

CROISSANCE ET NUTRITION BACTERIENNES

A/ CROISSANCE BACTERIENNE

Lorsqu'une cellule bactérienne est placée dans un milieu de culture convenable qui assure ses besoins nutritifs, elle va réaliser ses biosynthèses de façon harmonieuse.

La **croissance bactérienne** qui résulte de ces biosynthèses est égale à l'accroissement de la masse de la cellule ou de la population bactérienne.

La **division bactérienne** est le corollaire habituel mais non obligé de la croissance.

I/ Conditions physico-chimiques de la croissance :

1°) Le pH :

Les bactéries ne se multiplient correctement que dans un milieu ajusté au départ à un pH voisin de la neutralité (optimum voisin de 7,0 – 7,4).

Toutefois la croissance de certaines bactéries se fait correctement à un pH plus alcalin (pH 8,5 à 9,0 pour *Vibrio cholerae*). Par contre pour d'autres bactéries la croissance est réalisée à un pH acide (pH 5,0 à 5,5 pour les *Lactobacillus*).

2°) La température :

La température optimale de croissance varie avec les bactéries. On distingue ainsi :

- des bactéries psychrophiles (optimum < 20 °C) ;
- des bactéries mésophiles (optimum situé entre 25 et 45 °C)
- des bactéries thermophiles (optimum > 45 °C)

3°) La pression osmotique :

Les bactéries sont assez tolérantes vis-à-vis des variations des concentrations ioniques.

L'affinité de certaines bactéries pathogènes pour la salinité est utilisée pour la réalisation de milieux sélectifs (milieu de CHAPMAN pour *Staphylococcus aureus*).

Il existe des bactéries halophiles exigeant plus de 2 % de NaCl pour cultiver (*Vibrio parahaemolyticus*) et des bactéries hyperhalophiles qui requièrent des concentrations supérieures à 20 – 25 % (*Vibrio costicola*).

4°) Les pressions partielles d'oxygène :

Selon leur comportement à l'égard de l'oxygène les bactéries sont réparties en 4 classes :

- a) **Aérobies strictes** : Elles ne vivent qu'en présence d'air. Elles tolèrent des pressions partielles d'oxygène élevées et se développent sous atmosphère d'oxygène pur.
- b) **Microaérophiles** : Elles se développent mieux ou exclusivement lorsque la pression partielle d'oxygène est inférieure à celle de l'air.
- c) **Aérobies-anaérobies** : Elles se multiplient avec ou sans air.
- d) **Anaérobies strictes** : Elles ne vivent et ne se développent qu'en absence d'air.

5°) Les radiations :

Les bactéries sont sensibles aux UV, aux rayons X, à la lumière.

6°) Les substances antibactériennes :

Les antibiotiques et les antiseptiques inhibent la croissance des bactéries. Ils sont utilisés pour les détruire. Toutefois certaines substances sont des inhibiteurs sélectifs de certains microorganismes. C'est pourquoi on les ajoute dans les milieux pour favoriser électivement la multiplication de bactéries résistantes. C'est le principe des milieux sélectifs et d'enrichissement.

II/ Mesure de la croissance bactérienne :

1°) Méthodes de mesure :

a) Numération totale :

La totalité des cellules viables ou non, est dénombrée au microscope dans des compartiments volumétriques, au moyen de compteurs automatiques de particules.

b) Numération des cellules viables :

On compte les colonies bactériennes apparues sur ou dans un milieu de culture gélosé convenable, inoculé par une aliquote d'une suspension bactérienne homogène et suffisamment diluée. Dans ces conditions, si l'isolement des colonies est correct, chacune de ces colonies est supposée dériver d'une seule bactérie, appelée unité formant colonie (UFC).

Toute bactérie incapable de former une colonie est dite non viable.

2°) Méthodes quantitatives :

a) Mesure directe de la masse bactérienne :

Les bactéries sont lavées, séchées et pesées.

C'est une méthode longue, qui nécessite une grande quantité de cellules pour que les pesées soient assez précises. Toutefois c'est la méthode de référence.

b) Dosage de l'azote bactérien :

C'est une méthode lourde.

c) Mesure de l'activité enzymatique des bactéries :

- Mesure du pH ;

- Mesure de la consommation d'oxygène.

Ces méthodes sont peu précises et peu utilisées.

d) Mesure de la densité optique :

On mesure la lumière absorbée par la suspension bactérienne dans des conditions de spectre lumineux soigneusement défini. Cette méthode, rapide et apparemment précise, est de loin la plus employée.

On peut établir que la densité optique D est proportionnelle à la masse bactérienne m , dans des limites expérimentales données : $D = k \cdot m$

k est une constante liée à la technique.

III/ La courbe de croissance et les phases de la croissance :

On inocule une culture d'*Escherichia coli* dans un milieu de culture liquide non renouvelé, tamponné et ajusté à pH 7,4, incubé à 37 °C dans un bain thermostaté suffisamment aéré grâce à une agitation correcte.

Cette agitation a un rôle triple :

- rend uniforme la composition et la température du milieu ;

- assure une concentration maximale de l'oxygène dissous dans le milieu ;

- disperse suffisamment les bactéries pour obtenir un trouble homogène, dont le contenu en cellules bactériennes peut être facilement évalué.

On suit, en fonction du temps, la croissance et on dresse une courbe.

Sur la courbe de croissance on constate :

- des variations de la masse bactérienne en fonction du temps

- que la croissance est limitée dans le temps.

Selon les variations du taux de croissance on peut distinguer sur la courbe de croissance 6 parties distinctes par les lettres A à F.

Le taux de croissance μ est le nombre de divisions (ou de doublements ou de générations) par unité de temps (généralement l'heure). Ainsi si la densité optique double en 20 min on a 3 divisions à l'heure : $\mu = 3$.

Le temps de génération est l'intervalle de temps entre 2 divisions. Pour *E. coli* 20 min, *M. tuberculosis* : 27 h, *M. leprae* : 10 – 20 j.

A - Phase de latence : C'est la phase pendant laquelle aucune croissance ne se produit.

B - Phase d'accélération : C'est la phase au cours de laquelle le taux de croissance s'accroît régulièrement.

C - Phase exponentielle de croissance : C'est la phase pendant laquelle le taux de croissance devient constant et sa valeur maximale.

D - Phase de ralentissement : C'est la phase où la valeur du taux de croissance diminue progressivement.

E - Phase stationnaire maximale : Elle correspond à la valeur maximale possible de la masse bactérienne et à un arrêt de la croissance. $\mu = 0$.

F - Phase de décroissance : C'est la phase au cours de laquelle la masse bactérienne décroît et le taux de croissance prend des valeurs négatives. La phase de décroissance correspond à une mort et à une lyse progressive des bactéries en présence des déchets du métabolisme accumulés pendant la croissance.

B/ NUTRITION BACTERIENNE

I/ Besoins nutritifs des bactéries :

1°) Aliments énergétiques :

Toutes les bactéries tirent leur énergie de l'oxydation d'un substrat oxydable dit énergétique. Le substrat est soit l'oxygène, soit un composé inorganique oxygéné (nitrate, sulfate), soit un composé organique.

2°) Aliments constitutifs :

L'eau qui représente 80 – 90 % du poids d'une bactérie doit être présente dans les milieux de culture : elle peut servir de source d'hydrogène et d'oxygène.

Les autres composés élémentaires également nécessaires peuvent être répartis en 3 groupes :

a) Besoins en ions minéraux :

Les ions quantitativement les plus nécessaires sont : HPO_4^- , Cl^- , SO_4^- , K^+ , Na^+ , Ca^{++} , Mg^{++} . Certains ions appelés oligo-éléments ne sont nécessaires qu'à une concentration très faible (Fe^{++} , Mn^{++} , Co^{++}).

b) Source de carbone

Quelques bactéries utilisent le CO_2 présent dans l'air comme source de carbone pour leur nutrition, à condition qu'une source d'énergie soit fournie par ailleurs : ces bactéries sont dites autotrophes.

Toutefois, pour la majorité des bactéries, un substrat organique est la source de carbone principale et obligatoire : ces bactéries sont dites hétérotrophes.

c) Source d'azote

Toutes les bactéries peuvent assimiler l'ammoniac ou les sels d'ammonium en solution.

Les nitrates, les nitrites ou les dérivés azotés organiques (acides aminés, amines) constituent une source d'azote pour certaines bactéries.

3°) Aliments spécifiques

Beaucoup de bactéries isolées dans la nature sont capables de croître avec une seule source de carbone et d'énergie : ces bactéries sont prototrophes.

Certaines bactéries, notamment parmi les souches parasites, ne sont pas capables de croître avec un seul substrat comme source de carbone, il faut ajouter dans leur milieu des concentrations correctes de molécules qu'elles ne savent pas synthétiser : ces molécules sont appelées des facteurs de croissance.

Les bactéries exigeant un ou plusieurs facteurs de croissance pour leur nutrition sont appelées auxotrophes pour le ou les facteurs considérés.

II/ Types trophiques des bactéries :

Huit types trophiques principaux ont été définis chez les bactéries.

Types trophiques des bactéries

Fonction	Classe du besoin	Nature du besoin	Type trophique
Biosynthèses	Source de carbone	CO ₂	Autotrophe
		Composé organique	Hétérotrophe
	Facteur de croissance	Non indispensable	Prototrophe
		Indispensable	Auxotrophe
Catabolisme	Substrat énergétique	Minéral	Lithotrophe
		Organique	Organotrophe
	Source d'énergie	Lumière	Phototrophe
		Oxydation biochimique	Chimiotrophe

Les bactéries chimioorganotrophes représentent la majorité des bactéries à Gram négatif, la totalité des bactéries à gram positif et en particulier la quasi-totalité des bactéries susceptibles d'être isolées dans un laboratoire. Elles tirent leur énergie de réactions chimiques non lumineuses au cours desquelles seul un substrat organique peut être utilisé pour produire l'énergie nécessaire à la croissance. Toutes les bactéries chimioorganotrophes sont hétérotrophes (quelques espèces peuvent être autotrophes facultatives), elles peuvent être prototrophes, ou auxotrophes pour un ou plusieurs facteurs de croissance.

III/ Milieux de culture :

1°) Milieux synthétiques :

Lorsqu'un milieu de culture ne contient que des composés chimiquement définis, on le nomme milieu synthétique.

Habituellement un milieu ne contient qu'un seul substrat carboné qui est la seule source de carbone et d'énergie.

2°) Milieu semi-synthétique :

On parle de milieu semi-synthétique si l'apport de facteurs de croissance est fait par un extrait d'organismes vivants, tel qu'un extrait de levures.

3°) Milieu complexe :

Les milieux complexes sont réalisés empiriquement à partir d'infusion de viande, additionnés le plus souvent d'extraits protéiques obtenus par hydrolyse enzymatique et appelés peptones.

Les peptones pepsiques ou pancréatiques sont préparés à partir de tissus animaux (muscles, cœur, foie, cerveau, rein) ou fongiques (levures).

L'excès d'un seul substrat (minéral ou organique) peut rendre le milieu toxique. Ceci est vrai pour les milieux complexes où il y a souvent un déséquilibre entre les constituants élémentaires, particulièrement entre les acides aminés.

Pour pallier la toxicité des milieux complexes, on utilise des substances protectrices (le sang, le sérum, l'amidon, le charbon).

Le gaz carbonique, qui est éventuellement ajouté dans l'air où sont incubés les milieux de culture, joue probablement le même rôle protecteur vis-à-vis des produits toxiques présents dans les peptones (en particulier la cystéine et la glycine).

IV/ Facteurs de croissance :

1°) Définitions :

Un facteur de croissance est un métabolite essentiel que la bactérie ne sait pas synthétiser.

Un métabolite essentiel est une molécule organique indispensable au maintien de l'existence et de la croissance des bactéries.

Selon leur fonction métabolique les facteurs de croissance sont répartis en 2 groupes principaux :

1 - Les métabolites de structure : acides aminés, peptides, bases puriques et pyrimidiques, acides gras.

2 - Les vitamines ou composés catalytiques apparentés aux coenzymes : ce sont les coenzymes vraies, les précurseurs de coenzymes, des groupements prosthétiques d'enzymes diverses.

Les besoins quantitatifs sont de l'ordre de 10 µg/ml pour les facteurs de croissance du premier groupe, et inférieurs à 1 µg/ml pour ceux du 2^{ième} groupe.

2°) Applications pratiques des facteurs de croissance

a) Dosages des métabolites ou vitamines :

Ces dosages nécessitent de préparer un milieu qui satisfait toutes les exigences nutritives de la bactérie-test à l'exclusion du facteur à doser.

b) Applications en taxonomie :

Les exigences nutritives de certaines bactéries pathogènes (*Streptococcus*, *Bacteroides*) ont conduit à choisir des milieux de culture suffisamment riches (sang, extrait de levures, extrait d'organes) pour isoler ces bactéries.

Les exigences nutritives des bactéries sont utilisées pour les classer, lorsqu'elles sont constantes dans un groupe donné.

Exemple : *Haemophilus* Tous les *Haemophilus* poussent sur des milieux additionnés de sang, en réalité ils exigent seulement l'hémine et/ou le NAD.

c) Etude de la syntrophie et du satellitisme :

Haemophilus canis (auxotrophe pour l'hémine) et *Haemophilus parainfluenzae* (auxotrophe pour le NAD) peuvent se multiplier ensemble (culture mixte) dans un bouillon nutritif ne contenant ni hémine ni NAD. Ce phénomène de symbiose mutuelle a reçu le nom de syntrophie.

Haemophilus influenzae et *Staphylococcus aureus* peuvent pousser ensemble sur une gélose au sang. On observe que les colonies de *H. influenzae* qui se trouvent à proximité de celles de *S. aureus* sont nettement plus grandes que les autres. Ce phénomène est appelé satellitisme.