nielsen permettent la reconnaissance des bactéries pathogènes, d'autres font apparaitre spécifiquement les cils, les flagelles, les spores

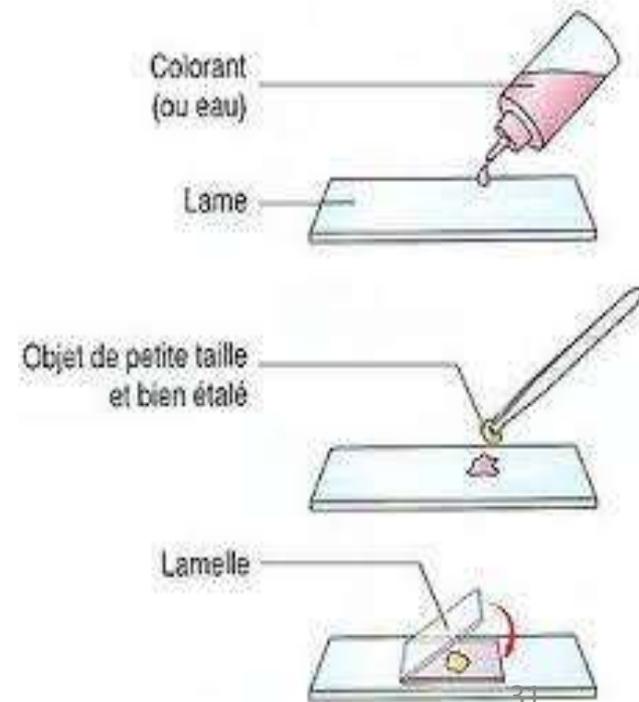


## Observation des frottis séchés, fixés et colorés

**Les frottis** sont observés à l'immersion avec une goutte d'huile spéciale entre l'objectif et la préparation, cela permet d'obtenir une image plus nette

Toutes ces méthodes font partie de la microscopie photonique (utilisation du rayonnement lumineux).

Pour observer des structures de l'ordre de **5 nm à 10 nm**, on utilise la microscopie électronique.



# La composition chimique d'une bactérie

On peut obtenir séparément les **glucides**, les **lipides**, les **protéines** et les **acides nucléiques**.



En utilisant des enzymes comme des endopeptidases, exopeptidases, glucosidases, endonucléases, exonucléases et lipases associés des techniques de chromatographie et de séquençage des protéines ou des acides nucléiques on a pu déterminer la composition chimique globale

d'**Escherichia coli**

# Composition élémentaire d'Escherichia coli

Elément % du poids sec	
Carbone	50 +/- 5
Azote	10 à 15
Phosphore	3.2
Soufre	1.1
Cendre	12.5
Sels fixe	7.25
Sels libres	5.5
Macromolécules	
Protéines	50 %
ADN	3 à 4 %
ARN	10 %
Polysaccharides	4 à 5 %
Lipides	10 à 15 %

**Pool de métabolite :**

Acides aminés, Nucléotides libres, sucres acide organiques, esters, oligopeptides, ATP, vitamines, *coenzymes*.

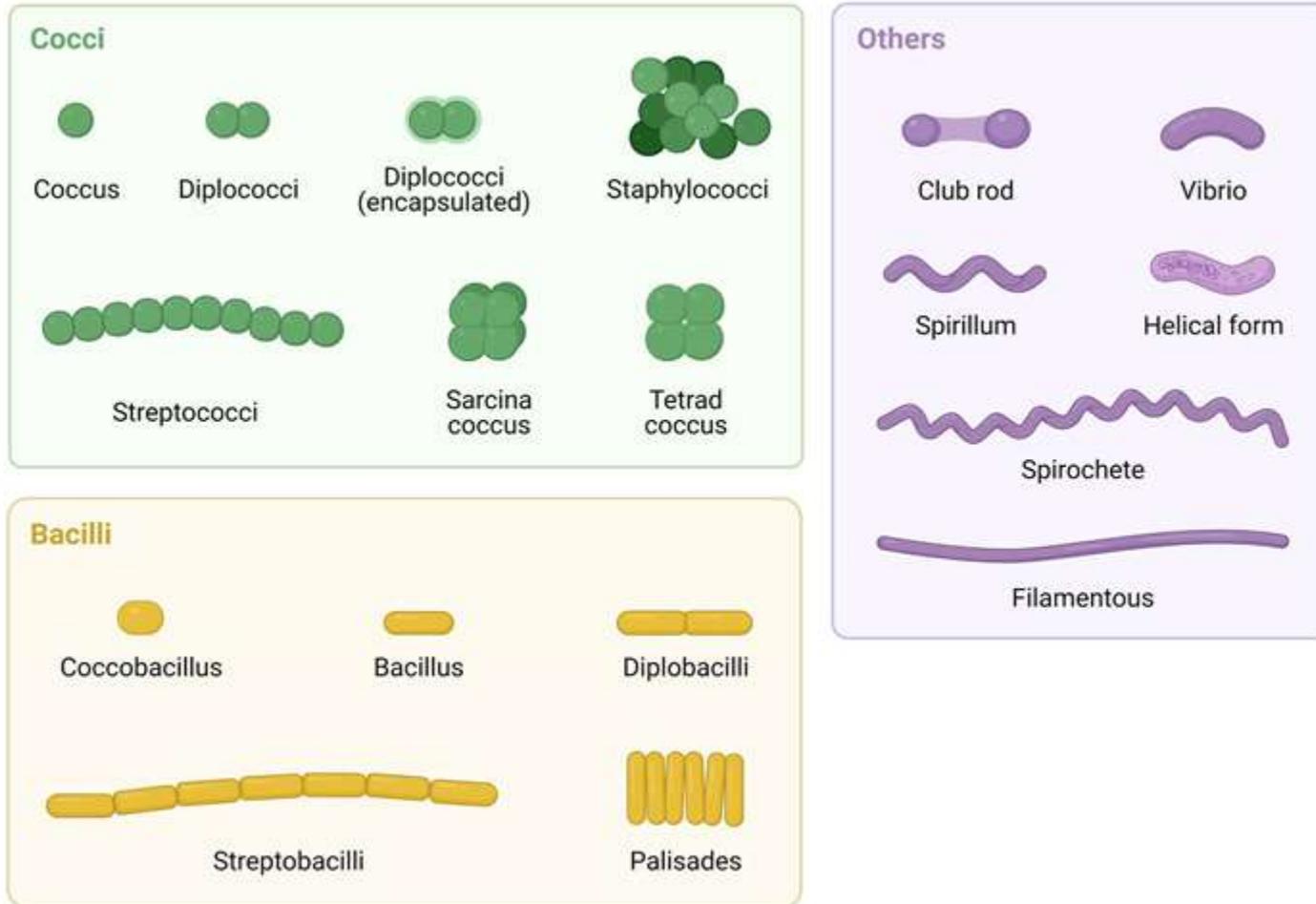
## Composition chimique de la paroi:

	Bactéries Gram+	Bactéries Gram-
Osamines	+++	+
Acides aminés		
Nombre	24-35 %	50 % environ
Acide	4 à 10	16 à 17
diaminopimélique	+++ Exlut la Lysine	+ N'exclut pas la Lysine
Acides teichoïques	+++	-
Oses	20 à 60 %	20 à 60 %
Lipides	1 - 2,5 %	10 - 22 %

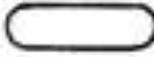
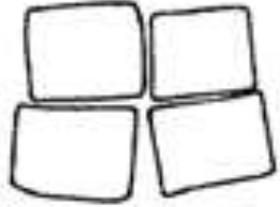
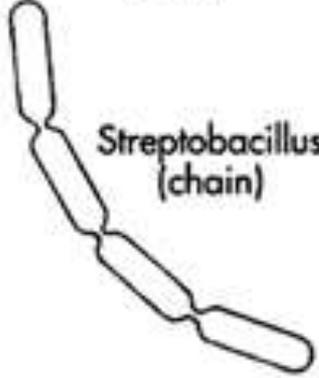
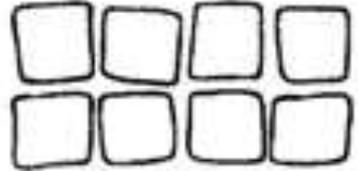
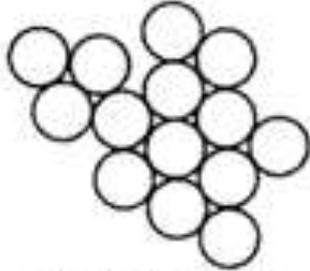
## 2.2. Morphologie cellulaires :

### Formes des cellules bactériennes

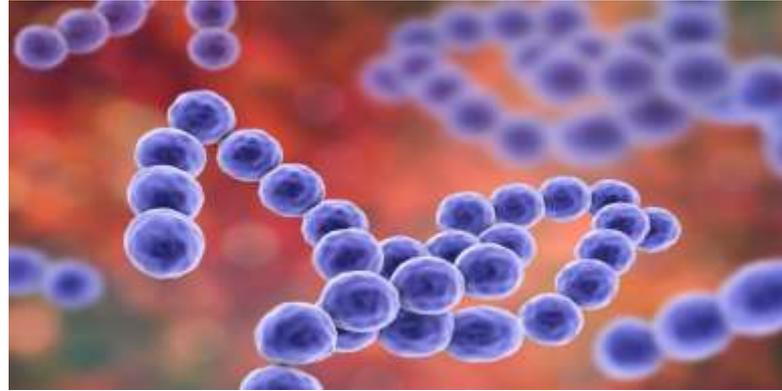
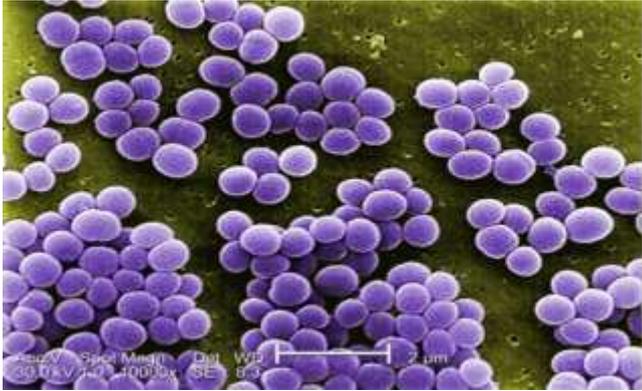
les bactéries sont des organismes unicellulaires de formes variées.



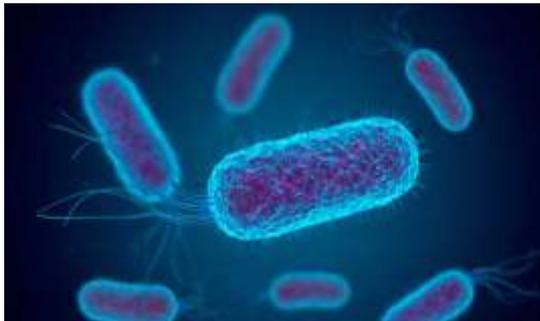
# Size, Shape, and Arrangement of Bacterial Cells

Coccus	Rod	Spiral	Square
 <p>Diplococcus</p>	 <p>Single</p>	 <p>Spirochete</p>	
 <p>Streptococcus</p>	 <p>Diiplobacillus (pair)</p>	 <p>Vibrio</p>	
 <p>Tetrad</p>	 <p>Streptobacillus (chain)</p>	 <p>Spiral</p>	
 <p>Staphylococcus</p>	 <p>Cocco-bacillus</p>		
 <p>Cuboidal packets (Sarcinae)</p>			

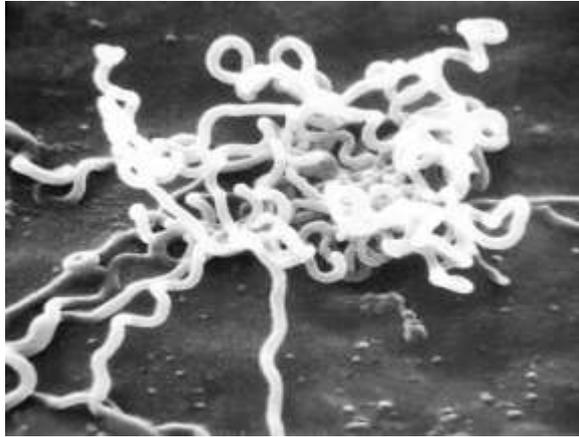
- bactéries de forme arrondies ou cocci, isolées, en chaînette, en amas (nombre variable de cellules) : Staphylocoques, Streptocoques



- bactéries de forme allongée ou bacille, isolée, en chaînette ou en amas, de longueur et de diamètre variables : E.coli, Salmonella, Bacillus



- bactéries de forme spiralée : spirilles, spirochètes, comme *Treponema*



[Treponema pallidum](#)



spirilles



spirochètes

- un groupe particulier de bactéries de forme filamenteuse se rapprochant des moisissures : les Actinomycètes.



## Taille :

- ➡ Les bactéries les plus petites ont une taille d'environ 0,2  $\mu\text{m}$  (Chlamydia).
- ➡ Les plus longues certains Spirochètes peuvent atteindre 250  $\mu\text{m}$  de long
- ➡ En moyenne la taille se situe entre 1 et 10  $\mu\text{m}$

## Associations cellulaires

- ➡ une espèce bactérienne peut apparaître sous forme de cellules isolées séparées ou en groupements selon les espèces
  - association par paires,
  - en amas réguliers,
  - en chaînette,
  - par quatre (tétrades)

## 2.3. La paroi

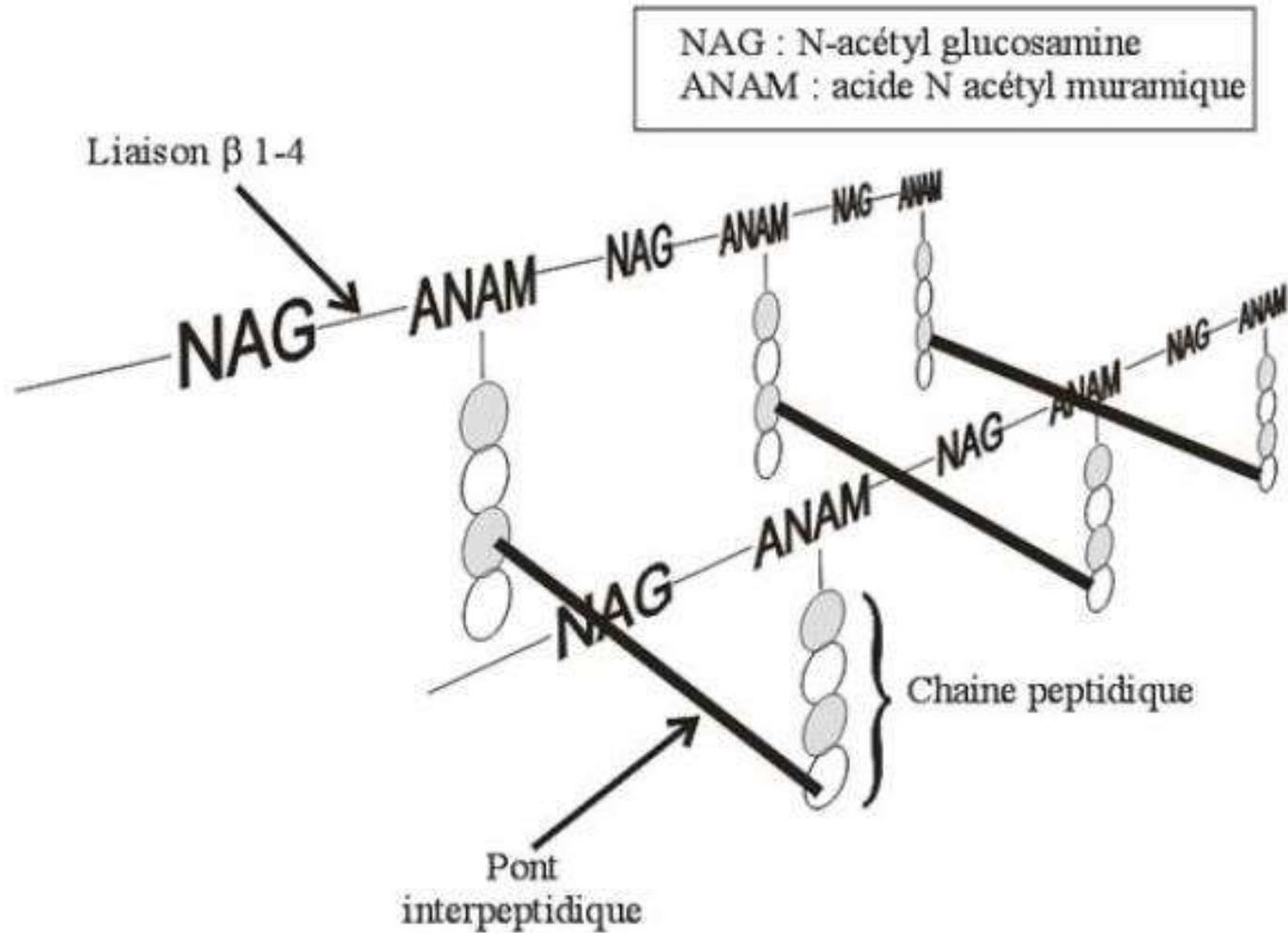
Enveloppe rigide assurant l'intégrité de la bactérie. Elle est responsable de la forme des cellules. Elle protège des variations de pression osmotique. Elle est absente chez les Mollicutes, (Mycoplasma).

### 2.3.1 - Composition chimique de la paroi

les parois des bactéries et des archaebactéries sont de composition différentes.

#### Bactéries

- Complexe macromoléculaire, appelé « **Peptidoglycane, muréine ou mucopeptide** »
- Autres constituants qui varient selon les espèces
  - le **lipopolysaccharide (LPS)**
  - les **acides teïchoïques et lipoteïchoïques**



# Le peptidoglycane.

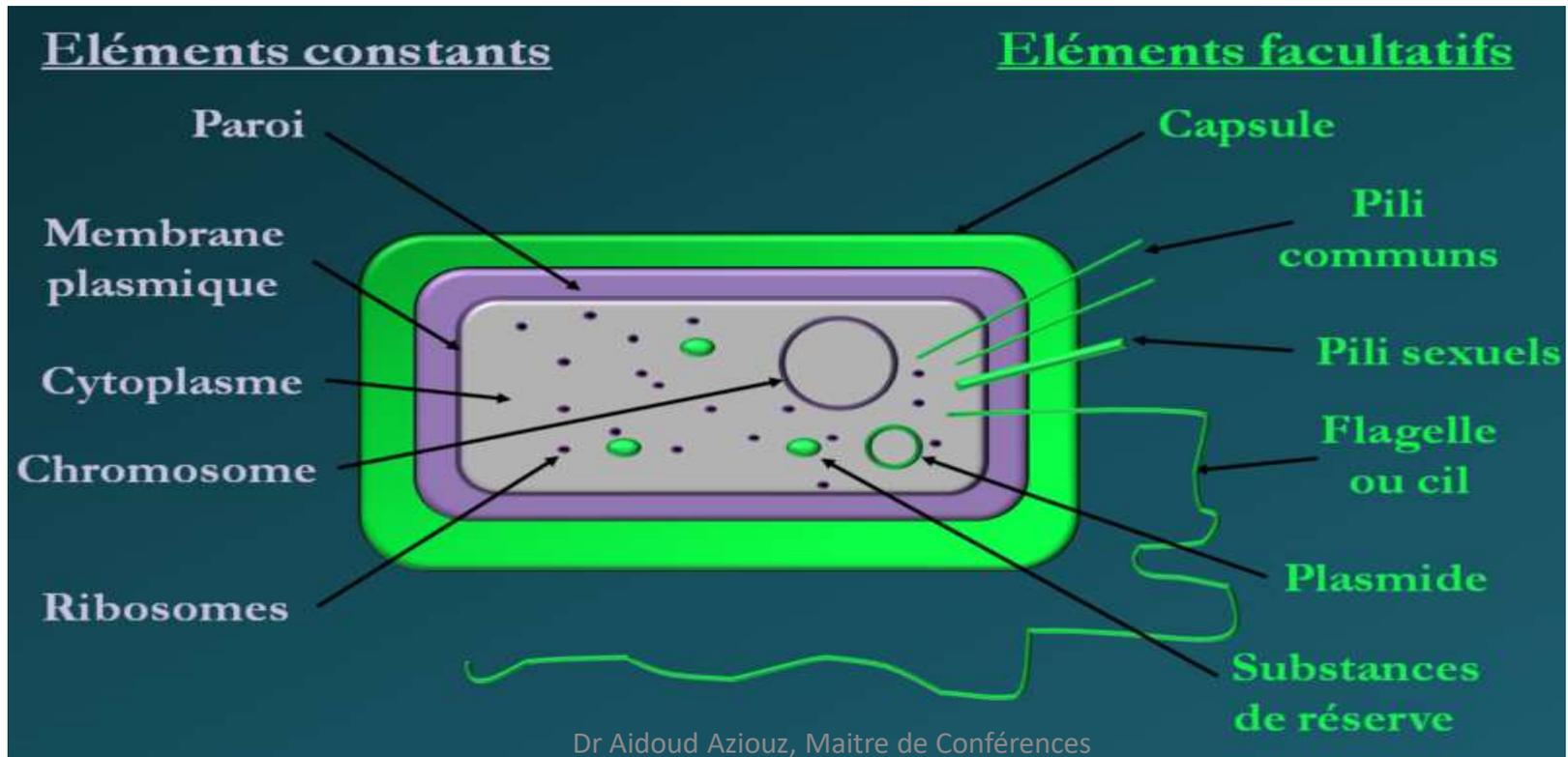
## Archaeobactéries

- leur paroi est dépourvue de peptidoglycane, qui est remplacé par une structure complexe, appelée « **pseudopeptidoglycane** »
  - dépourvu de l'acide N-acetyl muramique, remplacé par l'acide **N-acetyl talosaminuronique**
  - Il ne contient pas les acides aminés de la série D spécifique du peptidoglycane
- 

**Peptidoglycane** : C'est un composé macromoléculaire de composition chimique complexe et de structure régulière et répétitive.

## Eléments constants et inconstants de la structure bactérienne

- ➡ Certaines structures sont présentes chez toutes les bactéries, ce sont les éléments « **constants** »
- ➡ d'autres sont retrouvés seulement chez certaines bactéries : ce sont les éléments « **inconstants** » ou « **facultatifs** ».



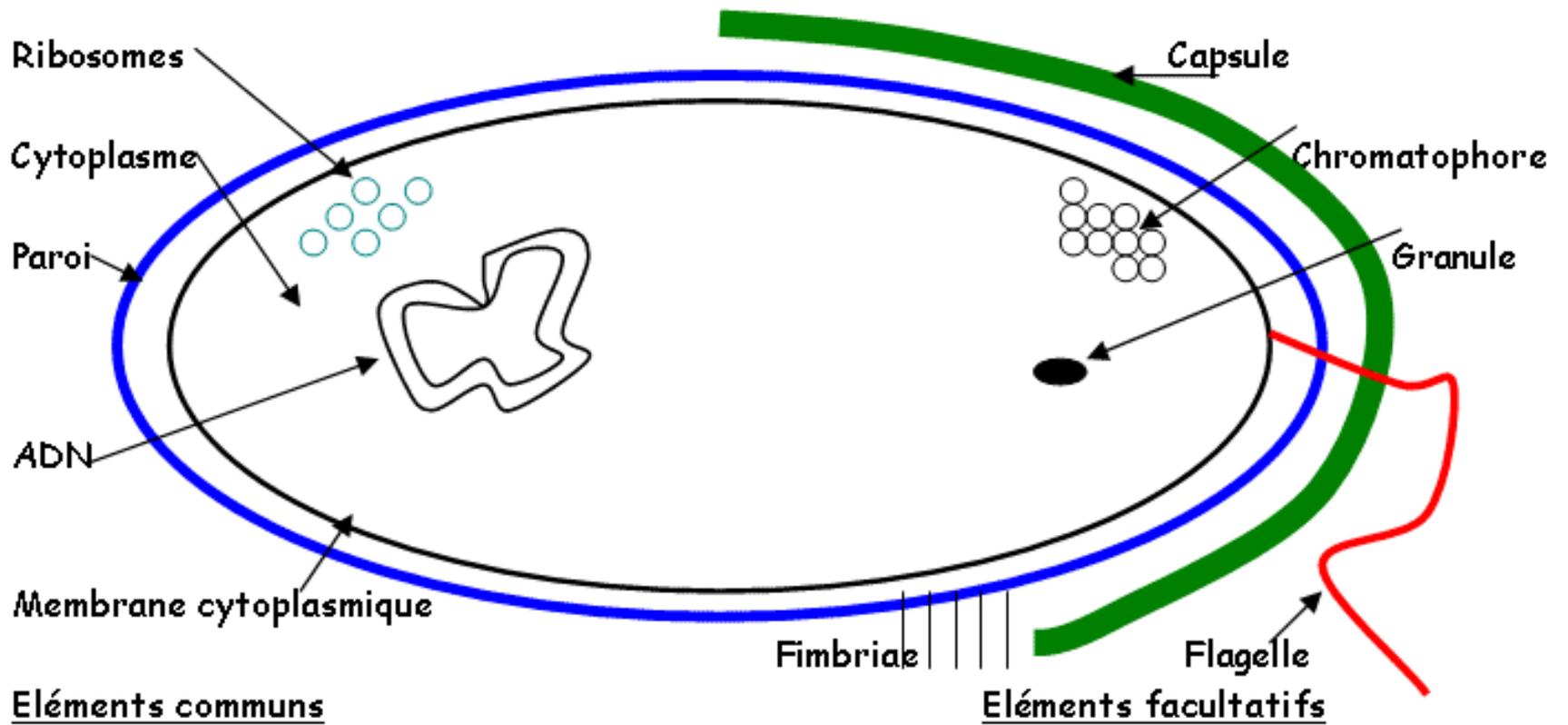
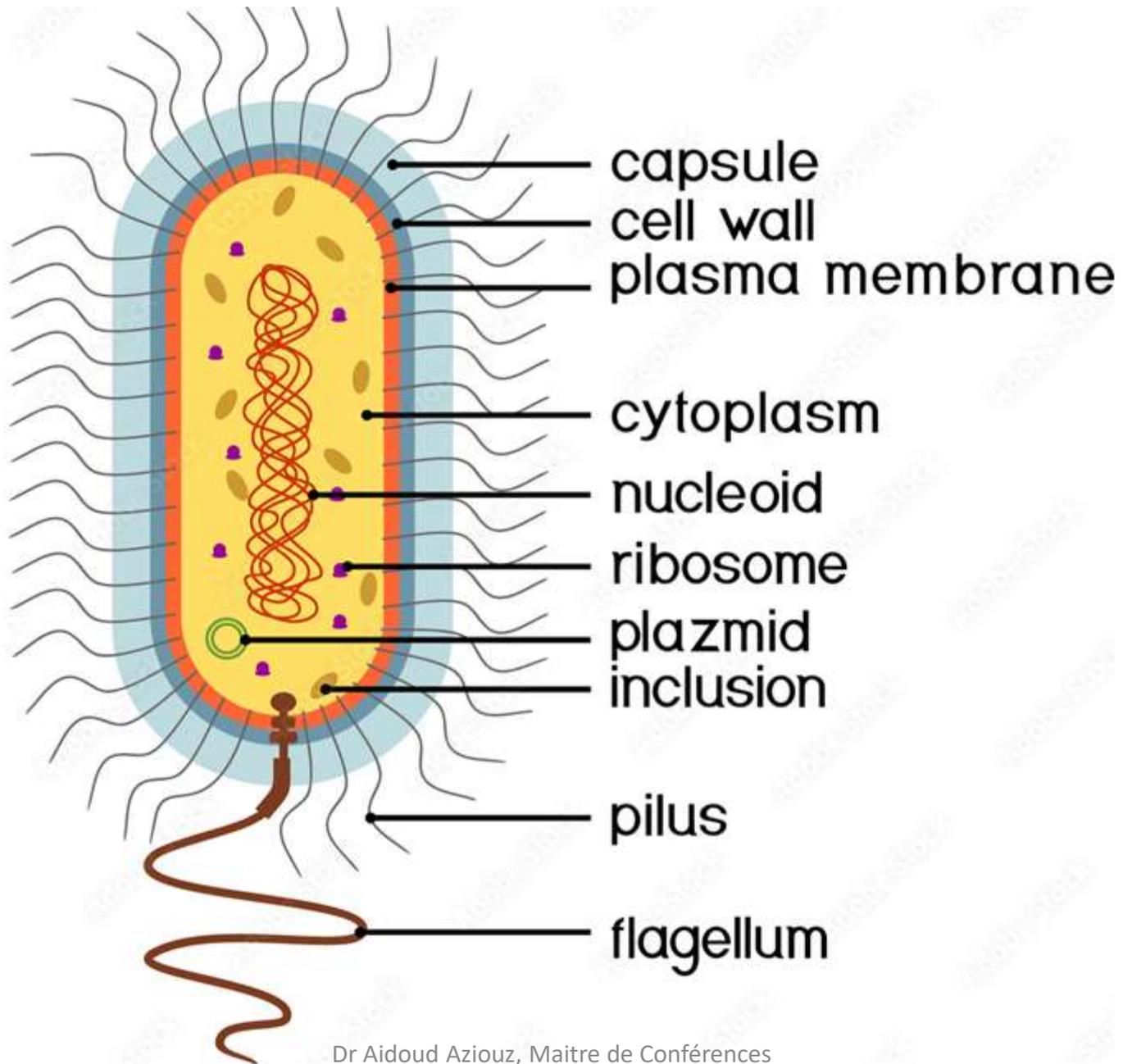
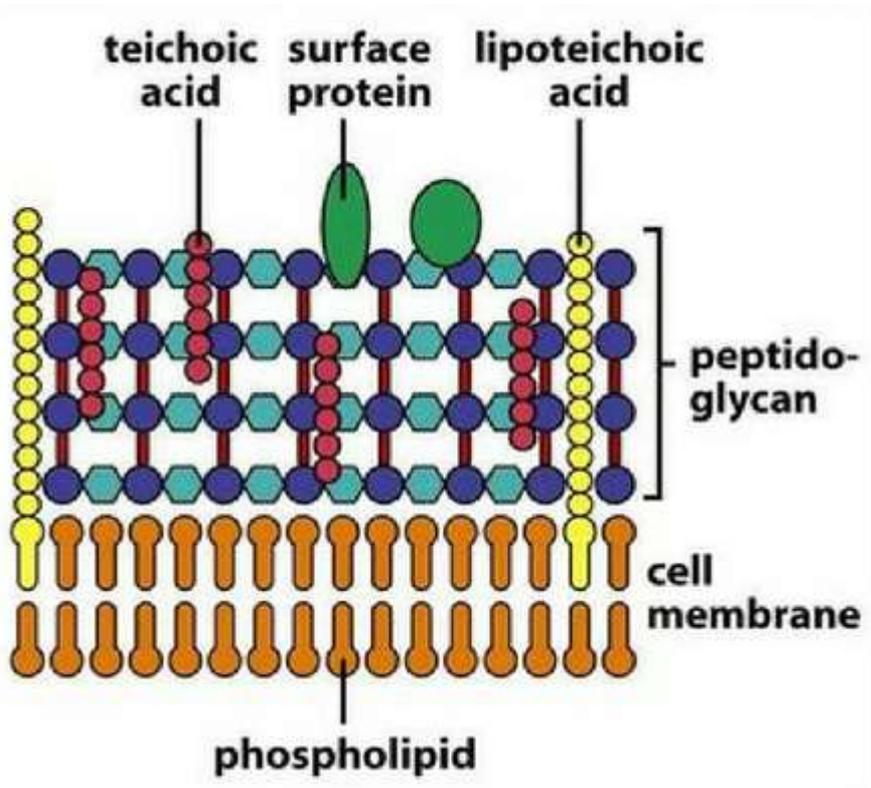


Schéma d'une cellule bactérienne

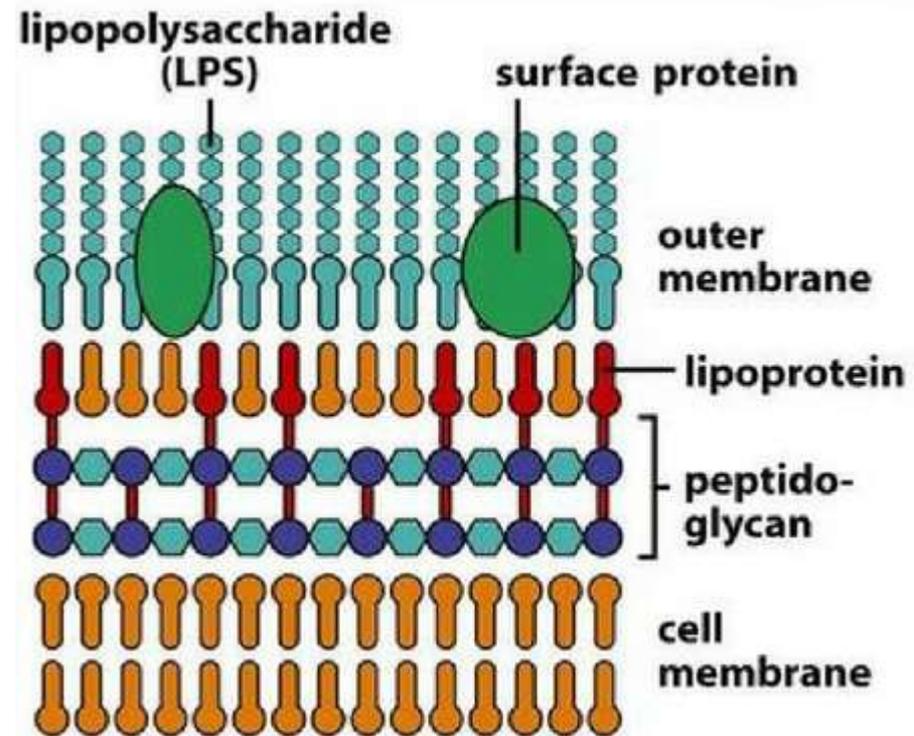


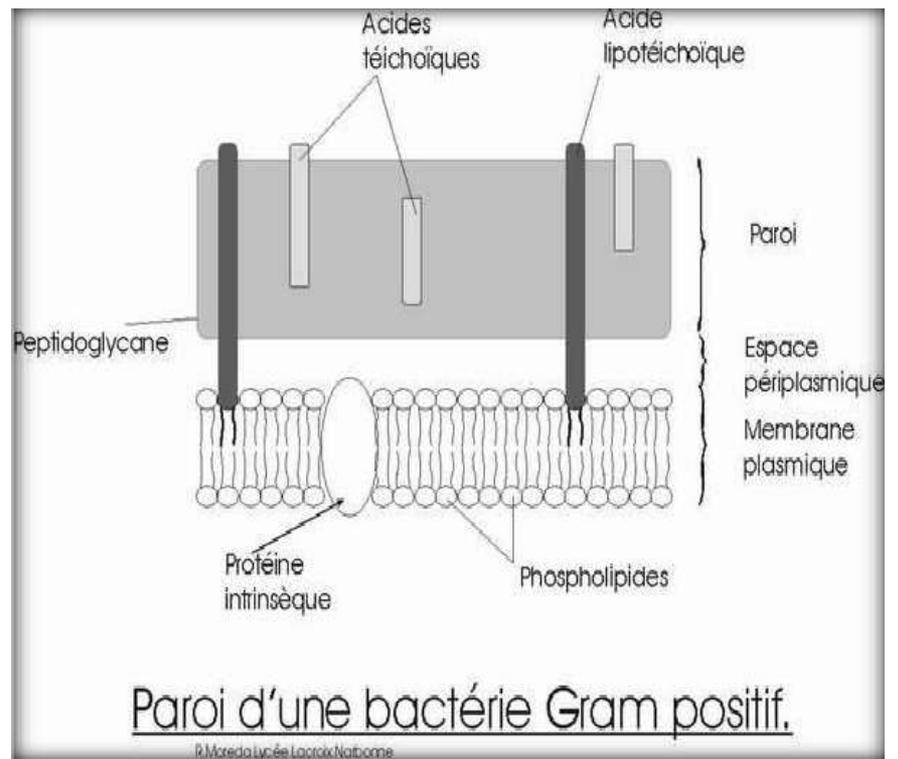
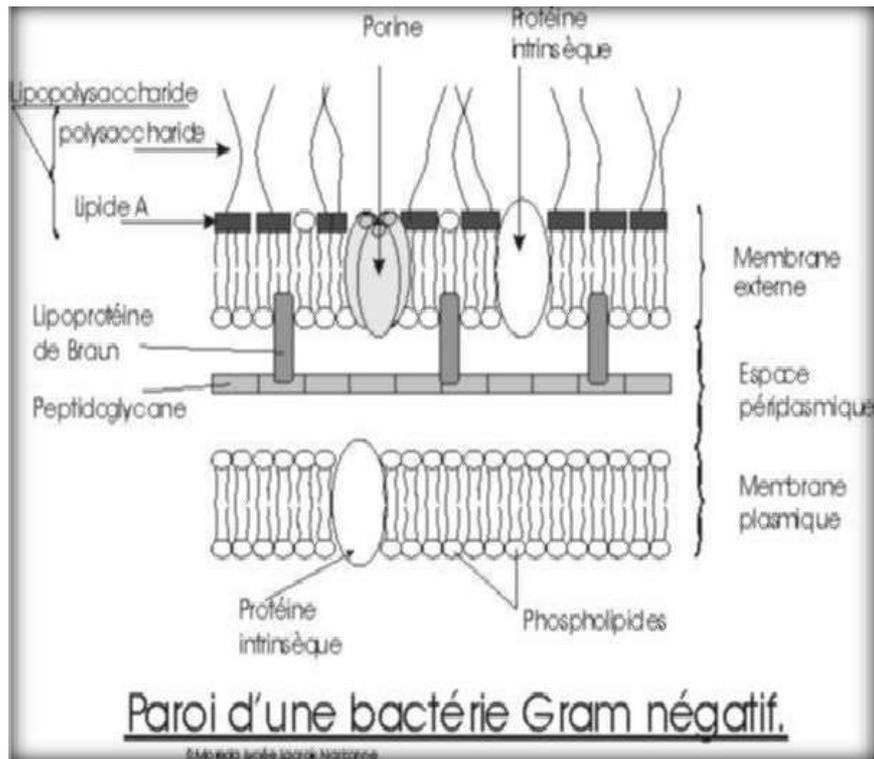
## 2.3.2. Structure moléculaire

### Gram positive bacteria



### Gram negative bacteria





## Paroi des Gram positifs

- Le peptidoglycane est le constituant majeur (90%)
- Le reste correspond à un feutrage d'acides téchoïques (10%)
- Le peptidoglycane est très solide, les liaisons croisées entre chaînes glucidiques sont nombreuses.
- Présence de flagelles

## Paroi des Gram -

- Beaucoup plus complexe, elle est constituée du peptidoglycane et de la membrane externe. Il y a plusieurs couches :
- Peptidoglycane en couche mince.
- Phospholipides
- Lipopolysaccharides (LPS)

- **Le lipide (A)** couplé à la glucosamine et à des résidus phosphore qui est **amphiphile**, possédant une partie hydrophobe et une hydrophile.

Il y a analogie entre les appellations « endotoxine », « lipide A » et « membrane externe »

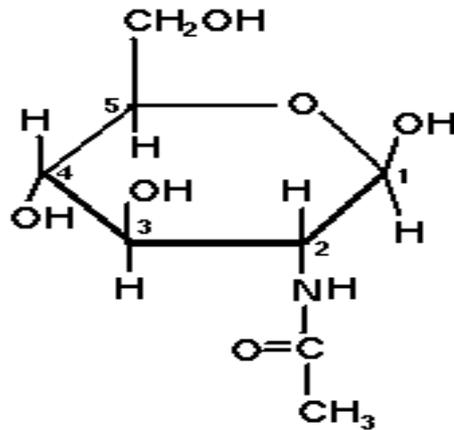
- **Le polysaccharide** central, constitué de 10 sucres

- **La chaîne latérale O, ou antigène O**, chaîne courte, sa composition varie selon la souche bactérienne

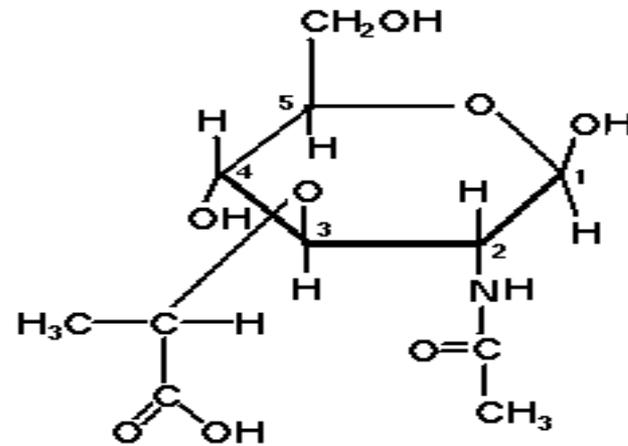
## 2.3.3 - Fonctions de la paroi

Afin d'étudier les rôles de la paroi, on utilise un enzyme, le **lysozyme**.

Le lysozyme coupe les liaisons 1-4 glycosidiques entre le **NAG** et l'**ANAM**.



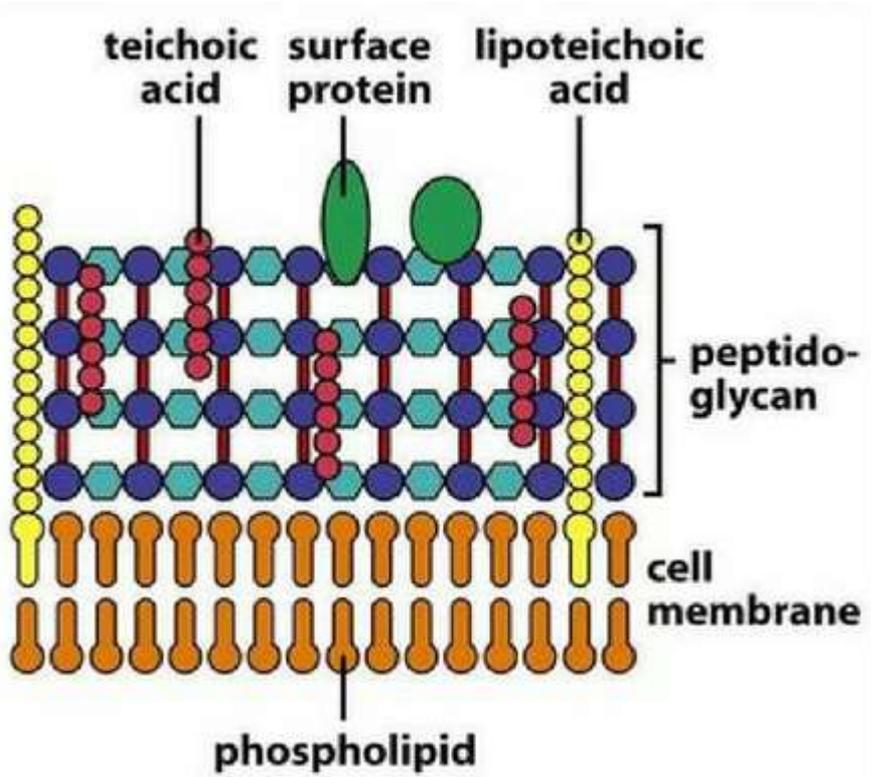
*N*-acetylglucosamine (NAG)



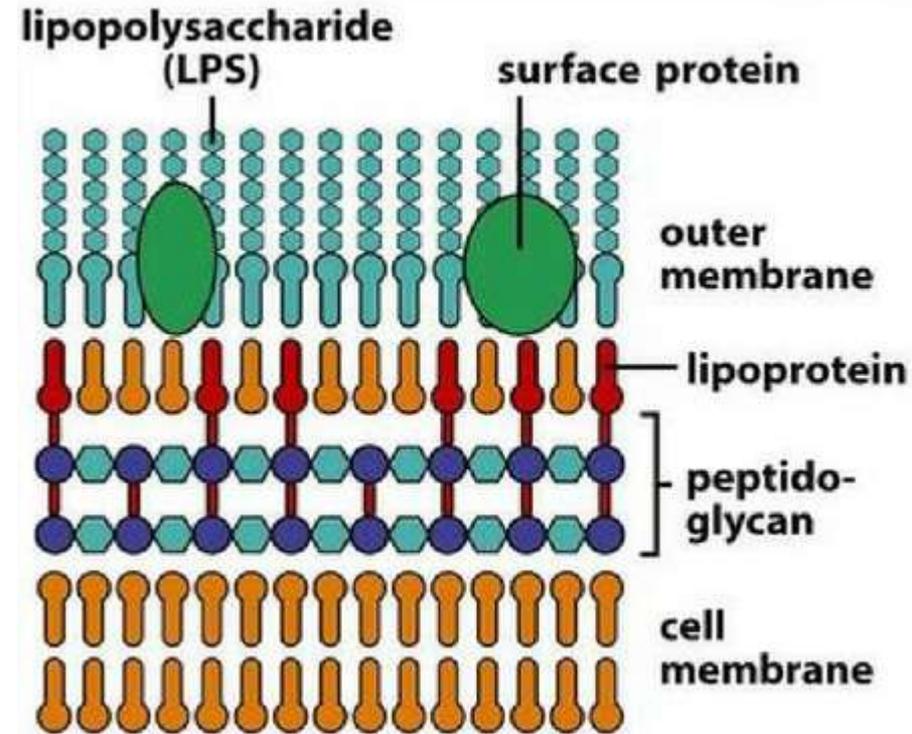
*N*-acetylmuramic acid (NAM)

➤ Destruction totale du peptidoglycane chez les bactéries Gram(+),

## Gram positive bacteria



## Gram negative bacteria



➤ fragmentation du peptidoglycane chez les Gram(-) car le peptidoglycane est moins accessible à cause de la membrane externe.

## **Solution isotonique,**

solution qui a une pression osmotique égale à celle du plasma sanguin

**Solution hypotonique** est faible en tonicité. Elle présente une concentration de sel et de sucres inférieure à celle du sang, et est donc absorbée à un rythme plus rapide

# Expérience :

1. On place une souche de *Bacillus subtilis* (bacille Gram+) en milieu hypotonique : la bactérie se comporte normalement.
2. Si on ajoute du lysozyme à cette suspension, les bactéries gonflent et éclatent.
3. la même expérience en milieu isotonique, les bactéries n'éclatent pas en présence de lysozyme, mais elles prennent une forme sphérique appelée : **PROTOPLASTE**..

Les protoplastes ne possèdent plus les propriétés antigéniques de la bactérie, ne se divisent plus, ne fixent plus les bactériophages et sont incapables de mobilité

4. On fait la même expérience avec *Escherichia coli* (bacille Gram-) : en **milieu isotonique + lysozyme**, les bactéries prennent une forme sphérique appelée : **SPHEROPLASTE**.

Les sphéroplastes conservent toutes les propriétés initiales de la bactérie.

**Rôle 1 de la paroi** : assurer le maintien de la forme de la bactérie

**Rôle 2 de la paroi** : assurer une protection contre la pression osmotique intracellulaire (car forte concentration en métabolites à l'intérieur de la cellule >> l'eau rentre).

Un protoplaste ne possède plus les propriétés antigéniques de la bactérie d'origine

Les antigènes pariétaux (de la paroi) :

- Chez les Gram (+) sont : (peptidoglycane + acides téchoïques et lipotéchoïques + polysaccharide C (Streptocoques).

- Chez les Gram (-) : les antigènes O du LPS.

**Rôle 3 de la paroi** : propriétés antigéniques

L'étude des protoplastes met également en évidence d'autres rôles :

**Rôle 4 de la paroi** : la fixation des bactériophages.

Ils reconnaissent des récepteurs localisés sur le peptidoglycane des Gram(+) ou la membrane externe des Gram(-).

Cette propriété est utilisée pour l'identification de certaines bactéries : c'est la Lysotypie.

**Rôle 5 de la paroi**: participer à la mobilité.

les flagelles sont implantés dans la membrane cytoplasmique mais ne peuvent pas fonctionner en absence de peptidoglycane (d'où immobilité des protoplastes).

**Rôle 6 de la paroi** : toxicité. Chez les Gram(-),

le LPS est une endotoxine (effet toxique porté par le lipide A) qui peut donner fièvres et lésions.

## Rôle 7 de la paroi : 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. cf. coloration de Gram

**L'espace péri plasmique** : Contient des enzymes qui participent à la nutrition (hydrolases) et des protéines qui sont impliquées dans le transport de molécules à l'intérieur de la cellule.

Les Gram (+) excrètent plutôt les enzymes hors de la cellule. Ce sont alors des « exo enzymes ». Celles des Gram - sont retenues entre les membranes Interne et Externe.

## Coloration de Gram

elle est fondée sur l'action successive d'un colorant, le cristal violet, d'iode puis d'un mélange d'alcool et d'acétone

Christian Gram (1853-1938) a été l'inventeur de la coloration en 1884



Son intérêt est de donner une information rapide et médicalement importante, car le pouvoir pathogène et la sensibilité aux antibiotiques sont radicalement différents.

# Coloration en 4 étapes :

1. coloration par le violet de gentiane ;
2. mordantage avec du Lugol (solution d'iode iodo-iodurée) ;
3. décoloration par l'alcool
4. coloration par la safranine

**Etapes 1 et 2** = coloration en violet du contenu de la bactérie et fixation par le Lugol des structures internes

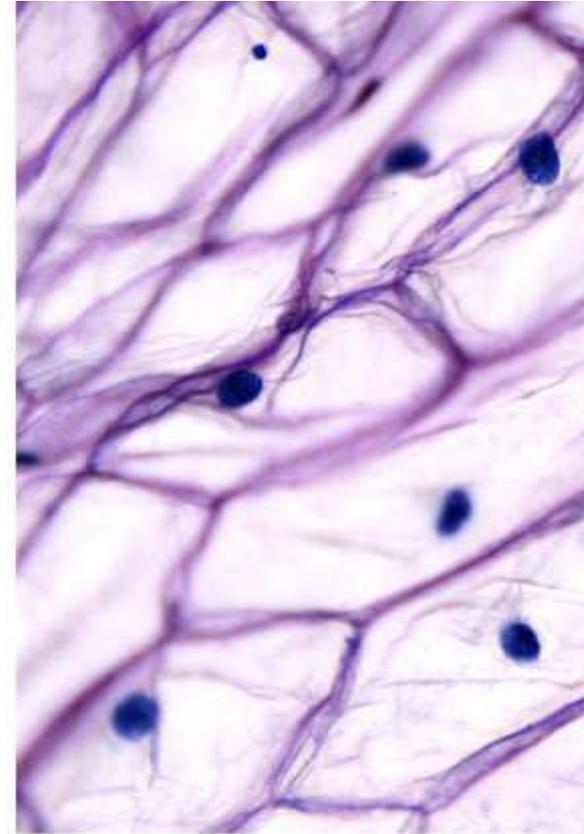
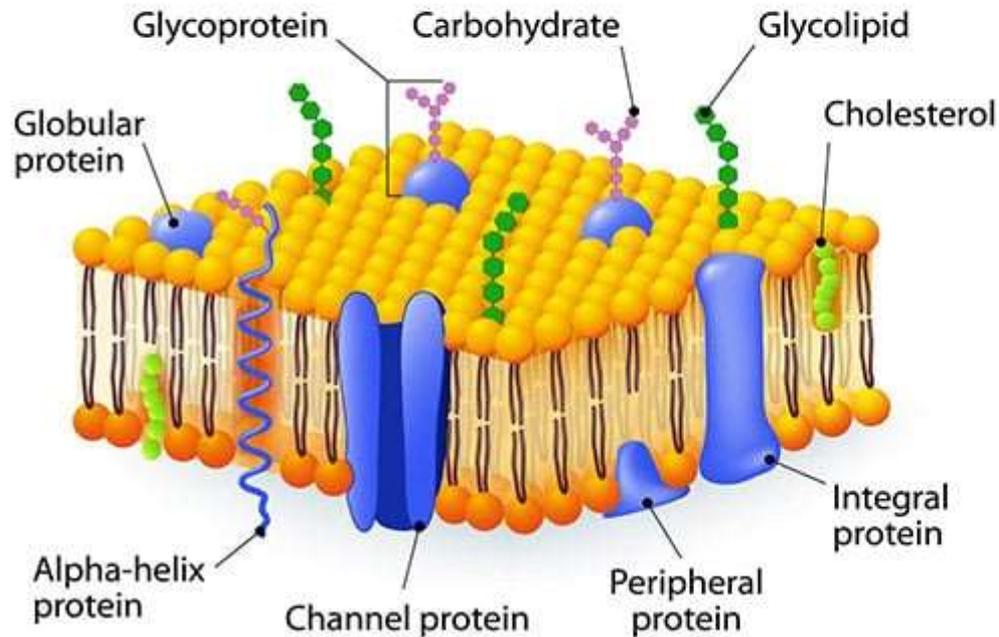
**Etape 4** = contre-coloration par la safranine teintant en rose les bactéries précédemment décolorées

**Etape 3** = décoloration du cytoplasme des bactéries ayant une paroi pauvre en peptidoglycane qui laisse passer l'alcool pour éliminer le violet de gentiane = bactérie à Gram négatif

## 2.4. La membrane plasmique Cell membrane

### Composition Chimique

#### CELL MEMBRANE



# Structure de la membrane cytoplasmique bactérienne

bicouche phospholipidique  
Glucides (---)

60 -70 % protéines

30 - 40 % lipides

Enzymes de la chaîne respiratoire

Déshydrogénases

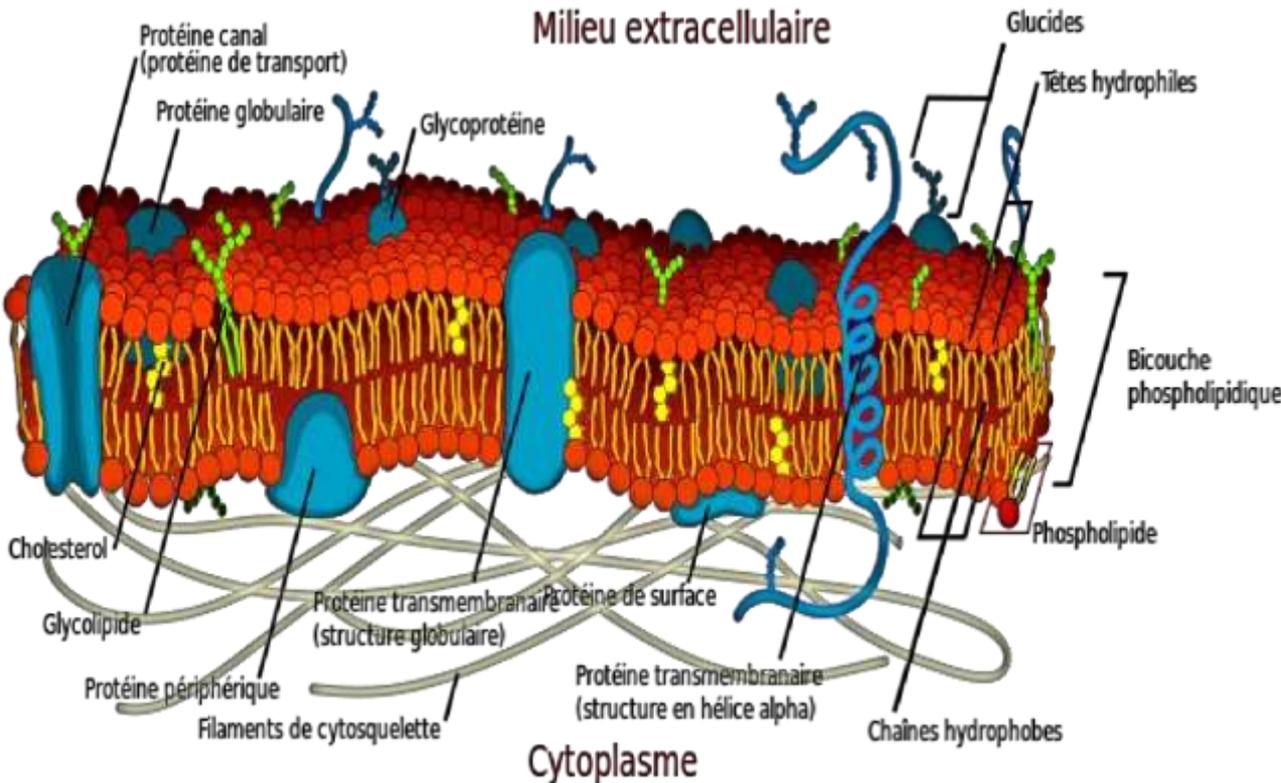
Coenzymes associés

NAD<sup>+</sup>, FAD, cytochromes, cytochrome oxydase

Enzymes impliquées dans la synthèse des lipides et dans la réplication de l'ADN y sont localisées

Dr Aliouf Azibuz, Maître de Conférences des Universités 'A'

Flavin adenin dinucléotide  
nicotinamide adénine dinucléotide 60



## Fonctions de la membrane plasmique

### a) rôle de barrière semi-perméable (ou semi sélective)

Elle permet le passage de molécules lipophiles et empêche le passage des molécules hydrophiles

### b) Site de fixation des flagelles

### c) Possède des protéines membranaires ayant pour rôles :

**Enzymes responsables de la biosynthèse** et de l'excrétion dans l'espace péri plasmique de molécules nécessaires à la synthèse de la paroi

**Enzymes de la chaîne respiratoire** permettant la synthèse d'ATP et celles de la photosynthèse

**transporteurs** de diverses molécules (ions, sucres, ...) dans les 2 sens

### d) **Détection** des signaux et de composés présents dans le milieu environnant grâce à la présence de protéines transmembranaires du chimiotactisme..

bactéries dotées de flagelles, de nager vers les endroits les plus riches en nutriments, ou bien, de s'éloigner des endroits défavorables comme ceux qui contiennent des substances toxiques

## 2.5. Le cytoplasme

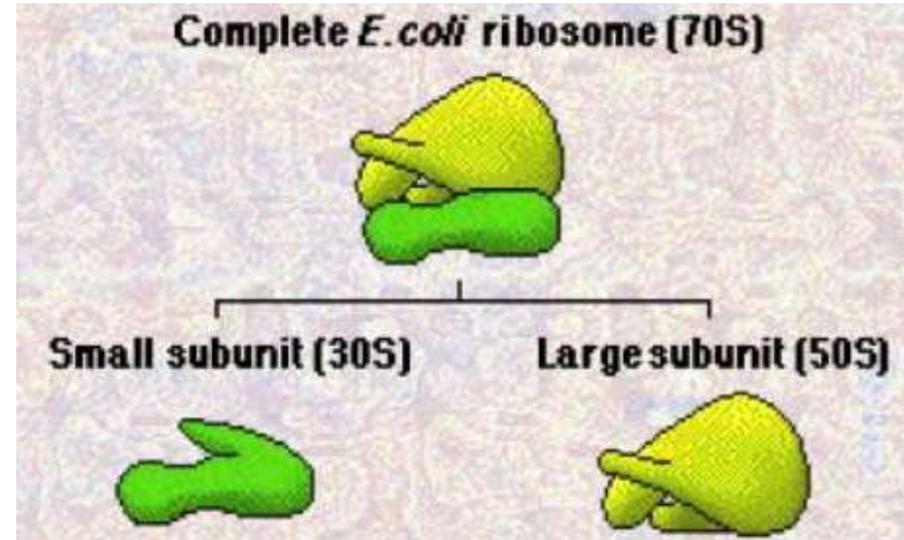
### Cytoplasm

- Délimité par la membrane cytoplasmique
- Hydrogel colloïdal
- Son pH situé entre 7 et 7,2
- Dépourvu de mitochondries et de chloroplastes
- comporte en suspension :
  - le matériel génétique (chromosome et plasmides)
  - des ribosomes
  - des granules de réserve
  - des ions
  - des métabolites organiques
  - des enzymes
  - des glucides
  - des lipides
  - Autres composés solubles
- le lieu de la plupart des réactions métaboliques cellulaires notamment: la glycolyse et les voies de biosynthèse et de dégradation des macromolécules.

# Les ribosomes

les cellules bactériennes peuvent contenir de 5000 à 50000 ribosomes  
des particules sphériques de 18 nm de diamètre

Les ribosomes forment la structure cellulaire de synthèse des protéines suite à la traduction de l'ARNm et l'union des acides aminés les uns aux autres



Eucaryotic 80S (40S + 60S)

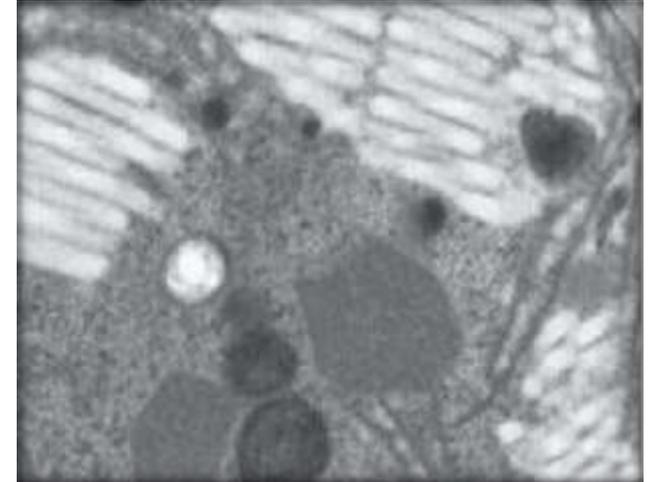
Ils sont constitués d'ARN et de protéines. Les ribosomes bactériens comprennent deux sous-unités (30S, 50S)

Les ribosomes restent associés entre eux par l'ARNm et forment des structures en chapelet appelées polysomes

# Les substances de réserve = inclusions cytoplasmiques

➤ chaque groupe de bactéries synthétise une seule catégorie de substances de réserve qui forment des agrégats, parfois de grande taille

- Les glucides (amidon et glycogène)
- Les lipides (poly- hydroxy-butyrates)
- Le polyphosphate
- Parfois des minéraux (fer, soufre)



Vacuoles à gaz de cyanobactéries au microscope électronique

- Des organites spécialisés : On trouve des chromatophores (organites spécialisés dans la photosynthèse), des vacuoles à gaz (permettant aux bactéries aquatiques de flotter à la surface de l'eau)

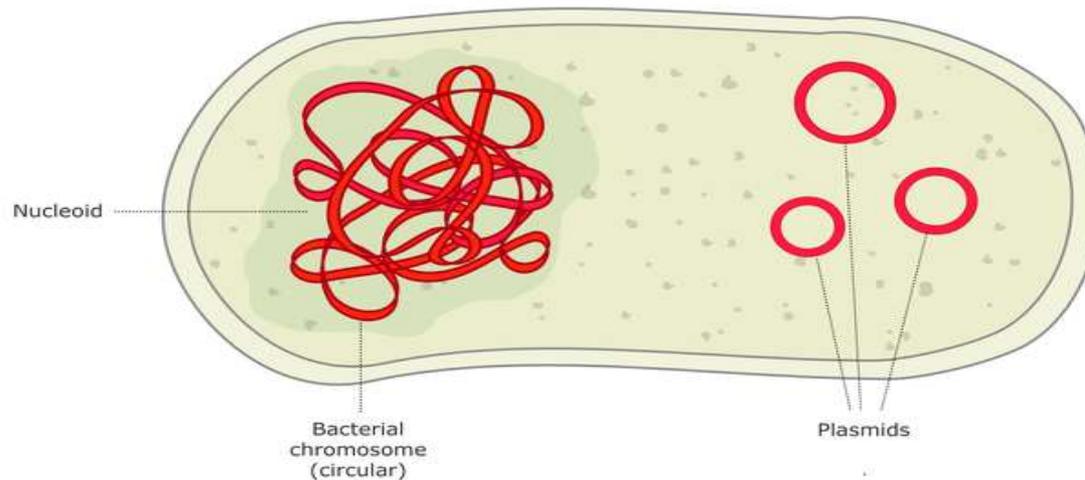
## 2.6. Le chromosome

### Morphologie:

- La majorité des bactéries possèdent un chromosome unique, circulaire. Par contre, *Vibrio cholerae* en possède deux, un grand de 2,9 millions de bases et un petit de 1 million de bases
- *Escherichia coli* est empaqueté et se trouve dans une région qu'on appelle **nucléoïde** ou **corps nucléaire**. Il mesure 1400  $\mu\text{m}$  et 300  $\text{\AA}$  d'épaisseur
- La morphologie des corps observés est variable selon la phase de croissance et de division de la bactérie

- Chez les **cocci**, on observe une petite masse sphérique ou ovoïde, souvent centrale
- Chez les bacilles, un bâtonnet situés transversalement dans la cellule

## Composition



- L'ADN ou **acide désoxyribonucléique** est un polymère de PM élevé, composé d'unités appelées **nucléotides**

**Nucléotide** : « Groupement phosphoré + sucre à 5 atomes + une base purique ou pyrimidique »

- **Bases puriques** : Adénine A et Guanine G Bases
- **pyrimidiques** : Cytosine C et Thymines T Le sucre : Désoxyribose
- **Le groupement phosphoré** : est un phosphate diester en 3' et 5' du désoxyribose

Il y a autant de « A que de T » et autant de « C que G » par contre 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

25 à 45% chez Clostridium

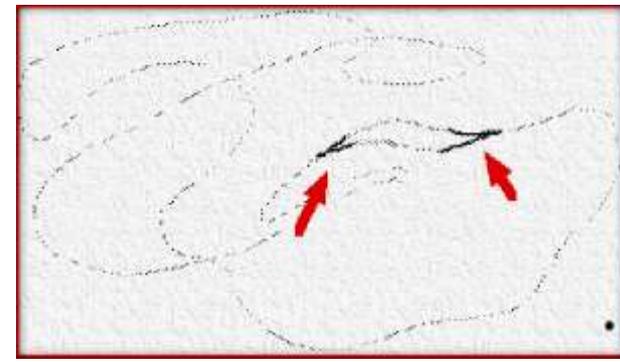
# Réplication Chimique

L'ADN se réplique, c'est-à-dire qu'il se reproduit lui-même.

**La réplication est semi-conservative :**

Chaque chaîne parentale reste associée à la nouvelle chaîne pour qui elle sert de matrice

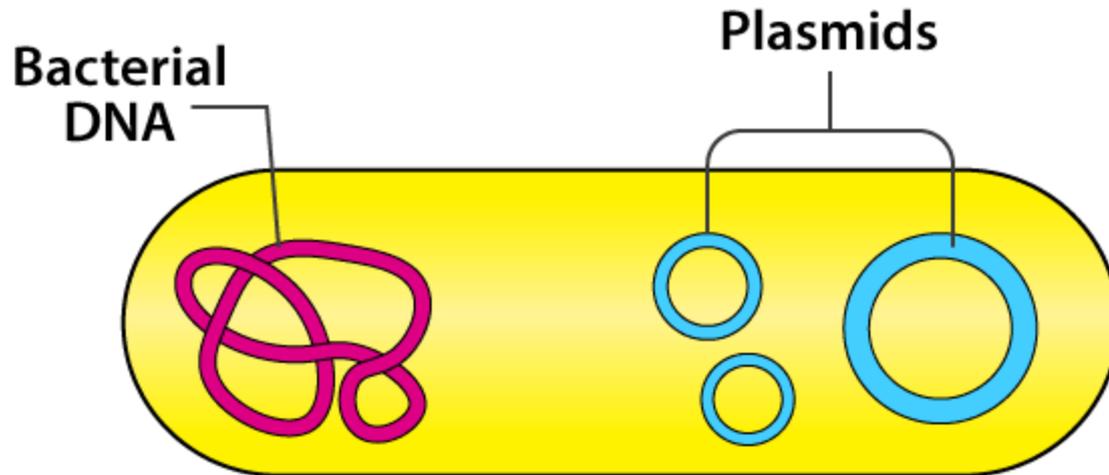
La réplication est bidirectionnelle



chromosome entier  
*d'E.coli* en cours de réplication

## 2.7. Les Plasmides

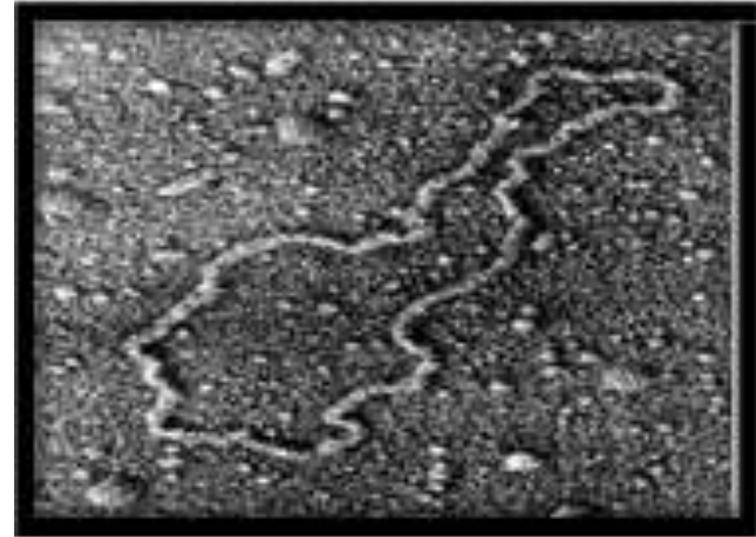
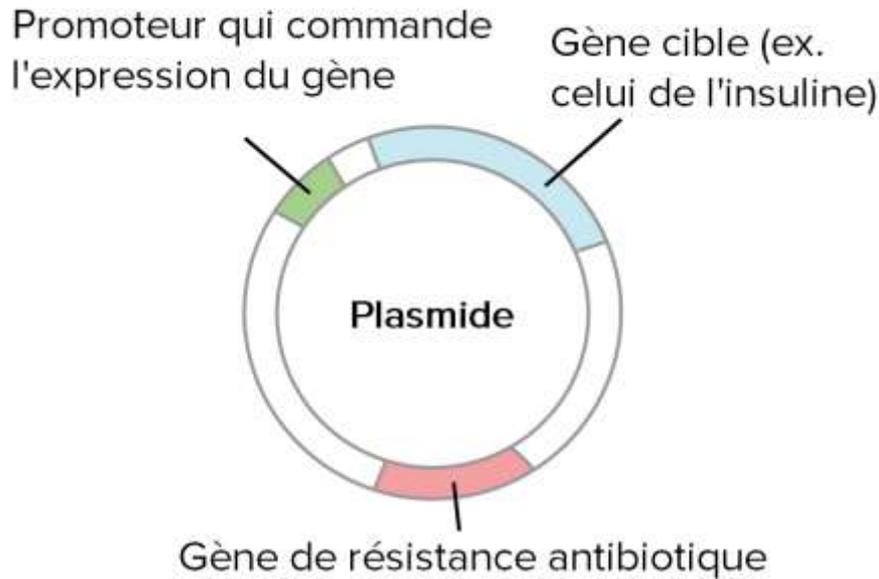
Les plasmides sont des petits fragments d'ADN circulaire présents dans la cellule bactérienne et indépendants du génome bactérien.



Les plasmides permettent à la bactérie une meilleure adaptation à son environnement

# Structure des plasmides

Ce sont des molécules d'ADN bicaténaire, généralement circulaires, mais il en existe des linéaires



commercial Plasmide au microscope électronique

- Parfois ils s'intègrent dans le chromosome et on les appelle des **épisomes**.
- La perte d'un plasmide est dite **curage**

Les plasmides sont généralement de petite taille, (1 kb à 400 kb),  
1/100 du chromosome bactérien

Ils portent très peu de gènes, moins de 30. On classe les plasmides selon leur fonction et leur propagation

**Kilobase** : Unité correspondant à 1 000 bases d'un acide nucléique monocaténaire ; par extension, unité correspondant à 1 000 paires de bases d'ADN bicaténaire

## Plasmides conjugatifs

qui portent le gène responsable de la synthèse des pili sexuels, nécessaires à la conjugaison

## Plasmides R

(facteurs de résistances) : ils permettent aux bactéries de résister aux antibiotiques

## Des plasmides Col

qui codent pour des protéines dites bactériocines, telle que la colicine d'E.coli. Les bactériocines donnent un avantage à la bactérie en tuant des souches très proches systématiquement parlant d'E.coli

## Plasmides de virulence

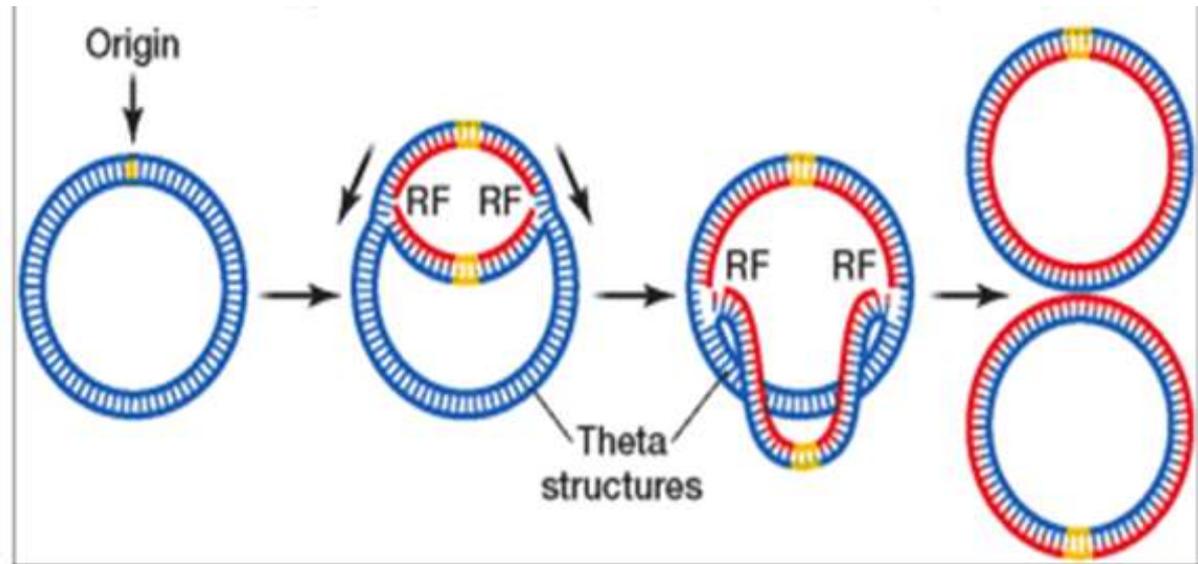
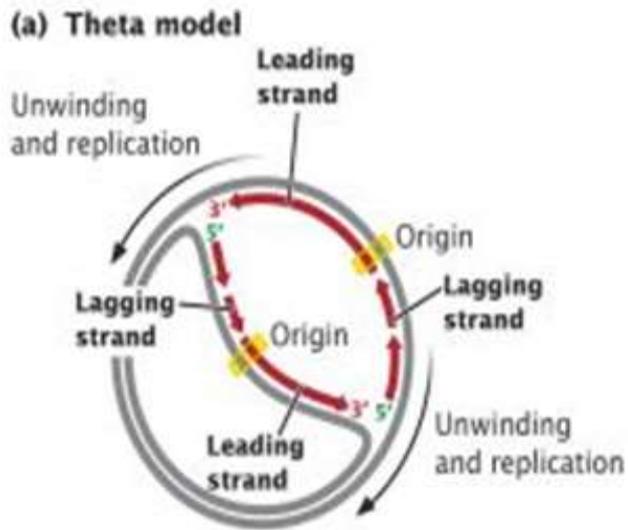
qui codent pour des **toxines** responsables des symptômes causés par des bactéries pathogènes

## Plasmides métaboliques

qui codent pour des enzymes capables de cataboliser des molécules complexes, aromatiques qui polluent notre environnement (pesticides) ou bien des nutriments comme le lactose, citrate de Na, urée.

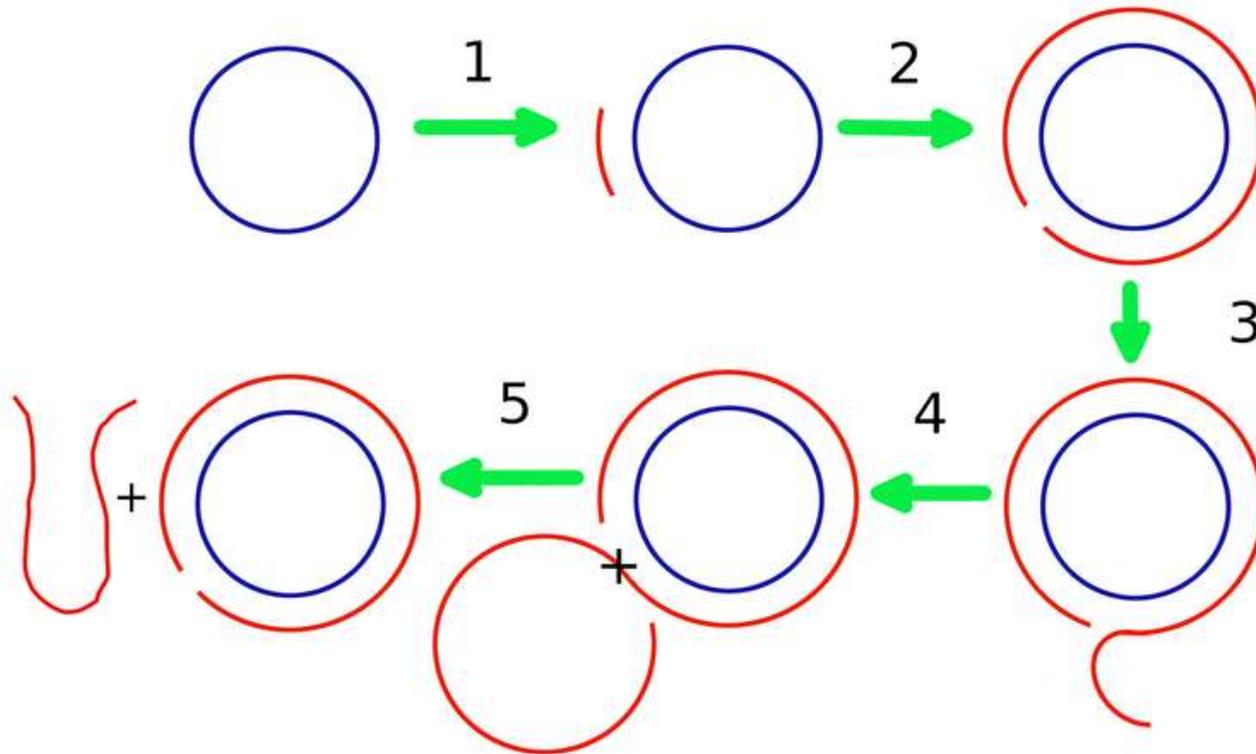
# Réplication

La réplication de type Thêta  $\theta$ , uni ou bidirectionnelle, à partir d'une origine de réplication en utilisant l'équipement enzymatique de la bactérie hôte



## Une répliation de type « Rolling circle » ou cercle déroulant.

Un brin est coupé par une nucléase. Ce brin va se dérouler autour de l'autre brin dans le sens 5'P et la bactérie va synthétiser un brin complémentaire simultanément aux deux brins parents



Schematic diagram of the rolling circle replication

# Propriétés

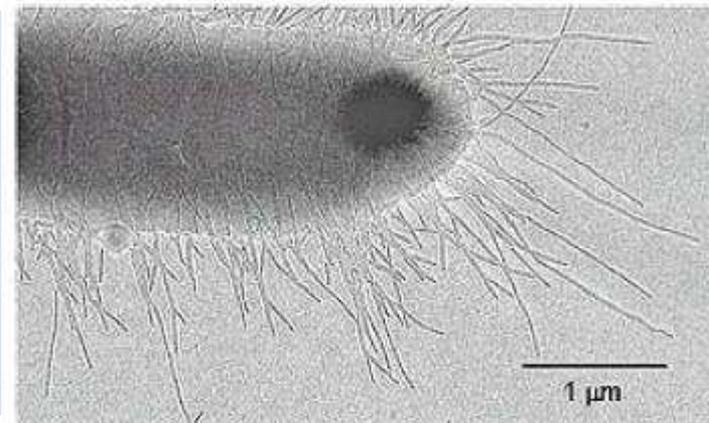
- a. **Résistance aux antibiotiques** (90% plasmidique) les 10% restant (chromosomique).
- b. **Résistance aux métaux lourds** (mercure, sels de cadmium, bismuth, de plomb, d'antimoine et arsénites)
- c. **Production de substances à rôle pathogène**. L'exemple le plus étudié est rencontré chez les *Escherichia coli*, responsables de diarrhées
- d. **Le pouvoir pathogène** dans les 3 cas est contrôlé par une information génétique portée par un plasmide, codant pour des **entérotoxines** et des **facteurs de colonisation** permettant l'attachement des bactéries à la surface de l'intestin (épithélium intestinal).
- e. **Production de bactériocines**
- f. **Caractères métaboliques** : un grand nombre de caractères biochimiques des bactéries sont d'origines plasmidiques

## 2.8. Pili

Appendices de surface plus fins que les flagelles que l'on trouve fréquemment chez les bactéries à Gram négatif et rarement chez les bactéries à Gram positif

### Les pili communs (ou fimbriae):

Courts et cassants, très nombreux (parfois quelques centaines par bactérie), de 2 à 3  $\mu\text{m}$  de long, disposés régulièrement à la surface de la bactérie



Ils jouent un rôle dans l'agglutination des bactéries et leur attachement aux muqueuses

## Les pili sexuels

Plus longs que les pili communs (jusqu'à 20  $\mu\text{m}$ ) mais en nombre plus restreint (1 à 4).

Ils sont codés par des gènes plasmidiques (le prototype = facteur F).

Ils existent uniquement chez les bactéries mâles (donatrices).

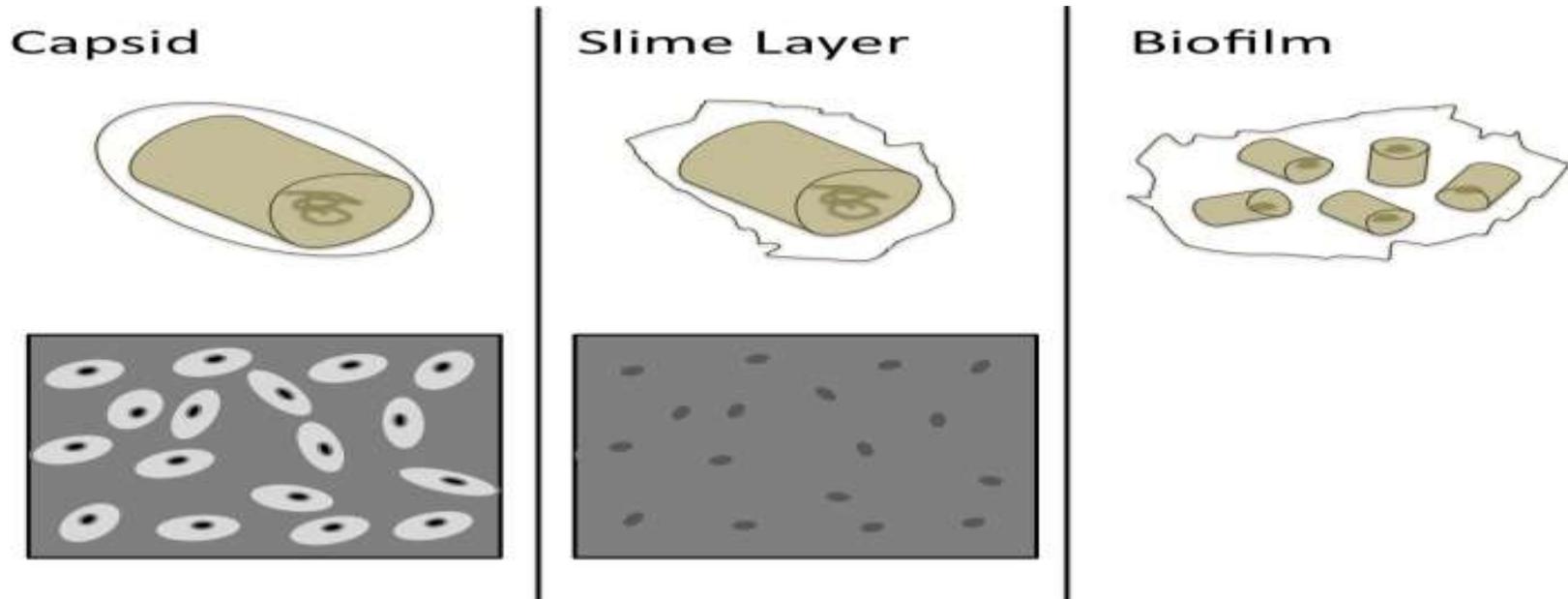
Ils jouent un rôle essentiel dans l'attachement des bactéries entre elles au cours de la conjugaison.

Ils peuvent aussi servir de support de fixation pour certains bactériophages.



## 2.9. Capsule

constituant facultatif rencontré chez certaines espèces bactériennes (ex.: *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*)



la formation la plus superficielle. Sa mise en évidence s'effectue par coloration négative (encre de Chine); la capsule apparaît alors en clair sur fond noir. On peut aussi l'observer par la coloration de Gram.

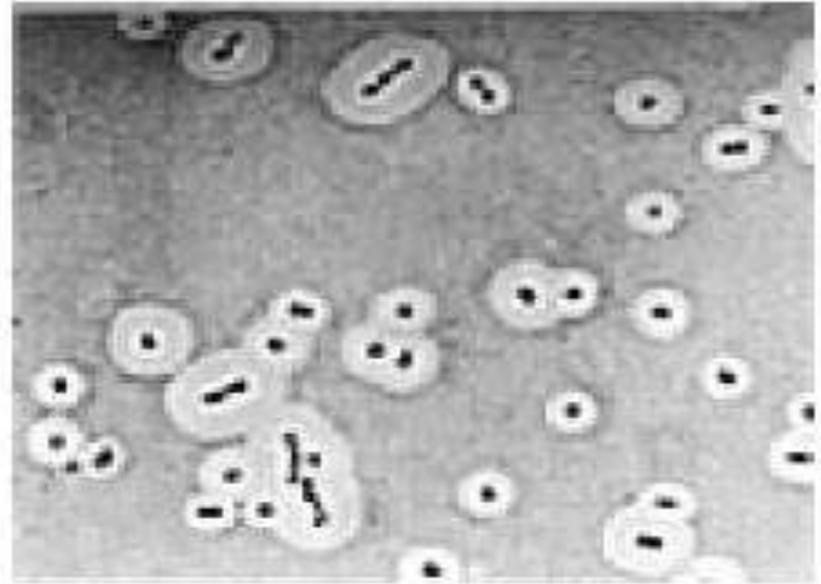
La capsule est généralement de nature **polysaccharidique** et rarement **polypeptidique**

Les bactéries capsulées, après développement sur milieu gélosé, donnent des colonies lisses (appelées "S" pour "Smooth") ou **muqueuses**

Les bactéries non capsulées donnent des colonies rugueuses (dites "R" pour "Rough") (bactéries ayant perdu la capacité de synthèse de la capsule suite à une mutation).

La capsule joue un rôle important non seulement dans l'attachement des bactéries mais aussi dans leur virulence en les **protégeant contre la phagocytose.**

Les cellules non capsulées sont **avirulentes**



**Streptocoques avec capsule (coloration à l'encre de Chine)**

# Composition chimique

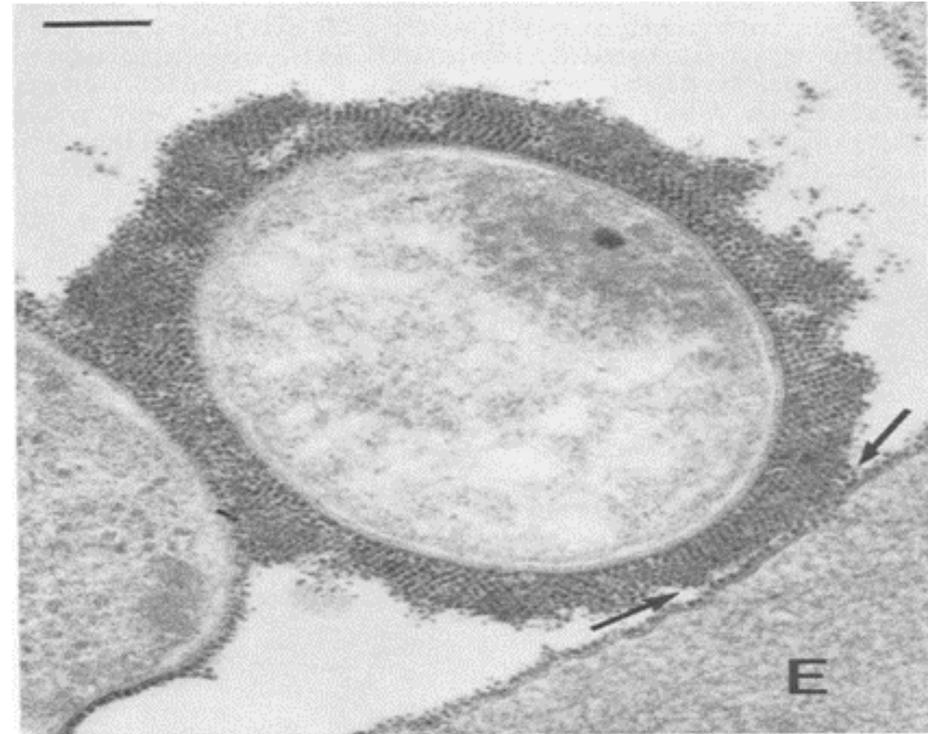
La capsule et les couches mucoïde peuvent être regroupées sous le terme de **glycocalyx**

Le glycocalyx est un réseau de polysaccharides

The **glycocalyx** is a polysaccharide-based gel-like, highly hydrous cellular thin layer, covering present outside the cell.

It acts as an interface between the extracellular matrix and cellular membrane.

Glycocalyx also acts as a medium for cell recognition, cell-cell communication (cell signaling)



Transmission electron microscopy (TEM) image of glycocalyx of human erythrocytes.

**La couche mucoïde** est fréquente chez les bactéries aquatiques et particulièrement importante chez les bactéries du **genre Zooglea** qui produisent des **masses gluantes**

Certains **polyosides** produits par des bactéries ont un intérêt industriel et sont produits comme **gélifiant** notamment en **industries alimentaires**

*Leuconostoc mesenteroides*  
produit des dextrans

*Xanthomonas des xanthanes*

**La couche S** est composé de protéines et de glycoprotéines, organisés en pavement

# Fonctions de la capsule

## + De protection :

contre les Ultraviolets, la dessiccation, les agents physiques et chimiques

## + De Virulence (la pathogénicité) :

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). A partir de cette propriété, une classification peut être établie (ex : 70 types sérologiques différents chez *Streptococcus pneumoniae*).

## + La Couche S :

Elle est trouvée chez des Archéobactéries (*Methanococcus* par ex) et chez des Bactéries (*Chlamydia*, *Treponema*, *Helicobacter*, *Bacillus Clostridium* ...). La couche S joue un rôle en tant que structure pariétale en plus de la paroi. La couche S sert de filtre excluant aussi bien l'entrée que la sortie des molécules trop grosses.

## 2.10. Les cils et flagelles

Ce sont des organes locomoteurs spécialisés

### Mise en évidence

#### Indirecte

état frais (bactéries en mouvement) ou en milieu semi-gélosé. Plusieurs facteurs influence la mobilité tels que l'âge de la culture, la température (*Yersinia sp* est immobile à 37°C et mobile à 22°C)

#### Directe

en microscopie optique après avoir épaissi les flagelles par des colorations spéciales (Rhodes, Leifson : fuchsine basique) ; ou en microscopie électronique

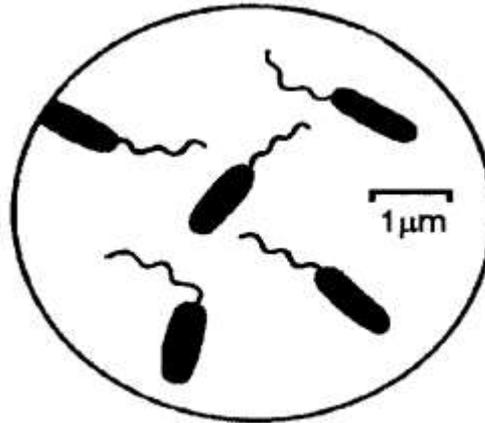
### Structure

Ils mesurent en moyenne **16 à 20  $\mu\text{m}$**  (beaucoup plus que la bactérie) et sont très fins (**300 Å d'épaisseur**)

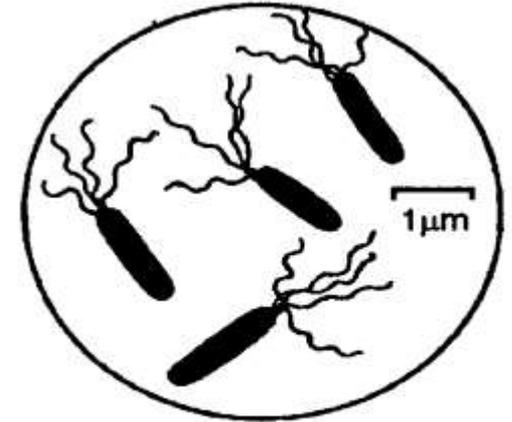
Il existe différents modes d'insertion des flagelles, selon le nombre et la position de ceux-ci

Ils sont fixés à la bactérie par insertion dans la membrane cytoplasmique

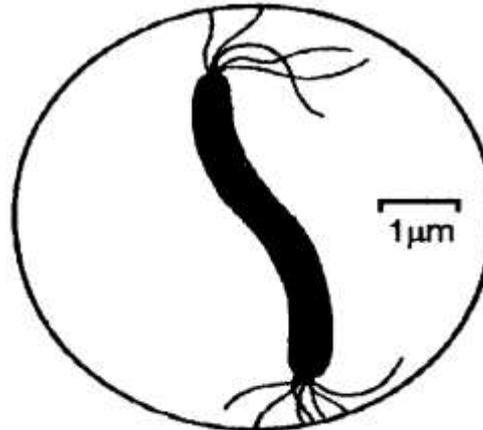
Ils sont mobiles par rotation, comme une hélice, grâce à un mécanisme similaire à un « rotor » fonctionnant grâce à l'énergie fournie par un gradient de protons



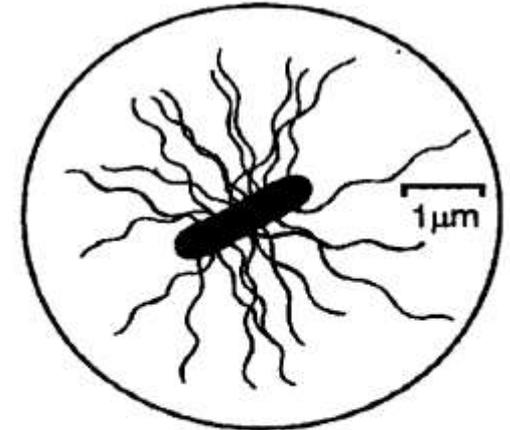
(A) Monotrichous



(B) Lophotrichous

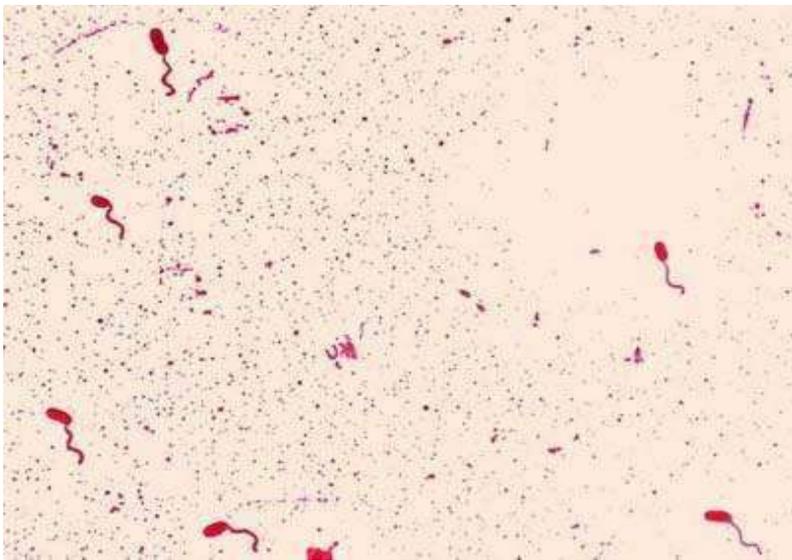


(C) Amphitrichous

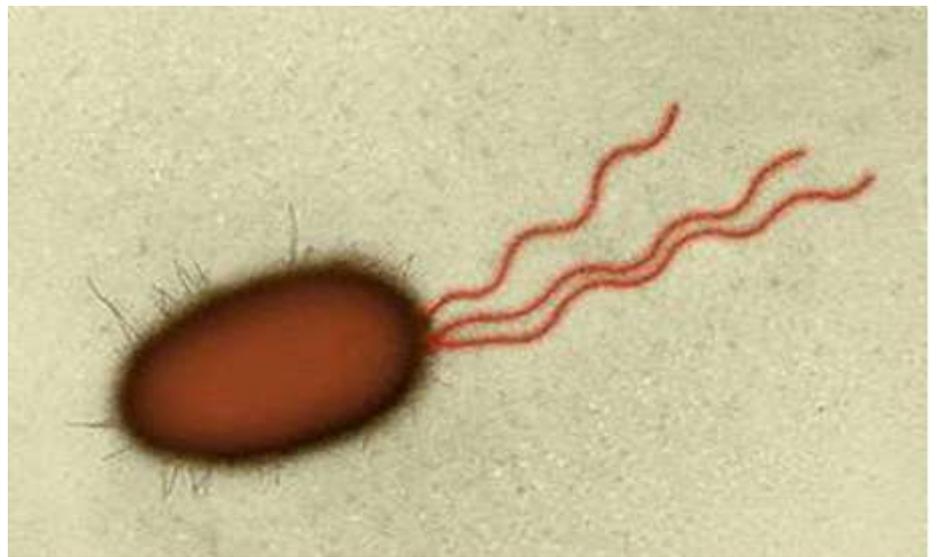


(D) Peritrichous

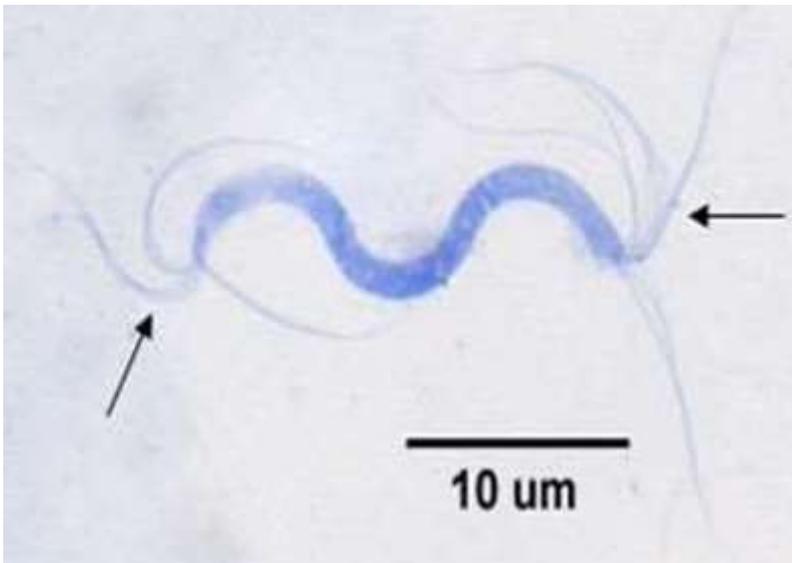
**Various arrangement of bacterial flagella.**



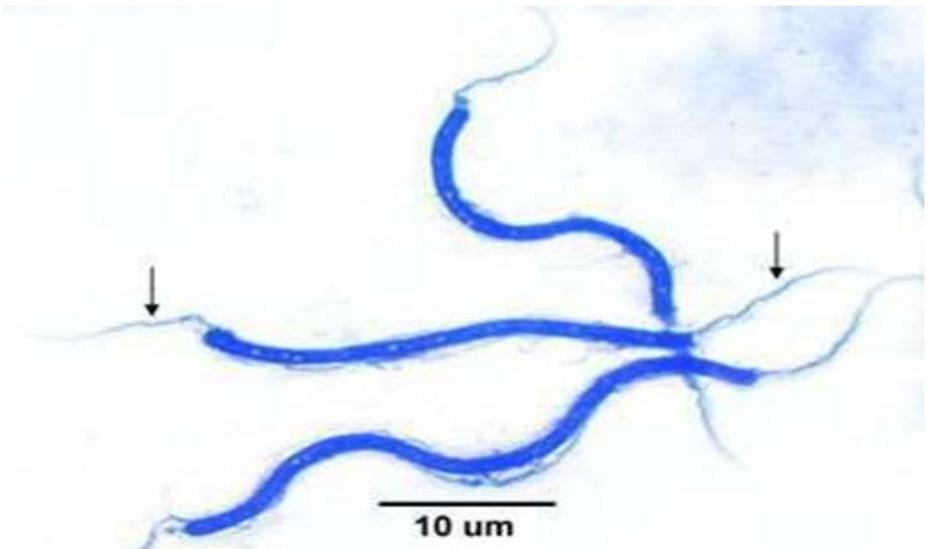
**Monotrichous Flagellum**  
**Vibrio cholerae**



**E. coli with lophotrichous flagella**



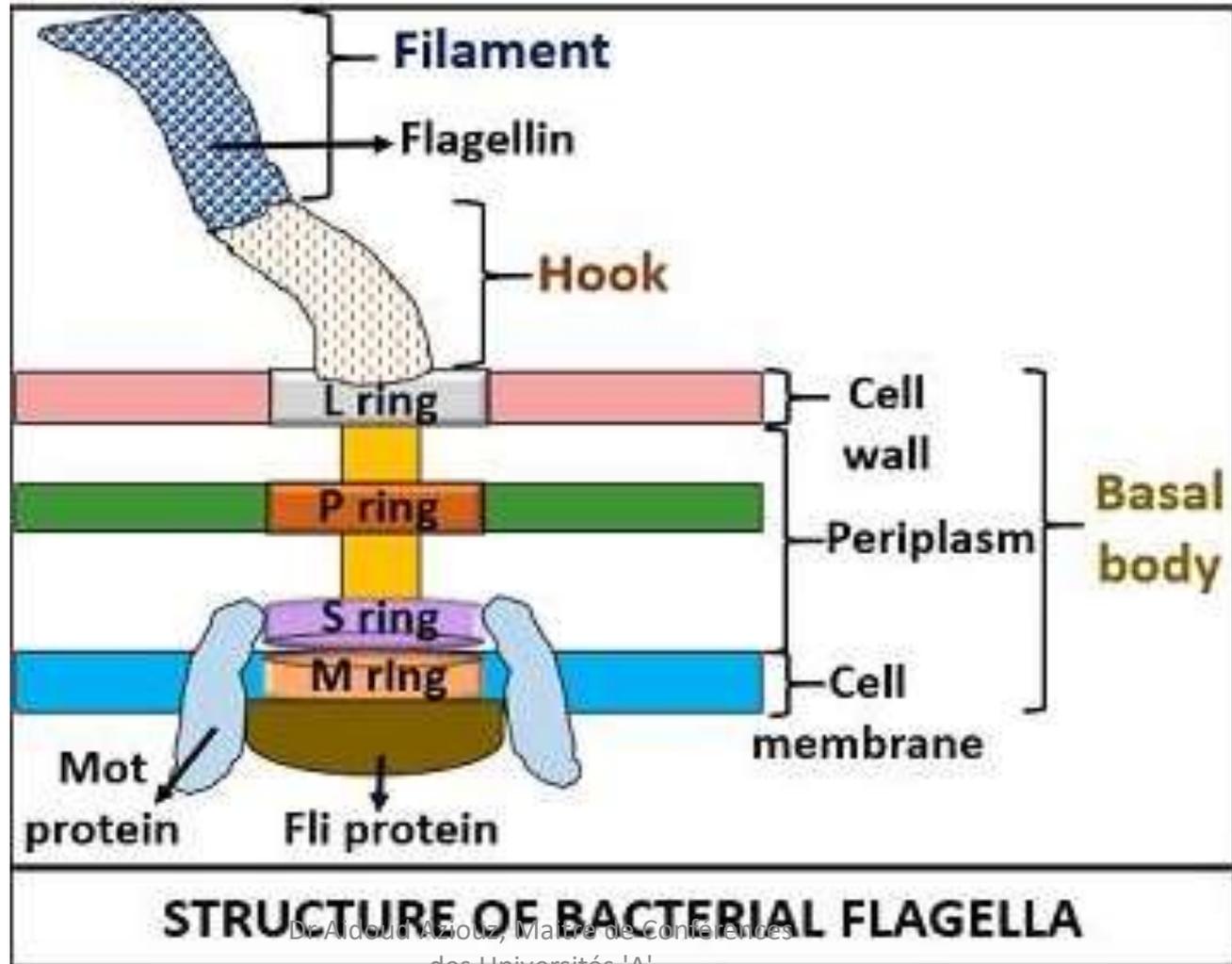
**Spirillum with Lophotrichous**  
**Arrangement of Flagella**



**Amphitrichous**  
**e.g., Aquaspirillum serpens**

**Architecture moléculaire** : Le flagelle bactérien est constitué de 3 parties :

- Le filament hélicoïdal
- Le crochet
- Le corpuscule basal



## Le filament

C'est un **cylindre creux** constitué d'une seule protéine multimérique : la **flagelline**

La flagelline, **protéine fibreuse**, se positionne en hélice rigide qui tourne à la manière de l'hélice d'un bateau

## Le crochet

Il lie le filament au corpuscule basal.

## Le corps basal

Enfoui dans la cellule, il insère le flagelle dans le corps cellulaire.

lui même formé d'un axe central et de deux ou quatre anneaux reliés à la membrane plasmique ou à la paroi

# Fonctions du flagelle

The main function of flagellum is to provide motility to the bacterial cell

**Motility:** The fundamental role of flagella is to impart different kinds of motility to the bacterial cell.

**Pathogenesis:** According to the research, flagella act as a virulence factor that helps in the adhesion of the bacterial cell to the host cell.

**Characterization of bacteria:** Bacteria showing swimming motility or swarming motility is remarkably used to differentiate the type of motility. The flagella formation is related to the particular environment. Therefore, the flagellation pattern also decides the environmental conditions, where the bacterial cell can live in.

## 1.10. La spore

**Structures de résistance** formées par certaines bactéries lorsque les conditions deviennent défavorables.

Elle permet aux bactéries sporulantes de survivre dans des conditions difficiles et extrêmes de l'environnement

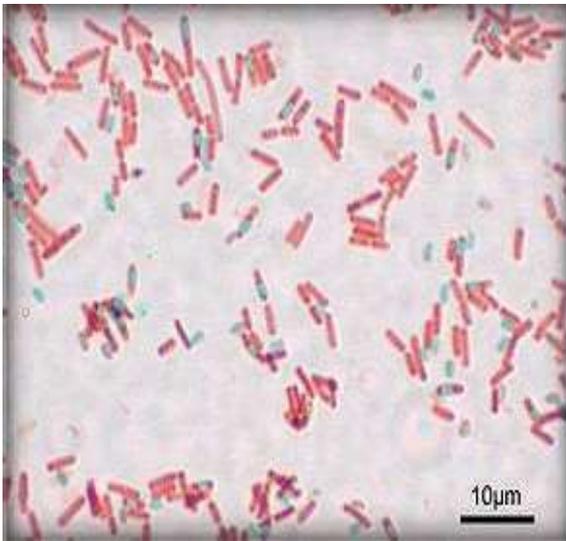
Les genres bactériens les plus connues qui forment des endospores sont *Bacillus*, *Clostridium*, *Sporosarcina*

Bactéries Gram (+). D'autres genres sont capables également de sporuler

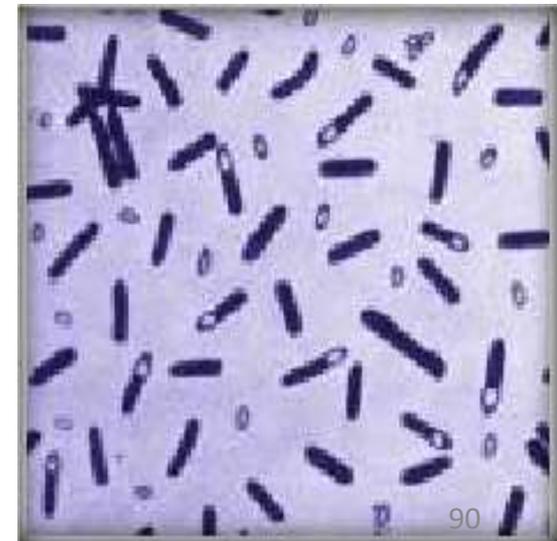
# Mise en évidence

Les spores sont visibles à la coloration de Gram où elles apparaissent comme des espaces vides à l'intérieur des bactéries : seul le contour de la spore apparaît coloré.

A l'état frais, elles apparaissent comme de petites masses réfringentes au sein de la bactérie, ou libres dans le milieu.



Dr Aidoud Aziouz, Maître de Conférences  
des Universités 'A'



Il existe des colorations spéciales basées sur le **caractère acido-alcoolo-résistant** des spores.

Exemple :

**Coloration au vert de malachite = coloration de Benito-Trujillo.**

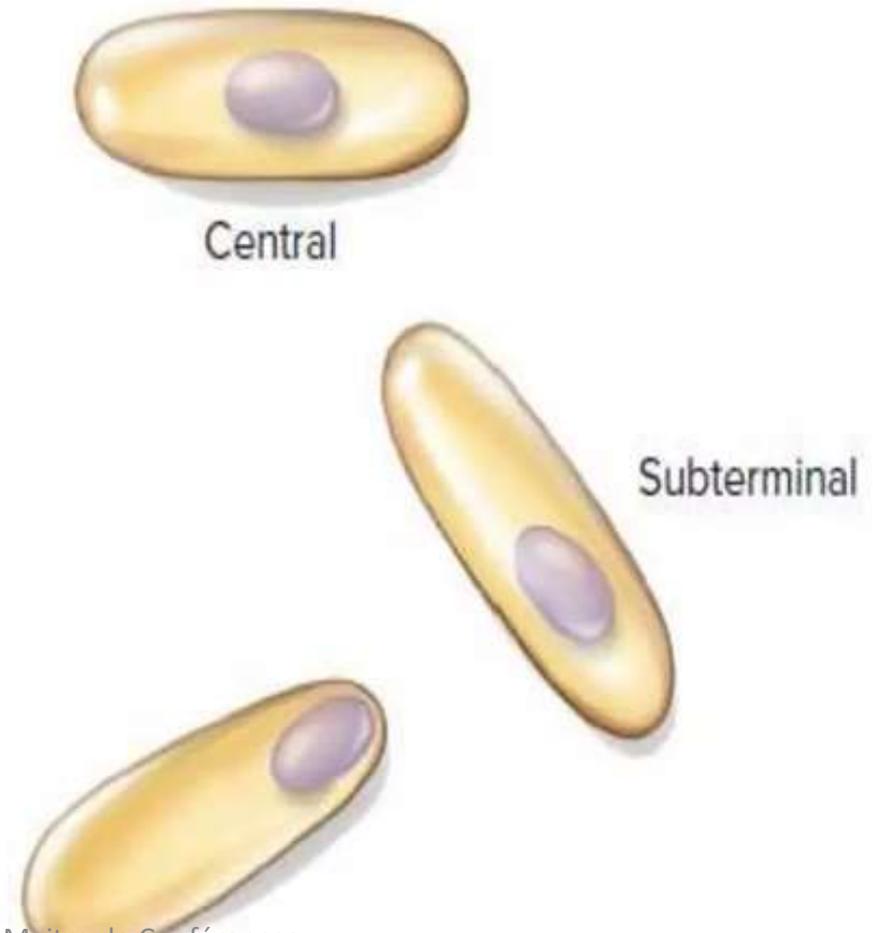
Après une contre coloration par la fushine, les spores apparaissent **vertes** dans la bactérie **rose**.

# 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
- Subterminales



- La spore peut-être libre ou non. La recherche de tous ces caractères se fait dans un but taxonomique
- Elles servent également dans l'identification bactérienne



Spherical center



Oval central



Oval subterminal

**Not bulging**



Oval subterminal



Spherical terminal



Oval terminal

**Bulging**



Oval central



Oval central

### Différentes formes de la spore



spore sphérique

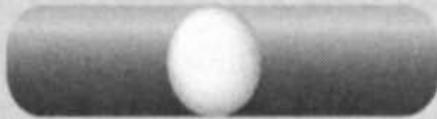


spore cylindrique



spore ovoïde

### Différentes positions de la spore dans le bacille



spore centrale



spore subterminale

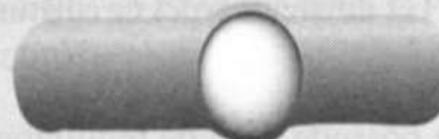


spore terminale

### Différentes déformations du bacille par la spore

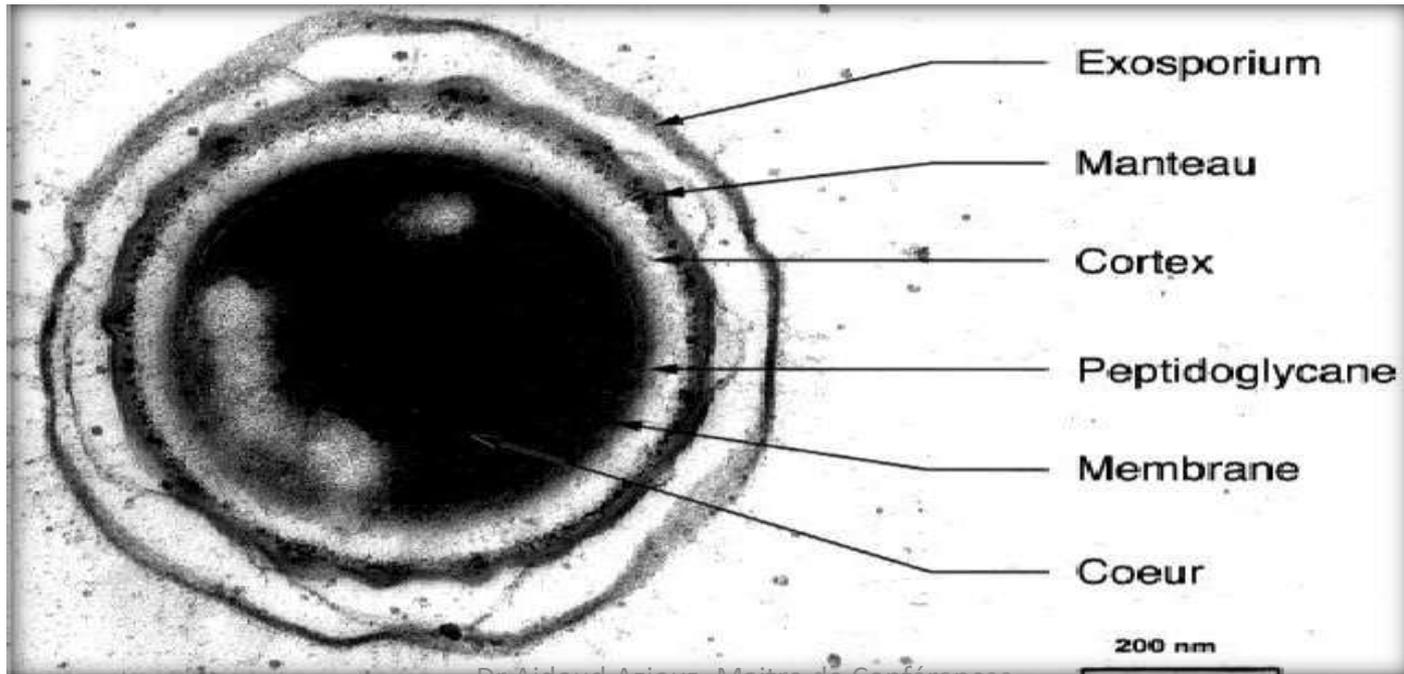
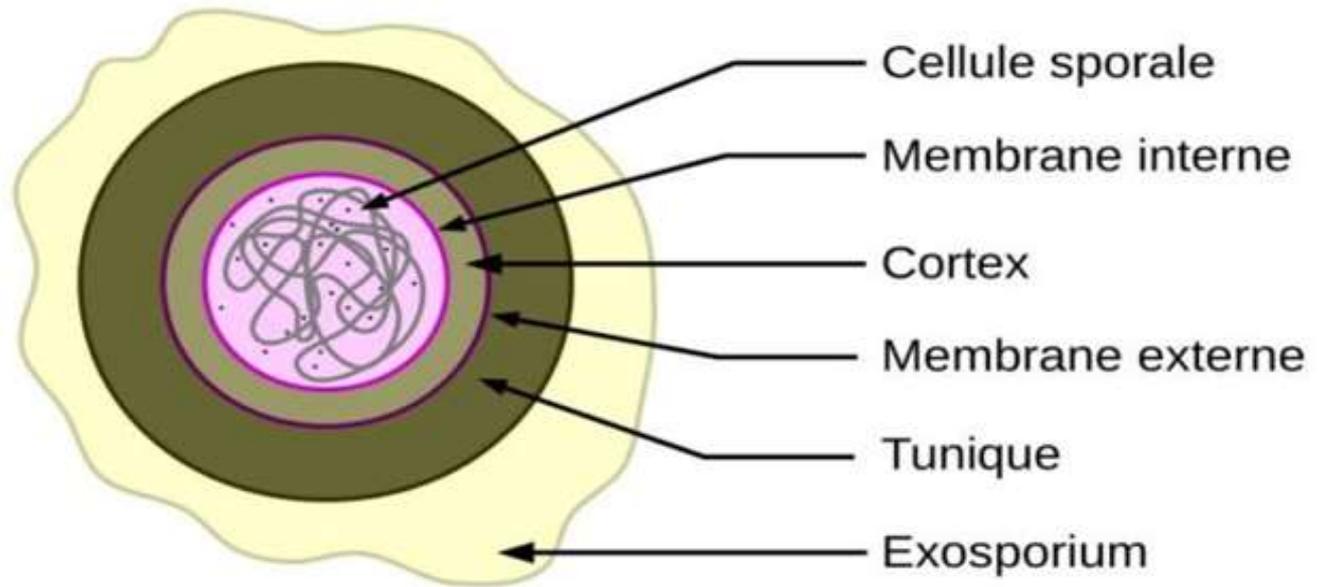


spore non déformante



spore déformante

# Structure



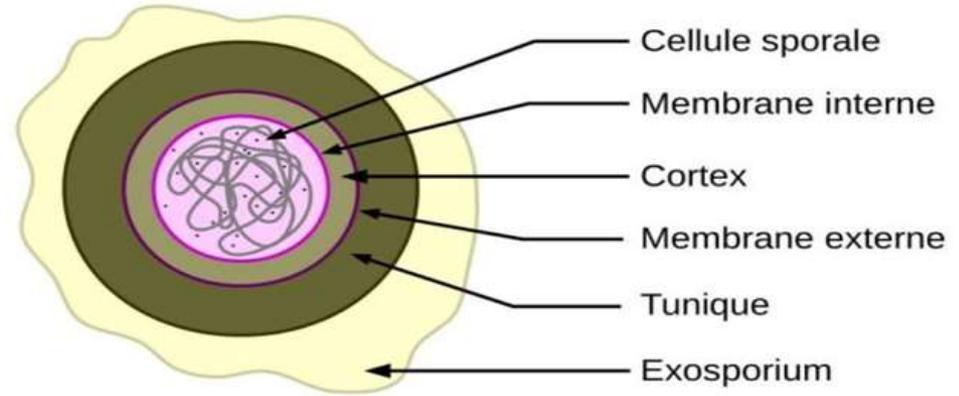
Dr Aidoud Aziouz, Maître de Conférences

des Universités 'A'

Structure d'un endospore de *Bacillus anthracis*

La spore possède une paroi et une membrane plasmique identiques à celle de la cellule

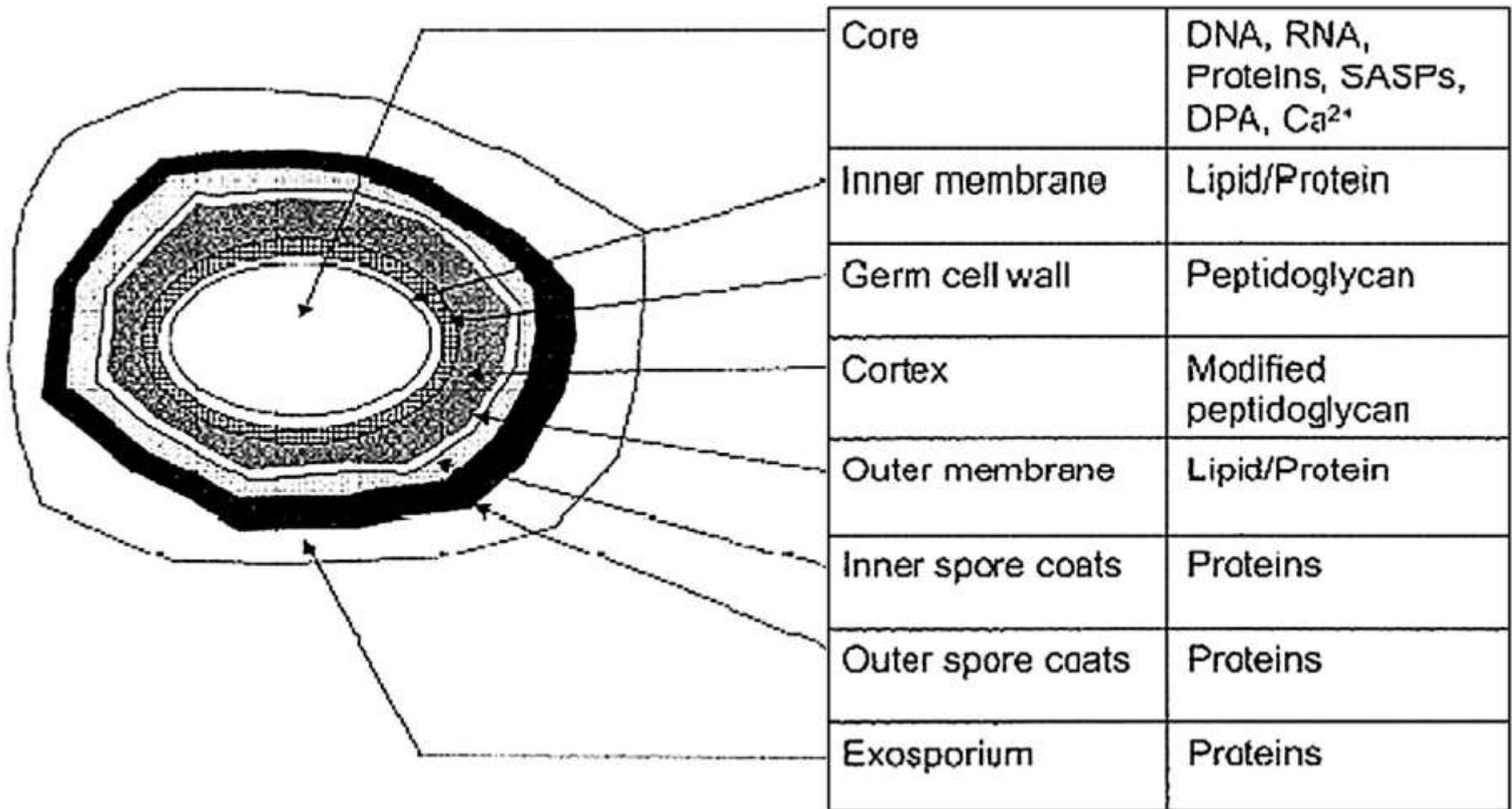
L'enveloppe la plus externe est mince, appelée **exosporium**.



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 **nucléoïde** et des **enzymes inactives**

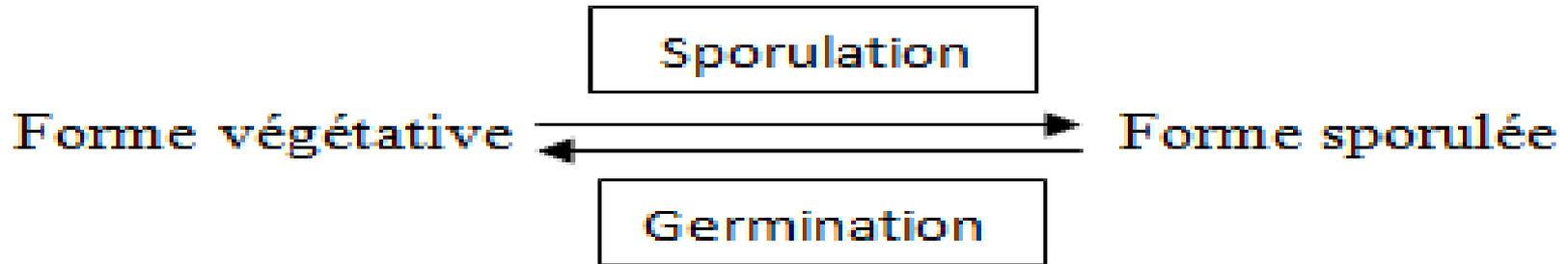


An endospore has following layers

- 1.Exosporium
- 2.Spore coat
- 3.Cortex
- 4.core

# Phénomène de sporulation

Il représente le passage de la forme végétative à la forme sporulée et inversement :



la sporulation nécessite des conditions défavorables,  
contrairement à la germination, où la spore doit se trouver dans des conditions favorables : **eau, nutriments, pH, force ionique, température convenable, pas d'agents antimicrobiens.**

**La sporulation dure environ 7 à 10 heures, elle se déroule en 7 étapes :**

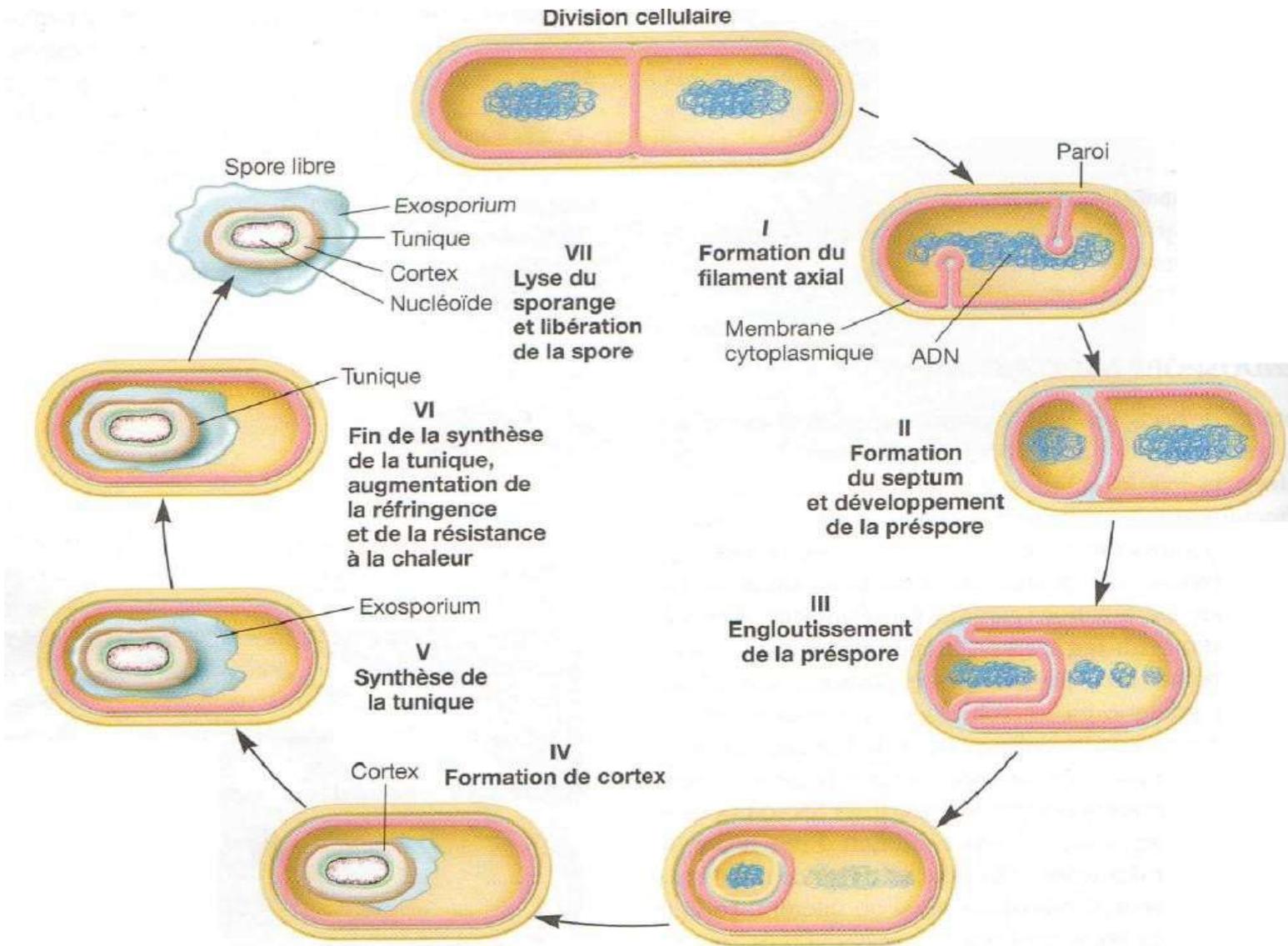
1. Conversion du matériel nucléaire en un filament chromatique axial.

2. Invagination de la membrane cellulaire et formation du septum, ce qui isole une partie de l'ADN à l'origine de la pré-spore.

3. La membrane de la grosse cellule englobe la petite cellule qui est finalement endocytée. La petite cellule est appelée **préspore**, elle est entourée d'une double membrane.

4. Formation du cortex, accumulation du complexe acide - calcium.
5. Les protéines de la tunique sont formées autour du cortex.
6. L'endospore arrive à maturité
7. Lorsque la spore arrive à maturité, des enzymes lytiques détruisent le sporange et libèrent la spore.

# Phénomène de sporulation



# Propriétés

La spore possède de nouvelles propriétés par rapport à la cellule végétative :

## 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** et à la **déshydratation de la spore**.

(Les protéines et les acides nucléiques à l'état déshydratés sont très résistants à la **dénaturation thermique**).

**N.B** : Cette propriété entraîne des problèmes importants dans les hôpitaux, les salles de chirurgie et les industries alimentaires (*Clostridium tetani* (tétanos); *C. botulinum* (botulisme)).

## Résistance aux agents physiques et chimiques

La spore résiste aux rayons UV, X, ultrasons, antiseptiques, désinfectants, antibiotiques. Cela pose également des problèmes dans les hôpitaux.

# Résistance à la dessiccation et au vieillissement

Ces phénomènes semblent dus à la faible teneur en eau et au métabolisme ralenti : on parle d' **état de dormance**.

# Germination

Afin que la spore germe, elle doit se trouver dans des conditions favorables : **Eau, nutriments, pH, force ionique, température convenable, aucun d'agent antimicrobien**

**La germination** : C'est la transformation de la spore en cellule végétative.

**Ce processus comprend 3 étapes :**

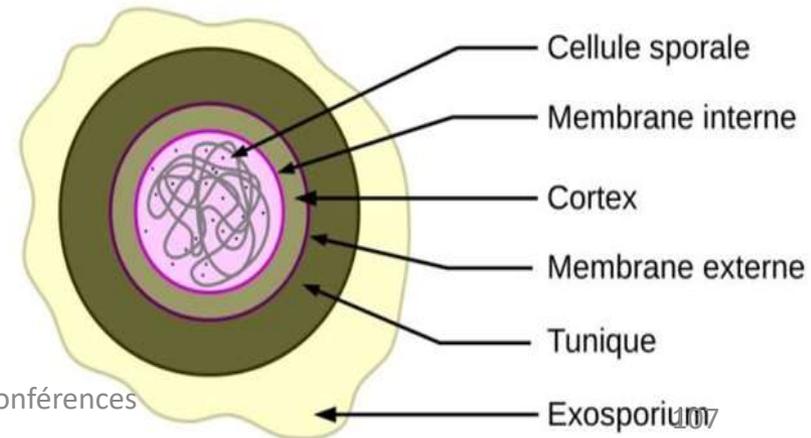
- Activation
- Initiation
- Emergence

# Activation

Pour pouvoir germer, la spore doit être activée par un agent capable de léser les multiples enveloppes sporales.

Cet agent peut être de nature :

- Mécanique : Choc, phénomène d'abrasion...
- Physique : Chaleur
- Chimique : Acidité, lysozyme.



# Initiation

L'initiation n'intervient qu'en condition favorables :

- Forte teneur en eau
- Milieu riche contenant des métabolites effecteurs (adénine, adénosine, magnésium)

Ces éléments pénètrent à travers **les enveloppes endommagées** et déclenchent un **processus autolytique** avec **dégradation du peptidoglycane du cortex** et **libération de l'acide dipicolinique**.

Alors la spore se gonfle d'eau et perd ses caractéristiques

# Emergence

Après sa **réhydratation**, la **spore donne une nouvelle** cellule végétative qui entre en phase active de biosynthèse :

- la synthèse de l'ADN reprend
- la cellule double son volume

elle devient à nouveau  
**capable de se multiplier**

# 3. Classification bactérienne

## 3.1. Classification phénotypique

La nomenclature est l'ensemble des règles qui permettent de donner un nom stable à chaque taxon et de réglementer la façon de faire (code international de nomenclature des bactéries).

On distingue deux catégories de noms :

- Les noms informels, noms spécialisés
- Les noms scientifiques des taxons

## Exemple:

**Colibacille** = nom informel

***E.coli* O157**, nom spécialisé.

L'espèce ***E. coli*** du genre ***Escherichia*** de la famille des ***Enterobacteriaceae***

# Les principaux taxons par ordre décroissant (hiérarchie taxinomique)

- **Domaine** Bacteria
- **Règne** non défini
- **Phylum** Protéobacteria
- **Classe** Gammaproteobacteria
- **Ordre** Enterobacteriales
- **Famille** Enterobacteriaceae
- **Genre** Escherichia (ensemble d'espèces)
- **Espèce** *Escherichia coli*, *E. coli*  
(ensemble de souches)

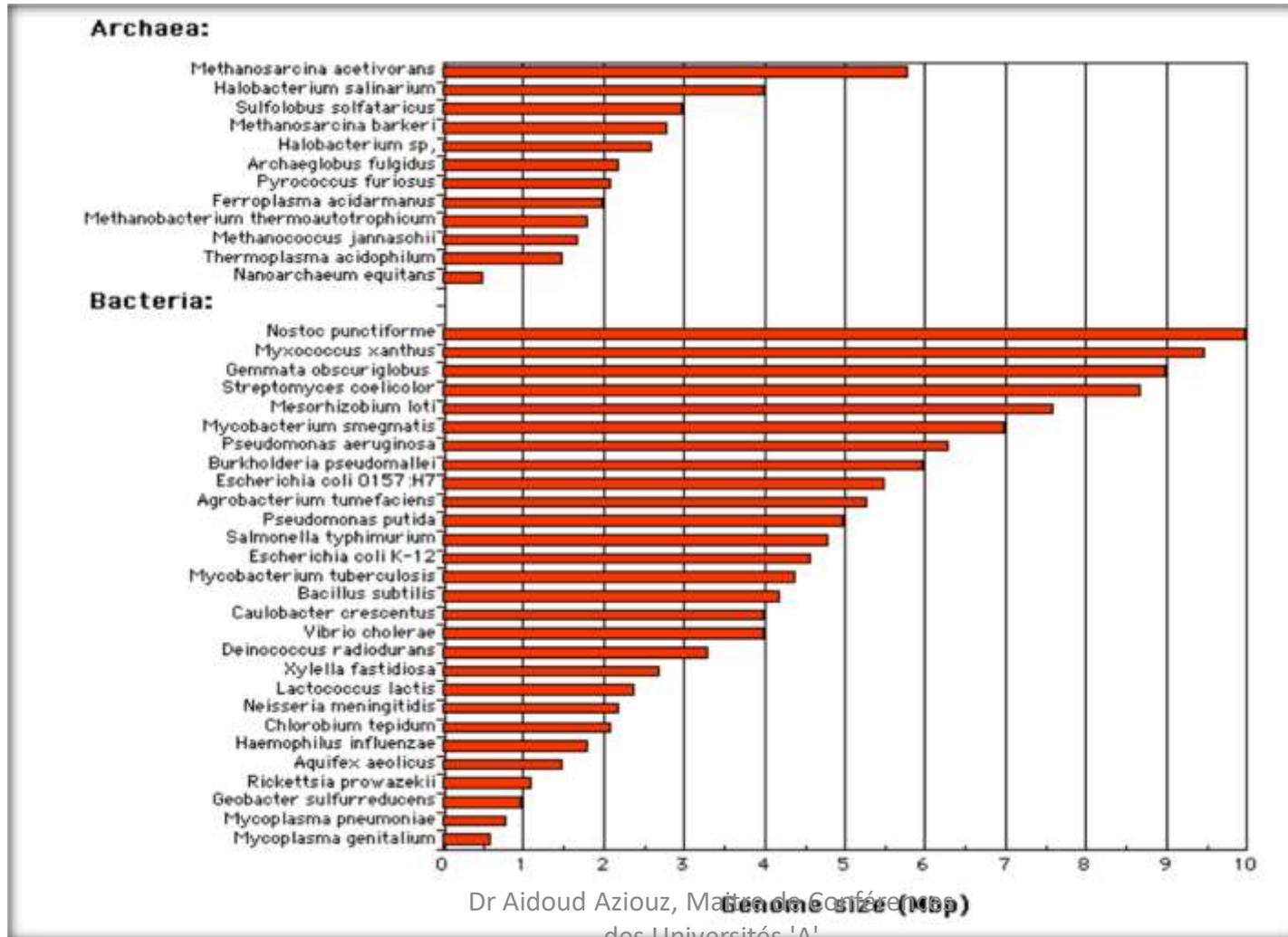
## 3.2. Taxonomie génétique ou phylogénique

Les critères recherchés sont:

- La taille du génome
- La composition des bases d'ADN sous la forme de pourcentage de **G+C (GC%)** Le taux d'hybridation **ADN/ADN**
- La séquence de l'ADN qui code pour l'ARN ribosomal 16 S

# La taille du génome

Selon les espèces voir les genres la taille du génome est variable. Les bactéries paratrophes (parasite, intracellulaire obligatoire) le génome est très réduit



# Composition en base d'ADN (Coefficient de Chargaff)

Quel que soit l'espèce d'origine, l'ADN contient toujours autant de purine que de pyrimidine soit :

$$(A + G) = (C + T) \quad \text{ou} \quad (A+G) / (C+T) = 1$$

De plus, il y a autant de thymine que d'adénine  $A/T = 1$

autant de guanine que de cytosine  $G/C = 1$

Par contre, le rapport  $(A+T)/(C+G)$  varie beaucoup :  
il est caractéristique de l'espèce

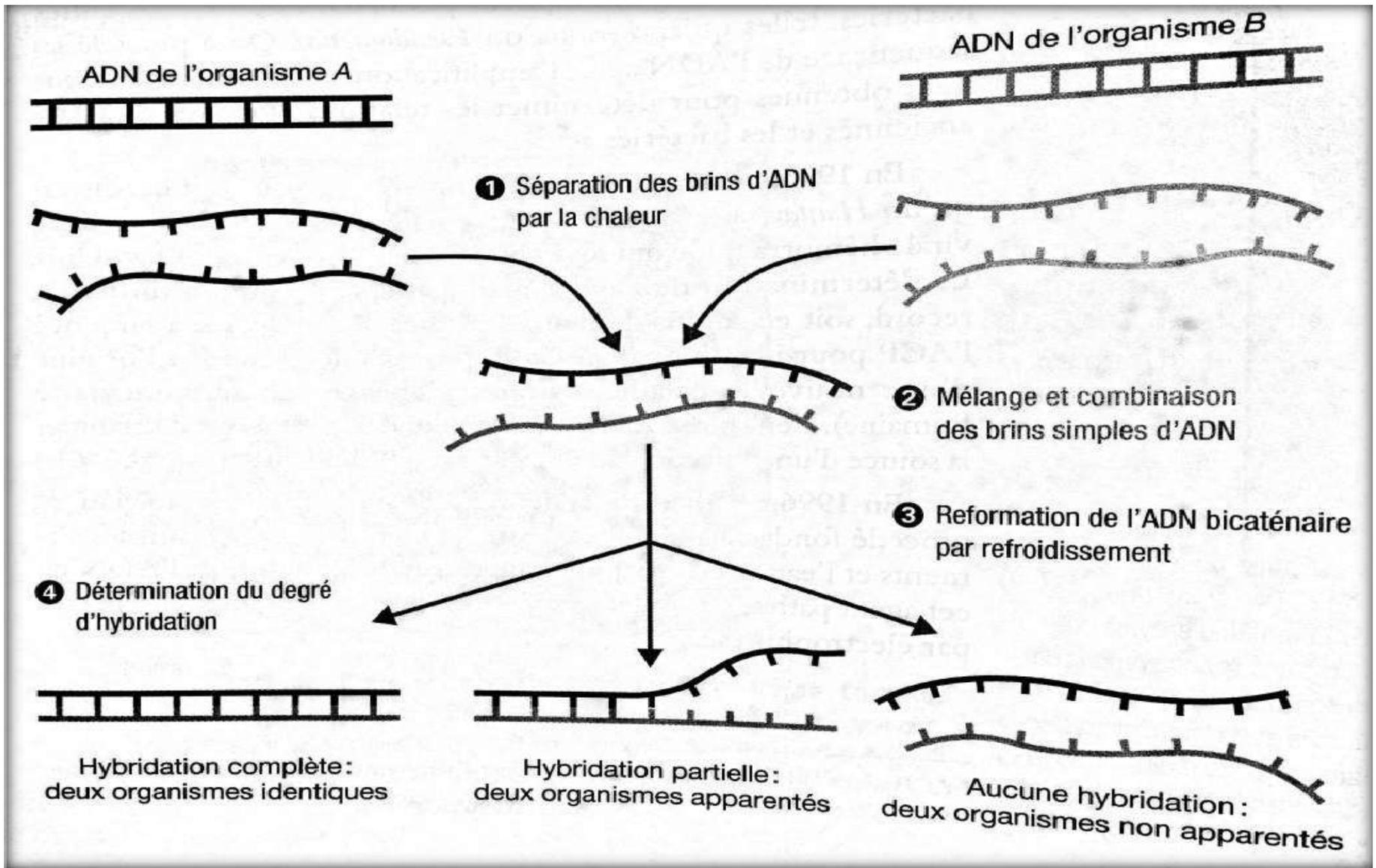
Ce coefficient est appelé **coefficient de Chargaff**. Il peut être calculé suite à un séquençage par la formule suivante

$$((G+C) / (A+T+G+C)) \times 100$$

# Hybridation ADN/ADN

## Les températures clés et leurs définitions

- $T_m$**  : Point de fusion (Thermal elution midpoint) :  
Température de dénaturation de 50% de l'hybride
- $T_{or}$**  : Température optimale de renaturation : 25° à 30°C  
< Température de dénaturation
- $T_{rr}$**  : Température restrictive de renaturation: 10 à 15 °C  
< Température de dénaturation



## Hybridation ADN/ADN

Dr Aidoud Aziouz, Maitre de Conférences  
des Universités 'A'

### 3.3. La Classification selon le manuel de Bergey

Ce qu'il faut savoir c'est qu'il n'existe pas une classification officielle des bactéries, mais on se réfère à **la classification du manuel de Bergey**. Cette classification est la plus acceptée par tous les microbiologistes

## Chapitre 4 : Nutrition bactérienne

Une bactérie peut avoir un métabolisme intense qui se traduit par une augmentation de la taille, mais, surtout du nombre des cellules. Cet état est dit **végétatif**

Dans certaines conditions, la bactérie ralentit son métabolisme et ne se divise plus. C'est l'état de **repos**

Dans les deux états, la bactérie a des besoins nutritifs (pour se diviser ou juste se maintenir en vie). Selon la nature de ces besoins, on définit des **bactéries prototrophes** et des **bactéries auxotrophes**

**Les bactéries prototrophes** ont des besoins élémentaires :

Eau- source d'énergie-source de carbone et d'azote - macro et micronutriments

**Les bactéries auxotrophes** nécessitent en plus des besoins élémentaires, des facteurs de croissances.

Les facteurs environnementaux sont également très importants pour la croissance, le pH, la température, la pression osmotique, la présence ou non d'oxygène

# Besoins élémentaires

## a/ l'eau:

L'eau représente 70% du poids cellulaire total chez *Escherichia coli*.

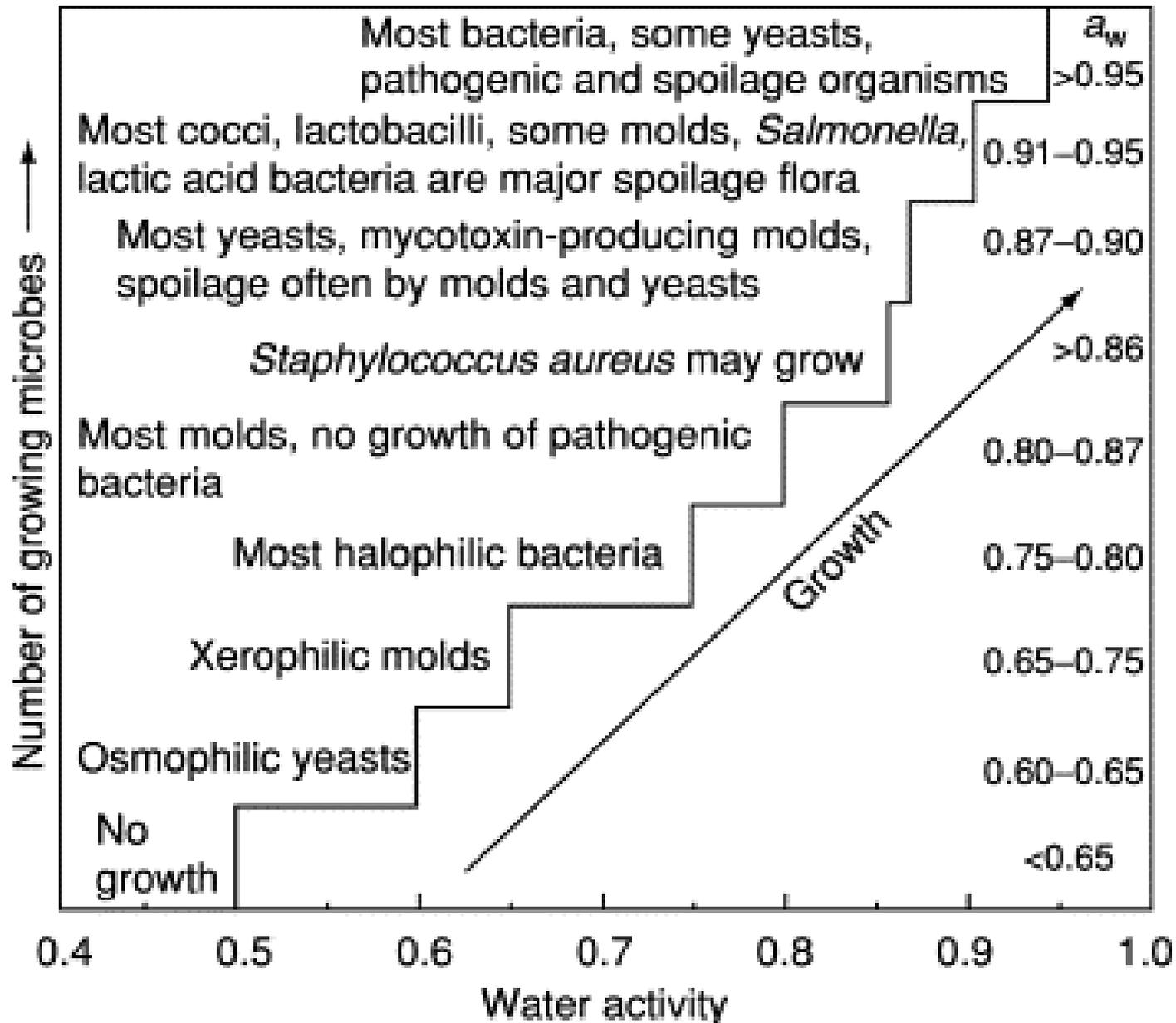
Elle solubilise les nutriments, elle joue un rôle important dans leur transport et ceci dans les deux sens.

C'est le solvant de la vie, où se déroulent toutes les réactions métaboliques (catabolisme plus anabolisme)

Un paramètre appelé « **Activity of water** », **Aw**, ou **activité de l'eau**) quantifie la disponibilité de l'eau libre, non associée aux nutriments.

**Aw** varie de 0 à 1, Certains germes ne se développent que pour une valeur de l'Aw supérieure à 0,97.

A l'opposé, les **bactéries halophiles** qui nécessitent la présence de sel (NaCl, 1 à 15%) l'Aw est de l'ordre de 0.75.



Les endospores peuvent survivre dans un environnement dépourvu d'eau libre.

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'Aw.

## b/ Source d'énergie

Sur la base de la source d'énergie, on distingue :

- les bactéries chimiotrophes
- es bactéries phototrophes

Les bactéries chimiotrophes puisent leurs énergies des réactions chimiques d'oxydoréduction.

- Si les composés (donneurs d'électrons) sont inorganiques comme  $H_2S$ ,  $H_2$ ,  $Fe^{2+}$  ou  $NH_3$  ..., les bactéries sont dites **chimiolithotrophe**.
- Si le donneur d'électron est organique, elles sont dites **chimioorganotrophe**.

Les bactéries phototrophes puisent leur énergie de la lumière.,

- Si la source d'électrons est minérale, les bactéries sont dites **photolithotrophes**

- Si la source d'électrons est organique, les bactéries sont dites **photoorganotrophes**

### c/ Source de carbone

Le carbone est l'élément constitutif le plus abondant chez les bactéries

- Si la source est le dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ) les bactéries sont dites **autotrophes**, c'est le cas des bactéries phototrophes et la plupart des bactéries chimiolithotrophe.

- Si la source de carbone assimilable est un substrat organique, ces bactéries sont qualifiées d' **hétérotrophes**

Les bactéries hétérotrophes peuvent dégrader de nombreuses substances hydrocarbonées : alcools, acides organiques, sucres ou polyholosides.

La liste des substrats carbonés utilisables par une souche bactérienne comme unique source de carbone et d'énergie constitue l'**auxanogramme** de la souche

# Facteurs de croissance

Selon les besoins nutritionnels nécessaire à la croissance des bactéries, on a défini les bactéries prototrophes et les bactéries auxotrophes.

**Les prototrophes** ont des besoins élémentaires

**les auxotrophes** nécessitent en plus, un ou plusieurs facteurs de croissance qu'elles sont incapables de synthétiser. Soit ils sont fournis par l'environnement ou rajouter dans le milieu de culture

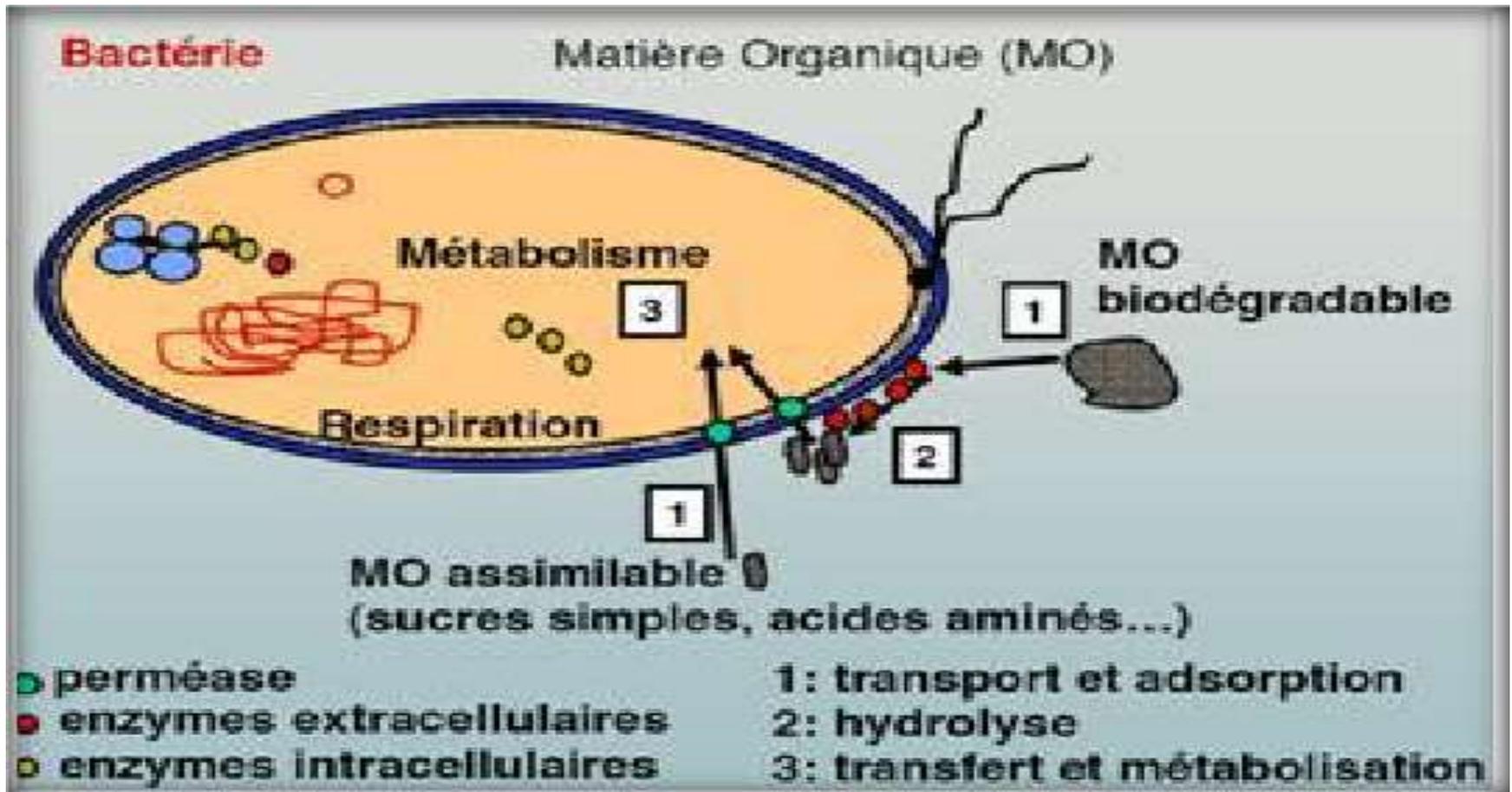
Les facteurs de croissance sont des **vitamines B1, B6, B12, acide folique, des précurseurs de coenzymes (de NAD, de coenzyme A, de FMN, de FAD).**

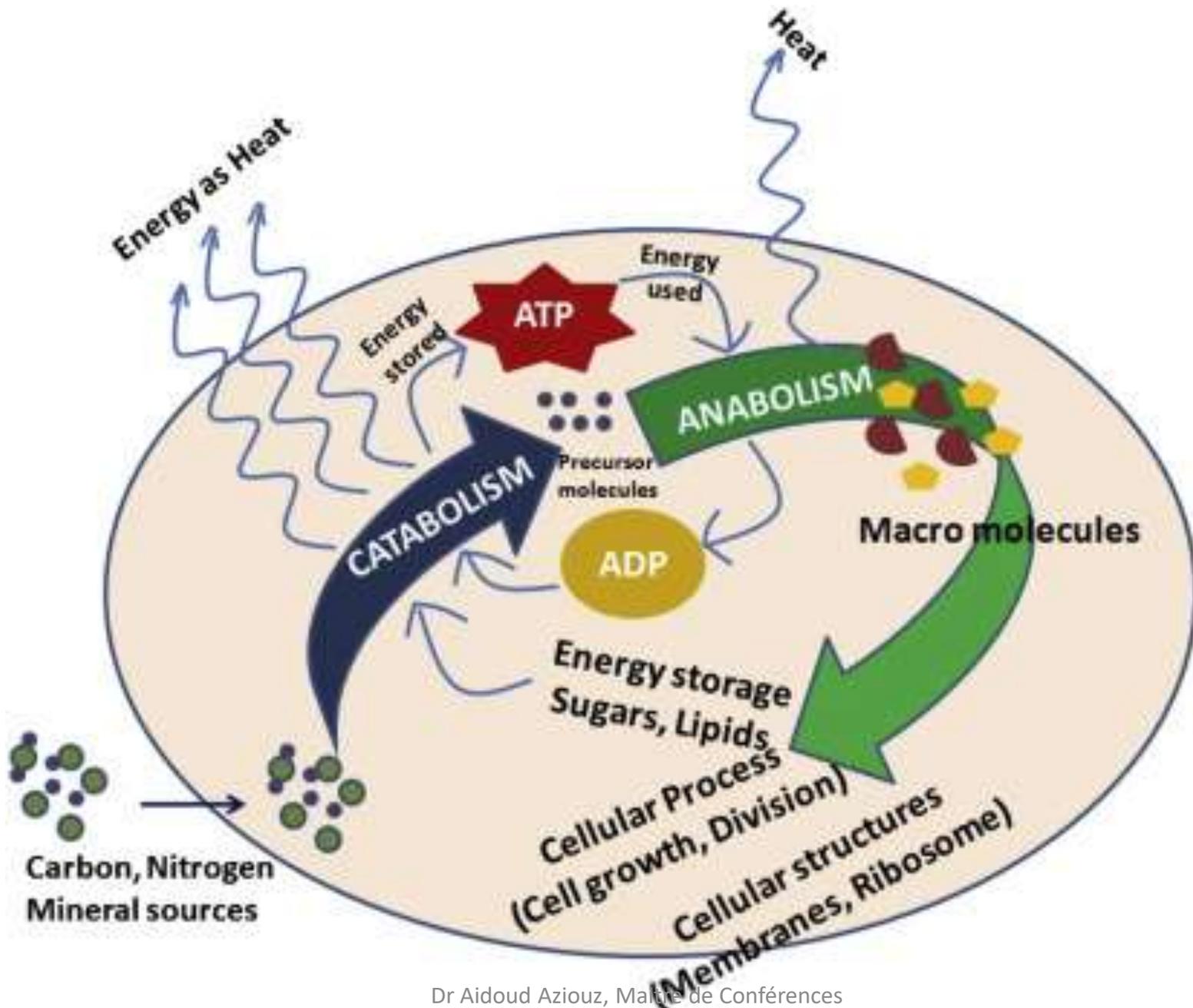
**La syntrophie** est un phénomène d'interaction métabolique, qui se traduit sur un milieu solide par la présence de colonies satellites d'une bactérie auxotrophe autour de celles d'une bactérie prototrophe productrice du facteur de croissance.

## Particularités du métabolisme bactérien

- Les cellules bactériennes sont trop petites pour stocker toutes les enzymes nécessaires à leur métabolisme
  - Elles les synthétisent au fur et à mesure de leurs besoins et selon la nature des substrats.
  - Les enzymes sont généralement inductibles par la présence du substrat.
- De plus, les grosses molécules ne peuvent pas traverser la paroi et la membrane plasmique

- Les bactéries sécrètent des exo enzymes pour les dégrader en petites molécules transportables par des perméases . Une partie du catabolisme est effectuée à l'extérieur de la cellule.





# Types trophiques

Les photos autotrophes sont photosynthétiques. On peut citer les cyanobactéries, les bactéries vertes, les bactéries pourpres non sulfureuses.

La photosynthèse bactérienne est différente de celle des végétaux supérieurs.

Elle ne conduit jamais à la libération d'oxygène libre.

Les pigments et les donneurs d'électrons sont également différents (hydrogène, soufre, jamais l'eau comme chez les plantes).

**Les photo hétérotrophes** sont photosynthétiques et puisent le carbone de composés organiques.

**Les chimio autotrophes**, n'ont besoin ni de matière organique, ni de lumière du soleil.

Ils puisent leur énergie de substance inorganique et transforme le  $CO_2$  en matière organique.

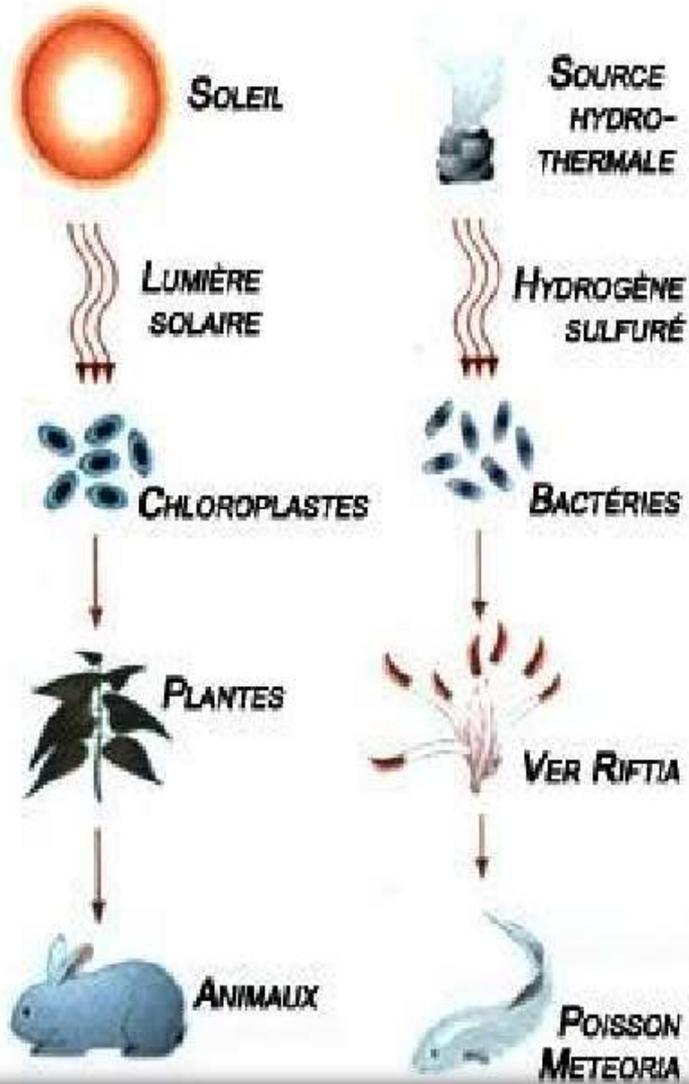
**Exemples** :

les bactéries des sources chaudes hydrothermales profondes (fumeurs noirs).

Elles nourrissent tout un écosystème



## PHOTOSYNTHÈSE CHIMIOSYNTHÈSE



### Fumeurs noirs au fond des océans

Dr Aidoud Aziouz, Maître de Conférences  
des Universités 'A'

## Exemple 2

les bactéries méthanogènes (Archaea) qui synthétisent le méthane ( $\text{CH}_4$ ) à partir de  $\text{CO}_2$

### Les chimio hétérotrophes

puisent leur énergie et leur carbone des substances organiques. C'est le cas de la plupart des bactéries d'intérêt médical (pathogènes).

La synthèse des protéines et des acides nucléiques nécessite des substances azotées. L'azote représente 12% du poids sec des bactéries et 80% de l'air qu'on respire.

# Macronutriments

Les bactéries ont besoin de phosphore, de soufre, de magnésium, de calcium et de sodium

## Le phosphore

- Important dans la synthèse des acides nucléiques et phospholipides des membranes plasmiques et externes.

- Production d'ATP - Energie -

- Il est apporté sous forme de phosphate organique et inorganique

# Le soufre

- Se trouve au niveau des deux acides aminés qui jouent un rôle dans les ponts disulfure (la méthionine et la cystéine)
- Il intervient dans les structures complexes des protéines
- Il est également utilisé dans la synthèse des vitamines (Biotine, coenzyme A)
- Le soufre cellulaire est d'origine inorganique (sulfate  $SO_4^-$ , sulfure métallique FeS, CuS, ZnS).

## Le potassium

joue un rôle comme cofacteur enzymatique, le magnésium aussi, qui, en plus a une fonction de stabilisateur de structures cellulaires

## Le calcium

joue un rôle important dans la résistance à la chaleur des endospores (chez Bacillus, Clostridium). Il stabilise également la paroi des bactéries

## Le Sodium

Important pour la croissance des bactéries halophiles (du grec halo, sel et philein, aimer)

## Le Fer

Intervient dans la chaîne respiratoire (bactéries aérobies), élément des cytochromes au niveau de la membrane plasmique.

Les bactéries possèdent des Siderophores qui capturent le fer insoluble et le transportent à l'intérieur des cellules bactériennes.

