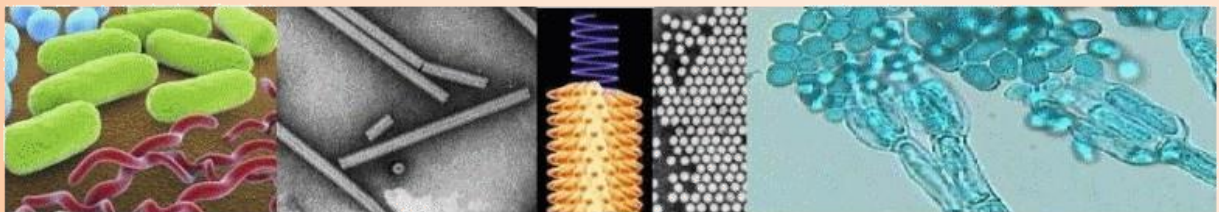
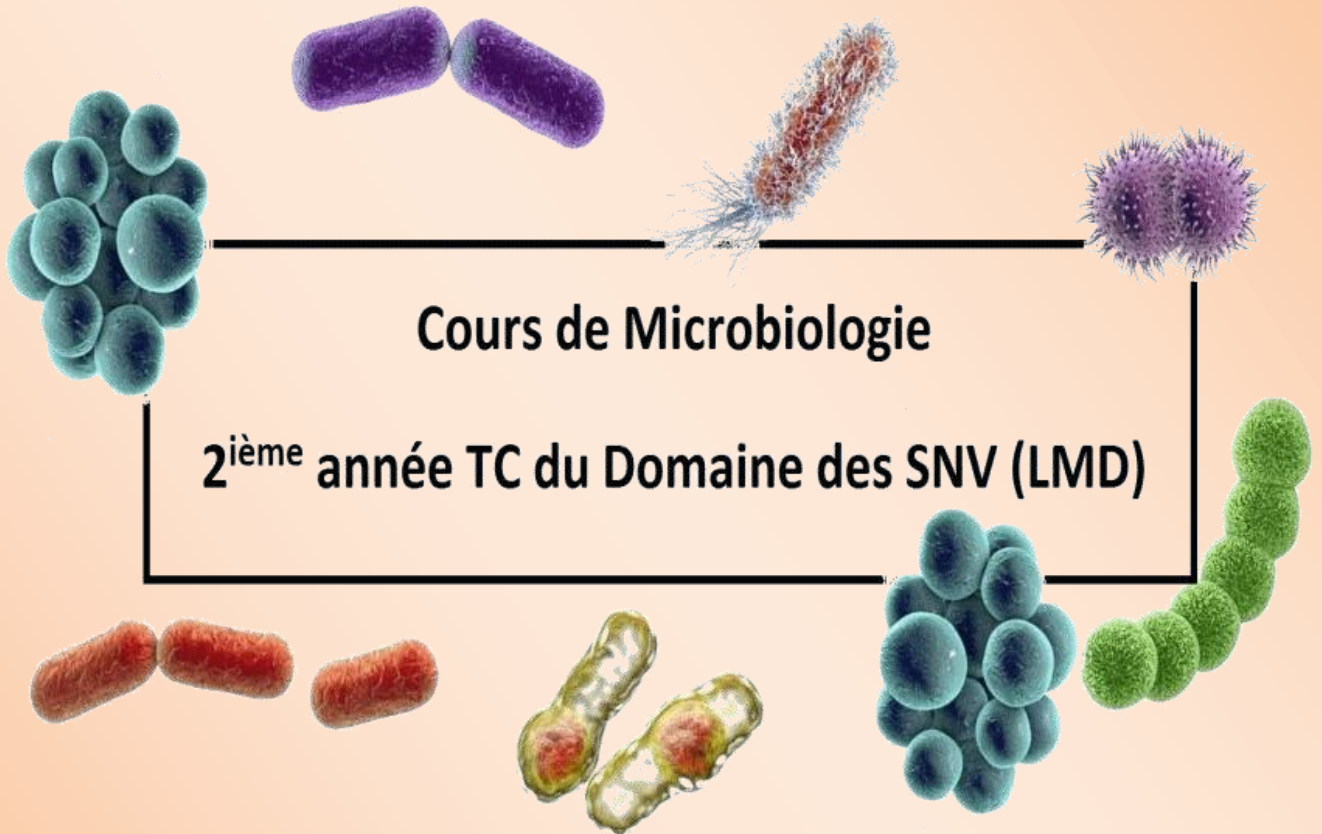


République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Mohamed BOUDIAF – M'sila
Faculté des Sciences



Dr HENDEL Noui



المسيلة في 12 ديسمبر 2021

شهادة موافقة علمية على مطبوعة بيداغوجية

للأستاذ هندل النوي - أستاذ محاضراً -

يشهد رئيس المجلس العلمي لكلية العلوم بجامعة محمد بوضياف بالمسيلة ، أنه بعد الإطلاع

على تقارير الخبرة الواردة من طرف الخبراء من صف الأستاذية :

- السيد عيسات كمال، أستاذ التعليم العالي بجامعة باتنة-2.

- السيد غضبان مولود، أستاذ التعليم العالي بجامعة محمد بوضياف- المسيلة.

والمعينين طرف المجلس العلمي لكلية العلوم في الاجتماع المنعقد في دورته العادية يوم

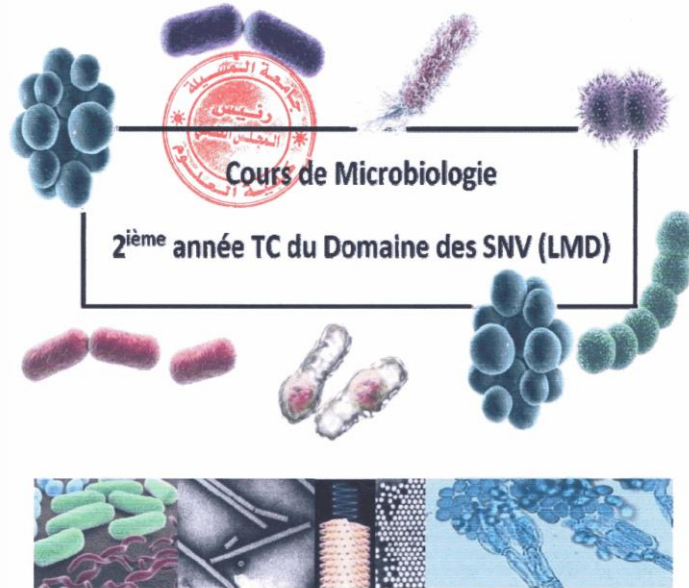
2021/11/18 لإجراء الخبرة للمطبوعة البيداغوجية الخاصة بالأستاذ هندل النوي - أستاذ

محاضر- أ- بقسم الميكروبيولوجيا و الكيمياء الحيوية و المعنونة بـ «Microbiologie» والمقررة في

برنامج التكوين السنة الثانية جذع مشترك ميدان علوم الطبيعة و الحياة بكلية العلوم، قد تمت

الموافقة عليها شكلا ومضمونا.

رئيس المجلس العلمي لكلية العلوم



Préambule

Ce polycopié est destiné aux étudiants de la deuxième année LMD du domaine des SNV et organisé selon le programme assigné par le CPND.

Volume horaire : 45 heures de cours étalées sur 15 semaines.

Objectifs: acquisition de notions sur le monde microbien, les techniques utilisés pour observer les microorganismes, la croissance et la classification des bactéries.

Contenu du cours : une première partie contenant une introduction générale à la microbiologie par une définition puis un bref historique à propos de la découverte des microorganismes et la naissance de la microbiologie et ses disciplines. Une seconde partie traitant la composition et la structure de la cellule bactérienne. Une troisième partie composée de méthodes de classification des bactéries, leur nutrition, croissance, culture, et les moyens de lutte. Enfin une partie portant des notions sur les champignons (levures et moisissures) et les virus.

Table des matières**Préambule****Définition**

1.	CHAPITRE I: LE MONDE MICROBIEN	1
1.1.	Historique	1
1.2.	Place des microorganismes dans le monde vivant	4
1.2.1.	Organisation biologique	5
1.2.2.	Les types d'organisation cellulaire des protistes	6
1.2.3.	protiste des virus	6
1.3.	Caractéristiques générales de la cellule procaryote	6
2.	CHAPITRE II: LA CELLULE BACTÉRIENNE	8
2.1.	Observation de la cellule	9
2.2.	Morphologie cellulaire	9
2.2.1.	Taille	9
2.2.2.	Forme	10
2.2.2.1.	Forme sphérique	10
2.2.2.2.	Forme cylindrique	10
2.2.2.3.	Forme spiralée	11
2.3.	La paroi	12
2.3.1.	Composition chimique	12
2.3.2.	Structure moléculaire	13
2.3.3.	Fonction	15
2.3.4.	Coloration de GRAM	16
2.4.	La membrane plasmique	34
2.4.1.	Composition chimique	35
2.4.2.	Structure	35
2.4.3.	Fonctions	36
2.5.	Cytoplasme	37
2.5.1.	Ribosomes	38
2.5.2.	Substances de réserve	40
2.6.	Le chromosome	40
2.6.1.	Morphologie	41
2.6.2.	Composition chimique et structure	42
2.6.3.	Réplication	44
2.6.3.1.	Mécanisme de réplication de l'ADN	45
2.7.	Les plasmides	48
2.7.1	Structure	48
2.7.2	Propriétés.	48
2.8.	Les pili (fimbriae)	50
2.8.1.	Structure	50
2.8.2.	Fonction	50
2.8.2.1.	Les pili communs	50
2.8.2.2.	Les pili sexuels	51
2.9.	La capsule	51
2.9.1	Mise en évidence et morphologie	51
2.9.2.	Composition chimique	52
2.9.3.	Fonctions	53
2.10.	Cils ou flagelles	54
2.10.1.	Mise en évidence	54
2.10.2.	Structure	55
2.10.3.	Fonctions	57
2.11.	Spore	58
2.11.1.	Morphologie et structure	58
2.11.2.	Sporulation.	60
2.11.3.	Propriétés	61
2.11.3.1.	Thermorésistance	61

2.11.3.2.	<i>Résistance aux agents chimiques et physiques</i>	62
2.11.3.3.	<i>Synthèse d'antibiotiques</i>	62
2.11.4.	<i>Germination</i>	62
3.	CHAPITRE III : CLASSIFICATION BACTÉRIENNE	49
3.1.	<i>Généralités</i>	49
3.2.	<i>Classification phénétique</i>	51
3.3.	<i>Classification numérique</i>	51
3.4.	<i>Classification phylogénique</i>	55
3.5.	<i>Classification de Bergey</i>	59
4.	CHAPITRE IV: NUTRITION BACTERIENNE	62
4.1.	<i>Besoins élémentaires</i>	62
4.1.1.	<i>Source de carbone</i>	62
4.1.2.	<i>Source d'énergie</i>	63
4.1.3.	<i>Source d'azote</i>	64
4.1.4.	<i>Source de Soufre et Phosphore</i>	64
4.1.5.	<i>Autres éléments minéraux</i>	64
4.2.	<i>Besoins spécifiques : Facteurs de croissance</i>	65
4.3.	<i>Facteurs physiques</i>	65
4.3.1.	<i>Température</i>	65
4.3.2.	<i>pH</i>	68
4.3.3.	<i>Oxygène</i>	68
4.3.4.	<i>Pression osmotique :</i>	70
5.	CHAPITRE IV: CROISSANCE BACTERIENNE	71
5.1.	<i>Mesure de croissance</i>	71
5.1.1.	<i>Mesure du nombre de cellules</i>	71
5.1.2.	<i>Mesure de la biomasse</i>	73
5.1.2.1.	<i>Détermination du poids sec</i>	73
5.1.2.2.	<i>Mesure du trouble</i>	73
5.2.	<i>Paramètres de croissance</i>	74
5.2.1.	<i>Le temps de génération (temps de doublement)</i>	74
5.2.2.	<i>Taux de croissance</i>	74
5.3.	<i>Courbe de croissance (culture discontinue)</i>	74
5.3.1.	<i>Phase de latence</i>	75
5.3.2.	<i>Phase exponentielle</i>	75
5.3.3.	<i>Phase stationnaire</i>	76
5.3.4.	<i>Phase de mortalité ou de déclin</i>	76
5.4.	<i>Culture bactérienne</i>	78
5.4.1.	<i>Milieus de culture</i>	78
5.4.2.	<i>Culture des bactéries</i>	79
5.4.2.1.	<i>En milieu liquide</i>	79
5.4.3.	<i>Conservation des cultures pures</i>	81
5.5.	<i>Agents antimicrobiens</i>	81
5.5.1.	<i>Définitions</i>	81
5.5.2.	<i>Agents physiques</i>	82
5.5.2.1.	<i>Chaleur</i>	82
5.5.4.	<i>Les antibiotiques</i>	85
6.	CHAPITRE VI: NOTIONS DE MYCOLOGIE ET DE VIROLOGIE	90
6.1.	<i>Mycologie (levures et moisissures)</i>	90
6.1.1.	<i>Morphologie et structure des champignons microscopiques</i>	90
6.1.2.	<i>Les principales classes de champignons</i>	92
6.1.2.1.	<i>Les Chytridiomycètes</i>	92
6.1.2.2.	<i>Les Zygomycètes</i>	92
6.1.2.3.	<i>Les Ascomycètes</i>	92
6.1.2.4.	<i>Les Basidiomycètes</i>	92
6.1.2.5.	<i>Les Deutéromycètes</i>	92
6.1.3.	<i>Propagation</i>	93
6.1.3.1.	<i>Multiplication asexuée</i>	93

6.1.3.1.1. Levures (blastomycètes)	93
6.1.3.1.2. Champignons filamenteux (hyphomycètes)	94
6.1.3.2. Reproduction sexuée	97
6.2. Notions de virologie	101
6.2.1. Introduction et définition	101
6.2.2. Taille du virus	101
6.2.3. Génome	102
6.2.4. Capside	102
6.2.5. Enveloppe	103
6.2.6. Virus complexes	104
6.2.7. Classification des virus	104
6.2.8. Multiplication des virus	105
Bibliographie	

Définition

La microbiologie, de (*micro*: petit) (*bios* : vie) et (*logos* : science), se définit comme l'étude d'organismes trop petits pour être vus à l'œil nu c. à d. l'étude des microorganismes. Les bactéries répondent parfaitement à cette définition, mais qu'en est-il des champignons et des algues? Ces deux groupes contiennent chacun des membres qui sont loin d'être microscopiques. En revanche, certains animaux, tels que les vers nématodes, peuvent être microscopiques, mais ne sont pas considérés comme le domaine du microbiologiste. Les virus représentent un autre cas particulier; ils sont certainement microscopiques (la plupart sont submicroscopiques), mais selon la plupart des définitions acceptées, ils sont des êtres non vivants. Néanmoins, ceux-ci sont également du domaine du microbiologiste. La microbiologie utilise des techniques spécifiques d'isolement et de croissance des microorganismes.

1. CHAPITRE I: LE MONDE MICROBIEN

1.1. Historique

C'est le Hollandais VAN LEEWENHOEK (1632-1723) qui, pour la première fois en 1676, observa et décrivit des microorganismes à l'aide de microscopes simples, d'agrandissement de 50 à 300 fois, composés de lentilles doubles convexes maintenues entre deux plaques d'argent (Fig. 1). Il décrivit "**des animalcules**" en forme de sphères, bâtonnets et spirilles, dans l'eau de rivière, des décoctions de foin et dans la salive (Fig. 2).

L'essor de la microbiologie au cours de la seconde moitié du 19^{ème} siècle est marqué par la découverte du rôle des microorganismes dans les transformations de la matière organique et la genèse des maladies.

L'étude des fermentations par LUIS PASTEUR (1822 – 1895) amena la découverte de leur nature biologique : les fermentations sont produites par des microorganismes (levures ou bactéries) qui se multiplient. Pendant 20 ans PASTEUR poursuivit ses travaux sur les fermentations alcooliques, butyriques, acétiques, et sur les maladies qui les affectent et qui

sont dues à des contaminants que l'on peut détruire par chauffage à 56°C; procédé dit **pasteurisation**.

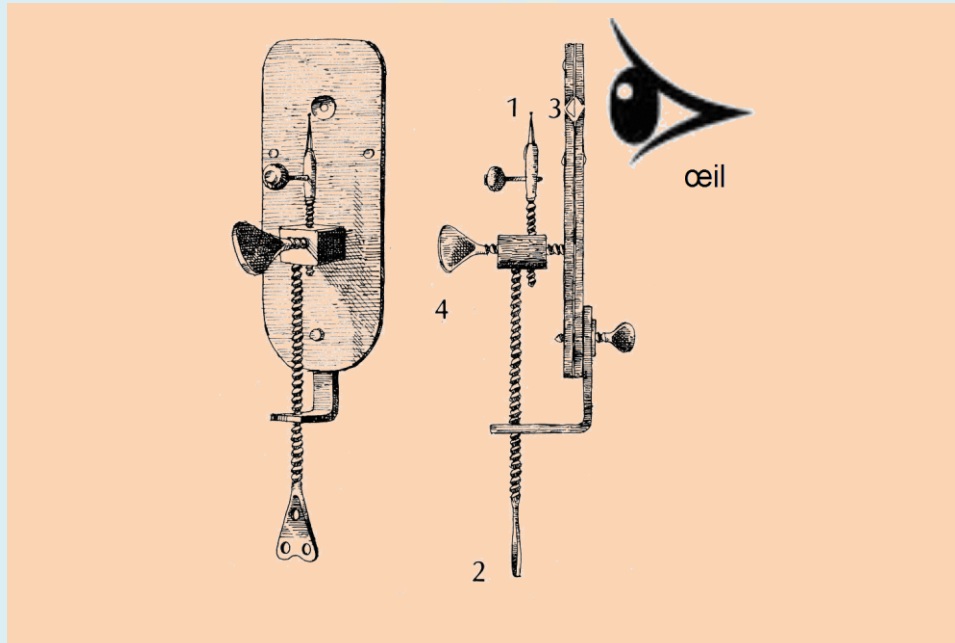


Fig. 1 Microscope de Leewenhoek (Hogg, 2013)

1- Porte-objet, 2- vis de déplacement du porte-objet, 3- lentille, 4- réglage de hauteur du porte-objet.

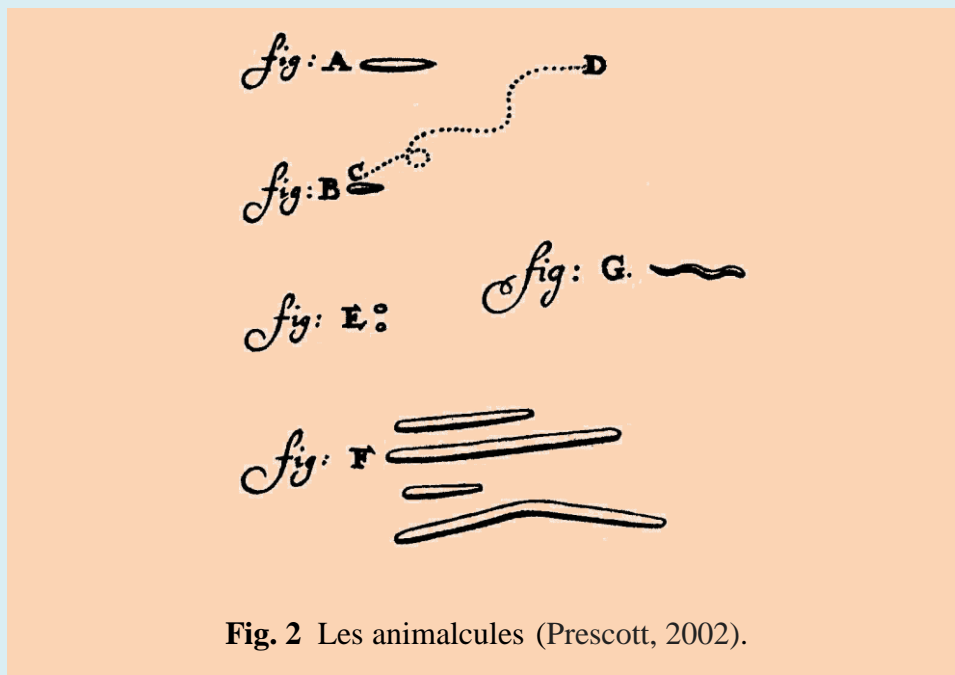


Fig. 2 Les animalcules (Prescott, 2002).

Parallèlement, PASTEUR mit en évidence la présence de microorganismes dans l'atmosphère. Il montra que l'introduction et le développement de ces microorganismes dans certains liquides organiques sont la cause de leurs altérations et mit fin aussi à la controverse entre scientifiques de l'époque sur la croyance à la génération spontanée d'êtres vivants microscopiques à partir de matières organiques inertes (Fig. 3). Les résultats amenèrent ainsi l'application de méthodes de stérilisation par la chaleur.

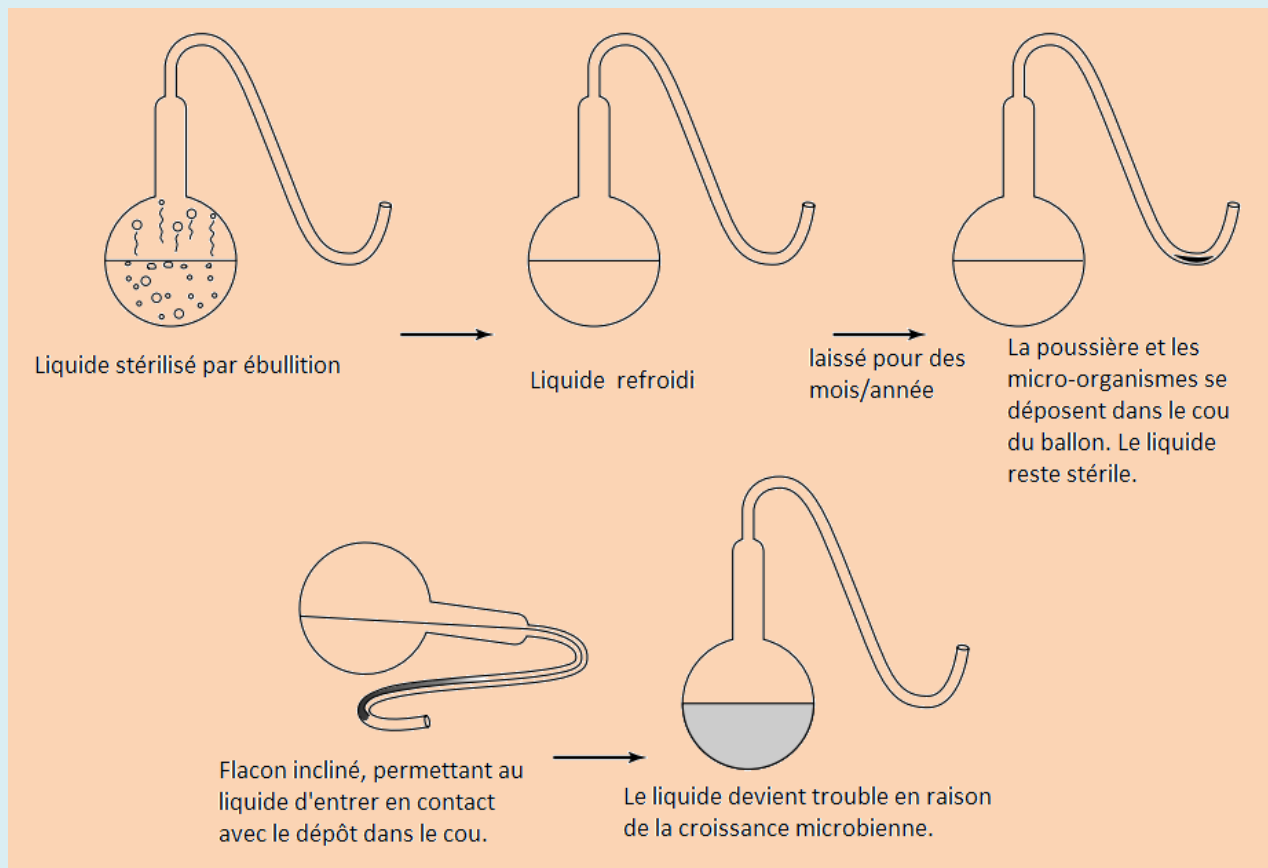


Fig. 3 Les flacons à col de cygne de Pasteur (Hogg, 2013).

Des solutions de bouillon riches en nutriments ont été placées dans des flacons et bouillies. Les goulots des flacons étaient chauffés et étirés en forme courbée, mais maintenus ouverts à l'atmosphère. Pasteur a montré que le bouillon restait stérile car toute poussière et micro-organismes contaminants restaient piégés dans le goulot du ballon tant qu'il restait en position verticale.

La découverte des germes dans l'air eut d'autres conséquences fondamentales, en chirurgie. La pratique de l'antisepsie puis de l'asepsie permit à la chirurgie de faire d'énormes progrès.

La médecine fut révolutionnée par la découverte du rôle des microorganismes dans la genèse des maladies, par les travaux de ROBERT KOCH (1843 – 1910) sur la maladie épidémique de **charbon**. KOCH et ces collaborateurs établirent les "postulats de KOCH" qui forment bases méthodologiques de la bactériologie médicale : Pour rattacher un microorganisme spécifique à une maladie infectieuse,

- Il faut que ce micro-organisme soit retrouvé dans tous les cas de la maladie considérée et que sa distribution dans l'organisme corresponde aux lésions caractéristiques de la maladie.
- Il faut qu'il soit isolé en culture pure et,
- Il faut qu'il soit cultivé *in vitro* pendant plusieurs générations le micro-organisme reproduise la même maladie chez les animaux « sensibles ».
- Il faut enfin qu'il puisse être ré-isolé à partir des animaux expérimentalement inoculés.

La découverte, par PASTEUR, de la vaccination par germes atténués, appliquée à grande échelle à la maladie du charbon, marqua le début de la prévention des maladies infectieuses.

Les travaux de WINOGRADSKI (1856 – 1953) et BEIJERINCK (1851 – 1931) montrèrent le rôle des bactéries dans la nature. De nombreux microorganismes participent fondamentalement aux grands cycles biologiques naturels, du carbone, de l'azote, du soufre, la remise en circulation des éléments chimiques bloqués dans les déchets organiques et les cadavres végétaux ou animaux, sous des formes minérales simples, assimilables par les plantes, et indispensables à la continuité de la vie sur la terre. C'est alors l'agriculture qui commença à bénéficier des connaissances acquises en microbiologie.

1.2. Place des microorganismes dans le monde vivant

Avant la découverte des microorganismes, tous les êtres vivants étaient classés à l'intérieur du règne animal ou du règne végétal.

La découverte de nouvelles formes vivantes microscopiques rendait difficile leur classement dans le règne animal ou végétal. Les algues (photosynthétiques) et les champignons (en raison de leur immobilité et de la morphologie de certains champignons supérieurs) pouvaient être rapprochés des plantes. Les protozoaires, mobiles, non photosynthétiques, sont souvent considérés comme de "petits animaux". Les bactéries sont assez difficiles à situer. Mais sous leur apparente diversité de taille, de morphologie, l'ensemble constitue le règne des **protistes** (solution proposée par HAECKEL en 1866)

On donne le nom de protistes ou de microbes (micro : petit et bios : vie) aux organismes unicellulaires ou multicellulaires dont les cellules végétatives sont toutes équivalentes et ne présentent aucune spécialisation fonctionnelle.

1.2.1. Organisation biologique

- La **plupart** des protistes sont des êtres **unicellulaires**, ils sont dits microscopiques. Chaque cellule, indépendante, est donc un "organisme complet". C'est le cas des bactéries, des protozoaires, des algues microscopiques; ceci est rarement trouvé chez les champignons (levures). Ces êtres vivants unicellulaires présentent cependant de grandes différences de taille, de formes et d'organisation interne.
- **Certains** protistes sont **pluricellulaires** ; lorsque le nombre de cellules est petit, la taille reste microscopique. Mais certains organismes multicellulaires, surtout parmi les algues et les champignons, peuvent atteindre des tailles importantes. Leur apparence extérieure (morphologie et taille) les rapprocherait des plantes.
- **Certains** sont **cénocytiques**; c.à.d. constitués d'une masse cytoplasmique importante à nombreux noyaux, sans véritable cloisonnement en unités cellulaires. Ils peuvent avoir une taille assez importante.

Chez ces organismes multicellulaires ou cénocytiques, les cellules végétatives ne présentent pas de spécialisation fonctionnelle et sont toutes équivalentes au sein de l'organisme.

1.2.2. Les types d'organisation cellulaire des protistes

Les algues, protozoaires, et champignons sont formés de cellules présentant certains éléments de structure identiques à ceux des cellules animales et végétales. Ils possèdent une cellule du type **eucaryote** "à noyau vrai" et sont appelés **protistes supérieurs**.

Les bactéries et les algues bleu-vert (cyanobactéries) ont un type de cellule **procaryote**. Ce sont des **protistes inférieurs**.

D'autres organismes, qui ressemblent aux bactéries mais, phylogénétiquement, ils ne sont ni eucaryotes ni procaryotes, ont été découverts. Ce sont des bactéries très anciennes appelées **archaebactéries**. Elles formeraient une troisième classe de protistes.

1.2.3. protiste des virus

Les virus ont une taille inférieure à celle de la plupart des bactéries; les protistes les plus petits. Ces agents infectieux invisibles au microscope optique traversent les filtres qui retiennent les bactéries. Ils ont des caractères très particuliers qui les qualifient d'être classés séparément.

1.3. Caractéristiques générales de la cellule procaryote

La cellule procaryote est entièrement dépourvue de membrane nucléaire; son matériel génétique est présent en suspension dans le cytoplasme sous la forme d'une molécule unique d'ADN circulaire. Cet ADN est répliqué au moment de la division cellulaire par un mécanisme spécifique, sans mitose.

La plupart des cellules procaryotes, sinon toutes, possèdent de petites molécules circulaires d'ADN extrachromosomique : les **plasmides**. Mais elles sont dépourvues d'organites intracellulaires fonctionnellement spécialisés présents chez les cellules eucaryotes.

Les bactéries (procaryotes) se présentent sous des formes peu diversifiées, maintenues par une paroi rigide : forme cylindrique, forme sphérique et des formes spiralées.

Les principaux caractères différentiels, structuraux et fonctionnels des cellules procaryotes et eucaryotes sont résumés dans le tableau suivant (Tab. 1):

Tab.1 différences entre cellule eucaryote et cellule procaryote.

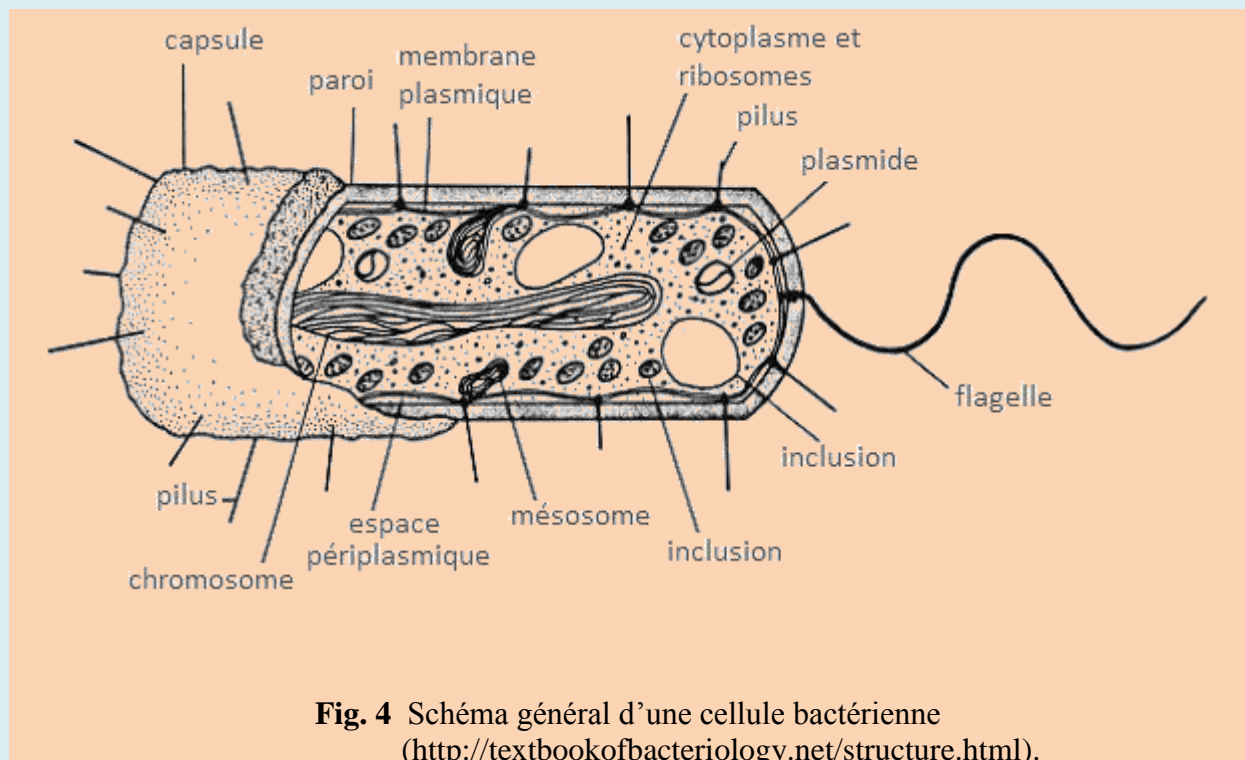
Structure / fonction	Cellule eucaryote "protistes supérieurs"	Cellule procaryote "protistes inférieurs"	
Appareil nucléaire	<ul style="list-style-type: none"> - entouré d'une membrane nucléaire. - constitué d'ADN associé à des protéines "histones" - organisé en plusieurs chromosomes 	<ul style="list-style-type: none"> - pas de membrane nucléaire "noyau diffus dans le cytoplasme". - constitué d'ADN non associé à des protéines. - chromosome unique circulaire. 	
Cytoplasme	<ul style="list-style-type: none"> - structuré de façon complexe "réticulum endoplasmique..." - en mouvement continu (cyclose) - nombreux ribosomes libres ou sur systèmes membranaires internes 	<ul style="list-style-type: none"> - pas de R.E. - pas de courants cytoplasmiques. - nombreux ribosomes libres. 	
Paroi	<ul style="list-style-type: none"> - non présente chez tous les protistes supérieurs. - rôle de protection. - réseau macromoléculaire formé de : <ul style="list-style-type: none"> • algues vertes : cellulose. • champignon : chitine. 	<ul style="list-style-type: none"> - constante chez les protistes inférieurs. - rôle de protection. - réseau macromoléculaire formé de : mucocomplexe "mucopeptide". 	
Caractéristiques fonctionnelles :	* respiration	<ul style="list-style-type: none"> - organites spécialisés : mitochondries. 	<ul style="list-style-type: none"> - pas de mitochondries; "enzymes localisées au niveau de la membrane cytoplasmique et de mésosomes.
	* reproduction	<ul style="list-style-type: none"> - division nucléaire : mitose. - reproduction sexuée par fusion de 2 cellules reproductrices avec : <ul style="list-style-type: none"> • fusion nucléaire : formation de zygote. • division nucléaire réductrice : méiose. 	<ul style="list-style-type: none"> - division nucléaire : amitose. - phénomènes sexuels rares et différents : <ul style="list-style-type: none"> • conjugaison sans fusion cellulaire. • transfert partiel de matériel génétique d'une cellule donatrice à une réceptrice : pas de fusion nucléaire. • pas de division réductrice.
Fonctions facultatives :	* photosynthèse	<ul style="list-style-type: none"> - algues eucaryotes : chloroplastes "taille importante". 	<ul style="list-style-type: none"> - algues bleu-vert et quelques bactéries photosynthétiques : pas de chloroplastes "structure différente, petite taille".
	* mouvement	<ul style="list-style-type: none"> - amiboïde "eucaryotes sans paroi" - contraction de flagelles "protozoaires, algues" 	<ul style="list-style-type: none"> - pas de mouvement amiboïde "paroi rigide" - contraction de flagelles "structure différente et plus simple".

2. CHAPITRE II: LA CELLULE BACTÉRIENNE

Les bactéries sont les plus petits organismes connus doués de métabolisme et capables de se croître et de se diviser aux dépens de substances nutritives. Leur diamètre est d'environ 1µm. c'est la microscopie électronique qui a mis en lumière l'architecture de la bactérie. La cellule apparaît entourée d'une paroi rigide qui lui donne sa forme, sa résistance et qui entoure la membrane cytoplasmique mince. Le cytoplasme sous-jacent, homogène, contient les ribosomes et parfois des substances de réserve. L'appareil nucléaire, d'un aspect fibrillaire, réticulé, n'est pas entouré d'une membrane (Fig. 4).

D'autres structures dont la présence est facultative chez les bactéries sont:

- La capsule: enveloppe externe.
- Les flagelles: confèrent à la bactérie sa mobilité.
- Les pili (fimbriae): plus fins que les flagelles, rigides et cassants, dont certains sont appelés pili sexuels.
- Les spores: n'existent que chez certaines espèces bactériennes et sont des formes de résistance.



2.1. Observation de la cellule

Le microscope permet, avec des grossissements pouvant aller jusqu'à 2500 (1000 étant l'utilisation courante), d'observer les structures dont la taille est de l'ordre de 1µm.

Divers procédés peuvent être utilisés :

- Observation entre lame et lamelle, dite " à l'état frais", de bactéries en milieu liquide. La coloration à l'encre de Chine assure la mise en évidence de la capsule.
- Observation de frottis séchés, fixés et colorés. Leur examen à l'immersion, en plaçant une goutte d'huile entre la lentille de l'objectif et la préparation, permet d'obtenir une image plus nette.
- D'autres procédés nécessitant un système optique particulier sont quelquefois nécessaires. L'examen sur fond noir est indispensable pour observer les tréponèmes (Syphilis). L'observation en contraste de phase révèle les détails morphologiques des bactéries vivantes non colorées.

Tout cela concerne la microscopie photonique. Pour révéler les éléments d'une taille de 5 à 10 nm, on fait appel à la microscopie électronique.

2.2. Morphologie cellulaire

Lorsqu'on observe les bactéries en microscope optique, on reconnaît rapidement la forme des cellules, leurs dimensions et les arrangements qu'elles constituent entre elles. Ces informations constituent le critère essentiel de reconnaissance et d'identification.

2.2.1. Taille

Les bactéries se situent entre les virus et les algues unicellulaires ou les protozoaires.

Exemples

- Les mycoplasmes comme *Mycoplasma pneumoniae* de l'ordre de 0.1µm.
- Les entérobactéries comme *Escherichia coli*: 1x2 à 3µm.
- Les tréponèmes comme *Treponema pallidum* 0.1 à 0.2 x 5 à 20µm.
- Les spirochètes: 0.2 à 0.7 x 5 à 500µm.

2.2.2. Forme

Les formes des bactéries sont extrêmement diverses dont trois principales : la forme sphérique ou coccoïde, la forme cylindrique ou en bâtonnet et la forme spiralée ou hélicoïdale.

2.2.2.1. Forme sphérique

Elle caractérise les cocci. Leur mode de division donne naissance à des groupements typiques (fig. 5). Chez les diplocoques, la cellule se divise dans un seul plan et donne naissance à deux nouvelles cellules étroitement associées: d'un aspect effilé "en flamme de bougie" chez les pneumocoques, et d'un aspect réniforme ou en " grain de café "chez les méningocoques.

La poursuite régulière de ce mode de division engendre des chaînettes, caractéristique des streptocoques.

La division des cocci sur deux plans forme des groupements de quatre cellules, les tétrades.

En se multipliant dans les trois dimensions, les cocci composent des cubes réguliers de cellules comme chez les sarcines ou des amas asymétriques "en grappe" comme chez les streptocoques.

2.2.2.2. Forme cylindrique

On distingue deux principales formes : le bâtonnet droit ou bacille et le bâtonnet incurvé ou vibrion (Fig. 5).

Le bacille caractérise de nombreuses bactéries (Fig. 5): les entérobactéries aux extrémités arrondies (1), les gros *Bacillus* nettement rectangulaires (2) les bacilles fusiformes aux extrémités effilées (3), les corynébactéries renflées à l'un de leurs pôles(4).

Comme les cocci, les bacilles peuvent être associés en diplobacilles (7) ou en chaînettes (5). Parfois les bacilles sporulés peuvent être de très petite taille et se confondre avec les cocci; ils sont dits alors coccobacilles (6).

Le vibrion (8), bacille incurvé en "virgule", réunit de nombreuses espèces aquatiques et quelques espèces pathogènes pour l'homme (*Vibrio cholerae*).

2.2.2.3. Forme spiralée

Cette forme est caractéristique d'un petit groupe de micro-organismes possédant un corps hélicoïdal et extrêmement allongé (Fig. 5, 9).

Les leptospires de 5 à 10 μm de long ont des extrémités en crochets (Fig. 5, 10), la taille des tréponèmes peut atteindre 15 μm et celle des *Spirochaeta* se situe entre 30 et 500 μm .

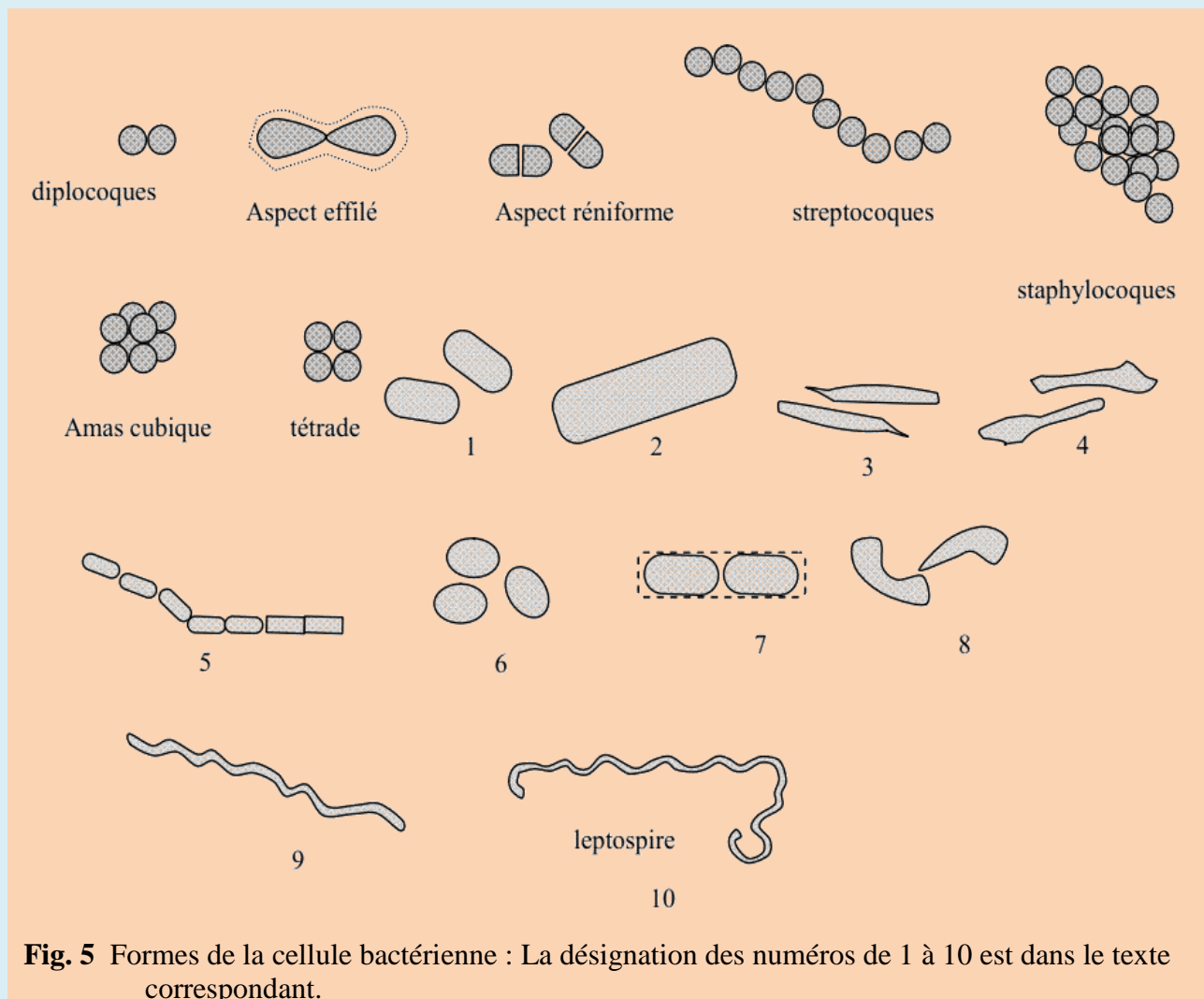


Fig. 5 Formes de la cellule bactérienne : La désignation des numéros de 1 à 10 est dans le texte correspondant.

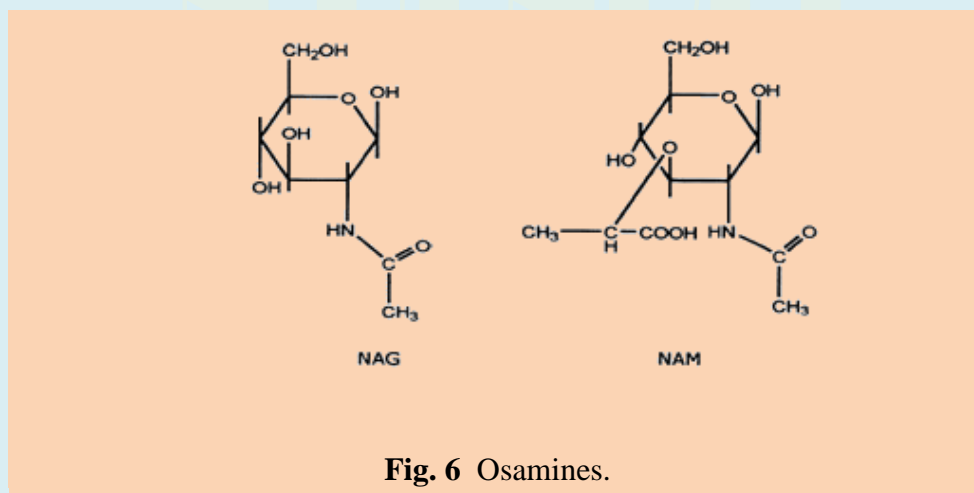
2.3. La paroi

La paroi constitue l'enveloppe externe des bactéries. A l'exception des mycoplasmes, elle est présente chez toutes les bactéries; elle assure la forme et la rigidité. Elle est aussi responsable de la protection physique de la membrane plasmique sous-jacente (pression osmotique interne de 5 à 20at). Le composant principal de la paroi est un complexe moléculaire appelé **peptidoglycane** (ou encore muco-complexe, mucopeptide ou muréine). D'autres constituants sont présents mais varient selon les espèces, tel que le lipopolysaccharide.

2.3.1. Composition chimique

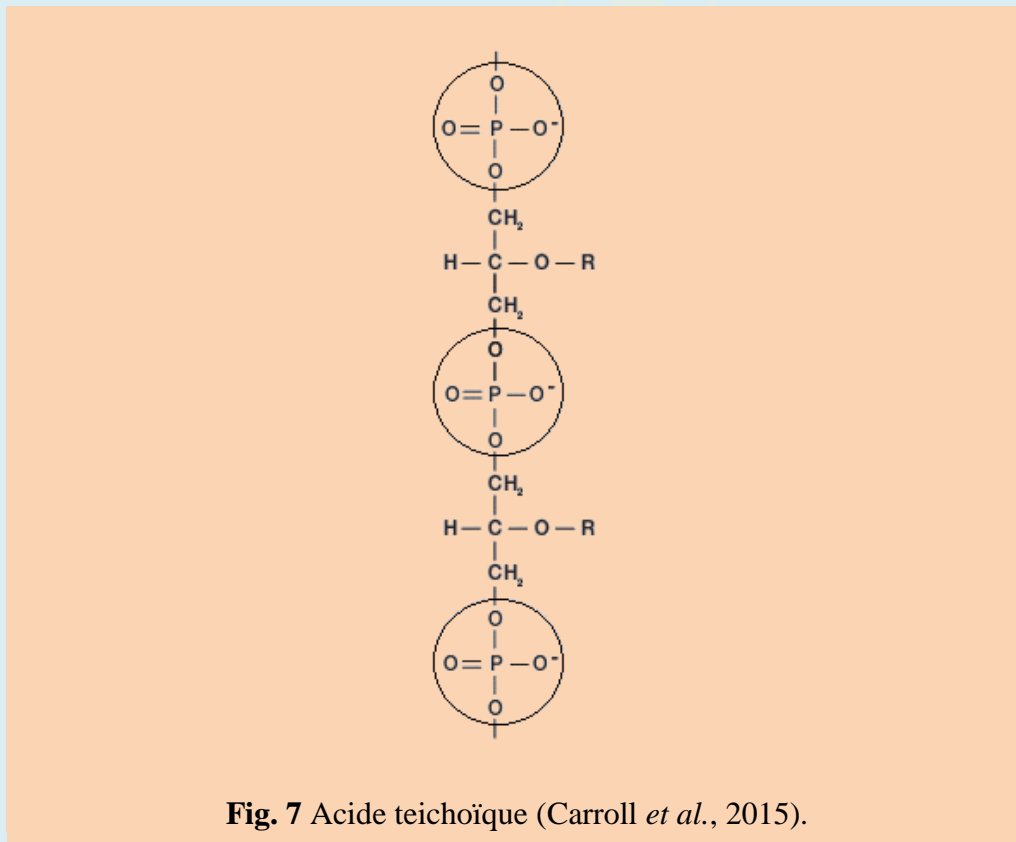
La paroi représente 20% du poids sec de la bactérie. Divers éléments peuvent être représentés selon les espèces:

- **Osamines (sucres aminés):** On distingue généralement la **N-acétylglucosamine (NAG)** et **L'acide N-acétylmuramique (NAM)** (Fig. 6).



- **Acides aminés:** Trois acides aminés sont isolés régulièrement chez toutes les bactéries: La **D** et la **L-alanine**, l'**acide D-glutamique** et la **L-lysine** ou l'**acide di-aminopimélique**. De nombreux acides aminés rencontrés habituellement dans les protéines sont absents.
- **Acides teichoïques :** Ils sont uniquement présents chez les **bactéries** à Gram positif. Deux types ont été isolés : le **polyribitol-phosphate** et le **polyglycérol-phosphate**. Le segment

de l'acide téchoïque est formé de phosphate, glycérol, et une chaîne latérale, R. : R peut représenter D-alanine, glucose, ou autres molécules (fig.7).



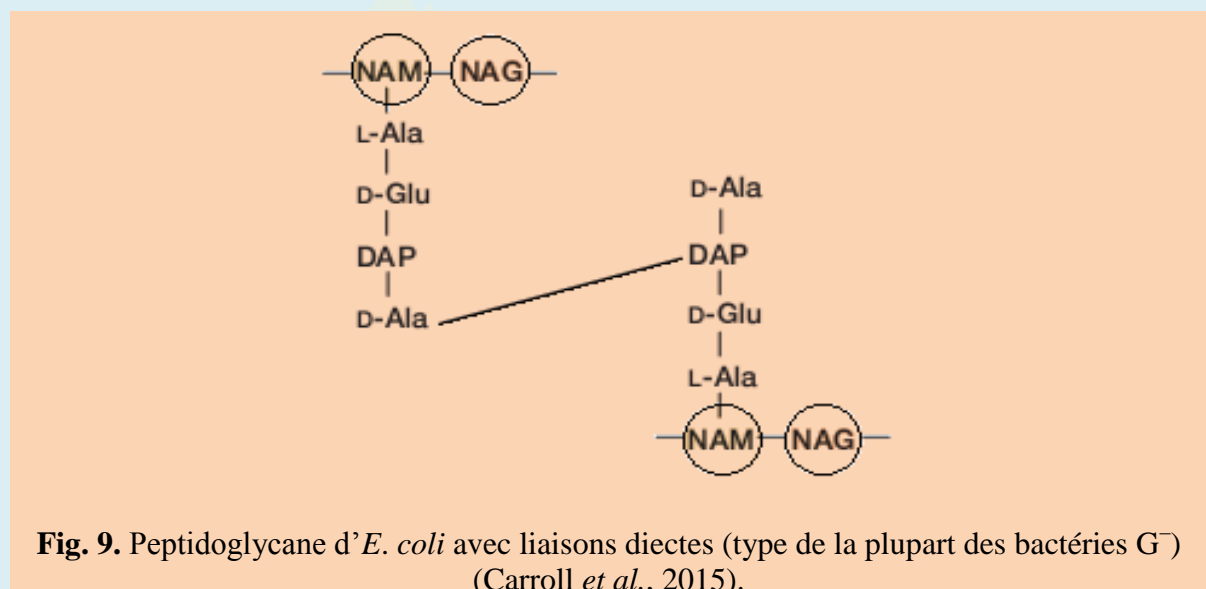
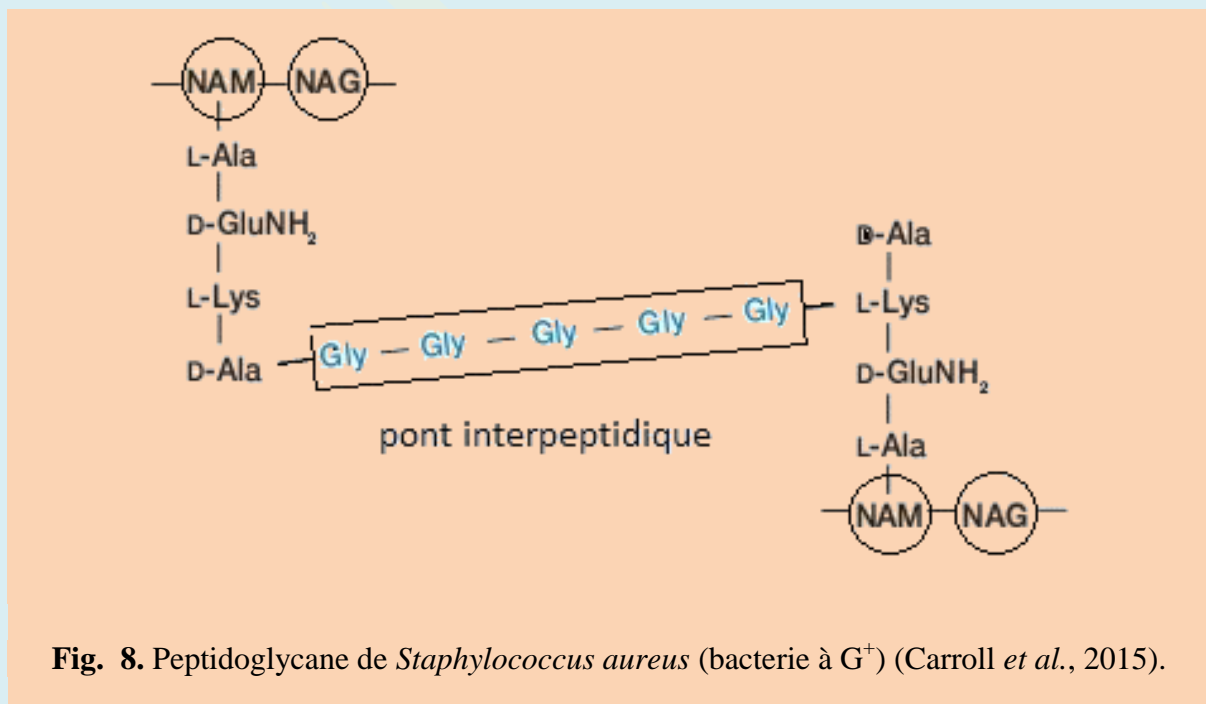
- **Oses simples:** Ils sont nombreux: **glucose, galactose, mannose**. Certains sont spécifiques (rhamnose chez certains streptocoques).
- **Lipides:** Ils sont présents en faibles proportions ou absents chez les bactéries à Gram positif. Ce sont des lipides simples liés aux polysaccharides des bactéries à Gram négatif.
- **Acides mycoliques:** Ce sont des acides gras à très longue chaîne (C=60) ramifiée. Ils caractérisent particulièrement les bactéries acido-alcool-résistantes telles les mycobactéries.

2.3.2. Structure moléculaire

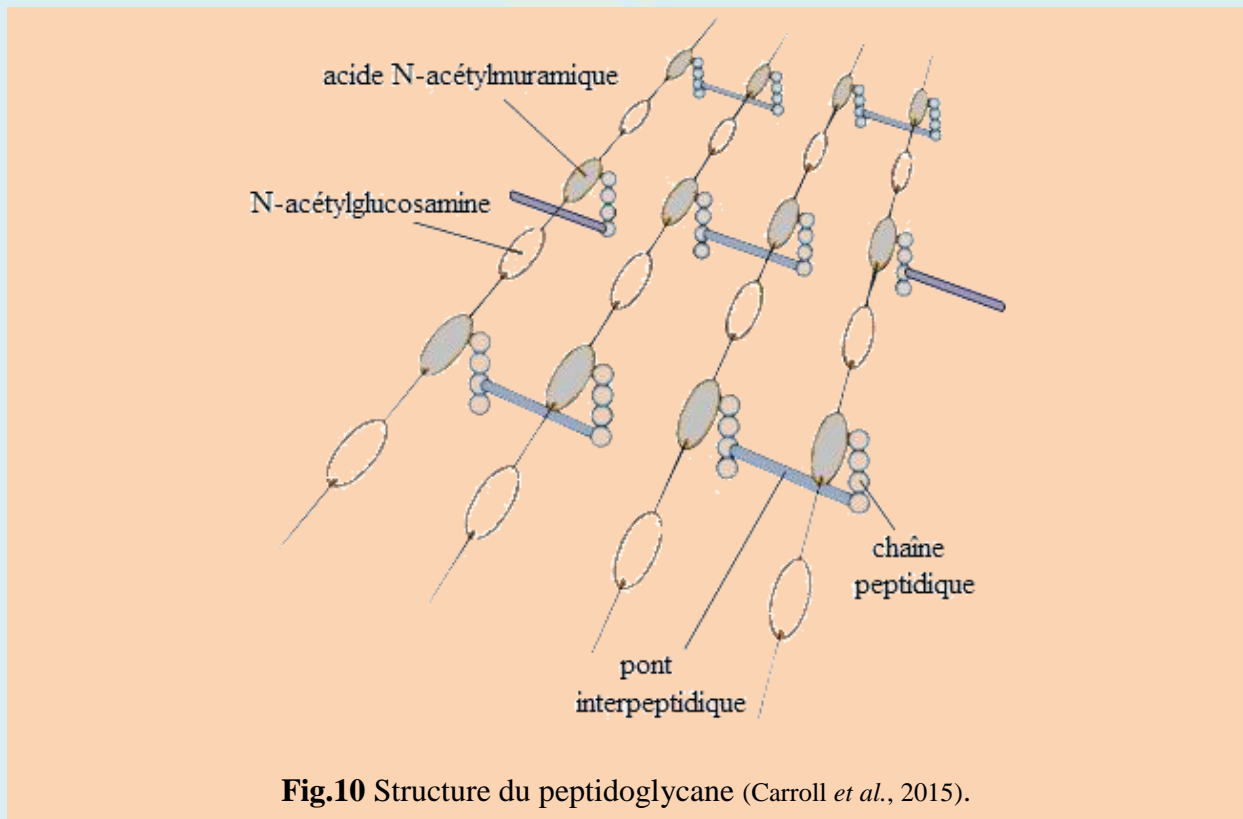
Il existe une différence de structure entre la paroi des bactéries à Gram positif, qui est plus épaisse (15 à 80nm) et d'aspect plus homogène, et celle des bactéries à Gram négatif qui

est plus fine (6 à 15nm) et plus hétérogène.

L'élément structural de base de toutes les parois bactériennes est le **peptidoglycane**. Il s'agit d'un polymère de poids moléculaire élevé qui représente jusque 90% du matériel de cette paroi. Il est constitué d'unités de glucosaminopeptides comportant une molécule de N-acétylglucosamine reliée à une molécule d'acide N-acétylmuramique par une liaison β -glucosidique (ces osamines sont alternés dans des chaînes linéaires). L'acide muramique est associé à une chaîne de quatre acides aminés appelée térapeptide (Fig. 8, 9).



Ces unités mucopeptidiques sont polymérisées grâce à deux principaux types de liaison; les liaisons β -glucosidiques réunissant l'acide N-acétylmuramique et le N-acétyl-glucosamine ou l'acide teichoïque, l'association avec les chaînes peptidiques, d'une part, et le pontage entre la D-alanine d'un tetrapeptide et la L-lysine d'un autre tetrapeptide (liaison inter-peptidique), d'autre part. Cette structure en réseau donne à la cellule sa rigidité (Fig. 10).



2.3.3. Fonction

L'action du lysozyme destructeur du peptidoglycane (rompt les liaisons β , (1-4) glucosidiques) permet de comprendre le rôle de la paroi chez les bactéries (Fig. 11).

- Avec une bactérie G^+ (*Bacillus megaterium*), l'action engendre la destruction de la paroi, la cellule gonfle et éclate. Pour éviter la lyse, la pression interne est équilibrée par une forte concentration de saccharose (milieu isotonique). Dans ces conditions, la paroi est détruite mais la cellule n'éclate pas; elle prend une forme sphérique appelée **protoplaste** qui a perdu ses propriétés initiales antigéniques, ne fixe plus le bactériophage et ne se divise pas.
- Avec une bactérie G^- (*Escherichia coli*) et en milieu hypertonique, la paroi est détruite

mais la cellule n'éclate pas; elle prend une forme globuleuse appelée **sphéroplaste** qui conserve toutes ses propriétés initiales.

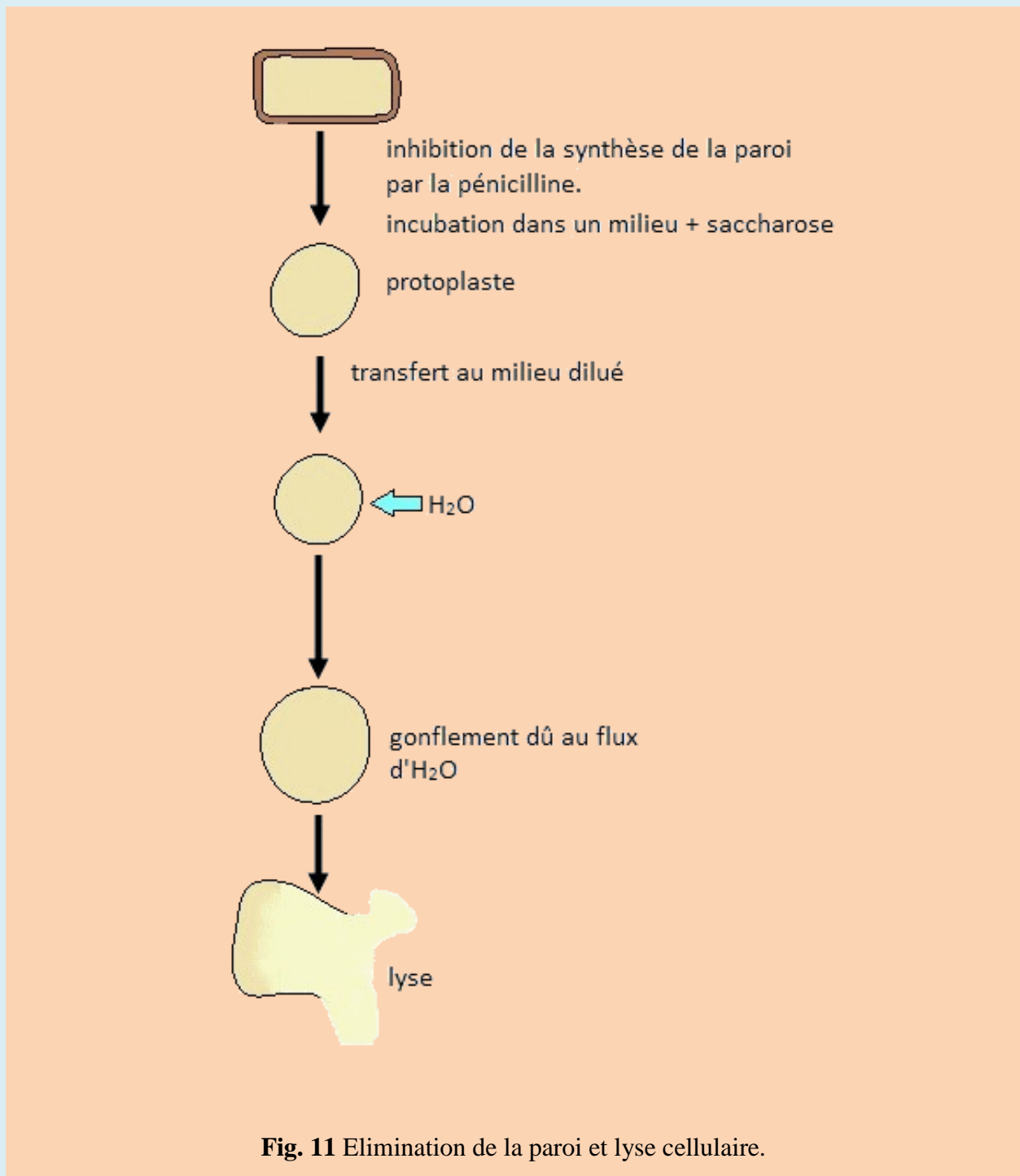
La différence est logique puisque les bactéries G^- possèdent, en plus du peptidoglycane, d'autres couches qui restent intactes.

On peut conclure que : La paroi joue un rôle dans la forme de la cellule. Elle joue un rôle dans la résistance à la pression interne de la cellule.

2.3.4. Coloration de GRAM

La coloration de Gram consiste à traiter un frottis ou un étalement bactérien séché, fixé à la chaleur, par une solution de violé de gentiane (cristal violet), puis par une solution iodo-iodurée (Lugol). En soumettant la préparation à l'action de l'éthanol, les cellules bactériennes réagissent de deux façons et forment deux groupes : les unes dites Gram négatif se décolorent rapidement sous l'action du solvant ; les autres au contraire conservent leur coloration violette et sont dites Gram positif. Pour accentuer le contraste, la préparation est finalement traitée par de la fuchsine ou de la safranine: les bactéries G^- se colorent en rose, tandis que les bactéries G^+ restent colorées en violet (Fig. 12).

Lorsque les bactéries G^+ sont colorées par la méthode de Gram puis soumises à l'action du lysozyme, les protoplastes obtenus sont également colorés en violet. Le siège de la coloration se situe donc au niveau du cytoplasme. Les protoplastes traités par l'alcool se décolorent instantanément. La paroi des G^+ constitue une barrière interdisant le passage de l'éthanol ; celle des G^- l'autorise, et le cytoplasme coloré en violet se décolore. La coloration de Gram traduit bien une différence de structure pariétale chez les bactéries en même temps qu'une différence fonctionnelle (Fig. 13).



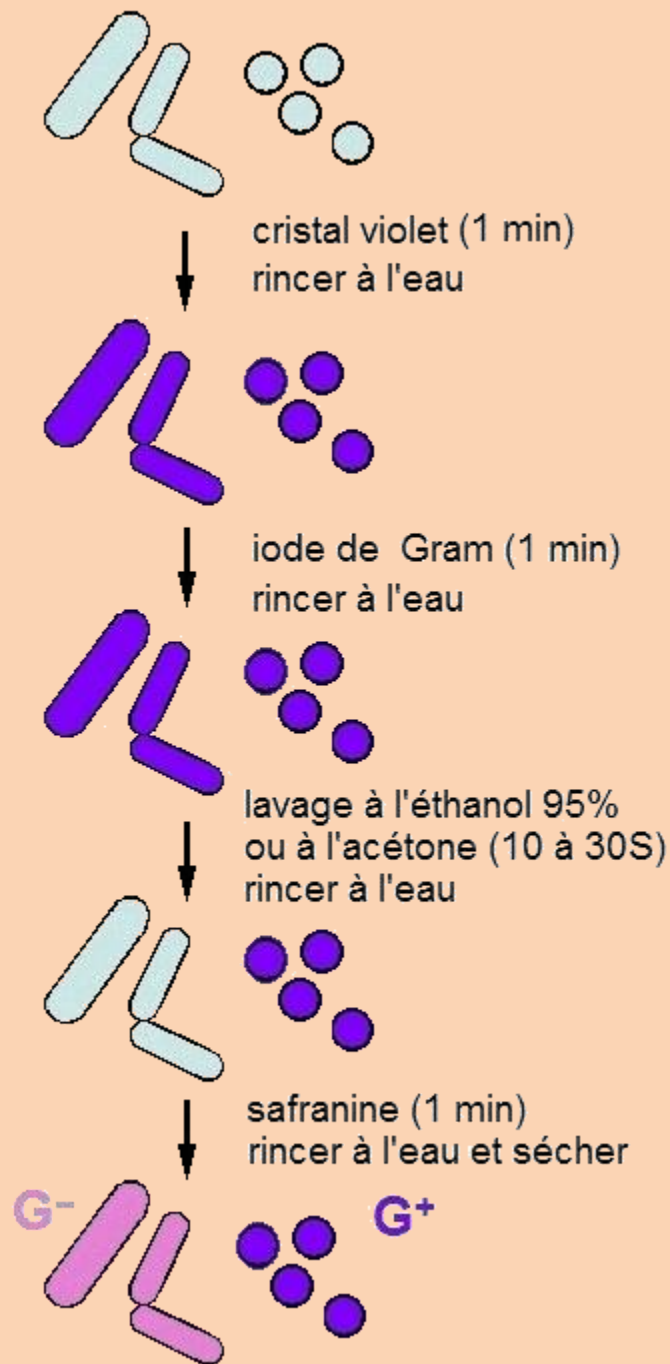


Fig. 12 Procédure de la coloration de Gram.

La décoloration par l'éthanol ou l'acétone enlève le cristal violet des cellules gram-négatives mais non des cellules gram-positives. Les cellules gram-négatives se transforment en rose quand sont contre colorées avec la safranine.

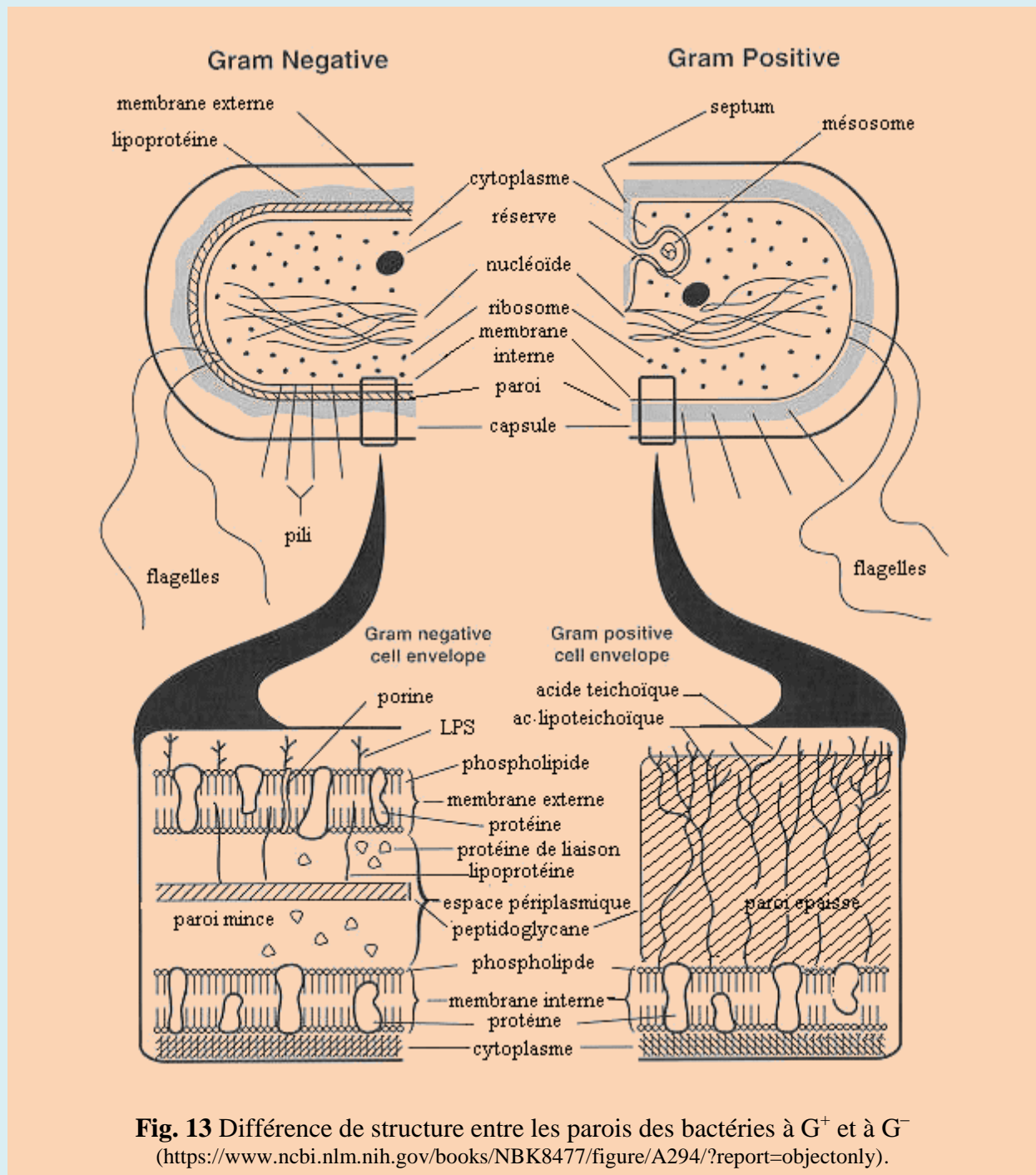


Fig. 13 Différence de structure entre les parois des bactéries à G⁺ et à G⁻
 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8477/figure/A294/?report=objectonly>).

2.4. La membrane plasmique

Entourant le cytoplasme de la cellule bactérienne, la membrane cytoplasmique et constitue le point principal de contact avec l'environnement cellulaire. Elle contient à la fois des protéines et des lipides en proportions variables.

Le phénomène de plasmolyse, au cours duquel le cytoplasme d'une bactérie placée en

milieu hypertonique se rétracte, ne peut s'expliquer que par l'existence d'une membrane. Des membranes peuvent être isolées par centrifugation différentielle à partir de protoplastes lavés puis lysés en milieu isotonique.

La membrane cytoplasmique a une épaisseur de 7.5nm environ et comporte un feuillet interne transparent de nature lipidique pris entre deux feuillets denses de nature protéique (fig.14).

2.4.1. Composition chimique

L'analyse chimique des membranes révèle trois types de substances: des lipides, des protéines et des glucides. En poids, les protéines dépassent les lipides qui paraissent abondants; les proportions sont environ de 60% à 70% de protéines et de 30 à 40% de lipides. Les glucides (glucose, glucosamines...) sont quantitativement des constituants mineurs. Les protéines existent sous de très nombreuses formes.

Dans une membrane donnée, il n'existe que quelques espèces de lipides. A part les mycolasmes, le cholestérol n'est jamais rencontré chez les bactéries. Leurs membranes contiennent des phospholipides (le phosphatidylglycérol et/ou la phosphatidyléthanolamine).

Les membranes des bactéries G⁺ contiennent l'un de ces composants ou les deux avec plusieurs autres substances telles que l'acide phosphatidique et le diphosphatidylglycérol, tandis que les membranes des bactéries G⁻ ne renferment qu'un seul ou deux types de molécules lipidiques.

La membrane plasmique contient surtout les enzymes de la chaîne respiratoire; les déshydrogénases et les coenzymes qui leur sont fonctionnellement associés: NAD, FAD, cytochromes, cytochromes oxydases.

D'autres enzymes impliqués dans la synthèse des lipides complexes, dans les constituants de la paroi et dans la réplication de l'ADN y sont localisés.

2.4.2. Structure

Les lipides sont à la base de la structure de la membrane. Chaque molécule est amphipatique (ou amphiphile); elle est caractérisée par une partie hydrophobe soluble dans

l'huile, insoluble dans l'eau, et une partie hydrophile ayant les propriétés opposées et porteuse d'un groupement phosphate chargé négativement (PO_4^-). Les molécules s'organisent en deux couches moléculaires, le double feuillet. Les molécules hydrophobes se font face et sont protégées du milieu aqueux tandis que les têtes hydrophiles externes y sont immergées. Cette organisation empêche le passage des molécules hydrophiles et constitue ainsi une véritable barrière imperméable à ces substances.

Comme dans toutes les membranes, on distingue dans la membrane deux catégories de protéines: les protéines extrinsèques et les protéines intrinsèques. Les protéines extrinsèques ou protéines périphériques sont liées faiblement à la membrane; elles apparaissent sur l'une des deux faces du double feuillet et n'ont aucun groupe inséré dans la zone hydrophobe. Les protéines intrinsèques ou internes traversent plus ou moins profondément ou complètement le double feuillet membranaire pour apparaître sur les deux faces, interne et externe de la membrane (Fig.14).

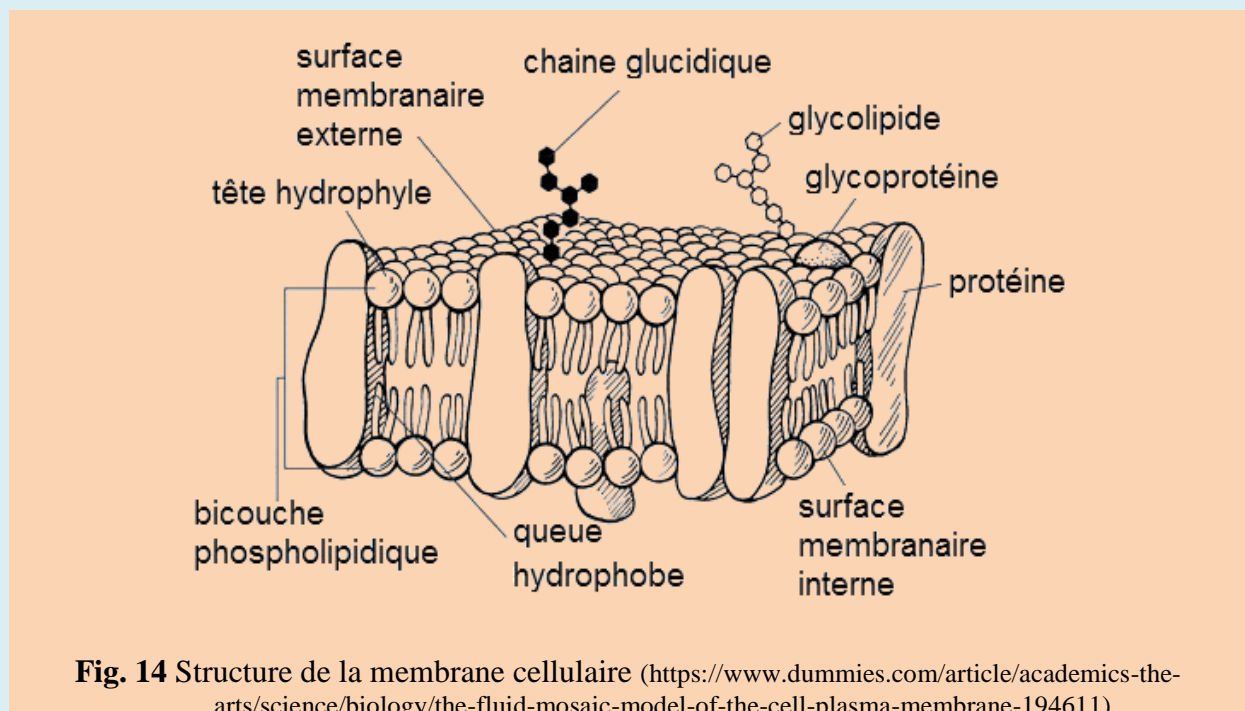


Fig. 14 Structure de la membrane cellulaire (<https://www.dummies.com/article/academics-the-arts/science/biology/the-fluid-mosaic-model-of-the-cell-plasma-membrane-194611>).

2.4.3. Fonctions

Outre son rôle dans le processus de biosynthèse, la membrane joue un rôle essentiel dans la respiration et dans les transferts de substances.

La membrane est le support des enzymes impliquées dans la respiration cellulaire, elle représente l'équivalent structural et fonctionnel des mitochondries des cellules eucaryotes. Au niveau de cette membrane, les réactions d'oxydoréduction amenant la dégradation des substrats assurent la libération d'une certaine quantité d'énergie qui est récupérée sous forme d'ATP.

La membrane cytoplasmique joue le rôle de barrière en empêchant la fuite des composés intracytoplasmiques et les pénétrations libres (anarchiques) des constituants extracellulaires. Elle assure les échéances en absorbant les éléments utiles au métabolisme, en excréant d'autres molécules et en éliminant les déchets. Elle régit donc l'entrée et la sortie des métabolites. Perméable à l'eau et à de nombreuses molécules, elle sélectionne le passage de certaines petites molécules organiques et empêche celui des composés macromoléculaires.

On parle de transport passif lorsque la diffusion des substances s'effectue conformément aux lois de l'osmose, dans le sens du gradient de concentration, c'est-à-dire du milieu le plus concentré vers le milieu le moins concentré.

Dans la plupart des cas, les échanges à travers la membrane échappent aux lois de diffusion: les bactéries admettent et concentrent sélectivement certaines substances. Cette sélectivité met en œuvre des transporteurs protéiques analogues aux systèmes enzymatiques. Ce sont des perméases qui interviennent dans le passage de certains métabolites (acides aminés, sucres, acides organiques...); on parle donc de transport actif. La pénétration implique la formation d'un complexe entre le substrat et le transporteur membranaire, le passage du complexe à travers la phase lipidique de la membrane puis la dissociation du complexe à la surface de la membrane interne. Le passage des métabolites à travers la membrane n'est pas à sens unique mais régi par un mécanisme dans lequel la pénétration continue est contrebalancée par une sortie également continue. Le mécanisme de transport actif est consommateur d'énergie (ATP).

2.5. Cytoplasme

C'est un hydrogel colloïdal, pauvre en structures intracellulaires. Il contient en suspension le matériel génétique bactérien, de très nombreux ribosomes et quelques

inclusions dont la présence est facultative. Son pH est situé entre 7 et 7.2. Il comporte en solution ou en suspension: des ions, des enzymes, des métabolites organiques, des lipides et une large variété de composés solubles. Le cytoplasme est le siège de la plupart des réactions métaboliques cellulaires.

2.5.1. Ribosomes

Les ribosomes sont les principales structures intracellulaires communes à toutes les bactéries. Ce sont de petites granulations sphériques, de 10 à 20nm de diamètre et de poids moléculaire de 2.7 million, qui paraissent remplir totalement le cytoplasme, excepté les régions nucléaires. Leur constante de sédimentation est de **70S**. Ces particules sont constituées de deux (02) unités associées: les unes ont une constante de sédimentation de **50S** et les autres, moins volumineuses, de **30S**. (Fig. 15).

Les ribosomes sont constitués **d'ARN** (63 - 65%) et de **protéines** (35 - 37%). L'ARN ribosomal représente **80 - 90%** de l'ARN total cellulaire.

Les ribosomes sont le **siège de 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 chaîne peptidique. Dans les cellules en phase active de biosynthèse protéique, les ribosomes sont souvent associés par de minces filaments d'ARN messenger, réalisant ainsi des structures en chapelets qu'on appelle des **polyribosomes** ou **polysomes** (Fig. 16).

Les cellules bactériennes contiennent des quantités variables de ribosomes allant de **5000 à 50000** (*E. coli* en contient approximativement 18000); leur nombre varie selon le taux de croissance et il est maximal durant la phase d'accélération de la croissance.

La différence entre les ribosomes des bactéries (70S) et ceux des eucaryotes (80S) est d'une grande importance dans la lutte contre les bactéries pathogènes; certains antibiotiques inhibent spécifiquement la synthèse protéique réalisée par les ribosomes à 70S sans affecter la fonction des ribosomes à 80S.

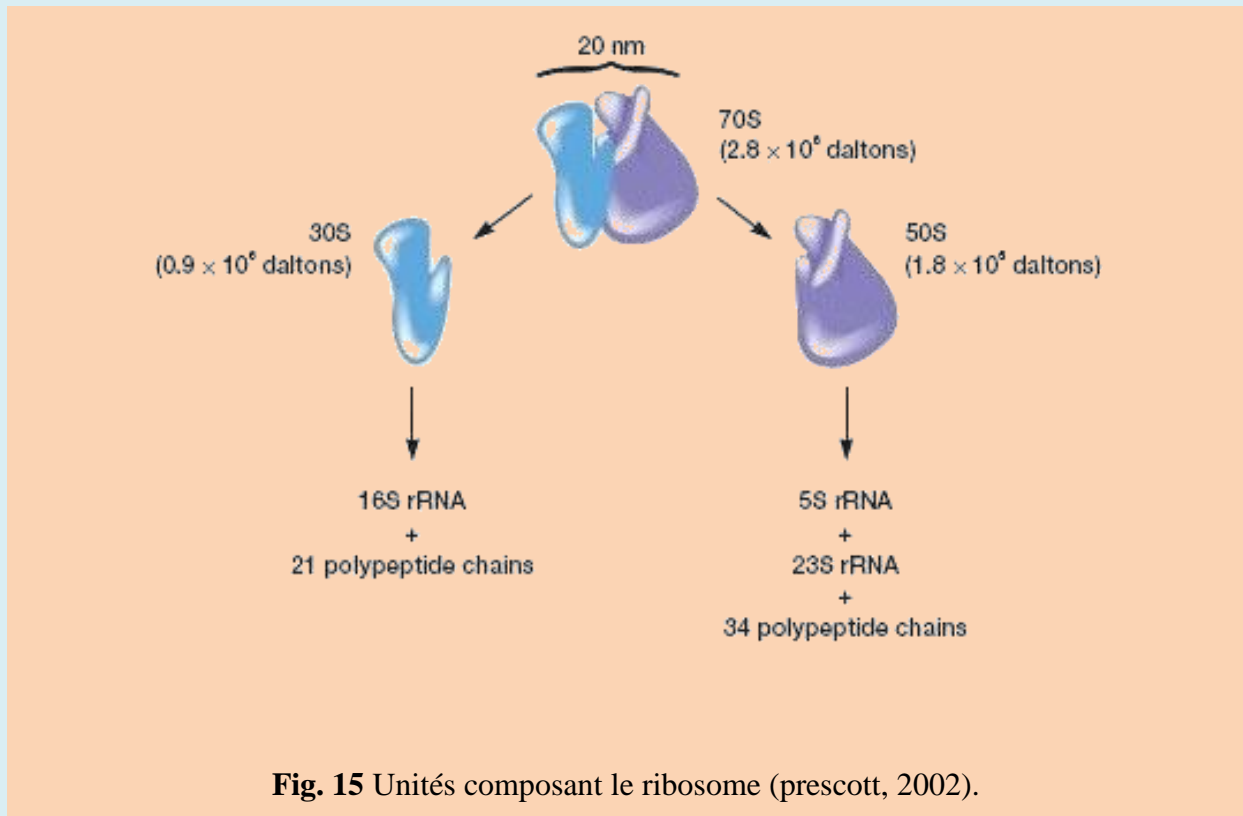


Fig. 15 Unités composant le ribosome (prescott, 2002).

N HENDEL

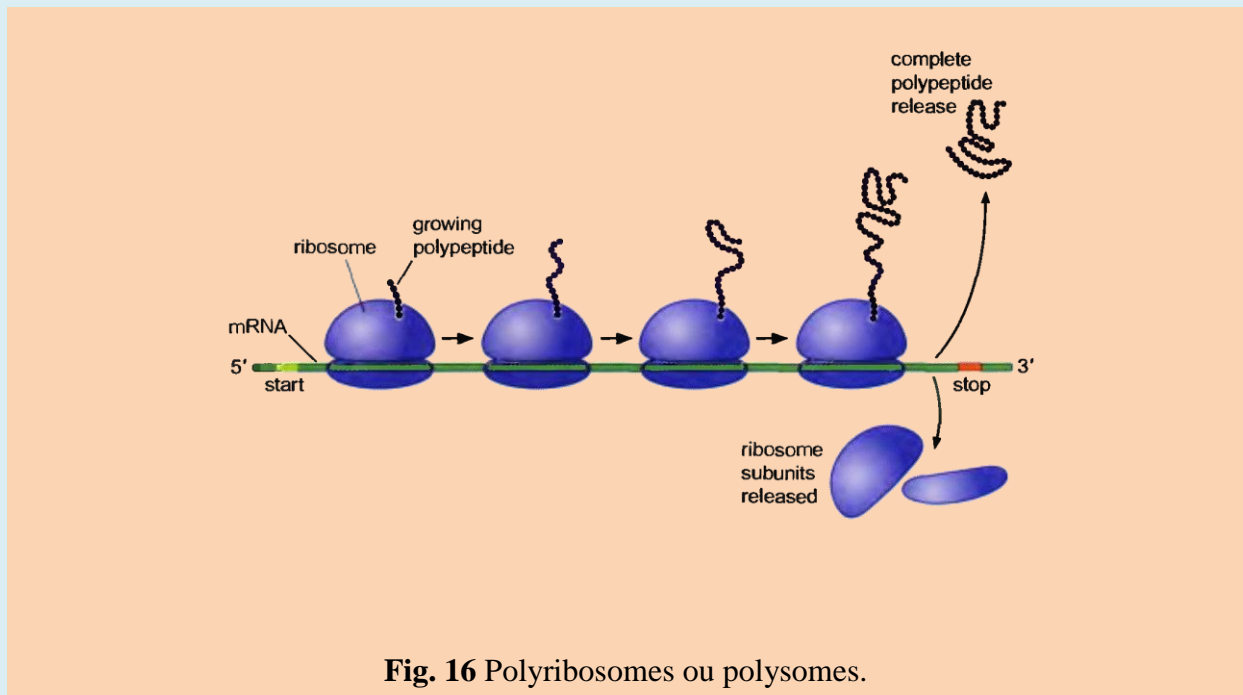


Fig. 16 Polyribosomes ou polysomes.

2.5.2. Substances de réserve

Certaines bactéries accumulent dans leur cytoplasme des produits de réserve en forme de granules au contact direct du cytoplasme ou limités par une mince enveloppe de lipides. Ces granules peuvent être mobilisés au profit du métabolisme cellulaire dès que les conditions sont favorables. Ces matériaux organiques ou inorganiques constituent généralement des réserves d'énergie.

De nombreuses bactéries comme les entérobactéries, les *Bacillus* ou les *Clostridia*, mettent en réserve du glycogène (polymère ramifié de glucose). D'autres espèces appartenant aux genres *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Azotobacter*... accumulent des produits carbonés lipidiques sous forme d'acide β -hydroxybutyrique. D'autres encore peuvent accumuler les deux types de matériel de réserve tel est le cas des bactéries pourpres des *Sphaerotilus* tandis que d'autres en sont dépourvues (bactéries vertes).

Des réserves azotées peuvent être rencontrées chez les cyanobactéries qui accumulent la cyanophycine (polymère d'arginine et d'aspartate). Ces acides aminés servent de précurseurs pour la biosynthèse d'autres acides aminés et d'acides organiques.

Des granulations chromatiques ou volutines constitués de polyphosphates inorganiques sont associés à la région nucléaire et peuvent représenter jusqu'à 50% des phosphates cellulaires. Ces granules sont intégrés à la composition des acides nucléiques, des phospholipides, des acides teichoïques et des nucléotides (ATP, GTP, NAD⁺, FAD).

Des inclusions de soufre ou de fer sont aussi caractéristique de certaines bactéries: les thiobactéries; telles que les *Beggiatoa* et les *Thithrix* qui tirent leur énergie de l'oxydation de l'hydrogène sulfuré. Les bactéries qui oxydent le fer contiennent des inclusions cytoplasmiques d'hydroxyde ferrique qui peut être également incrusté dans les gaines des sidérobactéries.

2.6. Le chromosome

Le génome bactérien est le plus petit des cellules vivantes. Il est formé d'ADN et constitue le support de l'hérédité des bactéries. Il stocke et contrôle toutes les activités et les

fonctions bactériennes. D'autres structures d'ADN extrachromosomiques sont également présents ; les plasmides qui sont responsables de l'expression phénotypique de nombreux caractères métaboliques additionnels.

2.6.1. Morphologie

L'observation au microscope électronique révèle que l'appareil nucléaire n'est pas entouré d'une membrane ; contrairement au noyau de la cellule eucaryote. Le corps chromatinien présente une structure fibrillaire constituée principalement d'ADN. Cette molécule est en suspension dans le cytoplasme cellulaire où elle est enroulée en un anneau.

L'ADN bactérien a une structure bicaténaire : constituée de l'association complémentaire de deux brins appariés en une double hélice, appelée génophore ou chromosome qui est situé dans un espace cytoplasmique appelé région nucléaire ou nucléoïde. Ce dernier prend une forme variable, selon les espèces et leur état physiologique.

Dans la bactérie, l'anneau d'ADN se présente en une structure pelotonnée liée à la membrane cytoplasmique. Il est toujours associé à de l'ARN et à des protéines dont principalement l'ADN polymérase. La double hélice de l'ADN est enroulée formant des boucles fixées sur un résidu central d'ARN. Ces boucles présentent un enroulement supplémentaire sur elles même : les superenroulements (super hélice ; plus d'une paire de bases dans une unité de longueur) (Fig. 17)

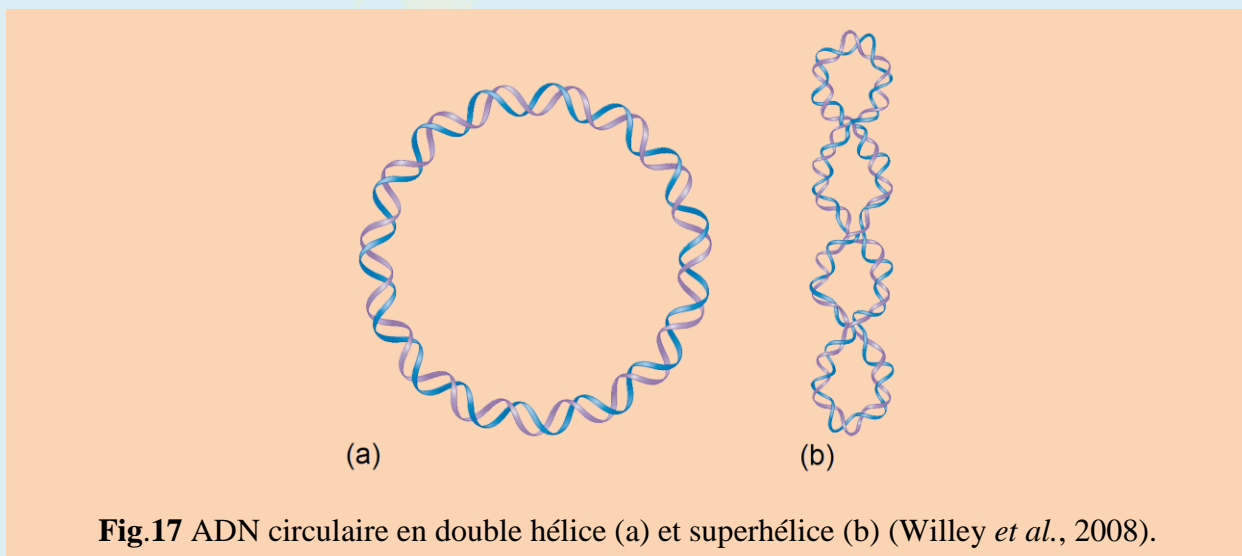


Fig.17 ADN circulaire en double hélice (a) et superhélice (b) (Willey *et al.*, 2008).

Le chromosome déroulé d'*E. coli* mesure 1.3mm, soit 1000 fois sa taille. Il est formé d'environ 4 million de paires de bases, d'un poids moléculaire de 2.9×10^9 Da (3000 gènes).

A l'image de l'ADN des cellules eucaryotes, qui est couplé à des protéines basiques : les histones, l'ADN des bactéries est neutralisé, non par les histones qui n'ont jamais été isolés chez les bactéries mais par des cations Mg^+ ou Ca^+ et des protéines basiques de types polyamines : les protéines P.

De nombreuses bactéries présentent 02 ou même 04 chromosomes dont certains sont partiellement formés. Cette situation s'explique par le fait que chez les bactéries à croissance rapide, la duplication des différents éléments cellulaires est relativement moins rapide que celle du chromosome dont la copie est initiée avant même que l'ensemble de sa structure originale ne soit terminée.

2.6.2. Composition chimique et structure

L'acide désoxyribonucléique est un polymère de poids moléculaire élevé, composé de nucléotides. Chaque nucléotide est formé d'un groupement phosphoré, d'un sucre à 05 atomes de carbone (le désoxyribose) et d'une base purique (adénine A ou guanine G), ou pyrimidique (cytosine C ou thymine T). Le groupement phosphoré est un phosphodiester en position 3' et 5' du désoxyribose.

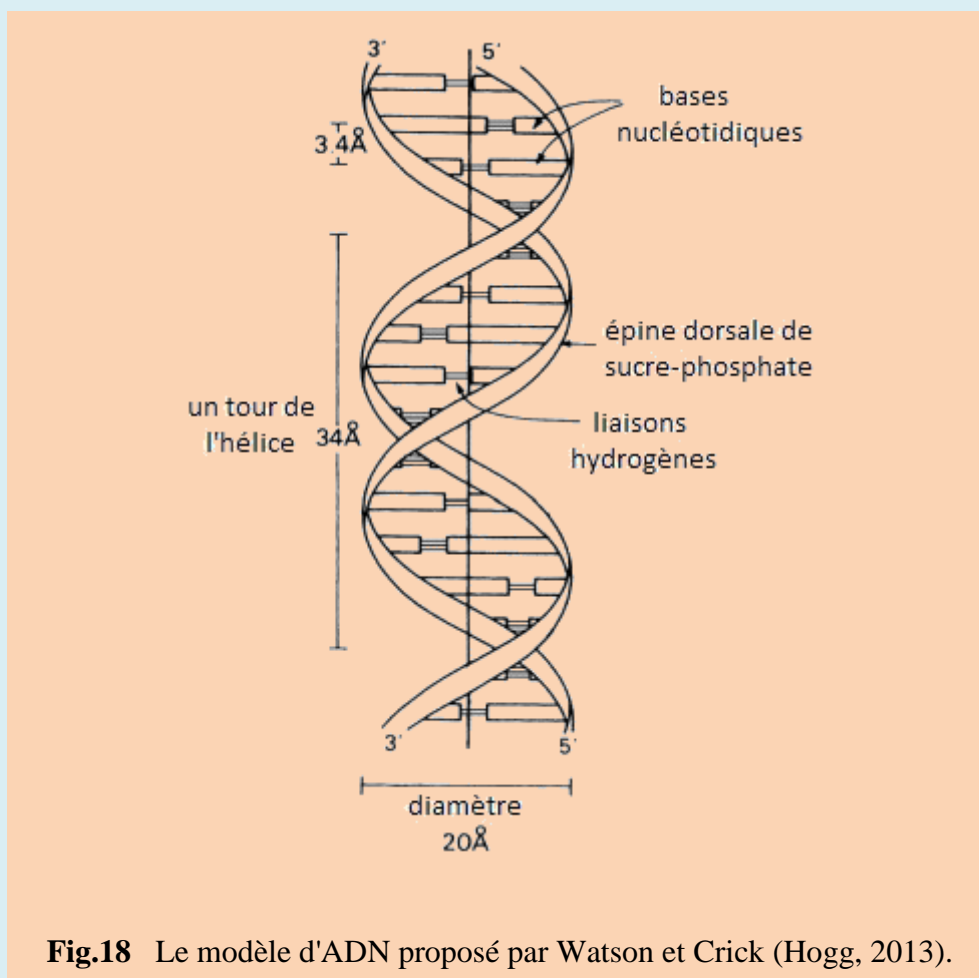
Les nucléotides s'unissent les uns aux autres par des liaisons diester établies entre les fonctions acides de l'acide phosphorique et les fonctions alcools du sucre. De longues chaînes polynucléotidiques se constituent ainsi, formant une épine dorsale avec des projections latérales par les bases organiques fixes aux molécules de sucre.

Dans tous les ADN d'origine bactérienne, les chaînes sont associées par deux et maintenues par des liaisons hydrogènes qui relient les molécules de bases.

Selon WATSON et CRICK, « la molécule d'ADN est constituée d'une double hélice enroulée à la manière d'une échelle de corde autour d'un axe imaginaire » (Fig. 18).

- Les 02 montants de l'échelle sont constitués par les squelettes désoxyribophosphates et les barreaux de l'échelle par les paires de bases.

- La distance séparant les 02 chaînes latérales est constante. L'appariement A-T et C-G est capable de maintenir le parallélisme.
- La largeur de la double hélice est de 02 nm, les nucléotides se succèdent tous les 0.34nm. Un tour complet de l'hélice est réalisé tous les 3.4nm, faisant intervenir un enchaînement de 10 nucléotides.
- Les 02 chaînes de la double hélice ont des polarités opposées par rapport aux liaisons 3`- 5` des désoxyriboses avec les phosphates.



2.6.3. Réplication

La réplication ou la duplication chez les bactéries se fait de la même manière que chez les cellules eucaryotes c.à.d. selon un mécanisme semi-conservatif.

Chez *E. coli* la réplication commence à un seul endroit, l'origine. La séparation de la structure en double brins aboutit à la formation d'une **fourche de réplication**. Deux fourches de réplication se déplacent à partir de l'origine jusqu'à la copie totale du réplicon : 02 chromosomes sont formés (Fig. 19).

Durant la conjugaison d'*E. coli* le mode de réplication s'effectue en **cercle roulant** (Fig. 20). Un brin est coupé et l'extrémité 3' s'agrandit grâce aux enzymes de la réplication. Le point de croisance tourne autour de la molécule circulaire et l'extrémité 5' du brin se déplace formant une queue « monobrin ». Celle-ci peut être convertie en double brin par la synthèse du brin complémentaire.

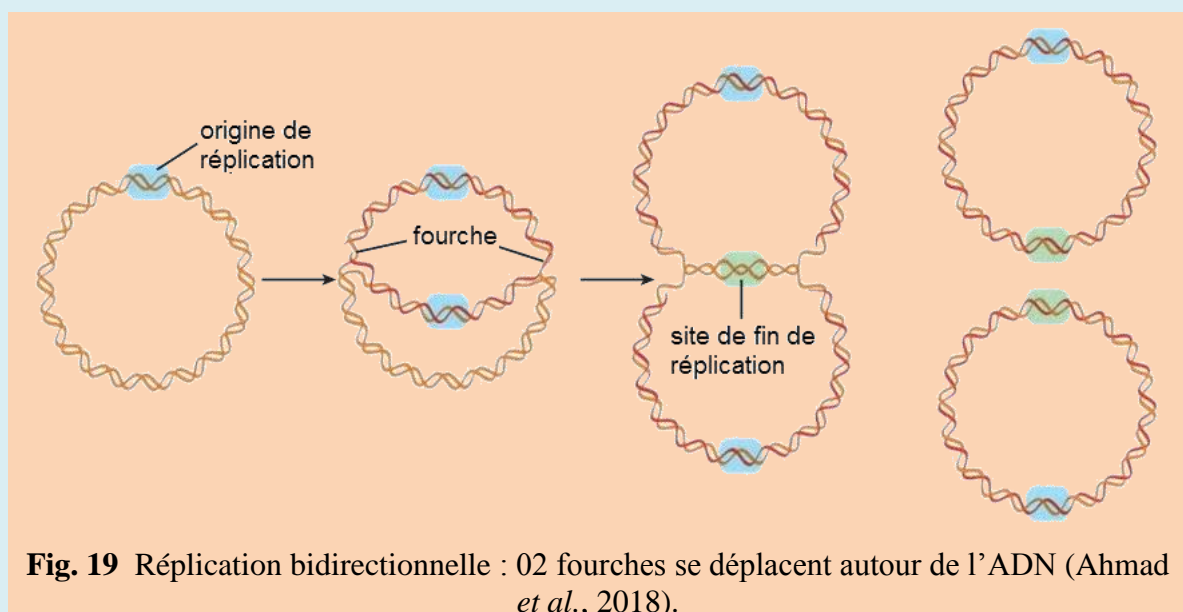


Fig. 19 Réplication bidirectionnelle : 02 fourches se déplacent autour de l'ADN (Ahmad *et al.*, 2018).

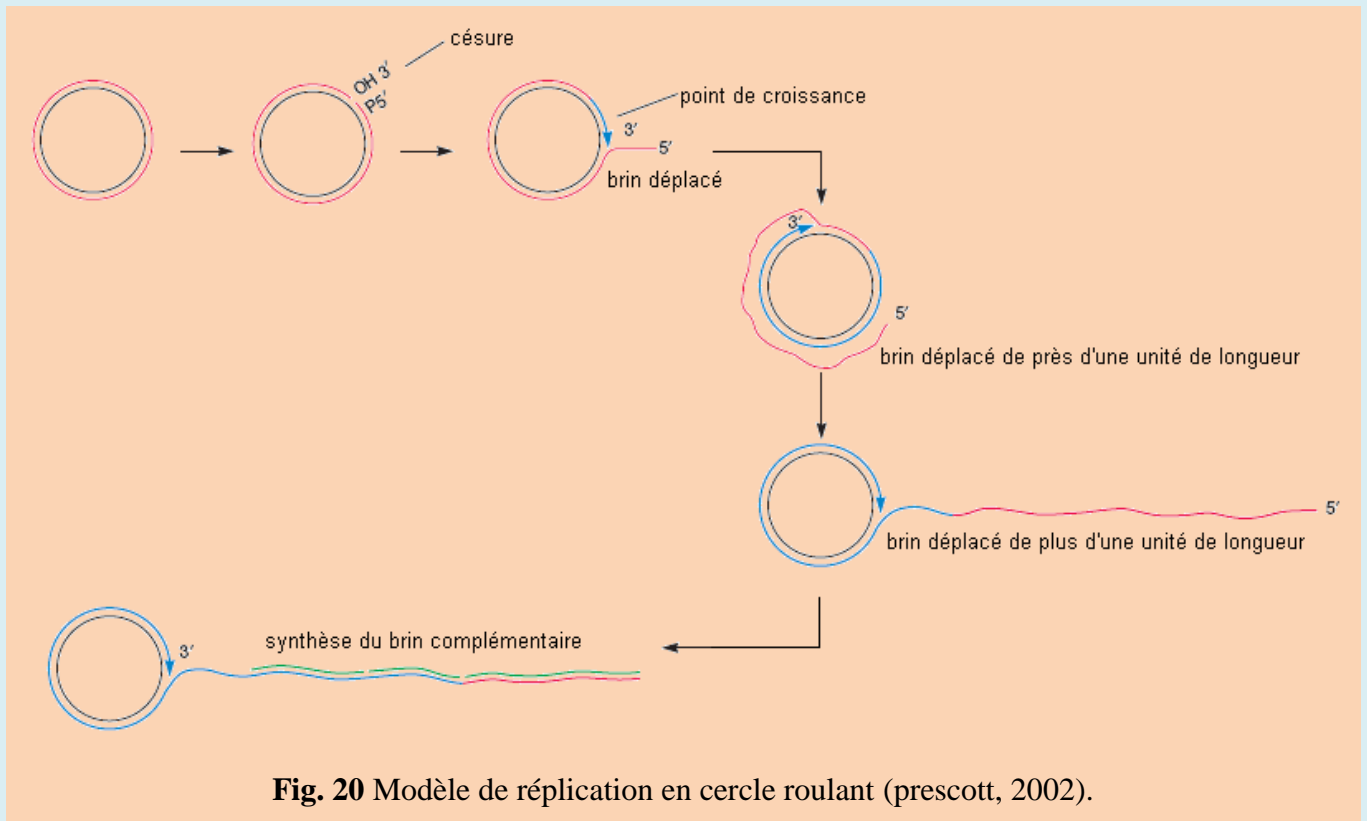


Fig. 20 Modèle de réplication en cercle roulant (prescott, 2002).

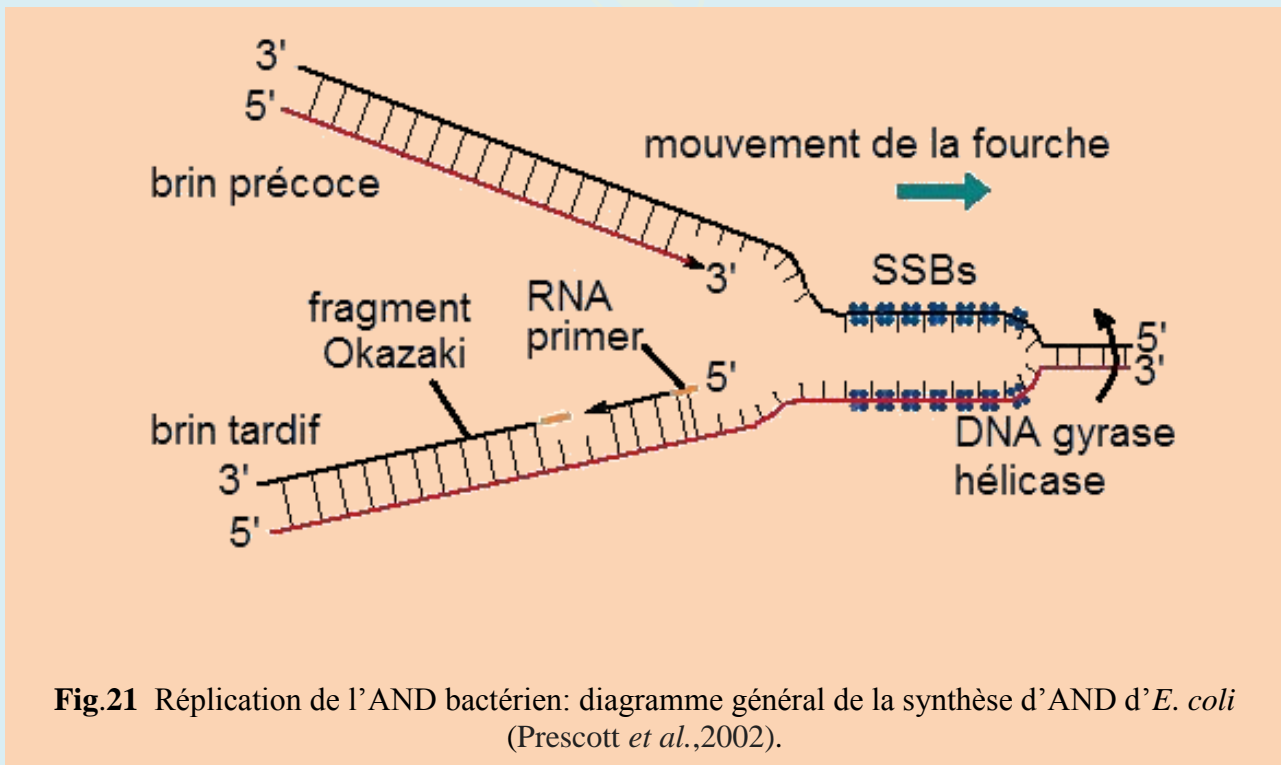
2.6.3.1. Mécanisme de réplication de l'ADN

Le mécanisme de réplication chez *E. coli* met en œuvre un complexe multienzymatique appelé **réplisome** composé au moins d'une trentaine (30) de protéines. La réplication commence par l'ouverture de la double hélice de l'ADN en un point d'origine fixe. Ce site est composé de 100 à 200 paires de bases riches en A-T.

E. coli possède 03 ADN polymérases différentes, chacune catalysant la synthèse de l'ADN dans la direction 5' → 3', en lisant la séquence de l'ADN matrice dans la direction 3' → 5' (Fig. 21). Les nucléotides sont ajoutés aux extrémités 3'OH de la chaîne en croissance. L'ADN polymérase III joue le rôle majeur dans la réplication et probablement aussi la polymérase I. Les polymérases I et II sont considérées comme réparateurs de l'ADN endommagé.

- Les **hélicases**, ATP dépendantes, sont responsables du déroulement. Les super-enroulements sont enlevés par les **topoisomérases** (ADN girase).

- Au cours de la réplication, les 02 brins séparés sont stabilisés par des protéines spécialisées SSB (Single-Stranded DNA Binding Proteins : protéines se liant à l'ADN simple brin).



Le processus de réplication est déroulé selon 04 phases (Fig. 22):

- 1- L'hélicase déroule l'hélice avec la participation de l'ADN girase, et les brins séparés sont stabilisés par les protéines SSB (Fig. 22 a).
- 2- L'ADN est répliqué de manière continue, par l'ADN polymérase III, sur le brin précoce ; et discontinue sur le brin tardif. Sur ce dernier, le mécanisme implique la formation de fragments, dans la direction 5`- 3`, ajoutés à de petits fragments d'ARN (ARN primer : amorce) synthétisés par la primase (primase + protéines assistantes = primosome). Ces fragments d'ADN de 1000 à 2000 nucléotides sont appelés fragments Okazaki (Fig. 22 b).
- 3- Après duplication d'une grande partie du brin tardif par des fragments Okazaki, l'ADN polymérase I ou l'ARNase H enlève les amorces d'ARN. Les vides ainsi engendrés sont

complétés par l'ADN polymérase I ou III.

4- Finalement, les fragments sont raccordés par l'ADN ligase qui forme une liaison phospho-diester entre le groupement 3`OH du brin en croissance avec le groupement 5` phosphate du fragment Okazaki (Fig. 22 c).

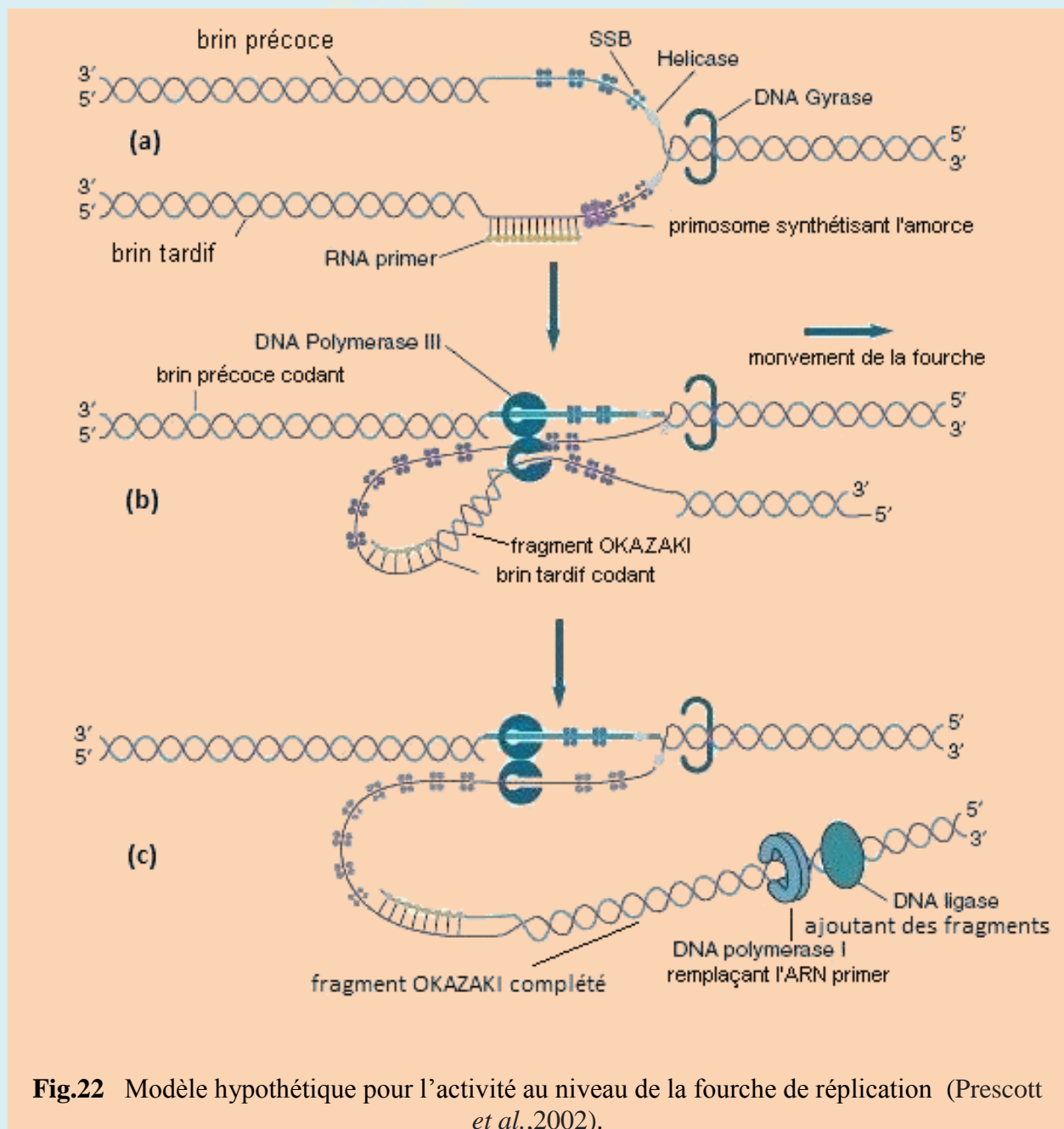


Fig.22 Modèle hypothétique pour l'activité au niveau de la fourche de réplication (Prescott *et al.*, 2002).

2.7. Les plasmides

La conjugaison, le transfert d'ADN entre les bactéries impliquant le contact direct, dépend de la présence d'une molécule d'ADN extrachromosomique connue sous le nom de **plasmide**.

Les plasmides sont de petites molécules d'ADN circulaire, capables de se répliquer de manière autonome et sont présents chez beaucoup de bactéries. Ils sont présents aussi chez quelques levures et d'autres champignons. Ils se classent d'après leur stabilité et leur mode de propagation.

L'ADN plasmidique se distingue des acides nucléiques des bactériophages par 02 caractères fondamentaux : ils ne provoquent aucun dommage aux cellules bactériennes qui les hébergent et ils n'ont aucune existence autonome à l'état libre en dehors des bactéries.

2.7.1 Structure

Le plasmide est une molécule d'ADN bicaténaire, circulaire et surenroulée, d'un poids moléculaire de 0.5 à 400 Mda (mégadalton = 1 million) et contient un petit nombre de gènes ; généralement moins de 30. Mais il existe quelques plasmides de structure linéaire.

La cellule bactérienne peut héberger de nombreux plasmides distincts les uns des autres selon leur nature et l'espèce bactérienne. Certains plasmides sont en nombre réduit (1 à 10 copies), d'autres sont plus nombreux (10 à 100 copies). Une bactérie peut héberger plusieurs types de plasmides ; plus leur taille est importante et moins ils sont nombreux.

Les plasmides sont généralement formés de séquences nucléotidiques différentes de celles du chromosome bactérien, ce qui montre qu'ils lui sont étrangers.

2.7.2 Propriétés.

L'acquisition des plasmides augmente le potentiel d'adaptation des bactéries en leur conférant des propriétés additionnelles. Certains plasmides portent des gènes conférant plusieurs propriétés phénotypiques à la cellule hôte.

Les principales fonctions codées par les plasmides sont

a. La résistance aux antibiotiques

Les plasmides de résistance (plasmides R ou facteurs R) ont des gènes qui codent pour des enzymes capables de détruire ou modifier les antibiotiques. Certains plasmides R ont seulement un gène de résistance, d'autres ont un nombre pouvant atteindre 08. Parce que les facteurs R sont des plasmides conjuguants, ils peuvent propager et s'étendre sur toute une population bactérienne.

b. Production de toxines

Certains plasmides appelés plasmides de virulence rendent la bactérie qui les héberge plus pathogénique, car elle devient plus résistante à la défense de l'hôte ou à la production de toxines. Par exemple les souches entérotoxiques d'*E. coli* causent différents types de diarrhée car elles contiennent des plasmides codant pour une entérotoxine et d'autres substances qui assurent l'adhésion de la bactérie à l'épithélium intestinal puis son envahissement.

c. Production de bactériocine

Les bactéries contiennent des plasmides (plasmides Col) qui leur confèrent un avantage compétitif dans le monde microbien. Les bactériocines sont des protéines bactériennes qui détruisent d'autres bactéries. Elles agissent, sur des souches de la même espèce ou d'espèces voisines de la souche productrice, par la formation de canaux dans leurs membranes plasmiques, ainsi élever la perméabilité ou attaquer le peptidoglycane et affaiblir la paroi cellulaire. Les plasmides Col contiennent des gènes pour la synthèse des bactériocines connues sous le nom de colicines qui sont dirigées contre *E. coli*. La bactérie productrice n'est plus affectée par les bactériocines qu'elle produit.

d. Caractères métaboliques

Les plasmides qui codent pour les caractères biochimiques sont appelés plasmides métaboliques. Ils contiennent des gènes codant pour des enzymes qui dégradent des substances comme les composés aromatiques (toluène), les pesticides (acide 2-4 dichlorophénoxyacétique), et des sucres (lactose).

D'autres fonctions physiologiques ont aussi un support plasmidique : la fixation de l'azote, production d'H₂S, la production de pigments ...

Les plasmides confèrent aux bactéries qui les hébergent de nombreux caractères génétiques par un mécanisme d'addition et non par un mécanisme de substitution. Ils représentent un élément essentiel d'adaptation bactérienne. Ils sont responsables d'épidémies de gènes (notamment de résistance aux antibiotiques), qui ont fait découvrir les transposons, appelés encore gènes sauteurs ou mobiles.

2.8. Les pili (fimbriae)

2.8.1. Structure

Ce sont des structures externes, de nature protéique, plus courtes, plus minces, et plus rigides que les flagelles. De nombreuses bactéries à Gram négatif (exceptionnellement des bactéries à Gram positif) possèdent les pili (singulier : *pilus*). Ils sont ancrés dans la membrane plasmique mais ne possèdent pas de corps basal. Ils sont constitués d'un polymère d'une même protéine structurale spécifique : la piline. Leur diamètre est de 3 à 10nm par une longueur pouvant atteindre 10µm. On distingue deux catégories de pili: les pili communs et les pili sexuels.

2.8.2. Fonction

2.8.2.1. Les pili communs

De 3 à 10nm de diamètre sur plusieurs µm de long, ils sont disposés régulièrement à la surface de la bactérie (1000 fimbriae par cellule). Leur piline, est assemblée à des polypeptides mineurs dont l'adhésine qui peut avoir des interactions avec un récepteur cellulaire hydrocarboné (glycolipides ou glycoprotéines) présent à la surface d'une cellule eucaryote. Ainsi, les pili peuvent attacher spécifiquement des bactéries à la surface de cellules eucaryotes, phase essentielle dans certains pouvoirs pathogènes (ex. fixation d'*Escherichia coli* sur la muqueuse vésicale). Les pili communs permettent aussi aux bactéries qui en possèdent de former des films bactériens à la surface des milieux liquides. Les complexes pili-adhésine ont un support génétique plasmidique ou chromosomique.

2.8.2.2. Les pili sexuels

Désignés par le terme pili F (facteur de fertilité F), plus longs, plus épais que les pilis communs, ils sont en nombre très restreint (9 à 10) et sont codés par des plasmides conjugatifs (facteur F). Présent seulement chez les bactéries mâles (F^+), ils jouent un rôle essentiel dans l'attachement des bactéries entre elles au cours de la conjugaison. Ces pilis sexuels servent également de récepteurs de bactériophages spécifiques au début de leur cycle de multiplication.

2.9. La capsule

De nombreuses bactéries synthétisent et sécrètent des substances organiques qui se déposent et s'accumulent, autour de leur paroi, en couche plus ou moins compacte et d'épaisseur variable. Les termes capsule et couche visqueuse sont fréquemment utilisés pour décrire des couches de polysaccharides; le terme le plus inclusif **glycocalyx** est également utilisé. Le glycocalyx est défini comme le matériel contenant du polysaccharide situé à l'extérieur de la cellule. Lorsque cette couche externe présente une surface nettement définie, entourant étroitement la cellule et qui exclut les particules, comme l'encre de Chine, elle est appelée **capsule**. Si elle est plus diffuse et abondamment sécrétée, elle est généralement appelée **couche visqueuse**.

La capsule n'est pas présente chez toutes les bactéries et, chez une même souche, la formation de capsule est largement influencée par les constituants du milieu. Les glucides jouent un rôle important.

La capsule peut être aisément éliminée par un lavage avec une solution saline et souvent par l'effet mécanique d'une simple agitation d'une suspension bactérienne. Elle n'a pas de fonction vitale pour les bactéries, qui peuvent croître et se multiplier après l'avoir perdue.

2.9.1 Mise en évidence et morphologie

Pour mettre en évidence la capsule chez les bactéries, on procède habituellement à la coloration à l'encre de Chine: sur le fond noir de la préparation constitué par un mélange

d'encre de Chine et de suspension bactérienne, la capsule apparaît comme un halo brillant, réfringent entourant le corps bactérien (Fig. 23).

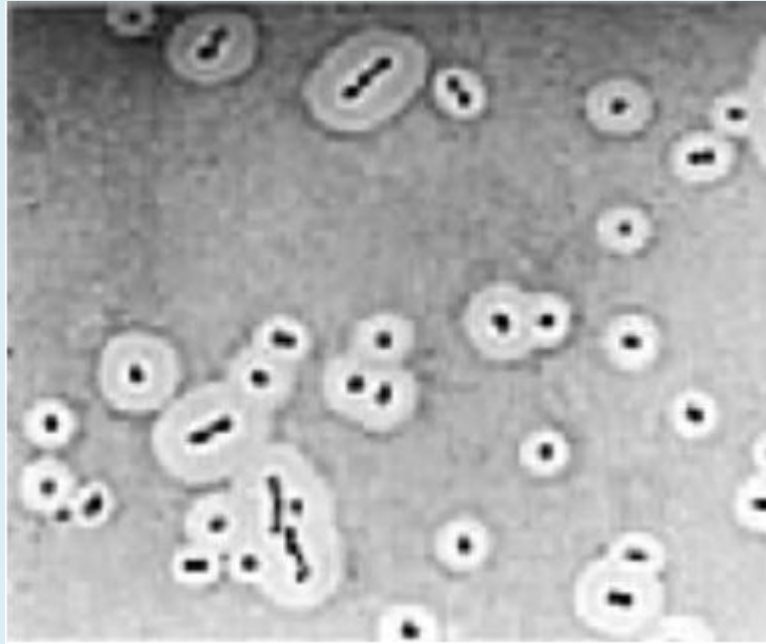


Fig. 23 Streptocoques avec capsule : coloration à l'encre de Chine (Moat *et al.*, 2002).

La capsule paraît entourer une cellule bactérienne ou quelquefois une courte chaînette de quelques cellules. Sa présence donne aux colonies obtenues en milieu solide un aspect muqueux caractéristique (ex. *Klebsiella pneumoniae*). Les amas visqueux entourant et noyant dans leur masse un grand nombre de cellules sont appelés **zooglées** (ex. *Zoogloea ramigera*).

2.9.2. Composition chimique

Avec une exception connue (les capsules d'acide poly-D-glutamique de *Bacillus anthracis* et *Bacillus licheniformis*), le matériel extracellulaire (glycocalyx) est un

polysaccharide. Selon les espèces la capsule peut être plus ou moins épaisse et rigide, en fonction de sa structure chimique, généralement formé d'une large variété de polysaccharides incluant des glucides aminés.

2.9.3. Fonctions

La capsule ne joue pas un rôle vital comme l'appareil nucléaire ou la paroi: une bactérie dépourvue de capsule peut croître et se multiplier. L'élimination des constituants capsulaires par hydrolyses enzymatique n'empêche pas la bactérie de se reproduire.

Les substances capsulaires sont de véritables facteurs de virulence: les pneumocoques capsulés injectés à la souris provoquent sa mort, alors que les mêmes cellules, acapsulées, perdent leur agressivité vis-à-vis de la souris. Ces substances capsulaires protègent la bactérie de la phagocytose.

Les substances capsulaires sont aussi le support de l'antigénicité: leur injection dans un animal l'oblige à élaborer des anticorps protecteurs.

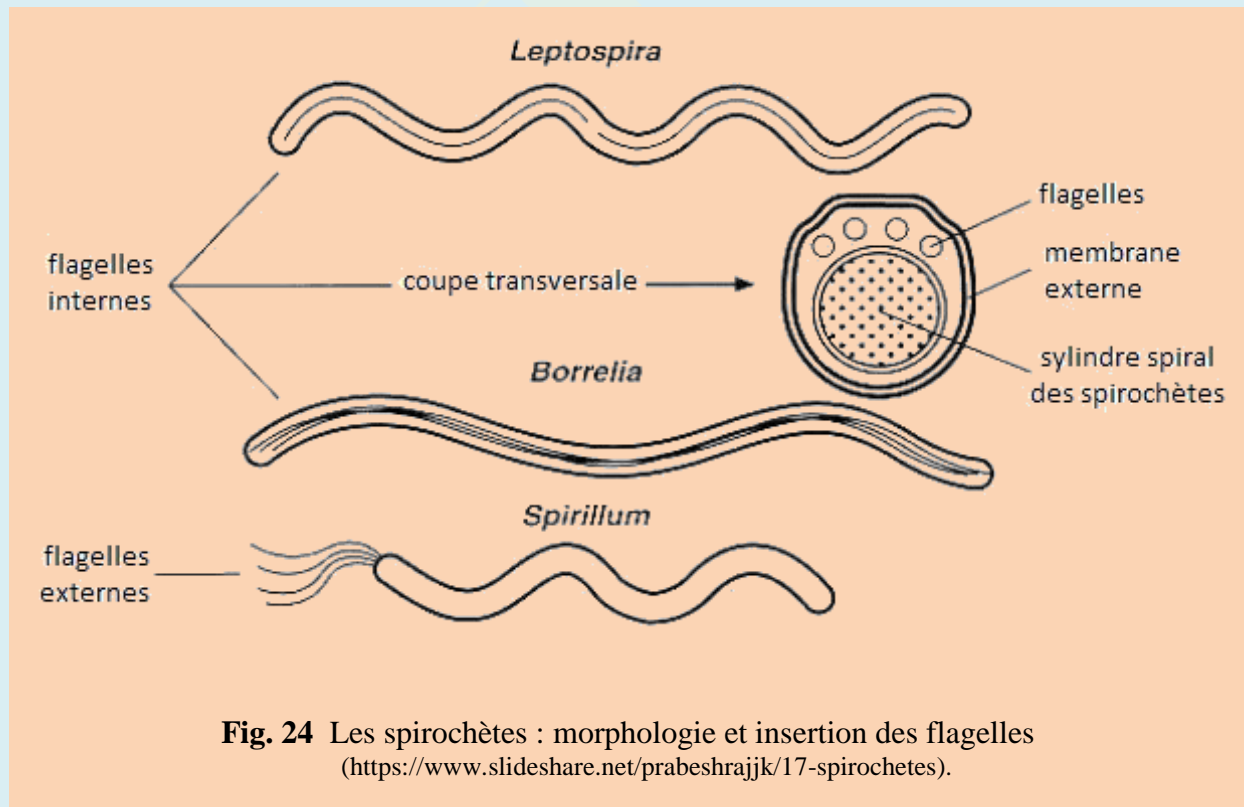
La capsule joue un rôle important contre les bactériophages qui sont incapables de se fixer et de pénétrer chez les bactéries capsulées. Elle forme aussi une structure protectrice contre le pouvoir agressif des agents physiques et chimiques (ex. dessiccation).

La capsule assure l'adhésion qui constitue la première étape de colonisation bactérienne d'un écosystème. Elle permet aux bactéries de se développer en microcolonies adhérentes aux surfaces des objets solides dans les environnements aquatiques ou des tissus dans les plantes dans les plantes et les animaux hôtes. *Streptococcus mutans*, par exemple, doit sa capacité à adhérer étroitement à l'émail des dents à son glycocalyx. Les cellules bactériennes de la même espèce ou d'espèces différentes deviennent piégées dans le glycocalyx, qui forme la couche connue sous le nom de plaque sur la surface de la dent; les produits acides excrétés par ces bactéries provoquent des caries dentaires

La capsule est donc un facteur important de survie contribuant au maintien et à la multiplication des espèces qui la possèdent.

2.10. Cils ou flagelles

Les algues bleues et les myxobactéries se déplacent par glissement sur un support solide. Les eubactéries et les spirochètes se meuvent grâce à des organes locomoteurs spécialisés: chez les eubactéries, ce sont les flagelles ; chez les spirochètes, il s'agit d'un filament axial finement enroulé autour de la cellule et fixé à ses deux extrémités (Fig. 24).



2.10.1. Mise en évidence

Les flagelles ou cils sont des organites extrêmement ténus (12–30nm de diamètre), invisibles au microscope optique sur des cellules vivantes. Leur mise en évidence nécessite des techniques spéciales de coloration qui augmentent leur épaisseur. Ces filaments sont traités d'abords par un mordant énergétique, puis par une solution colloïdale qui, en se déposant à leur surface, les grossit considérablement et les rend visibles : les cellules sont traitées par une suspension colloïdale instable de sels d'acide tannique, entraînant la formation d'un précipité lourd sur les parois cellulaires et les flagelles. 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.

2.10.2. Structure

Les flagelles apparaissent sous forme d'organites simples, minces, filamenteux, sinueux, généralement plus longs que la bactérie elle-même, d'environ 20nm de diamètre et 15 à 20µm de long. La structure détaillée d'un flagelle ne s'observe qu'au microscope électronique. Chez le spirochète, le filament axial enroulé autour du corps cellulaire et attaché aux deux extrémités de la bactérie serait en réalité formé de deux touffes de fibrilles polaires venant se rejoindre en son centre.

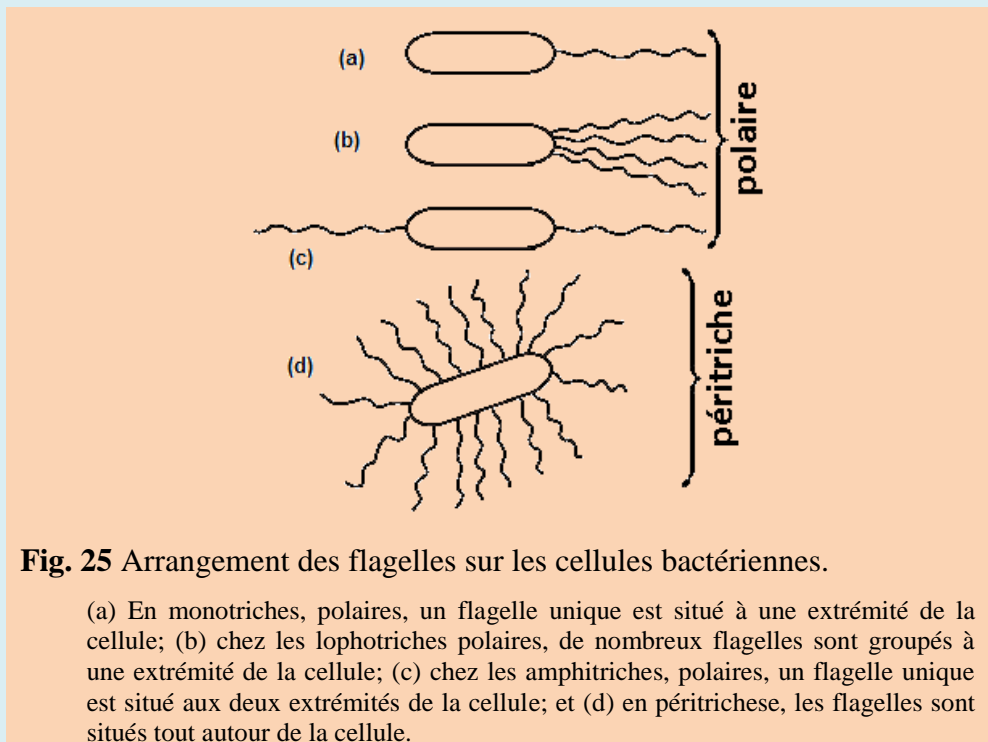


Fig. 25 Arrangement des flagelles sur les cellules bactériennes.

(a) En monotriches, polaires, un flagelle unique est situé à une extrémité de la cellule; (b) chez les lophotriches polaires, de nombreux flagelles sont groupés à une extrémité de la cellule; (c) chez les amphitriches, polaires, un flagelle unique est situé aux deux extrémités de la cellule; et (d) en péritrichese, les flagelles sont situés tout autour de la cellule.

Les espèces bactériennes se distinguent souvent par le mode de distribution des flagelles ; *polaire* et *péritriche*. Les bactéries *monotriches* (du grec *trikhos*, cheveu) ont un seul flagelle; s'il est situé à une extrémité, on le dit polaire (Fig. 25a). Les bactéries *amphitriches* ont à chaque extrémité, un seul flagelle. Au contraire, les bactéries *lophotriches*

(en grec *lophos* veut dire touffe) ont une touffe de flagelles à l'une ou aux deux extrémités (Fig. 25b). Les flagelles sont distribués sur toute la surface des bactéries *péritriches* (Fig. 25c). La distribution des flagelles est très utile à l'identification des bactéries (en taxonomie): ainsi, dans la famille des *Pseudomonadaceae*, les bactéries sont généralement mobiles grâce à des flagelles polaires; dans la famille des *Enterobacteriaceae*, toutes les cellules mobiles possèdent un système flagellaire péritriche.

La microscopie électronique a permis de montrer que le flagelle bactérien se compose de trois parties (Fig. 26): (1) la partie la plus longue et la plus évidente, le *filament* s'étend depuis la surface cellulaire, (2) un corps basal est enfoui dans la cellule et (3) un segment court et courbe, le *crochet*, lie le filament au corps basal. Le filament est un cylindre creux constitué d'une seule protéine appelée la flagelline dont la masse moléculaire varie de 30.000 à 60.000.

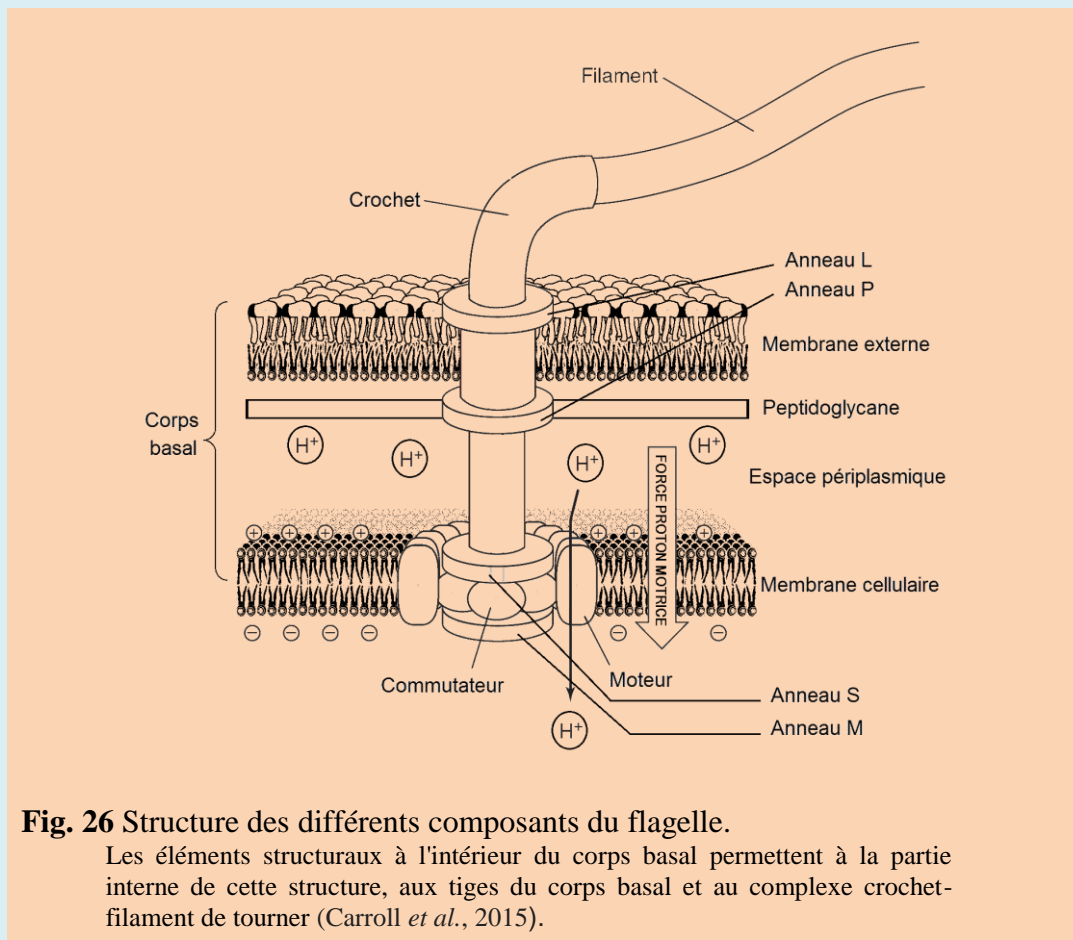


Fig. 26 Structure des différents composants du flagelle.

Les éléments structuraux à l'intérieur du corps basal permettent à la partie interne de cette structure, aux tiges du corps basal et au complexe crochet-filament de tourner (Carroll *et al.*, 2015).

Le crochet et le corps basal sont très différents du filament. Le crochet est un peu plus large que le filament et composé de différentes sous-unités protéiques. Le corps basal est le plus complexe. Chez *E. coli* et la plupart des bactéries Gram négatives, le corps a quatre anneaux attachés à un axe central. Les anneaux extérieurs L et P s'associent respectivement avec les lipopolysaccharides (LPS) et le peptidoglycane. L'anneau M interne s'attache à la membrane plasmique. Les bactéries Gram positives ont seulement deux anneaux dans le corps basal, un anneau interne connecté à la membrane plasmique et l'autre probablement attaché au peptidoglycane.

2.10.3. Fonctions

Les bactéries flagellées se déplacent dans les milieux liquides ou à la surface des géloses molles qu'elles recouvrent parfois en formant un véritable film.

Les flagelles bactériens sont des rotors hélicoïdaux semi-rigides auxquels la cellule transmet un mouvement de rotation. La rotation est entraînée grâce à des gradients de sodium ou de protons dans la cellule. Les bactéries vivant dans des environnements alcalins (alcalophiles) utilisent l'énergie du gradient d'ions sodium - plutôt que le gradient de protons - pour actionner le moteur flagellaire. Lorsqu'une bactérie péritriche nage, ses flagelles s'associent pour former un faisceau postérieur qui entraîne la cellule en avant dans une ligne droite par rotation contraire des aiguilles d'une montre. Les flagelles inversent leur sens de rotation et se dissocient momentanément pour provoquer la culbute de la cellule afin de changer la direction.

Ce comportement (mobilité) rend possible la propriété de **chimiotaxie** ou chimiotactisme: Une cellule mouvant loin d'une source d'un attractif chimique culbute et se réoriente et se déplace vers l'attractif. La présence d'un attractif chimique (par exemple, un sucre ou un acide aminé) est détectée par des récepteurs spécifiques situés dans la membrane cellulaire ou dans son espace périplasmique. Ces protéines de liaison sont également impliquées dans le transfert de ces composants à l'intérieur de la cellule. La cellule bactérienne détecte l'existence d'un gradient chimique spatial (c'est-à-dire un gradient entre ses deux pôles) et temporel ; c'est-à-dire des concentrations diminuent avec le temps pendant

lequel la cellule s'éloigne de la source attractive et augmentent avec le temps pendant lequel la cellule se déplace vers la même source.

Certains composés agissent comme répulsifs plutôt que comme attractifs. Le mécanisme par lequel les cellules répondent aux attractifs et aux répulsifs implique une méthylation à médiation par GMPc (Guanosine monophosphate cyclique) et une déméthylation de protéines spécifiques dans la membrane. Alors que les attractifs provoquent une inhibition transitoire de la déméthylation de ces protéines, les répulsifs stimulent leur déméthylation. Le mécanisme par lequel un changement de comportement cellulaire est provoqué en réponse à un changement dans l'environnement est appelé transduction sensorielle. La transduction sensorielle est responsable non seulement de la chimiotaxie, mais aussi de l'aérotaxie (mouvement vers la concentration optimale en oxygène), de la phototaxie (mouvement des bactéries photosynthétiques vers la lumière) et des accepteurs d'électrons taxies (déplacement des bactéries respiratoires vers d'autres accepteurs d'électrons, tels que le nitrate et le fumarate).

2.11. Spore

Dans les conditions nutritionnelles défavorables, certaines espèces bactériennes se transforment en petites unités; les **spores** ou **endospores**: ce sont des formes de résistance capables de retourner à la forme végétative dans les conditions physicochimiques favorables.

2.11.1. Morphologie et structure

La spore bactérienne apparaît comme un espace clair, réfringent et ovoïde. Sa position dans la cellule peut être centrale, subterminale ou terminale (Fig. 27).

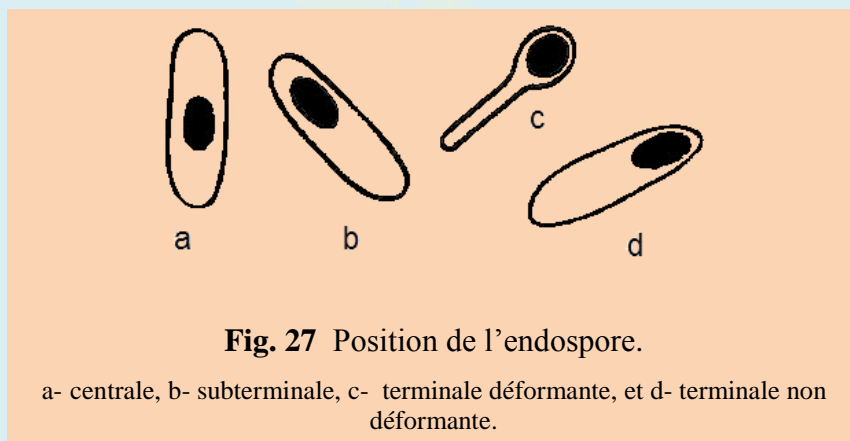


Fig. 27 Position de l'endospore.

a- centrale, b- subterminale, c- terminale déformante, et d- terminale non déformante.

En microscopie électronique, la spore apparaît constituée d'une région centrale entourée de plusieurs enveloppes. La région centrale présente des zones claires représentant le matériel nucléaire et d'autres sombres représentant les acides nucléiques et les substances de réserve. Les enveloppes qui entourent cette région ont des structures et des compositions variées (Fig. 28):

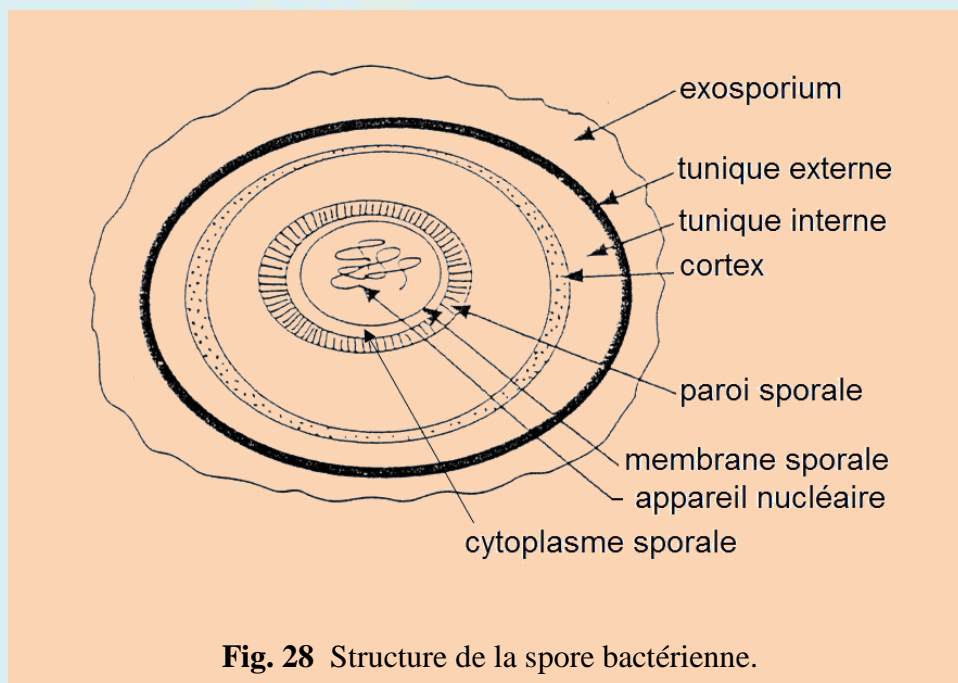


Fig. 28 Structure de la spore bactérienne.

- la **paroi sporale** : formée d'un peptidoglycane normale qui deviendra la paroi après la germination.
- le **cortex**: couche épaisse transparente formée d'un peptidoglycane inhabituel très sensible au lysozyme et contenant le dipicolinate de calcium.
- les **tuniques** (interne et externe): composée d'une protéine riche en liaisons disulfures (kératine). Elles sont imperméables et responsables de la résistance aux agents chimiques.
- l'**exosporium** : c'est la couche la plus externe. Il est formé d'une membrane lipoprotéinique contenant des sucres; il n'est pas essentiel à la survie de la spore.

2.11.2. Sporulation.

Le processus de sporulation se déclenche à la fin de la phase exponentielle de croissance ou en début de la phase stationnaire. Il dure de 7 à 10h pendant lesquelles la cellule subit de profondes modifications métaboliques et morphologiques menées parallèlement.

- **modifications morphologiques:** généralement différenciées en 7 phases:

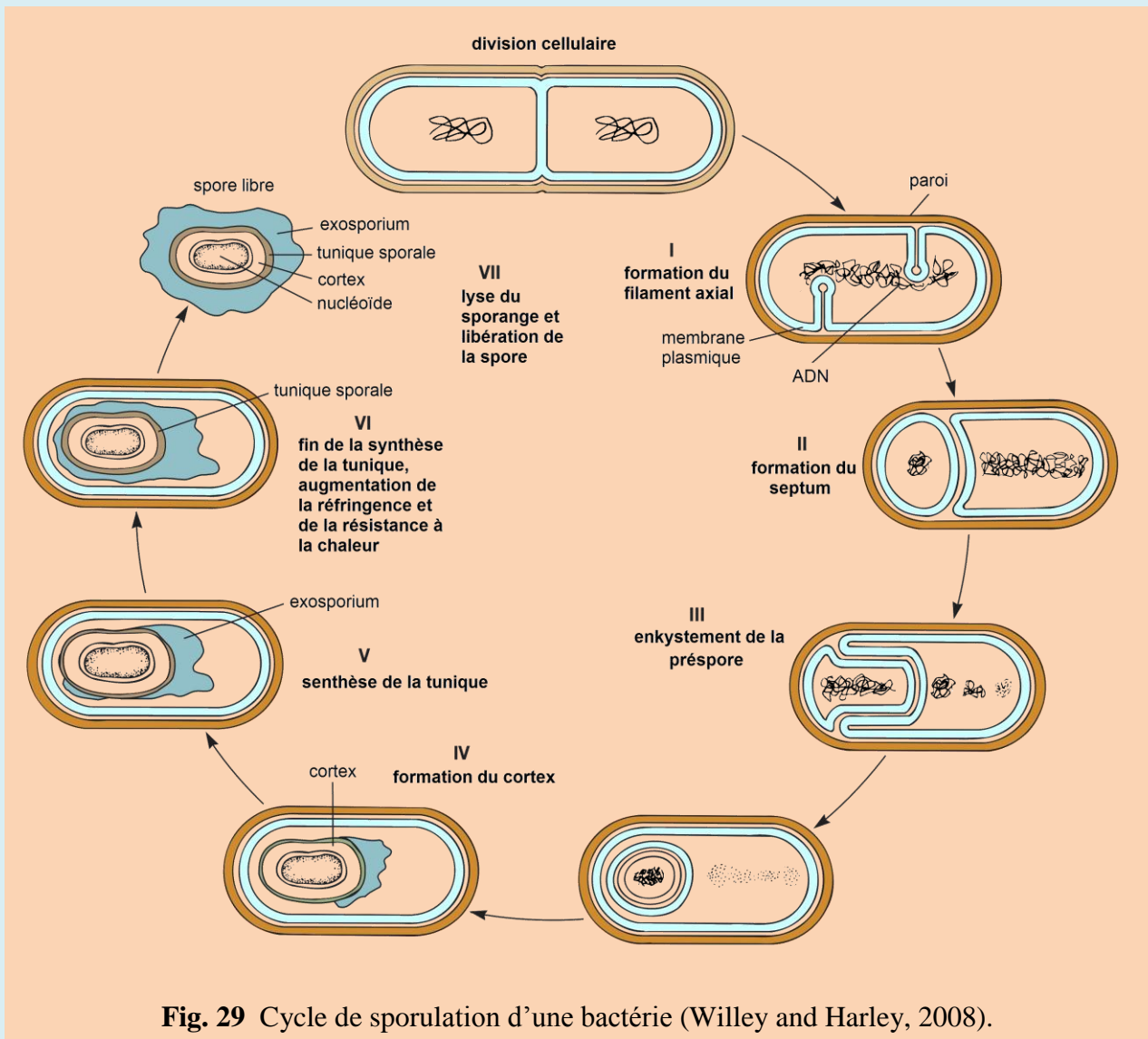
- **Stade I:** changement de l'ADN en un filament chromatique axial comprenant 02 génomes.
- **Stade II:** après séparation, l'un des 02 génomes occupe un pôle de la cellule en même temps qu'apparaît une invagination de la membrane plasmique séparant la cellule en 02 compartiments asymétriques.
- **Stade III:** formation de **présore** ovoïde qui est progressivement entourée de la membrane de la cellule mère où elle baigne (02 enveloppes sont formées).
- **Stade IV:** entre les 02 membranes se forme une **paroi sporale** puis le **cortex**.
- **Stade V:** formation des 02 enveloppes de nature protéique; les **tuniques sporales**.
- **Stade VI:** lyse de la cellule mère après maturation de la spore.
- **Stade VII:** libération de la spore mûre dépourvue de toute activité métabolique.

☒ chez quelques bactéries (ex. *Bacillus cereus*), une enveloppe externe se forme; c'est l'**exosporium**.

- **modifications métaboliques:**

Les biosynthèses cellulaires subissent différentes variations:

- accumulation de matériel protéique et de substances de réserve. Ce phénomène est accompagné de production de toxines et d'antibiotiques.
- dégradation des protéines principales de la cellule végétative.
- apparition de nouveaux composés: acide dipicolinique qui combine avec les ions Ca^+ produits en même temps formant ainsi le dipicolinate de calcium.
- diminution de la teneur en eau jusqu'à 20% de la teneur initiale.



2.11.3. Propriétés

2.11.3.1. Thermorésistance

Alors que les cellules végétatives sont détruites par un chauffage de 10 min à 80°C, les spores peuvent vivre et résistent à de températures plus élevées (quelques heures à 100°C). Cette propriété constitue un problème dans les hôpitaux et les industries alimentaires. On croyait que la thermorésistance des spores est essentiellement en rapport avec le dipicolinate de calcium formé uniquement au cours de la sporulation et de la teneur basse en eau qui est préservée grâce à l'imperméabilité des enveloppes dont principalement le cortex. En réalité

différents facteurs sont impliqués: dipicolinate de calcium, les protéines solubles dans l'acide stabilisant l'ADN, la déshydratation des protoplastes et la grande stabilité des protéines cellulaires des bactéries adaptées à la croissance dans les environnements à haute température.

2.11.3.2. Résistance aux agents chimiques et physiques

La spore présente une résistance importante aux rayons UV, X et les ultrapressions. Ses propriétés et sa survie ne sont pas gravement affectées au contact des agents antiseptiques. Les antibiotiques sont légèrement sporostatiques par rapport à leur effet bactéricide sur les cellules végétatives.

2.11.3.3. Synthèse d'antibiotiques

Ces substances antibactériennes et d'autres produits comme les protéases et les ribonucléases sont synthétisées au moment de l'engagement t irréversible de la sporulation.

2.11.4. Germination

Après une période de dormance, la spore peut retourner rapidement à son état initial en présence des conditions favorables de croissance et suite d'une activation exercée par des chocs physiques ou chimiques.

Le processus de germination implique 03 étapes : activation, germination ou initiation et excroissance d'une cellule végétative à partir de la structure sporale. Après activation, les spores peuvent germer en présence de nutriments spécifiques (ac aminés, glucides, ions inorganiques...). La spore perd sa réfractilité, sa résistance parallèlement à la perte de dipicolinate de calcium et du cortex. L'excroissance implique le gonflement de la spore qui résulte de sa réhydratation et de la synthèse de nouvelles molécules de protéines, ADN, ARN... La cellule végétative émerge des enveloppes sporales et s'engage dans un processus de croissance si les conditions du milieu le permettent.

3. CHAPITRE III : CLASSIFICATION BACTÉRIENNE

3.1. Généralités

La **systematique** ou **taxonomie** (ou taxinomie du grec "*taxis*" = arrangement) est la science qui a pour objet la classification des êtres vivants, leur identification et leur nomenclature. Elle comprend trois domaines différents: la classification qui consiste à regrouper les organismes au sein d'ensembles " taxons " en fonction de leurs similitudes, la « nomenclature » qui consiste à attribuer un nom à chaque taxon, et enfin l'identification qui utilise les deux domaines précédents pour reconnaître et donner un nom. L'unité de classification ou taxon est l'espèce biologique.

La **nomenclature** est l'ensemble des règles gouvernant l'attribution d'un nom à un taxon. L'utilisation des noms scientifiques en microbiologie s'est inspirée de celle utilisée en botanique et basée sur la dénomination binomiale. En 1930 lors du 1^{er} Congrès International de Microbiologie fut formée une commission de la Nomenclature et de la Taxonomie. Le *code international de nomenclature des bactéries* fut publié en 1947; il régleme l'usage des noms scientifiques. Le répertoire actuel exclusivement consacré à la systematique bactérienne est le « Bergey's Manual of Systematic Bacteriology ».

Parmi les principales **règles de nomenclature**:

- La nomenclature bactérienne utilise des mots issus du grec ou du latin ou des deux qui sont traditionnellement écrits en italique ou ils sont soulignés dans un manuscrit.
- La première partie du nom est le nom de genre, la seconde partie est l'épithète ou le nom de l'espèce.
- Les mots ne doivent pas contenir de signes diacritiques (é, è, ï, æ...) ou de trait d'union.
- Le nom de genre est imprimé en italique (ou souligné dans les textes manuscrits) et sa première lettre est majuscule.
- Les noms des espèces sont formés d'une combinaison binaire dont le premier terme est le nom de genre et d'un deuxième terme (une épithète). L'épithète commence par une minuscule (ex.: *Escherichia coli*). Après une première citation, sauf le nom de genre est abrégé à sa première lettre (ex.: *E. coli*).

Les **échelons hiérarchiques** sont : règne, embranchement, classe, ordre, famille, genre et espèce : le genre étant un groupe d'espèces semblables, la famille, un groupe de genres semblables, l'ordre, un groupe de familles etc... jusqu'au règne qui serait un groupe d'embranchements . L'ordre, famille, genre et espèce sont exprimés par un terme latin (imprimé en caractères italiques ou soulignés) dont la terminaison est "*ales*" pour l'ordre, "*aceae*" pour la famille. L'initiale du nom du genre s'écrit en caractère majuscule, le reste de ce nom s'écrit en minuscules comme le nom de l'espèce (Tab.2).

Tab. 2 Hiérarchie des taxons.

Taxon	Exemple
Domaine	<i>Bacteria</i>
Phylum	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre	<i>Enterobacteriales</i>
Famille	<i>Enterobacteriaceae</i>
Genre	<i>Escherichia</i>
Espèce	<i>Escherichia coli</i>

L'**identification** d'une souche bactérienne, c'est-à-dire l'attribution à cette souche du nom d'un taxon, s'effectue par un processus de comparaison des caractères de cette souche avec ceux des modèles décrits dans la systématique.

L'**espèce bactérienne** est l'unité fondamentale de la classification en microbiologie. Elle se définit comme "un ensemble d'organismes partageant de nombreuses propriétés stables".

Au sein de l'espèce bactérienne, la descendance d'une même cellule, en se divisant, forme un **clone**. La population bactérienne issue d'une même cellule forme une **souche**. Les souches peuvent présenter des différences légères entre elles qui pourront être caractérisées sur la base:

- de leurs propriétés biochimiques ou physiologiques pour les **biovars**.
- de leurs propriétés antigéniques pour les **sérovars**.

- de leur facteur de virulence pour les **pathovars**.
- de leur sensibilité aux antibiotiques pour les **antibiovars**.

3.2. Classification phénétique

La classification phénétique ou phénotypique utilise un nombre de caractères considérés comme importants tels que la morphologie, la mise en évidence d'un caractère biochimique, l'habitat. Ce sont des caractères anatomiques ou physiologiques mis en évidence par des tests simples. Le tableau 3 suivant présente quelques caractères phénotypiques.

Tab. 3 Caractères utilisés en systématique bactérienne.

Test d'identification	Exemple
Observations et tests préliminaires	Coloration (Gram, bleu de méthylène...); Morphologie (bacille, coque.); Mobilité; Présence de spores (déformantes, terminales); aérobie/anaérobie; Hémolyse sur gélose au sang; Production d'une catalase
Tests métaboliques ou biochimiques	Test à l'oxydase ; Test à l'uréase ; Test de l'indole ; Hydrolyse de l'hippurate ; Hydrolyse de l'esculine ; Production d'H ₂ S
Sérologie ou tests immunologiques	Agglutination ; Immunochromatographie
Test d'inhibition ou de sensibilité	Milieux sélectifs ; Sensibilité à l'optochine ; Antibiotiques.
Chimiotaxonomie ou analyse physico-chimique des constituants structuraux cellulaires	Acides gras ; acides mycoliques ; Profil protéique ; Pyrolyse.

3.3. Classification numérique

En 1957, Sneath applique une taxonomie qualifiée de numérique. Elle évalue une similitude générale en comparant de nombreuses caractéristiques ayant chacune le même poids (morphologique, physiologique, biochimique). L'ordinateur calcule les similitudes entre les souches, et les regroupe en groupes (phénons). Le nombre de caractères étudié varie entre

50 et 200. Le résultat est codé de façon binaire pour chaque test (0 ou 1 ; 0 = - et 1 = +). L'établissement de la structure taxonomique se fait à l'aide de programme d'**agrégation (cluster analysis)** qui évalue la ressemblance entre les souches en calculant un indice numérique (coefficient de simple appariement, **coefficient de Jaccard**).

3.3.1. Mesure de l'affinité entre individus

Les données taxonomiques se présentent sous forme d'un tableau de **N** lignes (**N** = nombre d'individus) et **n** colonnes (**n** = nombre de caractères).

Exemple : un tableau de 6 souches et 12 caractères (tests)

Souches/ tests	Réponses aux tests : 0: caractère négatif; 1: caractère positif											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
S ₁	0	0	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1
S ₂	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1	1
S ₃	0	0	1	0	0	1	0	1	1	1	0	1
S ₄	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1
S ₅	0	1	0	0	0	1	0	1	1	1	0	1
S ₆	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1	1

Pour estimer l'affinité entre 2 souches *i* et *j*, on utilise le **coefficient de Jaccard-Sneath**:

$$S(a,b) = Np / (Np + Nd)$$

S(a,b) = coefficient de similitude entre *a* et *b* (varie de 0 à 1)

Np = nombre de caractères positifs chez *a* et chez *b*

Nd = nombre de caractères différents chez *a* et *b*.

Ex : $S(S_5, S_6) = 3 / (3+6) = 3 / 9 = 0.33$

On peut aussi utiliser un **indice de distance, d**:

$$d(a,b) = 1 - S(a,b) = Nd / (Np + Nd)$$

$d = 0$ pour 2 souches semblables ($S(a,b) = 1$)

$d = 1$ pour 2 souches n'ayant aucun caractère commun ($S(a,b) = 0$)

3.3.2. Méthode de classification et représentation graphique

Dans une classe toutes les paires de souches possèdent un grand nombre de caractères en commun et peu de caractères sont possédés par toutes les souches de cette classe. On utilise pour cela l'indice de similitude ou de distance **d**.

Par la méthode hiérarchique ascendante :

- On regroupe d'abord les souches les plus semblables (d minimal)
- Puis les souches sont agrégés en grappes ayant un d plus élevé, jusqu'à ce que tous les individus soient progressivement agrégés en une grappe unique.

L'arbre de classification est constitué par la liste des éléments (souches) qui se sont agrégés pour des niveaux hiérarchiques de plus en plus hauts, entre 0 (similitude complète entre 2 souches) et 100%.

Cet arbre est présenté graphiquement par un **dendrogramme**:

Exemple

Soit 6 souches à classer $S_1, S_2, S_3, S_4, S_5, S_6$ soumises à 20 tests. On écrit, pour commencer, les résultats obtenus pour chacune des souches, en notant 0 les résultats négatifs et 1 les résultats positifs pour calculer les indices de distance d (tableau dessous).

Réponses aux tests : 0: caractère négatif; 1: caractère positif																				
Souches/ tests	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
S_1	0	0	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0
S_2	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0	1	0	0	0
S_3	0	0	1	0	0	1	0	1	1	1	0	1	0	1	1	0	0	0	1	0
S_4	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0
S_5	0	1	0	0	0	1	0	1	1	1	0	1	0	1	1	0	0	0	1	0
S_6	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0	1	0	0	0

On calcule l'indice de distance entre toutes les souches 2 à 2 ($S_1 S_2, S_1 S_3 \dots S_1 S_6; S_2 S_3 \dots S_2 S_6; S_3 S_4, S_3 S_5, S_3 S_6; S_4 S_5, S_4 S_6; S_5 S_6$).

S_1	0	0	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0
S_2	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0	1	0	0	0
Nd = 7	x	x			x			x	x	x							x			
Np = 6			x			x					x	x	x		x					

$Nd + Np = 13$; $d(S_1 - S_2) = Nd / Nd + Np = 7/13 = 0.538$; l'indice de distance entre S_1 et S_2 est égal à 0.538.

Quand tous les calculs sont faits, on construit le "tableau en carré"

	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	S ₅	S ₆
S ₁	0	0.538	0.364	0.200	0.500	0.500
S ₂	0.538	0	0.714	0.643	0.733	0.100
S ₃	0.364	0.714	0	0.500	0.200	0.714
S ₄	0.200	0.643	0.500	0	0.62	0.615
S ₅	0.500	0.733	0.200	0.62	0	0.714
S ₆	0.500	0.100	0.714	0.62	0.714	0

L'indice d entre les souches S₂ et S₆ est le plus faible ; ce sont donc les souches les moins différentes ou les plus semblables qu'on va réunir en un même groupe G₁.

On calcule les nouveaux indices de distance entre chacune des souches restantes et le nouveau groupe qui sont la moyenne des indices de chacun des constituants du groupe.

	S ₁	S ₃	S ₄	S ₅	G ₁
S ₁	0	0.364	0.200	0.500	0.519
S ₃	0.364	0	0.500	0.200	0.714
S ₄	0.200	0.500	0	0.62	0.631
S ₅	0.500	0.200	0.62	0	0.723
G ₁	0.519	0.714	0.631	0.723	0

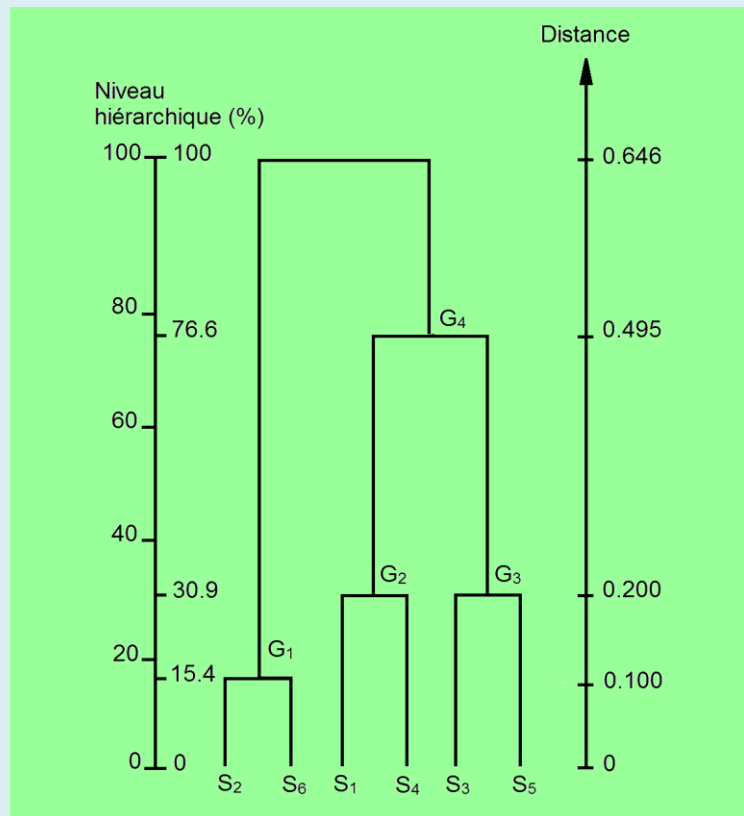
Maintenant c'est S₁ et S₄ ; S₃ et S₅ qu'on va regrouper en G₂ et G₃

	G ₁	G ₂	G ₃
G ₁	0	0.575	0.718
G ₂	0.575	0	0.496
G ₃	0.718	0.496	0

Et maintenant c'est G₂ et G₃ qu'on va regrouper en G₄

	G ₁	G ₄
G ₁	0	0.646
G ₄	0.646	0

On obtient le dendrogramme représentatif suivant:



Il est admis que les souches présentant 90% de similitudes (ou 10% de différences) appartiennent à la même espèce et qu'à 70%, elles sont du même genre.

On aperçoit la parenté entre les souches S₂ et S₆ qui appartiennent à la même espèce et les souches S₁ et S₄; S₃ et S₅ qui sont de genres différents G₂ et G₃.

3.4. Classification phylogénétique

L'étude des caractères phénotypiques d'une souche bactérienne ne donne qu'une information restreinte sur la nature du génome, car les propriétés physiologiques ne reflètent pas la totalité des qualités génétiques (elles sont affectées par intervention de facteurs écologiques, milieux de culture, plasmides...etc.). Le **génotype** doit être étudié pour une classification plus rigoureuse.

3.4.1. Mesure du GC%

Le contenu en bases puriques (G = guanine, A = adénine) et en bases pyrimidiques (C = cytosine, T = thymine) de l'ADN peut varier, mais il est relativement constant pour les individus d'une même espèce (Chargaff - 1945). Ce contenu est exprimé par le G + C % (ou

GC%) qui est défini ainsi (chaque base étant exprimée par sa concentration molaire):

$$\text{GC\%} = (G + C) \times 100 / (A + T + G + C).$$

On admet que les bactéries dont le GC% diffèrent de plus de 3% ne peuvent appartenir à la même espèce et que les bactéries dont les GC% diffèrent de plus de 10% ne peuvent appartenir au même genre. Attention, les valeurs peuvent être identiques sans que les bactéries soient proches (bases disposées de manière différente sur l'ADN).

Le GC% est déterminé par mesure de la température de fusion T_m (melting température) de l'ADN. En chauffant une solution d'ADN, les liaisons hydrogènes sont rompues. Parallèlement la DO à 260nm augmente selon une sigmoïde. Le point d'inflexion de la courbe détermine le T_m où 50% de l'ADN est sous forme simple brin. Le T_m est d'autant plus élevé que le GC% est grand (Fig. 30).

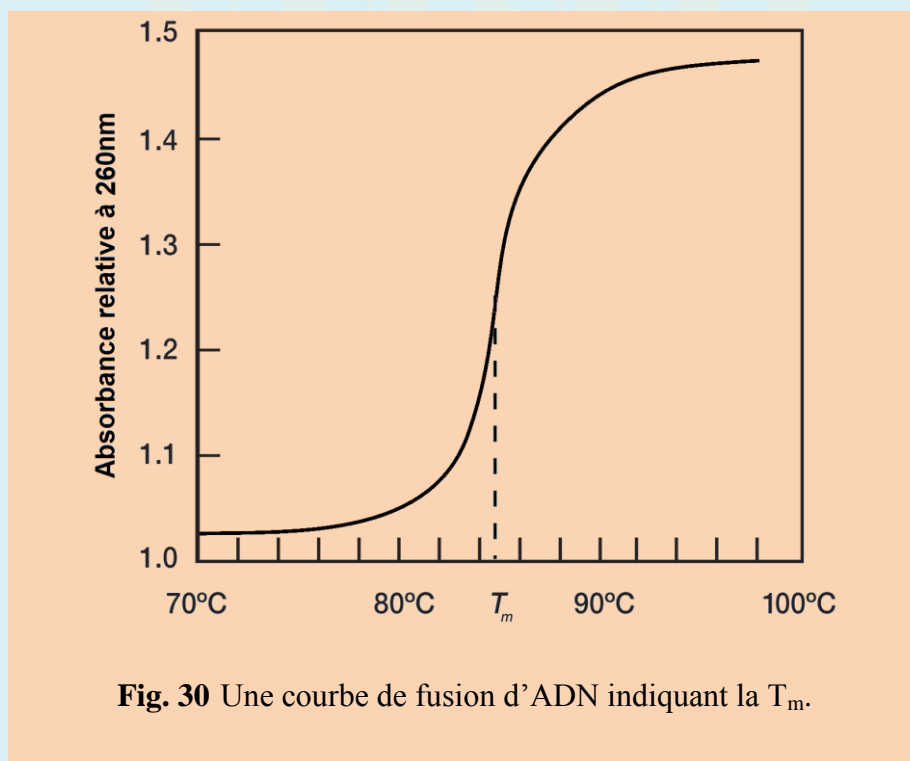


Fig. 30 Une courbe de fusion d'ADN indiquant la T_m .

La détermination du GC% permet de regrouper des souches pour des études complémentaires (hybridation ADN/ADN). Le tableau ci-contre (Tab. 4) représente les GC% de quelques espèces bactériennes.

Tab. 4 Contenu en GC% de quelques bactéries.

Espèce	GC%
<i>Bacillus subtilis</i>	43.5
<i>Escherichia coli</i>	51
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	67
<i>Vibrio cholerae</i>	47.5

3.4.2. Hybridation ADN/ADN

Le chauffage progressif d'un ADN en solution conduit à une dénaturation de la molécule (séparation de ses deux brins). La température de dénaturation augmente avec le nombre de paires de bases GC qui sont reliées par trois liaisons hydrogène. Le refroidissement lent permet la renaturation de l'ADN : les deux brins de l'ADN monocaténaire se réassocient pour reformer une double hélice (Fig. 31).

Les méthodes d'hybridation ADN/ADN sont basées sur le fait que deux molécules d'ADN dénaturées peuvent se réassocier à condition de présenter une homologie.

La renaturation est réalisée à partir d'un mélange de deux ADN dénaturés provenant de bactéries différentes (hybridation). Pour reconnaître la provenance de chaque brin d'ADN dans les hybrides, l'un des ADN est marqué par un isotope radioactif ou par une enzyme. La température optimale de réassociation de l'ADN est inférieure de 25-30°C au T_m .

Deux souches appartiennent à la même espèce lorsque le pourcentage d'hybridation ADN/ADN est >70%. Entre 0-65%, les souches n'appartiennent pas à la même espèce mais peuvent appartenir au même genre.

La stabilité thermique d'un ADN double brin de contrôle (homologue) et celui de l'hétéroduplex reconstitué (hétérologue) permet de mettre en évidence les différences de séquences nucléotidiques entre les 2 ADN. Cette différence définit le ΔT_m . La stabilité

thermique est directement corrélée avec le pourcentage de bases non appariées. La correspondance est d'environ 1% de bases mésappariées pour un ΔT_m de 1°C. Une valeur de 5°C a été fixée comme seuil d'appartenance à une même espèce.

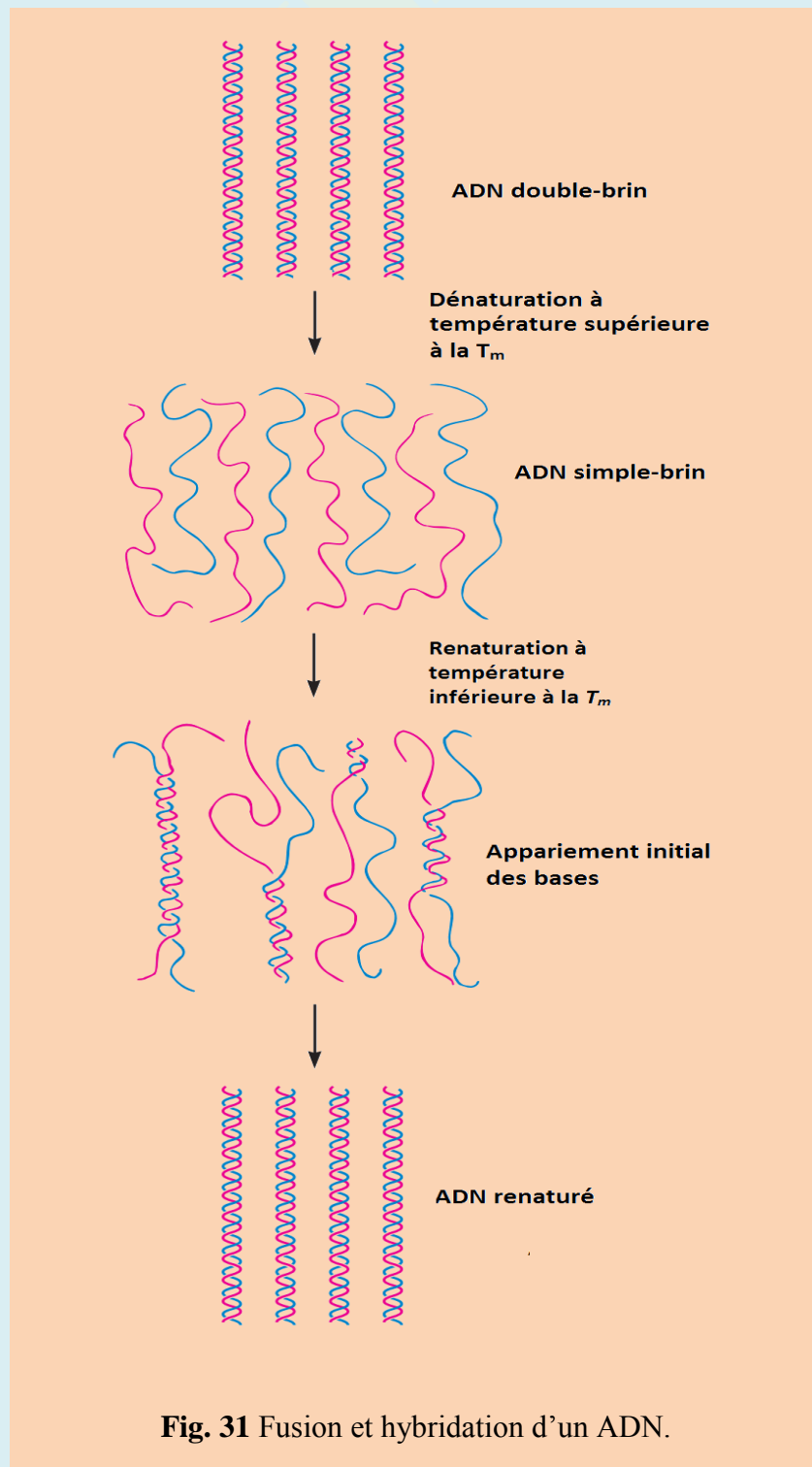


Fig. 31 Fusion et hybridation d'un ADN.

3.4.3. Hybridation ADN/ARNr

L'ADN simple brin à étudier est fixé sur une membrane de nitrocellulose et est hybridé avec une sonde radioactive d'ARNr (16S ou 23S) isolée d'une souche référence.

3.4.4. Etude des ARNr

Les ARNr sont choisis en taxonomie pour plusieurs raisons:

- ils sont présents dans les cellules procaryotes et eucaryotes.
- ils ont structure bien conservée car toute modification pourrait nuire à la synthèse protéique.
- ils ont séquences d'ARNr identiques chez tous les êtres vivants.
- ils sont abondants dans la cellule et donc facilement purifiables.

La stabilité des ARNr est mise à profit pour analyser les relations des bactéries au niveau de l'espèce et à des niveaux hiérarchiques plus élevés. L'ARNr 16S est le plus utilisé. L'ARNr 16S est utile à la classification phylogénétique et à l'identification bactérienne puisqu'il est présent dans toutes les bactéries. Il comporte des séquences conservées (stables) communes à des unités de taxons élevés et des séquences variables spécifiques d'espèces.

En conclusion,

Une espèce est définie phylogénétiquement comme le rassemblement de souches ayant un pourcentage d'hybridation ADN/ADN >70% ainsi qu'un $\Delta T_m < 5^\circ\text{C}$. Toute description d'une nouvelle espèce devrait inclure le séquençage de l'ARN 16S de la souche type et s'accompagner de l'analyse des caractères phénotypiques.

3.5. Classification de Bergey

Publié par Bergey et collègues en 1923, le *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* renfermait une classification des bactéries qui pouvait être utilisée pour l'identification des espèces bactériennes.

La première édition du *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* est principalement phénétique (la forme, coloration de Gram, dépendance vis-à-vis de l'oxygène, mobilité, la présence d'endospores, mode de production d'énergie, etc.) Les groupes procaryotes sont répartis dans les quatre volumes de la façon suivante:

- 1- Les bactéries Gram-négatives d'importance générale, médicale ou industrielle.
- 2- Les bactéries Gram-positives autres que les actinomycètes.
- 3- Les bactéries Gram-négatives à propriétés distinctes ; les cyanobactéries et les archéobactéries.
- 4- Les actinomycètes (bactéries filamenteuses Gram-positives).

La seconde édition du Bergey (5 volumes) renferme plus d'informations écologiques sur chaque taxon. Les espèces pathogènes sont placées phylogénétiquement:

Volume 1 : Les Archéobactéries et les Bactéries des branches les plus anciennes et les
Bactéries phototrophes

Volume 2 : Les Protéobactéries

Volume 3 : Les Bactéries Gram-positives pauvres en GC.

Volume 4 : Les Bactéries Gram-positives riches en GC.

Volume 5 : Les Planctomycètes, Spirochètes, Fibrobactéries, Bactéroïdes et Fusobactéries

Le tableau présente l'organisation du *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*.

Tab. 5 Organisation du *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (Carroll *et al.*, 2015).

Taxonomic Rank	Representative Genera
Volume 1. The Archaea and the Deeply Branching and Phototrophic Bacteria	
Domain <i>Archaea</i>	
Phylum <i>Crenarchaeota</i>	<i>Thermoproteus</i> , <i>Pyrodictium</i> , <i>Sulfolobus</i>
Phylum <i>Euryarchaeota</i>	
Class I. <i>Methanobacteria</i>	<i>Methanobacterium</i>
Class II. <i>Methanococci</i>	<i>Methanococcus</i>
Class III. <i>Halobacteria</i>	<i>Halobacterium</i> , <i>Halococcus</i>
Class IV. <i>Thermoplasmata</i>	<i>Thermoplasma</i> , <i>Picrophilus</i>
Class V. <i>Thermococci</i>	<i>Thermococcus</i> , <i>Pyrococcus</i>
Class VI. <i>Archaeoglobi</i>	<i>Archaeoglobus</i>
Class VII. <i>Methanopyri</i>	<i>Methanopyrus</i>
Domain <i>Bacteria</i>	
Phylum <i>Aquificae</i>	<i>Aquifex</i> , <i>Hydrogenobacter</i>
Phylum <i>Thermotogae</i>	<i>Thermotoga</i> , <i>Geotoga</i>
Phylum <i>Thermodesulfobacteria</i>	<i>Thermodesulfobacterium</i>
Phylum "Deinococcus-Thermus"	<i>Deinococcus</i> , <i>Thermus</i>
Phylum <i>Chrysiogenetes</i>	<i>Chrysiogenes</i>
Phylum <i>Chloroflexi</i>	<i>Chloroflexus</i> , <i>Herpetosiphon</i>
Phylum <i>Thermomicrobia</i>	<i>Thermomicrobium</i>
Phylum <i>Nitrospira</i>	<i>Nitrospira</i>
Phylum <i>Deferribacteres</i>	<i>Geovibrio</i>
Phylum <i>Cyanobacteria</i>	<i>Prochloron</i> , <i>Synechococcus</i> , <i>Pleurocapsa</i> , <i>Oscillatoria</i> , <i>Anabaena</i> , <i>Nostoc</i> , <i>Stigonema</i>
Phylum <i>Chlorobi</i>	<i>Chlorobium</i> , <i>Pelodictyon</i>
Volume 2. The Proteobacteria	
Phylum <i>Proteobacteria</i>	
Class I. Alphaproteobacteria	<i>Rhodospirillum</i> , <i>Rickettsia</i> , <i>Caulobacter</i> , <i>Rhizobium</i> , <i>Brucella</i> , <i>Nitrobacter</i> , <i>Methylobacterium</i> , <i>Beijerinckia</i> , <i>Hyphomicrobium</i>
Class II. Betaproteobacteria	<i>Neisseria</i> , <i>Burkholderia</i> , <i>Alcaligenes</i> , <i>Comamonas</i> , <i>Nitrosomonas</i> , <i>Methylophilus</i> , <i>Thiobacillus</i>
Class III. Gammaproteobacteria	<i>Chromatium</i> , <i>Leucoxithrix</i> , <i>Legionella</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Azotobacter</i> , <i>Vibrio</i> , <i>Escherichia</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Proteus</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> , <i>Yersinia</i> , <i>Haemophilus</i>
Class IV. Deltaproteobacteria	<i>Desulfovibrio</i> , <i>Bdellovibrio</i> , <i>Myxococcus</i> , <i>Polyangium</i>
Class V. Epsilonproteobacteria	<i>Campylobacter</i> , <i>Helicobacter</i>
Volume 3. The Low G + C Gram-Positive Bacteria	
Phylum <i>Firmicutes</i>	
Class I. Clostridia	<i>Clostridium</i> , <i>Peptostreptococcus</i> , <i>Eubacterium</i> , <i>Desulfotomaculum</i> , <i>Helibacterium</i> , <i>Veillonella</i>
Class II. Mollicutes	<i>Mycoplasma</i> , <i>ureaplasma</i> , <i>Spiroplasma</i> , <i>Acholeplasma</i>
Class III. Bacilli	<i>Bacillus</i> , <i>Caryophanon</i> , <i>Paenibacillus</i> , <i>Thermoactinomyces</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Listeria</i> , <i>Leuconostoc</i> , <i>Staphylococcus</i>
Volume 4. The High G + C Gram-Positive Bacteria	
Phylum <i>Actinobacteria</i>	
Class <i>Actinobacteria</i>	<i>Actinomyces</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Arthrobacter</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Mycobacterium</i> , <i>Nocardia</i> , <i>Actinoplanes</i> , <i>Propionibacterium</i> , <i>Streptomyces</i> , <i>Thermomonospora</i> , <i>Frankia</i> , <i>Actinomadura</i> , <i>Bifidobacterium</i>
Volume 5. The Planctomycetes, Spirochaetes, Fibrobacteres, Bacterioidetes, and Fusobacteria	
Phylum <i>Planctomycetes</i>	<i>Planctomyces</i> , <i>Gemmata</i>
Phylum <i>Chlamydiae</i>	<i>Chlamydia</i>
Phylum <i>Spirochaetes</i>	<i>Spirochaeta</i> , <i>Borrelia</i> , <i>Treponema</i> , <i>Leptospira</i>
Phylum <i>Fibrobacteres</i>	<i>Fibrobacter</i>
Phylum <i>Acidobacteria</i>	<i>Acidobacterium</i>
Phylum <i>Bacterioidetes</i>	<i>Bacteroides</i> , <i>Porphyromonas</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Flavobacterium</i> , <i>Sphingobacterium</i> , <i>Flexibacter</i> , <i>Cytophaga</i>
Phylum <i>Fusobacteria</i>	<i>Fusobacterium</i> , <i>Streptobacillus</i>
Phylum <i>Verrucomicrobia</i>	<i>Verrucomicrobium</i>
Phylum <i>Dictyoglomi</i>	<i>Dictyoglomus</i>

4. CHAPITRE IV: NUTRITION BACTERIENNE

La diversité dans la nature des substrats chimiques et des conditions physico-chimiques de nutrition engendre des profils nutritionnels bactériens très divers appelés **types trophiques**. La nutrition bactérienne requiert deux (02) types de substances : des substances élémentaires constitutives de la cellule : carbonées, azotées, minérales..., et des substances énergétiques nécessaires à la synthèse des constituants cellulaires.

En présence de ces besoins élémentaires et énergétiques, la majorité des bactéries peuvent croître et se multiplier, mais certaines autres en sont incapables car un ou plusieurs constituants essentiels nécessaires à la synthèse d'un composant indispensable à la vie cellulaire leur font défaut. Ces constituants ou métabolites doivent leur être fournis pour assurer leur développement. Ces besoins spécifiques sont appelés **facteurs de croissance**.

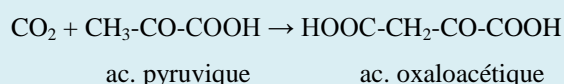
4.1. Besoins élémentaires

4.1.1. Source de carbone

Le carbone est le composant principal du matériel cellulaire ($\approx 50\%$ du poids sec). Les bactéries tirent le carbone de 02 sources différentes selon leur type trophique :

- Les bactéries autotrophes (Grec : *autos* = auto ; *trophe* = nutrition) utilisent le CO_2 moléculaire comme seule ou principe source de carbone. Le CO_2 est réduit en divers composés organiques.
- Les bactéries hétérotrophes (Grec : *heteros* = autre) présentent la majorité des bactéries. Elles utilisent des composés organiques comme source principale de carbone pour former leur matériel cellulaire.

Les différents substrats carbonés sont ajoutés dans les chaînes métaboliques spécialisées. Le CO_2 est important chez les hétérotrophes : son absence empêche la croissance de nombreuses espèces (*E. coli*, *Salmonella typhi*). Il serait nécessaire à la synthèse de certains métabolites essentiels :



4.1.2. Source d'énergie

Selon le type d'énergie utilisé dans les fonctions cellulaires, on distingue 02 catégories de bactéries :

- Les bactéries **phototrophes** (Grec : *photos* = lumière) ou **photosynthétiques**, peu nombreuses, puisant l'énergie par la conversion de l'énergie lumineuse (solaire) en énergie chimique biologiquement utilisable (ATP) au moyen du processus de photosynthèse. La plupart d'entre elles utilisent le CO₂ comme source de carbone : elles sont dites dans ce cas photolithotrophes (Grec : *lithos* = pierre) ou photoautotrophes. Les autres bactéries phototrophes utilisent des composés organiques comme sources de carbone : ce sont des bactéries **photoorganotrophes** ou **photohétérotrophes**.

- Les bactéries **chimiotrophes** ou **chimiosynthétiques** qui puisent l'énergie de l'oxydation de composés chimiques. Ces composés peuvent être organiques : glucides, acides organiques ...chez les bactéries dites **chimioorganotrophes** ou **chimiohétérotrophes**, ou des substrats inorganiques tels que : NH₄⁺, NO₂⁻, H₂, H₂S, S, S₂O₃⁻², CO, F⁺², MN⁺²... chez les bactéries dites **chimiolithotrophes** ou **chimioautotrophes**.

Souvent, les composés organiques utilisés comme source de carbone servent aussi de substrats énergétiques (une partie est intégrée au matériel cellulaire, l'autre est oxydée pour former l'énergie).

Certaines espèces bactériennes peuvent utiliser un substrat organique unique, d'autres peuvent en utiliser plusieurs.

La grande majorité des bactéries sont chimioorganotrophes : bactéries pathogènes, bactéries de contamination alimentaire, bactéries utilisées dans l'industrie pour leur synthèse d'antibiotiques, de vitamines, d'acides aminés...

Les bactéries chimiolithotrophes forment un groupe limité intervenant dans les cycles de la matière vivante dans le sol et dans les eaux : *Hydrogenomonas* (NH₄⁺), *Nitrosomonas* (nitrite), *Nitrobacter*, *Thiobacillus* (composés réduits soufrés)...

Les bactéries intracellulaires (Rickettsies, Chlamydiées) sont appelées **paratrophes** et tirent leur énergie de leur parasitisme obligatoire.

4.1.3. Source d'azote

L'azote est un composé majeur des protéines, des acides nucléiques et d'autres constituants cellulaires. Il occupe environ 12% du poids sec cellulaire. L'azote est souvent présent dans la nature sous forme inorganique : ammoniacque (NH_3), nitrate (NO_3^-), azote moléculaire (N_2). Les bactéries assimilent l'azote le plus souvent sous forme de sels d'ammonium en solution (NH_4^+) à travers l'action de certaines enzymes comme la glutamate déshydrogénase. Elles peuvent également utiliser les nitrates, les nitrites (NO_2^-) par réduction en ammoniacque assimilable et à l'exception de tous les organismes vivants, seules quelques bactéries sont capables de fixer l'azote moléculaire N_2 . Ce sont les bactéries fixatrices d'azote qui vivent en symbiose avec les plantes (*Rhizobium*) ou à l'état libre (*Azotobacter*).

La source d'azote peut être organique : groupements aminés des composés organiques R-H₂.

4.1.4. Source de Soufre et Phosphore

Le soufre est un constituant cellulaire important (ac. aminés soufrés, vitamines coenzymes). Les principales formes de soufre dans la nature sont inorganiques (S, H₂S, $(\text{S}_2\text{O}_3)^{-3}$).

De nombreuses bactéries sont capables de réduire les sulfates en sulfites pour les intégrer à leur métabolisme, certaines utilisent des composés soufrés réduits et d'autres ne peuvent croître qu'en présence de sulfure d'hydrogène H₂S.

Le phosphore est un constituant des acides nucléiques, des phospholipides et de l'ATP. Il est incorporé sous forme de phosphate inorganique. Les niveaux bas de phosphore limitent la croissance microbienne dans beaucoup d'environnements aquatiques.

4.1.5. Autres éléments minéraux

Certains de ces éléments jouent un rôle dans l'équilibre physicochimique de la cellule. Ce sont le sodium, le potassium, le magnésium et le chlore.

D'autres sont partie constituante d'enzymes ou de coenzymes : le fer des cytochromes, le magnésium de la chlorophylle. Le calcium, le cobalt, le cuivre et le manganèse jouent le

rôle d'activateurs enzymatiques. Ils sont appelés des **oligoéléments** car ils sont indispensables en quantités infimes et sont additionnés aux milieux de cultures sous-forme de traces par les produits chimiques.

4.2. Besoins spécifiques : Facteurs de croissance

Les facteurs de croissances sont des composés organiques indispensables à la nutrition et à la croissance de certaines bactéries parce qu'elles sont incapables de les synthétiser. En fonction de ces besoins, les microorganismes sont classés en 02 catégories : les **prototrophes** qui n'ont pas besoin de facteurs de croissances, et les **auxotrophes** qui les exigent (auxo : L. *auxilium* = secours).

Il y a 03 classes majeures de facteurs de croissances : les acides aminés, les purines et les pyrimidines, et les vitamines.

Les acides aminés sont exigés pour la synthèse des protéines, les purines et les pyrimidines pour la synthèse des acides nucléiques. Les vitamines sont de petites molécules organiques qui constituent toujours tout le cofacteur d'enzyme ou une partie du cofacteur.

Les facteurs de croissances sont caractérisés par leur action à des concentrations infimes et par leur spécificité structurale et fonctionnelle. Ils sont requis en nombre plus ou moins important selon les espèces bactériennes : par exemple *Enterococcus faecalis* (bactérie d'ac. lactique) exige 08 vitamines différentes pour sa croissance et d'autres bactéries lactiques exigent la présence de plusieurs acides aminés dans le milieu.

Les besoins en facteurs de croissance d'une espèce bactérienne peuvent être quelquefois satisfaits par la présence d'une autre espèce qui synthétise le dit facteur. Ce phénomène d'interaction métabolique est connu sous le nom de **syntrophie** (repas avec).

4.3. Facteurs physiques

Un certain nombre de facteurs physiques interviennent aux cours de la nutrition. Ils peuvent l'empêcher ou la favoriser.

4.3.1. Température

L'effet de la température sur la croissance est dépendant de la sensibilité des enzymes à

la température. Le métabolisme est plus actif à des températures élevées et le microorganisme croît plus rapidement. Les températures les plus élevées deviennent létales. A un certain degré, les transporteurs, les enzymes et d'autres protéines sont dénaturés. Donc toutes les fonctions cellulaires sont perturbées.

Les **températures cardinales** (optimum, minimum et maximum) (Fig. 32) varient beaucoup entre les microorganismes. La température optimale des microorganismes s'étend de 0°C à plus de 75°C mais la croissance microbienne peut être produite de -20°C à plus de 100°C. Quelques microorganismes ont un intervalle de croissance restreint ; ils sont dits **stenothermiques**, d'autres peuvent croître sur une large gamme de température, ils sont appelés **eurythermiques**.

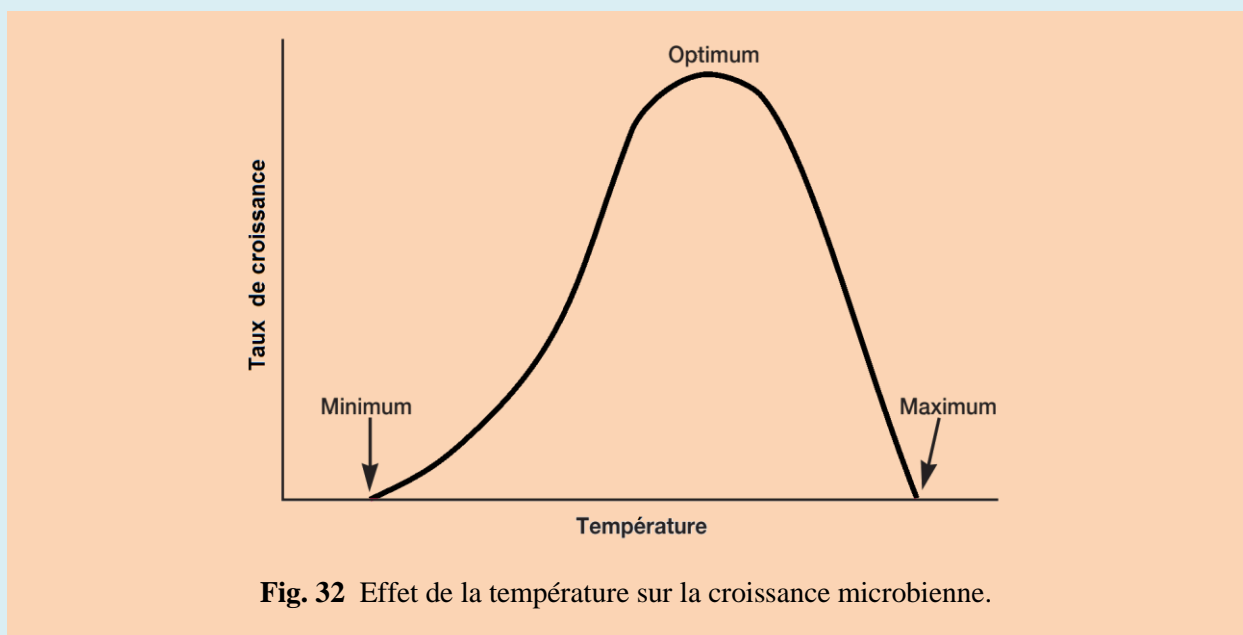


Fig. 32 Effet de la température sur la croissance microbienne.

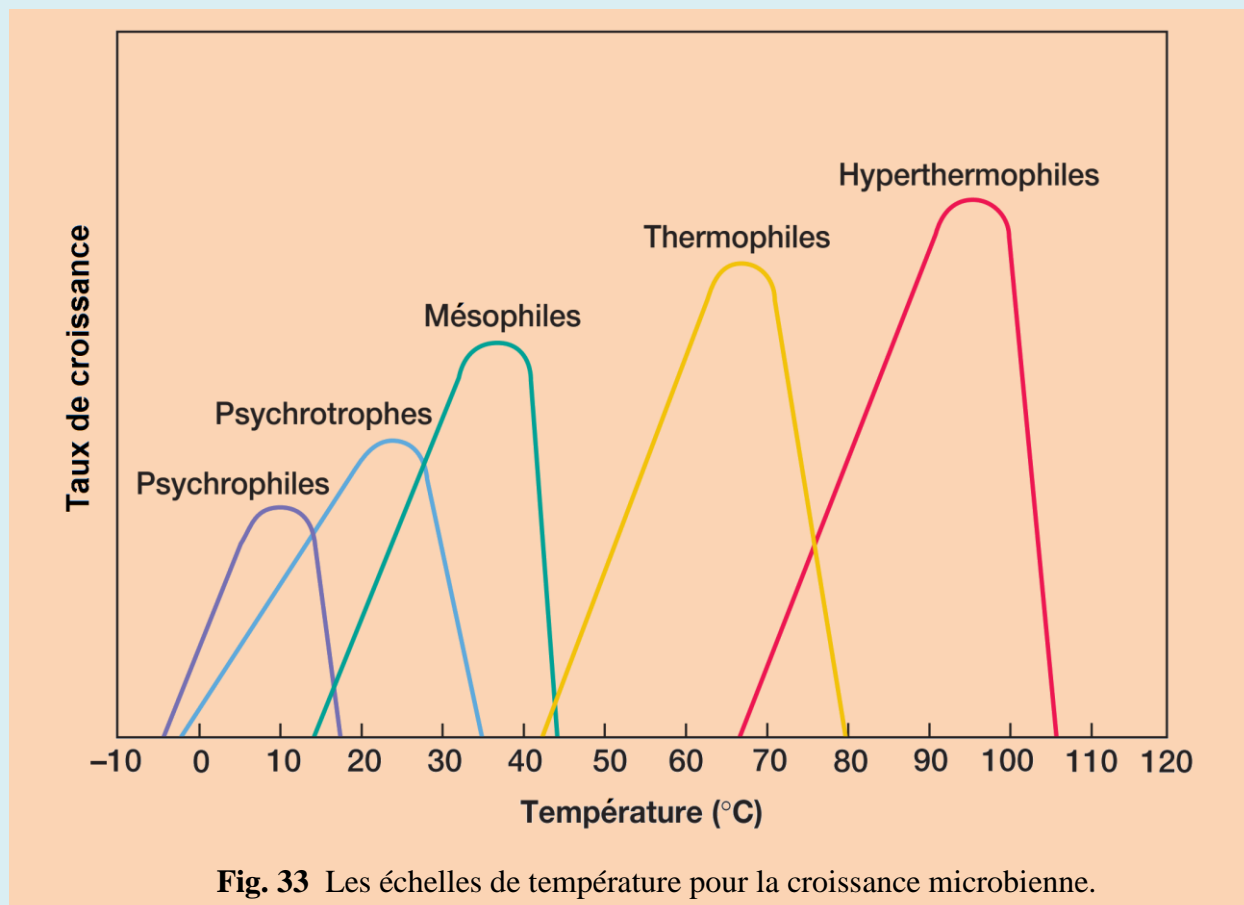
Selon la température optimale de développement, on distingue généralement 03 catégories de microorganismes (Fig. 33) :

Les **mésophiles** (mésos : médian), qui préfèrent une température moyenne de croissance maximale entre 20 et 45°C.

Les **psychrophiles** (psychro : froid), dont la température optimale de croissance est située entre 0°C et 20°C.

Les **thermophiles** (thermo : chaud) qui ont un taux de croissance maximal entre 45°C et 80°C.

Cette classification n'a pas de limites strictes : certains mésophiles peuvent être des thermophiles facultatifs et inversement. Les **psychrotrophes** poussent aux températures de réfrigération mais se multiplient rapidement à +10°C à +20°C. Les **thermotrophes** qui peuvent pousser aux environs de 50°C mais plus nettement aux températures moyenne de 30°C.



La plupart des bactéries du sol et des eaux, ainsi que les bactéries saprophytes et les bactéries pathogènes de l'homme et des mammifères sont mésophiles. Les thermophiles sont

naturellement dans les écosystèmes naturels de l'eau, du sol et de l'air, mais se multiplient abondamment dans les milieux qui leur sont favorables tels que les sources thermales. Les archaebactéries sont des thermophiles extrêmes et ont un développement optimum aux températures très élevées (105°C pour *Pyrodictium occultum*). Les psychrophiles ou psychrotrophes peuvent contaminer et altérer les produits biologiques conservés à basse température, de même que les aliments congelés.

Les bactéries des températures extrêmes, psychrophiles ou thermophiles extrêmes ont des structures cellulaires et métaboliques adaptées. Leurs enzymes ne sont actives qu'aux températures spécifiques. Elles possèdent dans leurs protéines des petites séquences d'acides aminés différentes. Leur stabilité est renforcée par des liaisons ioniques nombreuses. Les acides gras membranaires sont saturés ; conférant la stabilité aux températures élevées.

4.3.2. pH

Toute variation du pH du milieu affecte les activités physiologiques cellulaires et donc la croissance microbienne. Chaque espèce bactérienne se développe dans une gamme définie de pH et à un pH optimum de croissance. Les **acidophiles** ont leur optimum de croissance entre pH₁ et pH_{5,5} ; les **neutrophiles** entre pH_{5,5} et pH₈ ; les **alcalophiles** entre pH_{8,5} et pH_{11,5} . La majorité des bactéries et des protozoaires sont des neutrophiles. La plupart des mycètes et des algues sont légèrement acidophiles (pH₄ à 6). Il y a de nombreuses exceptions pour les microorganismes pouvant se développer à des pH très acides (pH ≈ 0) ou alcalin.

Les microorganismes gardent un pH cytoplasmique neutre par les systèmes antiports potassium/proton et sodium/proton ou par des mécanismes impliquant la synthèse de protéines spécifiques. Ils modifient fréquemment le pH de leur habitat en produisant des déchets métaboliques acides ou basiques.

Des tampons sont ajoutés aux milieux de culture pour empêcher l'inhibition de la croissance due aux modifications importantes du pH. Les tampons phosphates (K₂HPO₄ ou KH₂PO₄) permettent de couvrir une large zone de pH autour de la neutralité.

4.3.3. Oxygène

Certaines bactéries sont **aérobies strictes** exigeant l'oxygène libre pour leur développement. D'autres, **anaérobies strictes**, ne peuvent se multiplier qu'en l'absence totale

de l'oxygène libre. Celles capables de croître avec ou sans oxygène sont **aéro-anaérobies** ou **anaérobies facultatives**. Enfin, les **micro-aérophiles** qui ne se reproduisent qu'en présence d'une faible tension d'oxygène.

Ces quatre types respiratoires peuvent être mis en évidence par ensemencement d'un milieu gélosé solide en tube fin et profond. Les aérobies strictes cultivent seulement en surface, les anaérobies strictes dans le fond, les aéro-anaérobies facultatives sur toute la hauteur et les micro-aérophiles dans une zone intermédiaire (Fig. 34).

On parle des **aérophiles** qui se développent à la surface des milieux liquides en formant un voile (levures oxydantes).

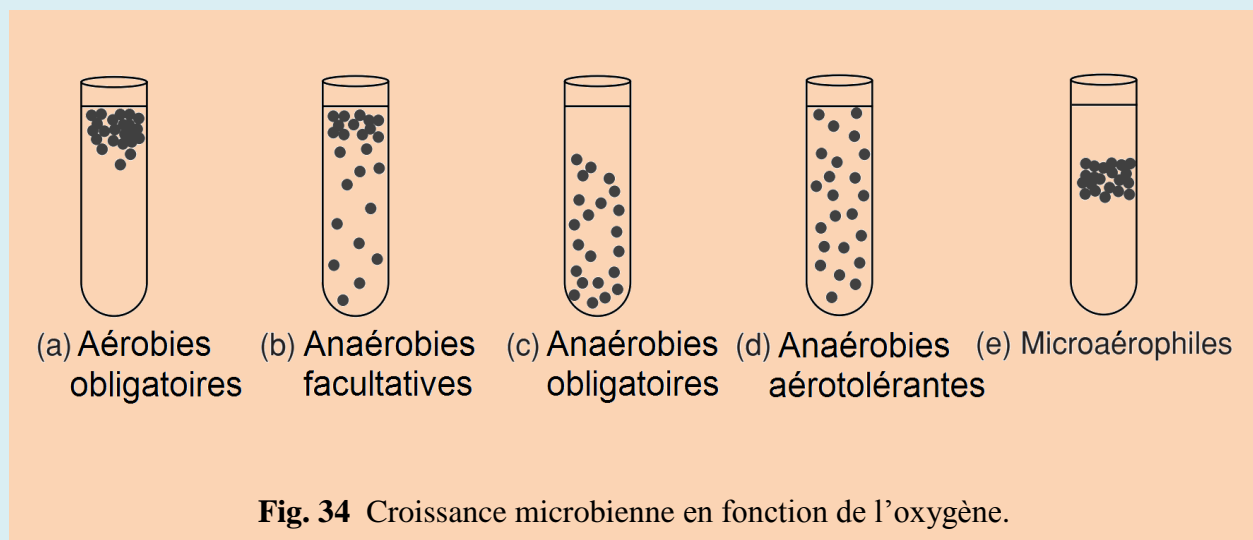


Fig. 34 Croissance microbienne en fonction de l'oxygène.

La culture des microorganismes aérobies ne présente pas de difficultés. Celle des anaérobies nécessite des précautions spéciales :

- L'absence d'oxygène libre dans la zone profonde d'un milieu solide.
- L'addition de réducteurs aux milieux liquides.
- L'élimination de l'oxygène du récipient où les milieux de culture sont déposés.

4.3.4. Pression osmotique :

La plupart des bactéries sont pratiquement insensibles aux variations de pressions osmotiques. Elles sont protégées par leurs parois rigides.

Les bactéries marines, adaptées à un milieu contenant 35g/l de chlorure de sodium, sont appelées halophiles et doivent être cultivées dans des solutions contenant au moins 1% de sel. Les microorganismes cultivant sur les milieux hyper-sucrés sont appelés **osmophiles**.

5. CHAPITRE IV: CROISSANCE BACTERIENNE

La croissance se définit comme l'accroissement ordonné de tous les composants d'un microorganisme. Chez les microorganismes (bactéries et levures), elle aboutit à une augmentation du nombre d'individus ; c'est la multiplication.

5.1. Mesure de croissance

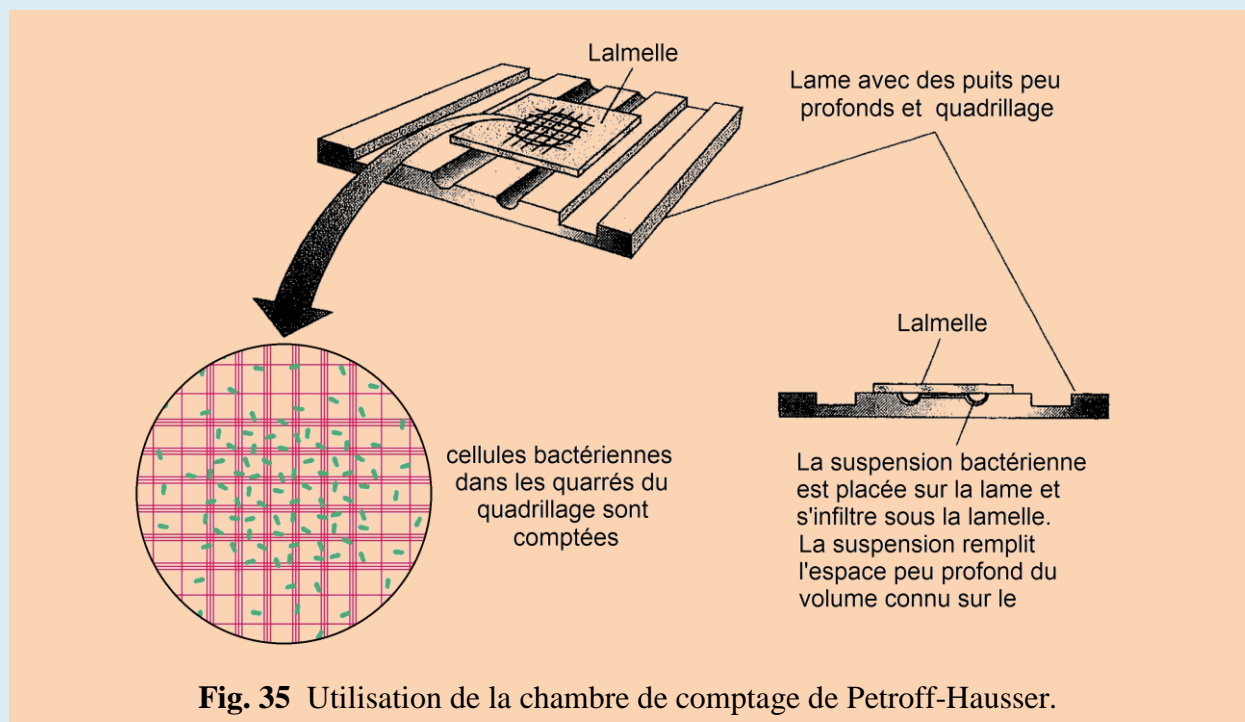
5.1.1. Mesure du nombre de cellules

Le dénombrement est réalisé par comptage direct au microscope ou après culture, sur milieu liquide ou solide respectivement.

Le comptage direct au microscope se fait dans des chambres de comptage qui sont en fait des lames en verre spécialement aménagées par un quadrillage régulier dans une partie creuse de profondeur connue. La suspension microbienne est placée dans cette cuvette recouverte d'une lamelle. La cellule de PETROFF-HAUSSER a un volume de 1mm^3 ; c'est un grand carré total de 1mm^2 , divisé en 400 petits carrés de $1/20\text{mm}$ de côté, et de profondeur de 0.02mm (Fig. 35).

Le nombre de bactéries par mm^3 est: $(\text{bactéries} / \text{grand carré})(25 \text{ carrés})(50)$

- $\text{Bactéries} / \text{cm}^3 (\text{ml}) = (\text{bactéries} / \text{grand carré})(25 \text{ carrés})(50)(10^3)$



Le nombre de microorganismes dans un échantillon est calculé en tenant compte du volume de la cellule et de la dilution de l'échantillon. La population microbienne doit être dense puisque les échantillons sont dans de petits volumes. Dans cette technique, il est difficile de distinguer les cellules viables des cellules mortes.

Le dénombrement après culture concerne les cellules viables de l'échantillon. La technique la plus habituelle est la culture en boîtes de Pétri; un volume fixe de la suspension brute, ou de ses dilutions, est étalé à la surface d'un milieu gélosé ou incorporé au milieu avant sa solidification puis incubé à une température convenable. Le nombre de colonies apparues correspond au nombre de cellules microbiennes présentes dans le volume analysé de la suspension.

Pour donner à la méthode le maximum de garantie et de précision:

- la suspension doit être rendue homogène (par agitation)
- la technique doit être parfaitement exécutée et l'analyse faite en triple exemplaire.
- le nombre de colonies retenu après lecture de boîtes devra être compris entre 30 et 300.
- Les chaînettes, les amas microbiens ne donnent qu'une seule colonie, ainsi le résultat est exprimé en **unité formant colonie (CFU)** (Fig. 36).

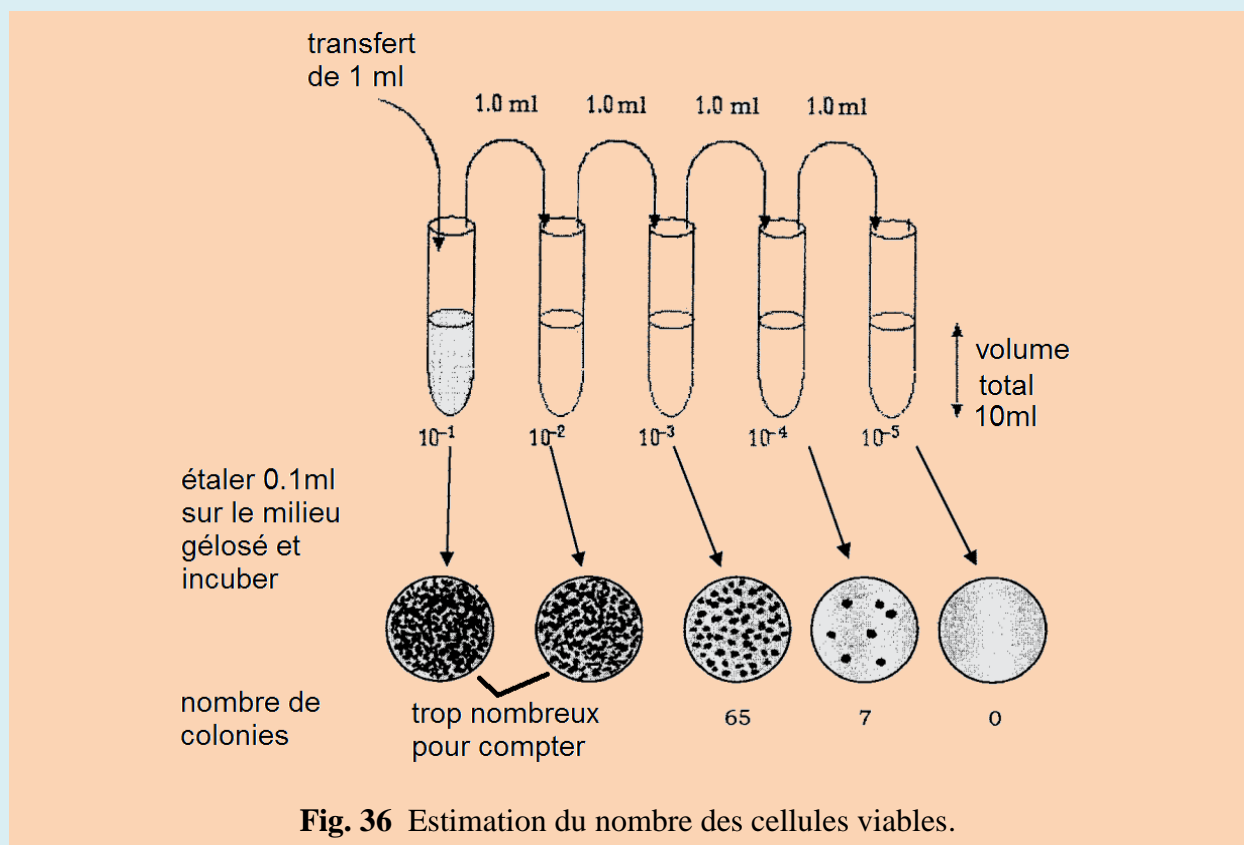


Fig. 36 Estimation du nombre des cellules viables.

5.1.2. Mesure de la biomasse

5.1.2.1. Détermination du poids sec

Les cellules se développant dans un milieu liquide sont récoltées par centrifugation, lavées, séchées dans un four et pesées. Cette méthode est longue et peu sensible; il faut centrifuger plusieurs centaines de millilitres de culture pour recueillir une quantité suffisante de bactéries. La mesure du poids sec totalise toute la masse cellulaire, vivante et morte.

5.1.2.2. Mesure du trouble

C'est une technique plus sensible et plus rapide et la plus souvent utilisée pour établir la masse microbienne. Elle est basée sur le fait que les cellules microbiennes dispersent la lumière incidente. La lumière diffractée est proportionnelle à la concentration en cellules. L'augmentation de la concentration donne une turbidité importante et il y a moins de lumière transmise à travers le milieu. Les mesures de l'absorbance sont effectuées à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 650 nm pour laquelle l'absorption de la lumière par les constituants cellulaires est la plus faible (Fig. 37).

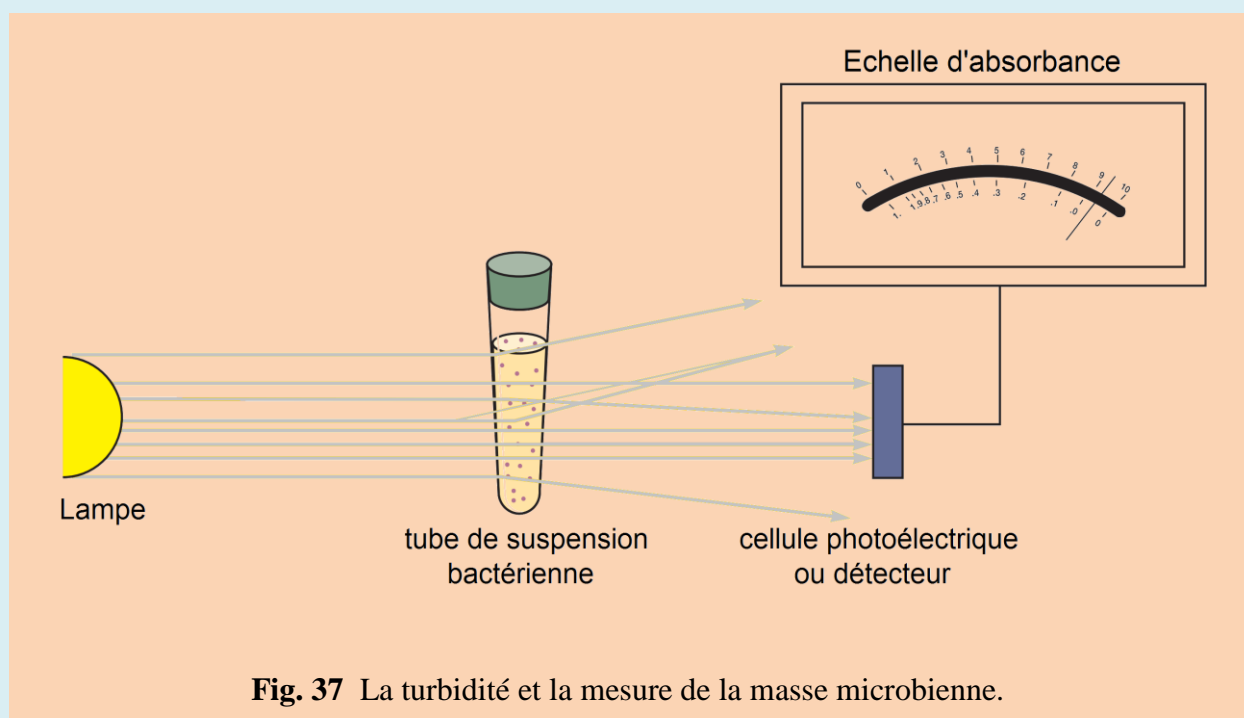


Fig. 37 La turbidité et la mesure de la masse microbienne.

5.2. Paramètres de croissance

La croissance d'une bactérie placée dans les conditions idéales de culture peut être définie par deux constantes; le temps de génération et le taux de croissance.

5.2.1. Le temps de génération (temps de doublement)

C'est l'intervalle de temps entre deux divisions successives d'une bactérie. Dans une population microbienne, toutes les cellules ne se divisent pas en même temps (croissance asynchrone), mais le temps de génération (g) de la population est constant.

Le temps de génération est donné par la formule:

$$g = t/n \quad t: \text{temps (connu)}$$

n : nombre de divisions

le temps de génération n'est pas le même pour toutes les bactéries:

exp:

E. coli à 40°C ; $g = 0.35$ h

B. subtilis à 40°C; $g = 0.43$ h

Saccharomyces cerevisiae à 30°C; $g = 2$ h

5.2.2. Taux de croissance

C'est le nombre de divisions (génétrations) par unité de temps exprimée en heure.

$$\mu = n / t$$

n : nombre de divisions

t : temps (connu: h)

c'est l'inverse du temps de génération:

exp: pour

E.coli; $\mu = 3 \text{ h}^{-1}$

B. subtilis; $\mu = 2.4 \text{ h}^{-1}$

5.3. Courbe de croissance (culture discontinue)

L'étude de la croissance d'une population est réalisée par l'analyse de la courbe de croissance d'une culture microbienne. Les microorganismes sont développés habituellement dans un système fermé, culture en "batch" ou discontinue; ils sont incubés dans un flacon fermé contenant un seul lot de milieu. Au cours de l'incubation la quantité d'éléments nutritifs

diminue et celle de déchets augmente. Le nombre de bactéries augmente en fonction de temps; $N = f(t)$. Il est représenté graphiquement en coordonnées semi-logarithmiques. La courbe résultante est constituée de quatre phases distinctes (Fig. 38).

5.3.1. Phase de latence

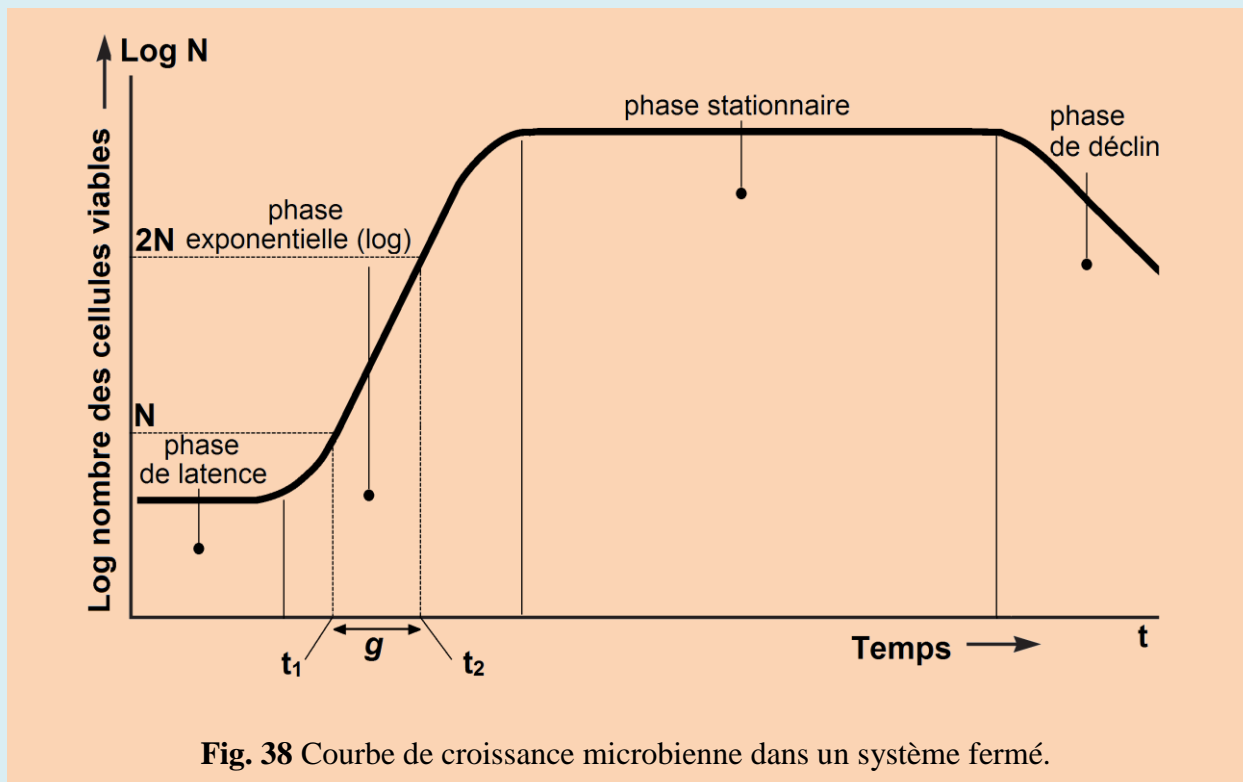
L'introduction de microorganismes dans un milieu de culture frais ne donne pas une augmentation immédiate du nombre de cellules. Cette période est appelée **phase de latence**. Cette phase est nécessaire pour les microorganismes pour différentes raisons:

- les cellules peuvent être âgées,
- Le milieu peut être différent de celui où était l'inoculum;
- Les microorganismes ont besoin de temps pour s'adapter,

La phase de latence peut être longue ou courte selon les microorganismes et leur situation. Elle est longue si l'inoculum provient d'une culture âgée ou refroidie ou d'un milieu différent du nouveau milieu. La phase de latence peut être courte ou même absente si l'inoculum provient d'une culture jeune et incorporé dans un milieu de même composition.

5.3.2. Phase exponentielle

Pendant cette phase logarithmique, les microorganismes se développent et se divisent à une vitesse maximale constante. Le temps de génération est régulier. La croissance exponentielle est une croissance à l'équilibre; tous les constituants cellulaires sont synthétisés à des vitesses constantes les unes par rapport aux autres. La pente de la droite est déterminée par le taux de croissance qui est dépendant des conditions du milieu (T° , pH, nutriments, facteurs de croissance...)



5.3.3. Phase stationnaire

La croissance de la population finit par s'arrêter (après quelques heures) et la courbe de croissance devient horizontale. Pendant cette phase stationnaire, le nombre total de microorganismes viables reste constant. Ceci peut résulter d'un équilibre entre division et mort cellulaire, ou bien, la population cesse de se diviser et reste métaboliquement active. Cette phase peut durer de quelques heures à quelques jours.

Les populations microbiennes entrent en phase stationnaire pour plusieurs raisons:

- limitation en éléments nutritifs,
- diminution écrasante d'oxygène pour les microorganismes aérobies,
- l'accumulation de déchets toxiques,....

5.3.4. Phase de mortalité ou de déclin

La diminution du nombre de cellules viables à cause de l'épuisement de nutriments et l'accumulation de déchets toxiques est caractéristique de la phase de mortalité. La mort des cellules est habituellement logarithmique. Le taux de mortalité peut diminuer après une réduction importante de la population. Ceci est dû à la survie des cellules particulièrement

résistantes. Pour cette raison et d'autres, la courbe de la phase de mortalité peut être complexe. Les cellules survivantes peuvent déclencher une nouvelle phase de multiplication aux dépens des substances libérées par la lyse (**croissance cryptique**).

☞ Cinétique de croissance

Pendant la phase exponentielle, chaque microorganisme se divise à intervalles de temps constants.

Supposant qu'une culture en tube soit inoculée avec N cellules qui se divisent toutes les 20min.

Considérons N_0 : nombre initial;

- après 1 génération: $N_1 = 2N_0 = 2^1 N_0$
- après 2 génération: $N_2 = 2 \cdot 2N_0 = 2^2 N_0$
- après n génération: $N_n = 2^n N_0$
- au temps t : $N_t = 2^n N_0$

La valeur de n (nombre de générations) peut être obtenue par les logarithmes décimaux des deux nombres de l'équation:

$$\log N_t = n \log 2 + \log N_0$$

$$n = \log N_t - \log N_0 / \log 2$$

$$n = \log N_t - \log N_0 / 0.301$$

☞ le taux de croissance

$$\mu = n / t$$

$$\mu = \log N_t - \log N_0 / 0.301 \cdot t$$

si la population double ($t = g$), donc:

$$N_t = 2N_0$$

$$\mu = \log(2N_0) - \log N_0 / 0,301 \cdot g$$

$$\mu = \log 2 + \log N_0 - \log N_0 / 0,301 \cdot g$$

$$\mu = 1 / g$$

✎ le temps de génération est l'inverse du taux de croissance:

$$\text{✎ } g = 1 / \mu$$

- Le temps de génération peut être déterminé directement à partir du graphique semi-logarithmique des données de croissance; le taux de croissance est calculé à partir de la valeur g .
- Le temps de génération varie selon les espèces microbiennes aussi bien que les conditions environnementales; il est plus long dans la nature qu'en milieu de culture.

5.4. Culture bactérienne

L'étude des bactéries nécessite leur isolement et leur culture. Pour identifier une bactérie, par exemple, il est nécessaire de l'ensemencer sur un milieu de culture. Celui-ci contient les substances nutritives indispensables à la croissance. La bactérie poussant sur ce milieu forme une culture. Les milieux de culture sont disposés dans des récipients (tubes, erlenmeyers, boîtes de Pétri) stérilisés au préalable.

5.4.1. Milieux de culture

Un milieu de culture est une préparation au sein de laquelle des bactéries peuvent se multiplier. Il doit donc satisfaire les exigences nutritives de la bactérie étudiée (source de carbone et d'énergie, source d'azote pour les protéines et la synthèse des vitamines, et plusieurs minéraux). Les caractéristiques et la composition des milieux de culture varient selon leur utilisation (diagnostic, fermentations etc...).

Selon leur consistance, les milieux de culture peuvent être **liquides** ou **solides**. La croissance des bactéries trouble les milieux liquides ou forment des dépôts ou encore des voiles superficiels. L'état solide d'un milieu de culture est obtenu par addition d'agar-agar ou gélose (un polyside extrait d'algues) à une concentration de 1.5 %. Les cellules bactériennes ensemencées sur le milieu solide forment après croissance des masses délimitées qu'on appelle **colonies**. Les milieux dits gélosés se liquéfient par chauffage à l'ébullition et se solidifient aux environs de 40 °C.

Selon la composition chimique, il existe une grande variété de milieux de culture classés généralement en 02 catégories :

- **Les milieux synthétiques** de composition exactement connue, qualitativement et quantitativement. Ces milieux sont surtout utilisés pour l'étude des bactéries autotrophes ou pour étudier les besoins nutritifs d'un germe. Ils sont rarement utilisés en routine à l'exception de quelques-uns : Citrate de Simons.
- **Les milieux empiriques** de composition connue seulement avec approximation car dépendant des matières premières utilisées : extrait de viande ou de levure, peptones, sucres et éventuellement liquides biologiques (sérum, sang...) mais qui conviennent aux bactéries étudiées. Ce sont les milieux les plus employés aujourd'hui (Bouillon nutritif, Trypticase soja...).

Selon l'utilisation, on peut trouver:

- **Milieux sélectifs** empêchant la croissance de certaines bactéries. Ce sont des milieux qui permettent la croissance de la bactérie que l'on recherche en inhibant le développement des autres germes. Ces milieux contiennent donc des agents sélectifs qu'on appelle encore des inhibiteurs, par exemple un colorant comme le cristal violet ou le vert brillant.
- **Milieux d'enrichissement** contenant des agents sélectifs et qui sont destinés à enrichir le milieu en germe recherché. Ils contiennent des molécules à action sélective inhibant totalement ou partiellement la croissance des bactéries non recherchés. Ils sont liquides (bouillon) afin que l'action sélective s'exerce sur une population importante et homogène.

5.4.2. Culture des bactéries

Les techniques d'étude des bactéries exigent toujours l'obtention de cultures pures. Parmi les techniques couramment utilisées on cite: la dilution en milieu liquide, l'incorporation en milieu solide, et la méthode des stries à la surface d'un milieu solide.

5.4.2.1. En milieu liquide

On effectue un certain nombre de dilutions avec le produit à analyser. Des quantités aliquotes de chacune d'elles sontensemencées sur des milieux lactosés. Les modifications visibles qui apparaissent alors, acidification, production de gaz, sont dues à la présence d'au moins une cellule bactérienne.

5.4.2.2. En milieu solide

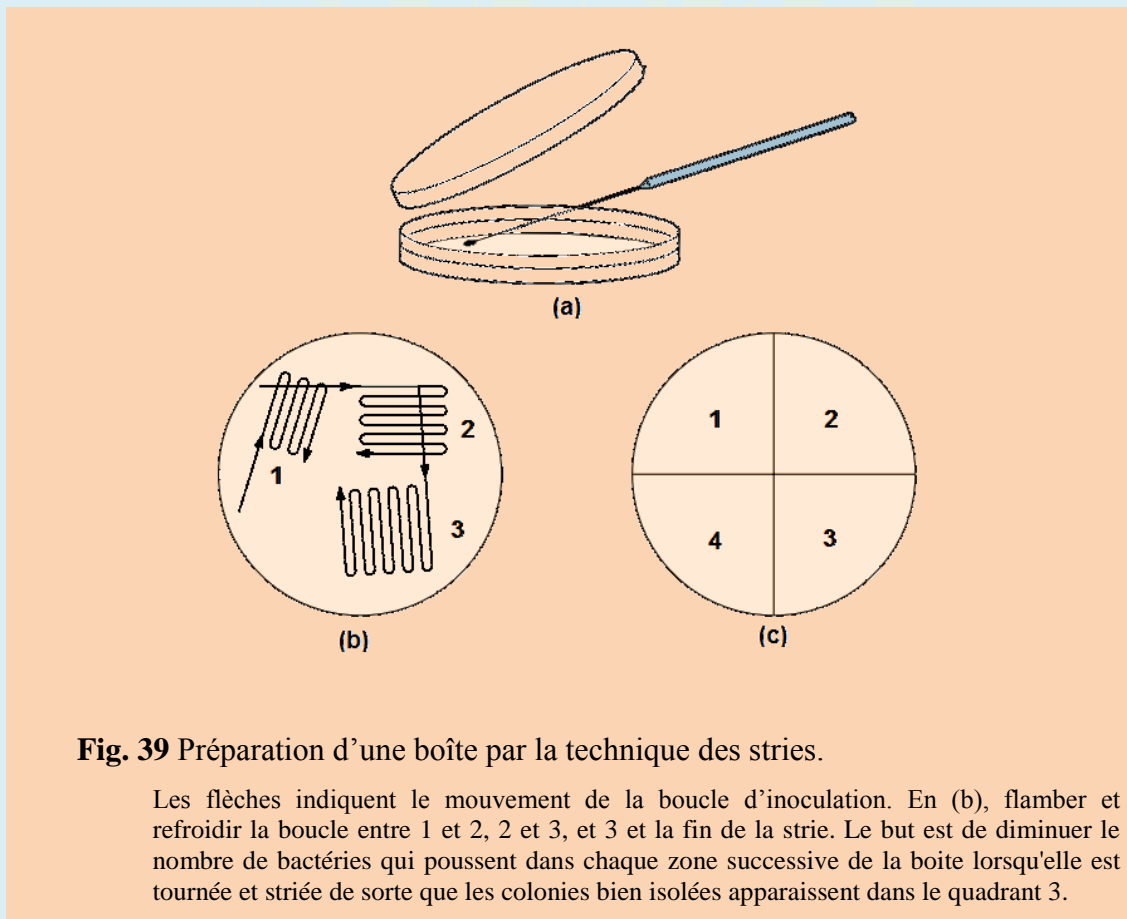
5.4.2.2.1. Incorporation dans le milieu

La suspension de germes ou la substance à étudier ou une de leur dilution est incorporée à de la gélose préalablement fondue puis refroidie à 45 °C. Après homogénéisation, les milieux sont coulés en boîtes de Pétri, solidifiés par séjour à une température plus basse (20 à 25 °C), puis incubés à la température la plus favorable. On obtient sur l'une ou plusieurs des boîtes, des colonies parfaitement isolées.

5.4.2.2.2. Méthode des stries

A l'aide d'une anse, on dépose une petite quantité de bactéries à la périphérie de la surface d'un milieu solide. On effectue des stries parallèles et serrées sur la première moitié de la boîte puis sur la seconde moitié en repartant du côté opposé (fig. 39). Les colonies nombreuses unies au départ deviennent de moins en moins serrées voire parfaitement isolées les unes des autres à la fin des stries.

- *Les techniques de culture des bactéries anaérobies impliquent que le milieu de culture soit exempt d'oxygène libre.*



5.4.3. Conservation des cultures pures

Pour maintenir les bactéries en survie, on peut les cultiver sur des milieux adaptés et les transférer périodiquement sur des milieux neufs, en respectant le milieu le plus convenable, la température la plus favorable et la durée limite et les conditions de stockage.

5.5. Agents antimicrobiens

5.5.1. Définitions

- **Stérilisation:** procédé par lequel on détruit, d'un objet ou d'un habitat, toutes les cellules vivantes, les spores, les virus et les viroïdes. Un objet stérile est totalement exempt de micro-organismes, de spores ou d'autres agents infectieux viables.
- **Désinfection:** c'est la destruction, l'inhibition ou l'élimination des microorganismes potentiellement pathogènes. Un désinfectant est un agent, habituellement chimique, normalement employé sur des objets inanimés. Il ne stérilise pas nécessairement un objet parce qu'il peut encore laisser des spores viables et quelques microorganismes.
- **Antiseptie:** c'est la prévention de l'infection par l'utilisation d'**antiseptiques** ; des agents chimiques **appliqués sur le tissu** dans le but de détruire ou d'inhiber le développement de l'agent pathogène. Les antiseptiques sont généralement moins toxiques que les désinfectants.
- **Antibiotiques:** des produits microbiens ou leur dérivés, capables de tuer les microorganismes sensibles ou d'inhiber leur croissance. Des substances comme les sulfamides désignés comme des antibiotiques bien qu'il s'agisse d'agents chimiothérapeutiques synthétiques d'origine non microbienne.

Les substances destructrices d'organismes ont souvent le suffixe **-cide** (tuer): un **germicide** détruit les germes pathogènes mais pas nécessairement les spores. Un désinfectant ou un antiseptique peut être particulièrement efficace contre un groupe spécifique d'organismes, dans ce cas, on l'appelle un **bactéricide**, un **fongicide**, un **algicide**, ou un **virucide**. Les substances empêchant le développement des miroorganismes ont des noms se terminant par le suffixe **-statique** (arrêtant): **bactériostatique**, **fongistatique**...

5.5.2. Agents physiques

5.5.2.1. Chaleur

C'est l'un des moyens les plus courants des destructions des microorganismes. Deux types d'application sont utilisés:

- **Chaleur sèche** destinée à stériliser de nombreux objets en l'absence d'eau. Le matériel à stériliser est placé dans un four à 160 – 170°C pendant 02 à 03 heures. La mort des microorganismes résulte de l'oxydation des constituants cellulaires et la dénaturation des protéines.
- **Chaleur humide:** tue facilement les virus, les bactéries et les mycètes. Une exposition à l'eau bouillante (100°C) pendant 10min est suffisante pour détruire les cellules végétatives et les spores eucaryotes, les endospores bactériennes peuvent en résister pendant des heures.

La stérilisation par la chaleur humide doit être pratiquée à des températures supérieures à 100°C de façon à détruire les endospores bactériennes, ce qui nécessite l'utilisation de la vapeur saturée sous pression. Celle-ci est réalisée dans un **autoclave**; un appareil contenant une chambre qui reçoit la vapeur de l'eau bouillie. Après évacuation de l'air initialement présent, par la vapeur, la chambre est fermée. La vapeur chaude continue d'entrer jusqu'à ce que la chambre atteigne la température et la pression désirées; 121°C et 1 bar. A cette température, la vapeur saturée détruit toutes les cellules végétatives et les endospores dans un petit volume de liquide en 10 à 15 min (le procédé est dit **autoclavage**).

La **tyndallisation** décrite par TYNDALL, consiste à chauffer le milieu 60 à 70°C durant 30 min à 1 heure, 3 fois consécutives, en ménageant un intervalle de 24h entre chaque chauffage. Toutes les formes végétatives sont détruites, les spores thermorésistantes peuvent germer entre chaque intervalle de temps et elles sont ainsi détruites par les traitements successifs.

La **pasteurisation** n'est pas considérée comme une méthode de stérilisation. Elle est appliquée à certains produits naturels dont on veut assurer momentanément la conservation sans altérer leurs caractères organoleptiques.

Le lait peut être pasteurisé de plusieurs manières. La **pasteurisation basse** qui consiste à chauffer le lait à 63°C pendant 30 min. La **pasteurisation haute (flash pasteurisation)** qui comprend un chauffage rapide à environ 72°C pendant 15 secondes, suivi d'un refroidissement rapide. L'industrie laitière emploie aussi parfois la stérilisation à **température ultra élevée (UHT : ultra haute température)**; le lait et les produits laitiers sont chauffés à 140 à 150°C pour 1 à 3 secondes. Le lait ainsi traité ne doit pas être refroidi et peut être conservé à température ordinaire pour 02 mois environ, sans altération de goût.

- **Les températures basses**

La congélation à – 20°C ou plus bas **arrête** la **croissance** des microorganismes à cause de la température basse et l'absence d'eau liquide. La nourriture congelée peut contenir de nombreux microorganismes, elle doit donc être préparée et consommée rapidement après décongélation pour éviter le dommage et le développement d'agents pathogènes.

5.5.2.2. La filtration

Une méthode pour réduire la population microbienne dans les solutions des substances thermosensibles et parfois pour stériliser des solutions. Les membranes filtrantes retiennent les microorganismes contaminants. Une grande variété de pores de tailles différentes est disponible, mais on utilise des membranes pourvue de pores d'environ 0.2µm pour enlever les cellules végétatives des solutions dont le volume varie de 1ml à plusieurs litres (Fig. 40).

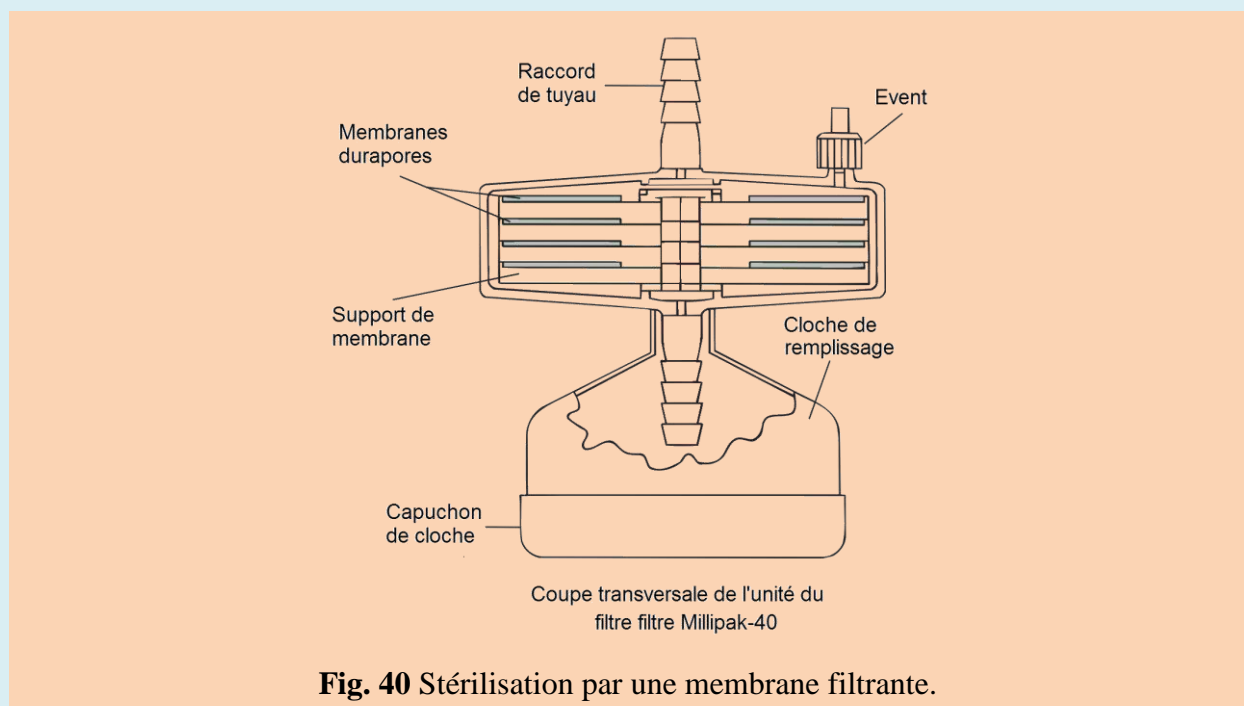


Fig. 40 Stérilisation par une membrane filtrante.

5.5.2.3. Les radiations

Les **radiations ultraviolettes** (UV) proches de 260nm sont très létales mais ne pénètrent pas bien le verre, les films de poussière, l'eau et d'autres substances. Les lampes UV parfois placées au plafond de certaines pièces ou dans les hottes de sécurité biologique, permettent de stériliser l'air et toutes les surfaces exposées. Les UV sont dangereux pour la peau et les yeux.

Les **radiations ionisantes** sont d'excellents agents de stérilisation et pénètrent en profondeur dans les objets. Les radiations gamma stérilisent à froid des antibiotiques, des hormones, et d'autres objets.

5.5.3. Agents chimiques

Il y a beaucoup de produits disponibles comme désinfectants et chacun possède ses propres avantages et désavantages. Le désinfectant doit être actif contre une large gamme d'agents infectieux (bactéries G^+ et G^- , bactéries alcool-acido-résistantes, endospores bactériennes, mycètes et virus...) et ceci à des dilutions élevées et en présence de matière organique. Bien que le produit chimique doive être toxique pour les agents infectieux, il ne peut être ni toxique pour les gens ni corrosif pour les matériaux usuels. En pratique, cette balance entre haute activité faible toxicité pour les animaux est difficile à atteindre. Le désinfectant doit être stable durant la conservation, inodore ou avec un parfum agréable, soluble dans l'eau et les lipides pour pénétrer dans les microorganismes, avoir une faible tension superficielle pour entrer dans les fissures des surfaces.

5.5.3.1. Les composés phénoliques

Des substances agissant par dénaturation des protéines et par altération des membranes cellulaires. Les dérivés phénoliques tuent les bacilles de la tuberculose. Ils sont efficaces en présence de matières organiques et restent actifs sur les surfaces longtemps après leur application. Mais ils ont une odeur désagréable et peuvent provoquer une irritation de la peau.

5.5.3.2. Les alcools

Ce sont les désinfectants et les antiseptiques les plus utilisés. Ils sont bactéricides et fongicides mais non sporicides. Les deux alcools les plus populaires sont l'éthanol et l'isopropanol, habituellement utilisés à une concentration variant de 70 à 80%. Ils agissent en

dénaturent les protéines et peut être en dissolvant les lipides membranaires. Un trempage, de 10 à 15 min, est suffisant pour désinfecter les thermomètres et les petits instruments.

5.5.3.3. Les halogènes

L'iode et le chlore sont des agents antimicrobiens très importants. L'iode sert comme un antiseptique de la peau. Il tue en oxydant les constituants cellulaires et en iodant les protéines. En concentrations élevées, il peut tuer certaines spores. Le chlore est le désinfectant de choix pour l'eau. Appliqué sous forme de gaz, d'hypochlorite de sodium ou de calcium, il produit de l'acide hypochloreux (HClO) puis de l'hydrogène atomique. Il en résulte une oxydation des constituants cellulaires et une destruction des bactéries végétatives et des mycètes mais pas des spores.

5.5.3.4. Les métaux lourds

Les ions de métaux lourds comme le mercure, l'argent, l'arsenic, le zinc et le cuivre ont été utilisées pendant de nombreuses années. On leur a récemment substitué d'autres germicides moins toxiques et plus efficaces (beaucoup de métaux lourds sont plus bactériostatiques que bactéricides). Les métaux lourds se fixent aux protéines, souvent sur les groupes sulfhydryles, et les inactivent. Ils peuvent également précipiter les protéines cellulaires.

5.5.4. Les antibiotiques

5.5.4.1. Définition

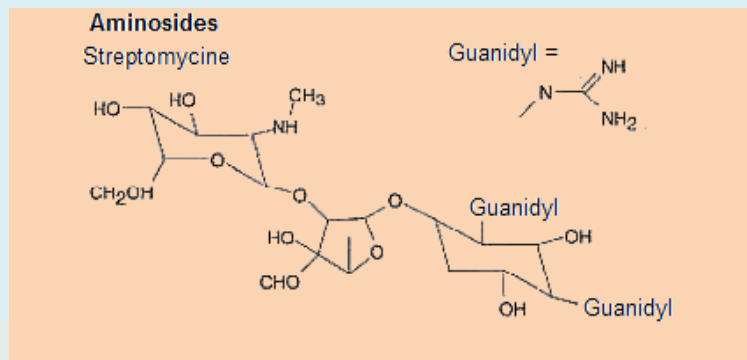
Un antibiotique est un composé naturellement synthétisé par un organisme vivant ou issu de la synthèse chimique. Son activité thérapeutique après administration par voie générale à très faible dose se manifeste d'une manière spécifique par l'inhibition de certains processus vitaux (synthèse protéique, de la paroi, ...) à l'égard des microorganismes (bactéries).

5.5.4.2. Les principales familles d'antibiotiques

Différents classements sont possibles. Selon la classification par la structure moléculaire, on trouve les classes :

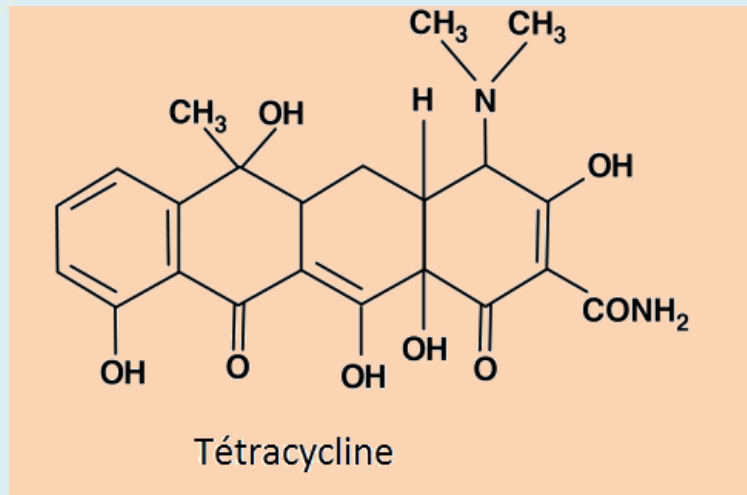
5.5.4.2.3. Les aminosides

Exemple de la streptomycine et la gentamicine.



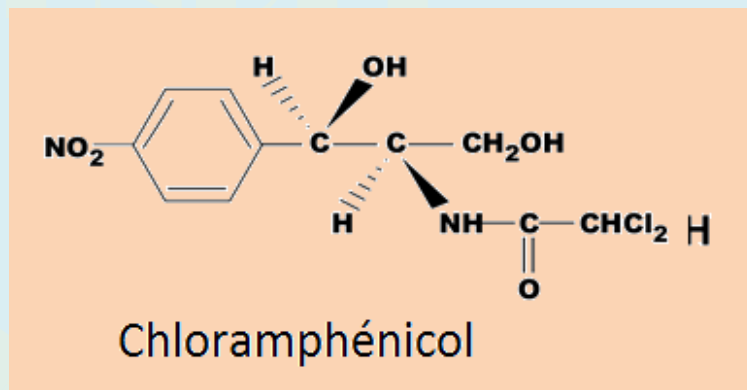
5.5.4.2.4. Les tétracyclines

Ils possèdent 4 cycles.



5.5.4.2.5. Les phénicolés

Exemple du chloramphénicol.



5.5.4.3. Le mode d'action des antibiotiques

5.5.4.3.1. Action sur la paroi (Cas de la pénicilline, bacitracine).

La pénicilline se fixe sur les PLP contenues dans la paroi, elle déclenche la libération d'enzymes qui dégradent la muréine. La paroi des lysée et la bactérie meurt. Cet antibiotique a une action bactéricide. Ce mécanisme intervient pour les Gram⁺ comme les *Staphylococcus aureus*.

5.5.4.3.2. Action sur la membrane plasmique

L'intégrité de la membrane des plus maintenu et les principaux constituants cellulaires s'échappent. La bactérie meurt. Action bactéricide.

5.5.4.3.3. Action sur la réplication

L'antibiotique forme des ponts entre les deux chaînes de la molécule d'ADN. La réplication de l'ADN ne peut se faire car l'enzyme, l'ADN polymérase, ne peut plus glisser sur chaque chaîne libre. La bactérie ne se divise plus et meurt. L'antibiotique à une action bactériostatique. C'est le cas de l'acide nalidixique.

5.5.4.3.4. Action sur la transcription de l'ADN enchaîne d'ARN messenger

L'antibiotique bloque cette fois une enzyme, l'ARN polymérase qui copie l'une des deux chaînes d'ADN en ARN. La molécule d'ARN messenger n'est pas synthétisée. La bactérie ne produit plus de protéine et meurt par épuisement. L'antibiotique à une action bactériostatique

5.5.4.3.5. Action sur la synthèse des protéines

Certains antibiotiques se fixent sur les ribosomes et empêchent la lecture de l'ARN messenger. Le chloramphénicol inhibe les liaisons peptidiques entre les acides aminés, la synthèse protéique de ne pas se faire. La bactérie meurt par épuisement du milieu. L'antibiotique à une action bactériostatique.

Exemple : Déroulement du processus d'intoxication par les β -lactamines et localisation des barrières de défense mises en place par la bactérie (Fig.41) :

Les β -lactamines présentes dans le milieu extérieur (a) doivent accéder à leurs cibles, les PLPs (Protéines de Liaison aux Pénicillines) (b). La liaison de l'antibiotique avec les PLPs inhibe leur activité enzymatique, avec deux effets indirects, tous deux potentiellement létaux (c) : une hydrolyse des ARN intracellulaires à l'origine de la "mort non lytique" de la cellule ; l'activation de peptidoglycane hydrolases présentes dans l'enveloppe cellulaire. Ces enzymes dégradent le peptidoglycane, ce qui aboutit à la lyse de la cellule. La bactérie peut se protéger de l'action de l'antibiotique: (1) en le détruisant dans le milieu extérieur ou plus efficacement, dans l'espace périplasmique au moyen de β -lactamases ; (2) en freinant sa pénétration dans

l'espace périplasmique ; (3) on exprimant des PLPs nouvelles ou des formes modifiées des PLPs normales, de faible affinité pour l'antibiotique.

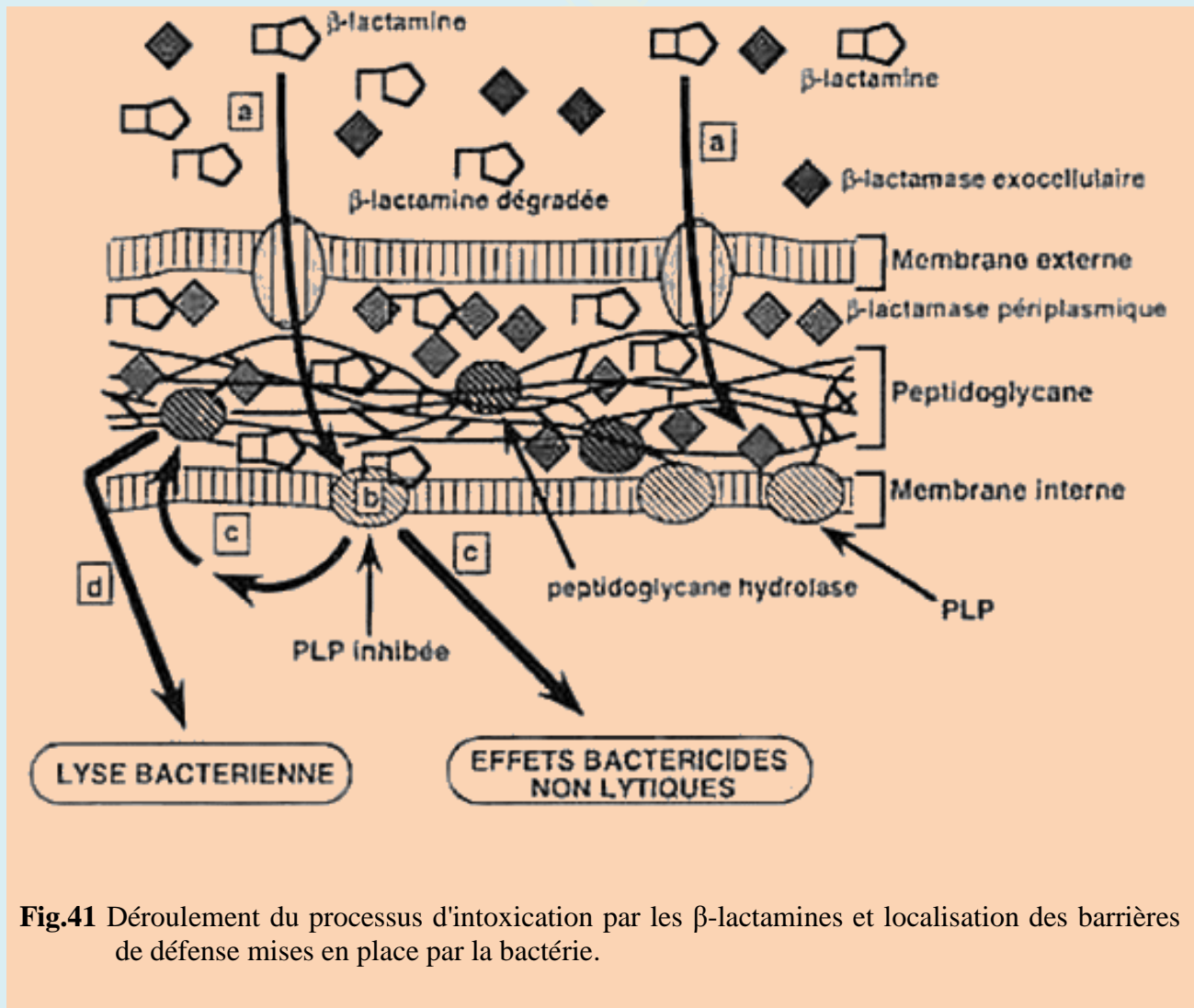


Fig.41 Déroulement du processus d'intoxication par les β -lactamines et localisation des barrières de défense mises en place par la bactérie.

6. CHAPITRE VI: NOTIONS DE MYCOLOGIE ET DE VIROLOGIE

6.1. Mycologie (levures et moisissures)

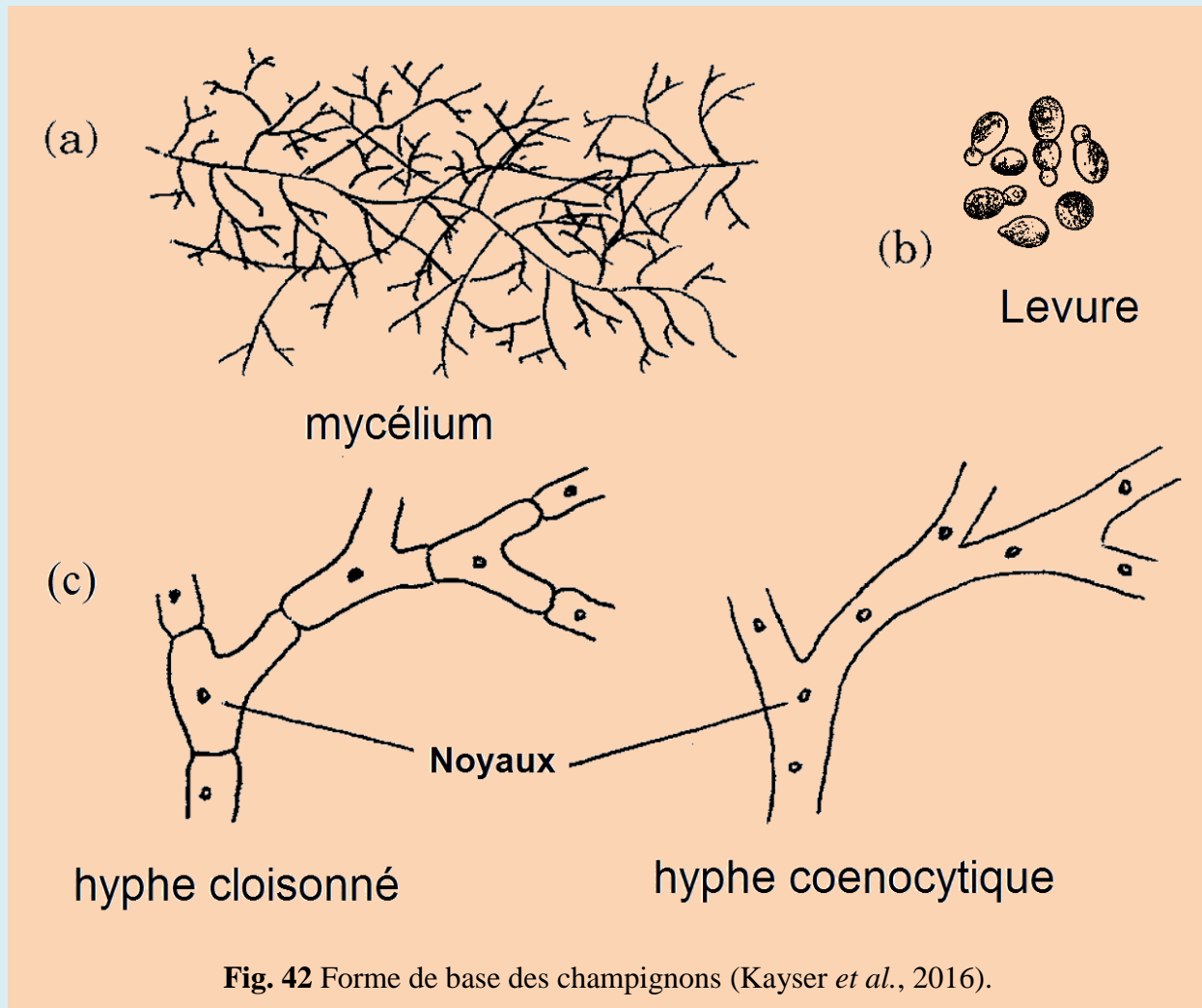
Les champignons, appelés aussi mycètes, sont des organismes eucaryotes non chlorophylliens, uni- ou pluri- cellulaires, incluant des espèces macroscopiques (macromycètes) et d'autres microscopiques (micromycètes), d'aspect filamenteux ou levuriforme.

Leur nombre des champignons est évalué à environ 95.000 espèces, mais il est probablement plus élevé. La quasi-totalité des champignons vivent en saprophytes dans le sol, sur des plantes mortes ou vivantes. Beaucoup d'espèces sont des parasites de plantes. Un nombre plus restreint sont opportunistes et peuvent devenir pathogènes pour l'homme et les animaux. Enfin, diverses espèces sont symbiotiques, soit associées à des algues (dans les lichens), soit associées à des racines (constituant les mycorhizes)

6.1.1. Morphologie et structure des champignons microscopiques

L'appareil végétatif des champignons est appelé le thalle. Le thalle de la plupart des champignons est formé de filaments ramifiés, très grêles, dont l'ensemble constitue un mycélium (Fig. 42a). Celui-ci se caractérise par une grande variété de structures, qui vont d'une forme unicellulaire (levure) (Fig. 42b) à, le plus souvent, une forme filamenteuse (Fig. 42c). L'ensemble des filaments (ou hyphes) est appelé mycélium. Chez les champignons, il n'existe jamais de véritables tissus comme chez les plantes supérieures ou chez les animaux. Ils se reproduisent par des spores, selon un mode asexué et/ou sexué (Fig. 42).

La grande majorité des champignons se présentent sous une forme filamenteuse, caractérisée par une structure tubulaire, ramifiée, et plurinucléée. Le diamètre des hyphes varie de 3-4 μm à plus de 10 μm selon les conditions de l'environnement. Le plus souvent, les hyphes sont cloisonnées par des cloisons qui divisent le filament en segments (articles) similaires à des cellules (Eumycètes supérieurs). La présence de pores traversant ces cloisons permet le passage intercellulaire du cytoplasme et d'organites subcellulaires, et même de noyaux.



Ces pores peuvent être obturés par des structures sphéroïdes, les corps de Woronin. Le nombre de noyaux par segments varie de un à plus d'une centaine, et est généralement plus élevé dans les segments apicaux où le champignon est en phase de croissance active. Chez les Zygomycètes (Eumycètes inférieurs), les hyphes ne sont généralement pas cloisonnées (mycélium siphonné ou coenocytique) et les noyaux cohabitent dans le cytoplasme commun.

La croissance des filaments est strictement apicale et permet la dissémination du champignon et sa pénétration dans les substrats. Elle nécessite la biosynthèse de composants pariétaux, dont le mieux étudié est la chitine. Le maintien d'une croissance optimale nécessite la conservation d'une polarité de croissance à l'extrémité de l'hyphe, résultant du transport polarisé des vésicules vers l'apex. Lorsque la quantité de matériaux nécessaires à la croissance devient trop importante à l'apex, des ramifications latérales peuvent apparaître.

6.1.2. Les principales classes de champignons

6.1.2.1. Les Chytridiomycètes

Ces champignons sont probablement proches des algues.

6.1.2.2. Les Zygomycètes

Les Zygomycètes, qui comprennent environ 200 espèces, rassemblent des champignons saprophytes, ainsi que des champignons parasites d'insectes (Entomophthorales), de Nématodes et d'Amibes (Zoopagales), et de plantes. Les Mucorales comprennent un grand nombre de moisissures saprophytes, mais aussi quelques espèces parasites des champignons, des animaux et des hommes (mucormycoses).

6.1.2.3. Les Ascomycètes

Les Ascomycètes comprennent environ 15.000 espèces, auxquelles il faut ajouter un nombre à peu près équivalent d'espèces lichénisantes. De nombreuses espèces sont utilisées pour la fabrication d'antibiotiques, de médicaments, pour des fermentations. Certaines sont très recherchées pour leur valeur gastronomique (Morilles, Truffes). Quelques-unes sont de parasites des végétaux, des animaux et des hommes.

6.1.2.4. Les Basidiomycètes

Les Basidiomycètes, dont il existe environ 20.000 espèces, sont les champignons que l'on peut considérer comme les plus perfectionnés. Ils comprennent de nombreuses espèces à fructification développées ou carpophores (Cèpes, Amanites, etc.).

6.1.2.5. Les Deutéromycètes

Encore appelés Adélomycètes, *Fungi imperfecti* (Champignons imparfaits), les Deutéromycètes ne constituent pas un groupe naturel, mais d'un ensemble artificiel regroupant environ 15.000 espèces (plus du quart des champignons actuellement connus) ne présentant jamais, ou très exceptionnellement, de forme de reproduction sexuée. La plupart présentent, néanmoins, des affinités d'Ascomycètes. Ils se reproduisent uniquement par voie végétative au moyen de spores asexuées ou par simple fragmentation du mycélium. Ils sont responsables d'un grand nombre de maladies des végétaux et humaines.

6.1.3. Propagation

Le processus de propagation le plus simple ne fait intervenir que des phénomènes de croissance (bouturage).

Les champignons peuvent se multiplier selon un mode asexué ou un mode sexué (selon les espèces, les champignons possèdent ces deux modes de reproduction, ou le premier seulement). Le premier type de multiplication (mode anamorphe, ou forme "imparfaite"), est réalisé par des spores asexuées (multiplication végétative). Le second type de multiplication (mode téléomorphe, ou forme "forme parfaite") fait intervenir la conjugaison de thalles différents, la conjugaison des noyaux, une réduction chromatique, pour conduire à la formation de spores sexuées (zygospores, ascospores ou basidiospores). L'existence des deux modes de reproduction, qui peuvent être présents simultanément ou séparément, réalise l'holomorphe.

6.1.3.1. Multiplication asexuée

Il existe fondamentalement deux modes de formation des spores asexuées : i) le mode endogène, où les spores (**endospores**) sont formées et contenues à l'intérieur d'une enveloppe portée par un filament mycélien (Zygomycètes), ii) le mode exogène, où les spores (spores externes ou **conidies**) sont formées et émises successivement à l'extérieur du mycélium qui leur a **donné** naissance (Ascomycètes et Basidiomycètes) (Fig. 46).

6.1.3.1.1. Levures (blastomycètes)

Les levures sont un cas particulier de forme fongique unicellulaire possédant un seul noyau par cellule, existant dans de nombreux groupes de champignons. Les levures se distinguent en premier lieu par leur mode de division cellulaire : le **bourgeoisement** ou, beaucoup plus rarement, la fission. Dans le premier cas, la cellule mère produit un **bourgeois** (**blastoconidie**), qui va se séparer après formation d'une cloison (septum) et donner naissance à une cellule fille. Dans le deuxième cas, la cellule ne bourgeoine pas mais s'allonge, et sa division par le milieu après formation d'un septum donnera naissance à deux cellules filles. Certaines levures possèdent une capsule polysaccharidique (*Cryptococcus*).

Certaines levures peuvent présenter une étape filamenteuse au cours de leur cycle de multiplication ou selon leur condition de vie (*Candida albicans*) (Fig. 43).

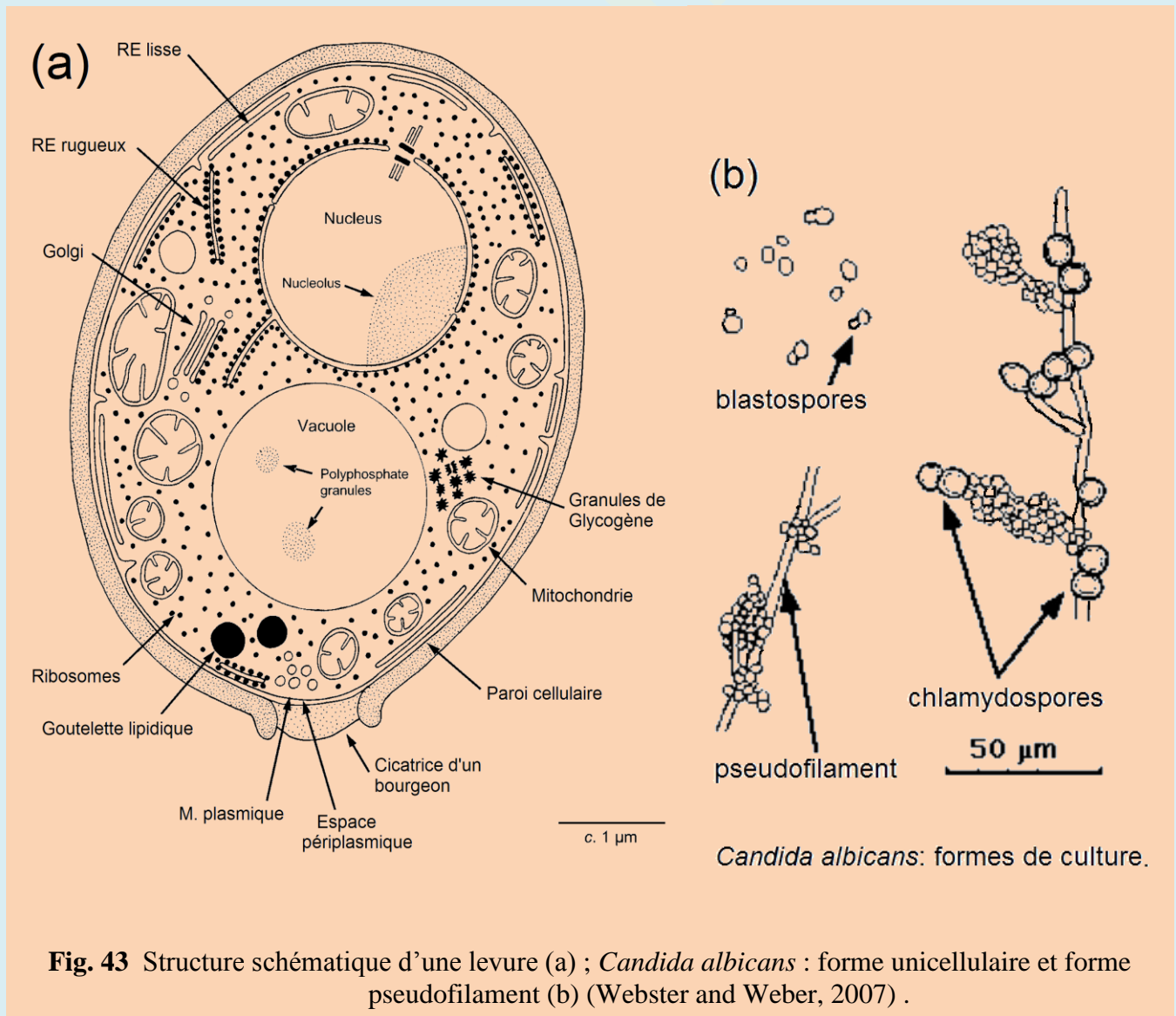


Fig. 43 Structure schématique d'une levure (a) ; *Candida albicans* : forme unicellulaire et forme pseudofilament (b) (Webster and Weber, 2007) .

6.1.3.1.2. Champignons filamenteux (hyphomycètes)

La multiplication asexuée des Oomycètes se réalise le plus souvent par l'intermédiaire de zoospores biflagellées, l'un des flagelles étant antérieur et l'autre postérieur. Chez certaines espèces (Saprolegniales), il peut y avoir deux stades flagellés (des zoospores de première génération atypiques, deux flagelles apicaux identiques, s'enkystent puis libèrent des zoospores typiques de deuxième génération, dont la germination produit un mycélium. Les Chytridiomycètes possèdent des spores mobiles uniflagellées (Fig. 44).

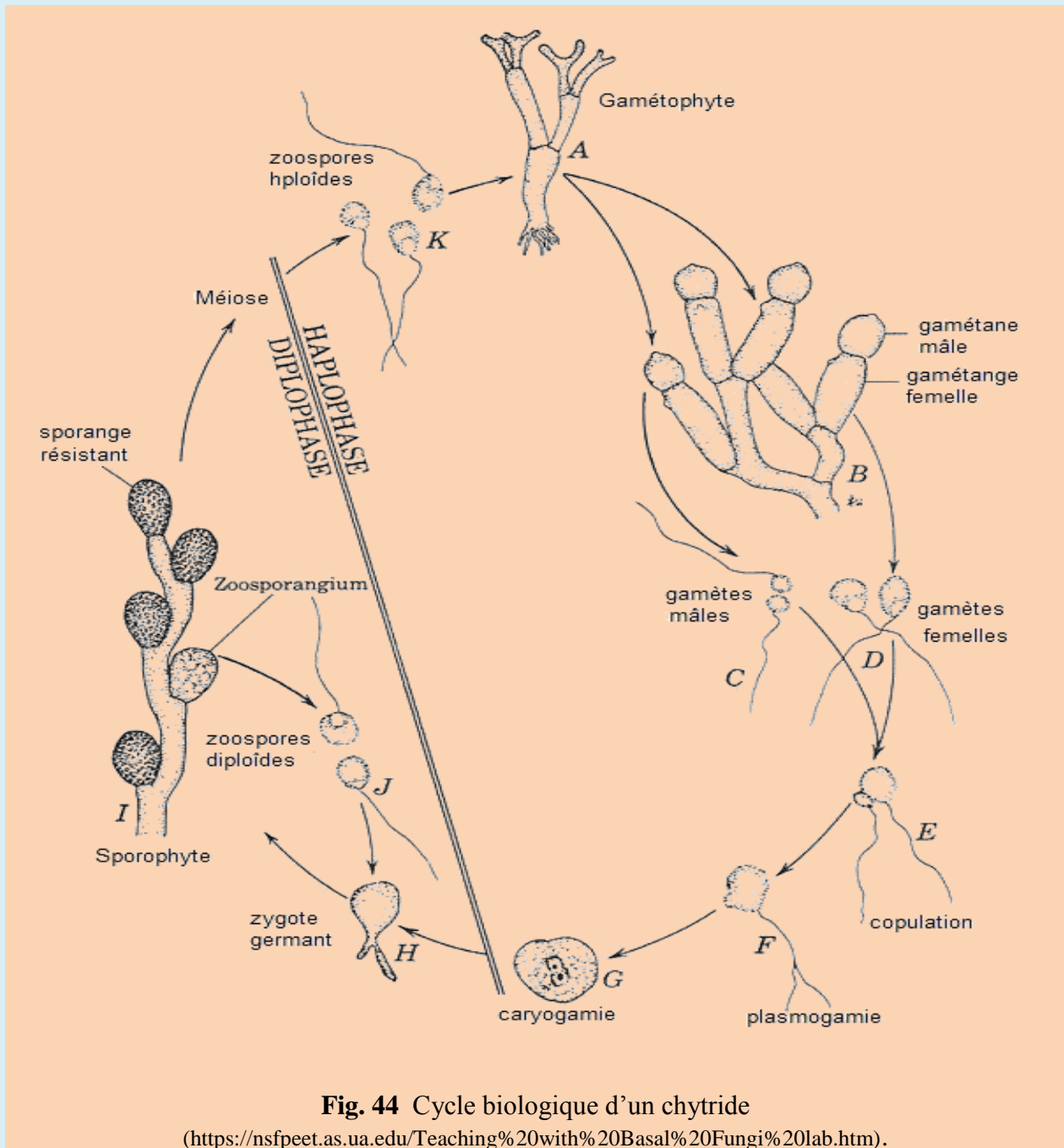
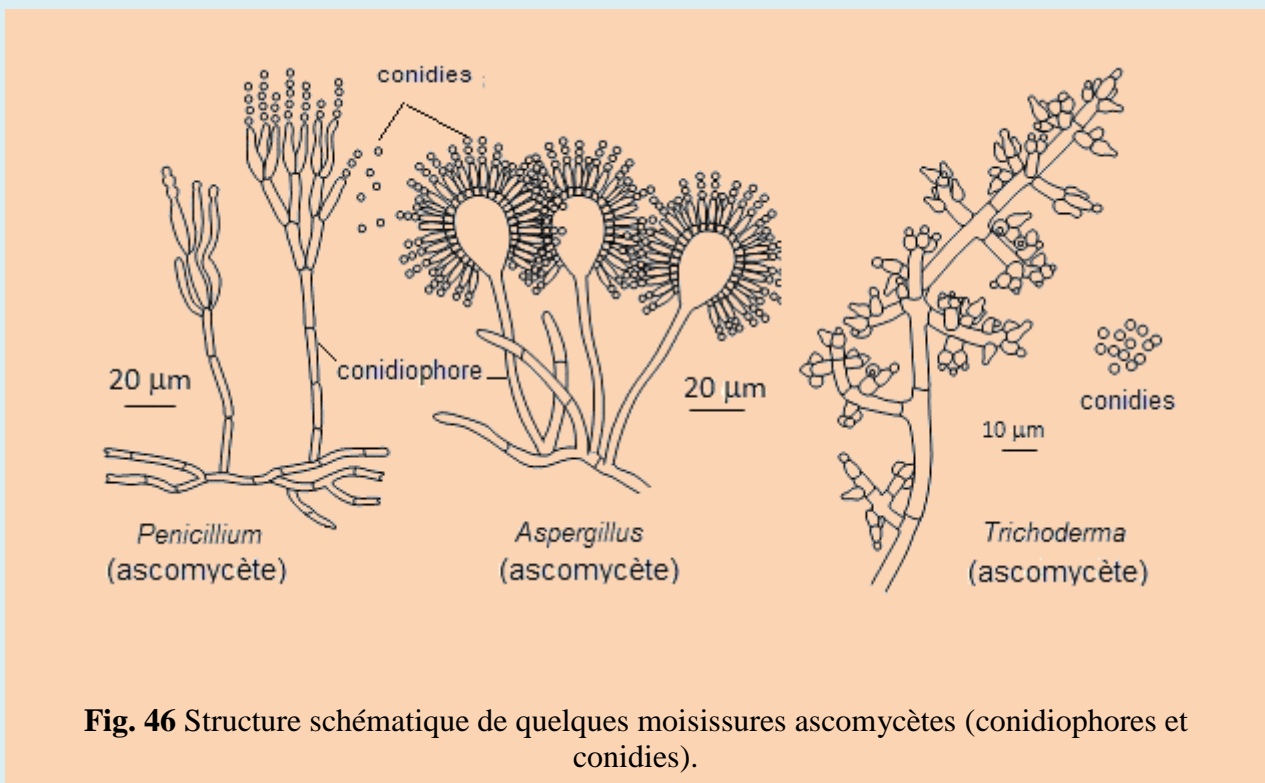
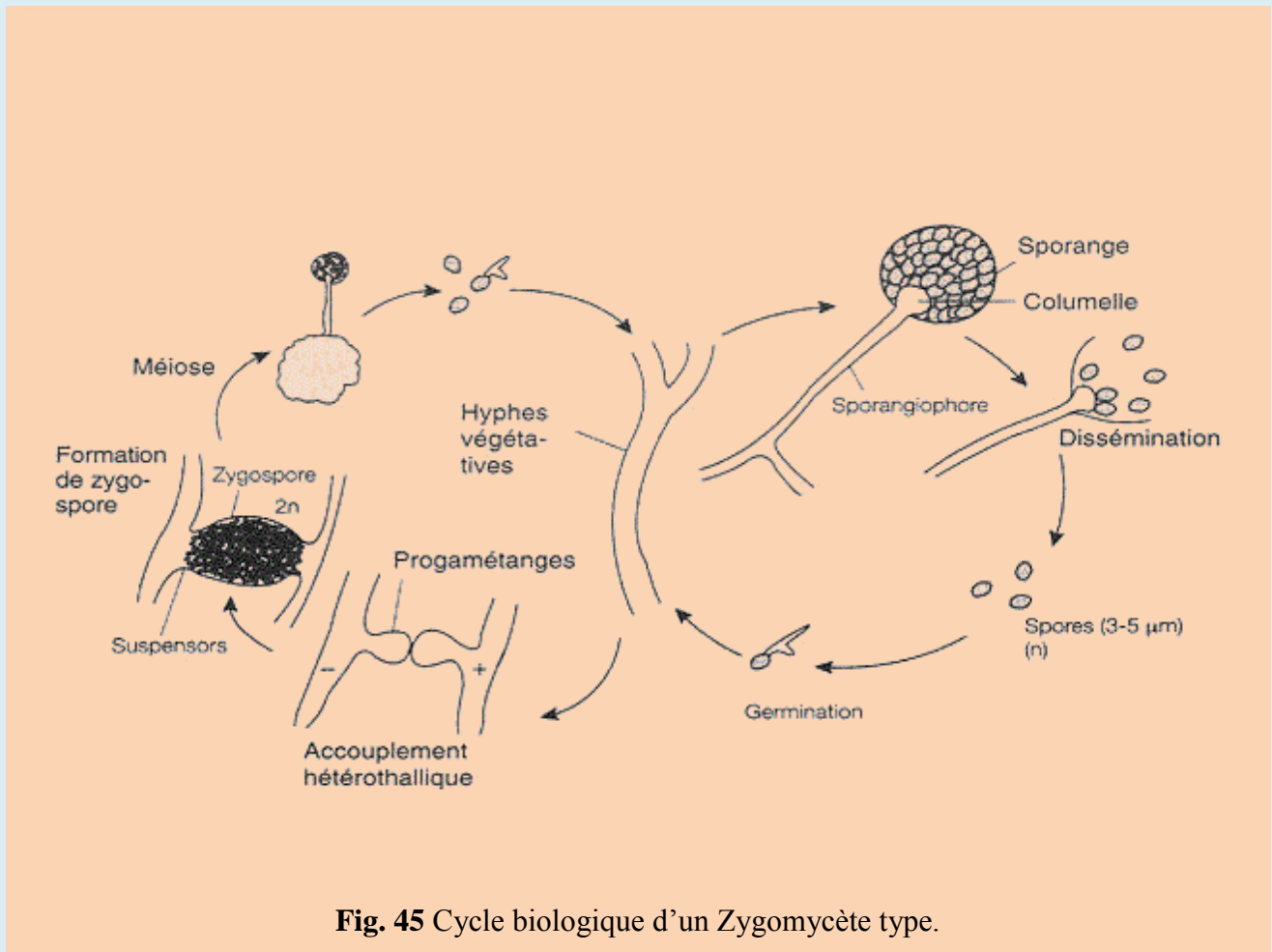


Fig. 44 Cycle biologique d'un chytride

(<https://nsfpeet.as.ua.edu/Teaching%20with%20Basal%20Fungi%20lab.htm>).

Les Zygomycètes sont des champignons inférieurs au thalle non cloisonné et possédant des spores endogènes (ou endospores) qui se forment dans des **sporocystes** (ou sporange). Les endospores germent en donnant directement naissance à un mycélium (Fig. 45).

La reproduction asexuée des Ascomycètes et les Basidiomycètes s'effectue par l'intermédiaire de spores exogènes (ou conidies) produites par des cellules conidiogènes. Celles-ci sont portées par le **conidiophore** (Fig. 46).



6.1.3.2. Reproduction sexuée

Alors que les noyaux de spores asexuées se forment par simple mitose, les noyaux des spores sexuées se forment après des processus plus complexes. La première étape est la **plasmogamie** qui réunit dans un même thalle deux noyaux compatibles (**compatibilité génétique** : on désigne les thalles complémentaires par + et - ou A et a); avant de fusionner (**dicaryophase : des dicaryons**); la deuxième étape, appelée **caryogamie**, correspond à la conjugaison de noyaux haploïdes; la troisième étape est une division réductrice ou méiose, qui conduit à des noyaux à nouveau haploïdes.

Chez de nombreuses espèces, la reproduction sexuée implique des organes de fécondation morphologiquement similaires ou non similaires (**isogamie ou anisogamie**). Les organes qui donnent naissance aux **spores sexuées (méiospores)** sont appelés **gamétocystes**, et prennent le nom d'**anthéridie** (organe mâle) et d'**oogone** (organe femelle ; appelé ascogone chez les Ascomycètes) lorsqu'ils sont différenciés.

Chez les Chytridiomycètes, qui sont les champignons les plus "primitifs", la fécondation se fait par des gamètes libres et mobiles (Fig. 44).

Chez tous les autres champignons, les gamétocystes ne produisent plus de gamètes, mais fusionnent directement (plasmogamie) (Fig. 45).

Chez les Zygomycètes, les gamétocystes correspondent à de simples parties terminales d'hyphes, dont les fonctions sont identiques. Après contact, la plasmogamie a lieu après lyse des parois mitoyennes, avant la caryogamie et la méiose. Les Zygomycètes peuvent être soit **homothalliques**, soit **hétérothalliques**. Une spore sexuée (zygote ou **zygospore**) unique, à paroi épaisse, est alors produite par simple transformation des gamétocystes initiaux. Lorsque les conditions sont favorables, la zygospore produit un sporocyste de germination dont le cytoplasme se divise en particules nucléées qui vont devenir des endospores.

Chez les Ascomycètes, la fécondation de l'oogone (**ascogone**) par l'anthéridie donne naissance à des **filaments ascogènes** qui vont porter des **asques** où se forment les méiospores (**ascospores**) (Fig. 47). Selon les genres, les asques restent dispersés ou sont regroupées au

sein de structures (**ascocarpes**) de complexité variable (**gymnothèce, cléistothèce, périthèce, apothécie**) (Fig. 48).

Chez les Basidiomycètes, la différenciation sexuelle des gamétocystes est réduite puisque la conjugaison a lieu entre cellules de deux articles banals. La formation des spores sexuées se manifeste par l'existence de **crochets de conjugaison**. Le sporocyste prend le nom de **baside**, les méiospores de **basidiospores**. Dans certains cas, les basides sont portées par une structure complexe souvent de grande taille, le **basidiocarpe** ou **carpophore** (*Agaricus bisporus*, *Coprinus comatus*, etc.). Celui se différencie en un pied (stipe) et un chapeau (pileus) qui porte l'hyménium, constitué en particulier des basides qui portent les basidiospores (Fig. 49).

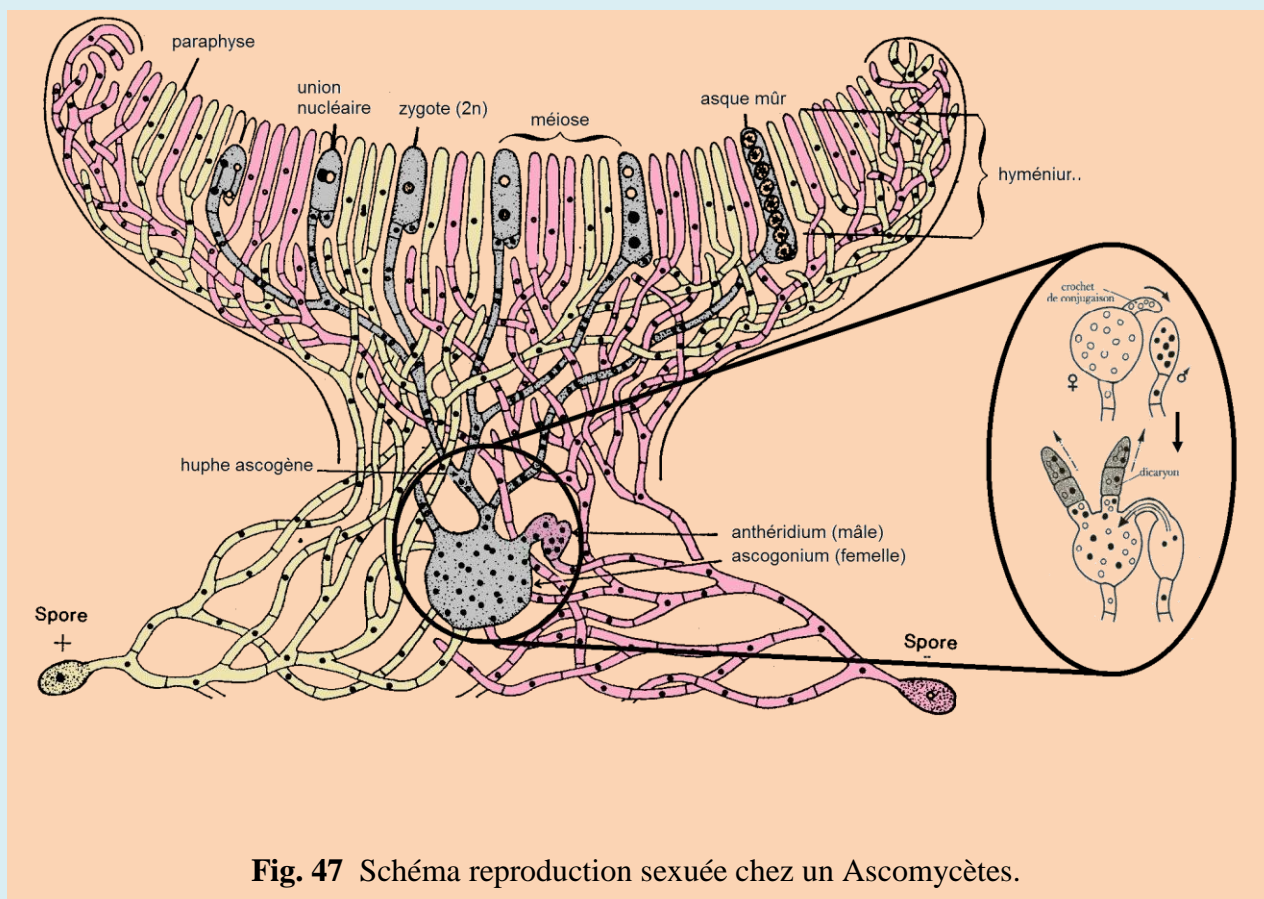


Fig. 47 Schéma reproduction sexuée chez un Ascomycètes.

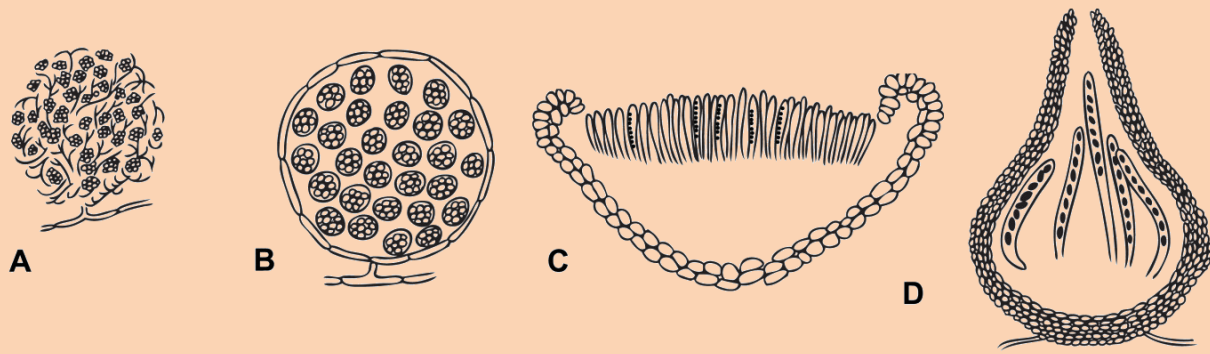


Fig. 48 Types d'ascocarpes des Ascomycètes. A: gymnothèce; B: cleistothèce; C: apothèce; D: perithèce (Webster and Weber, 2007).

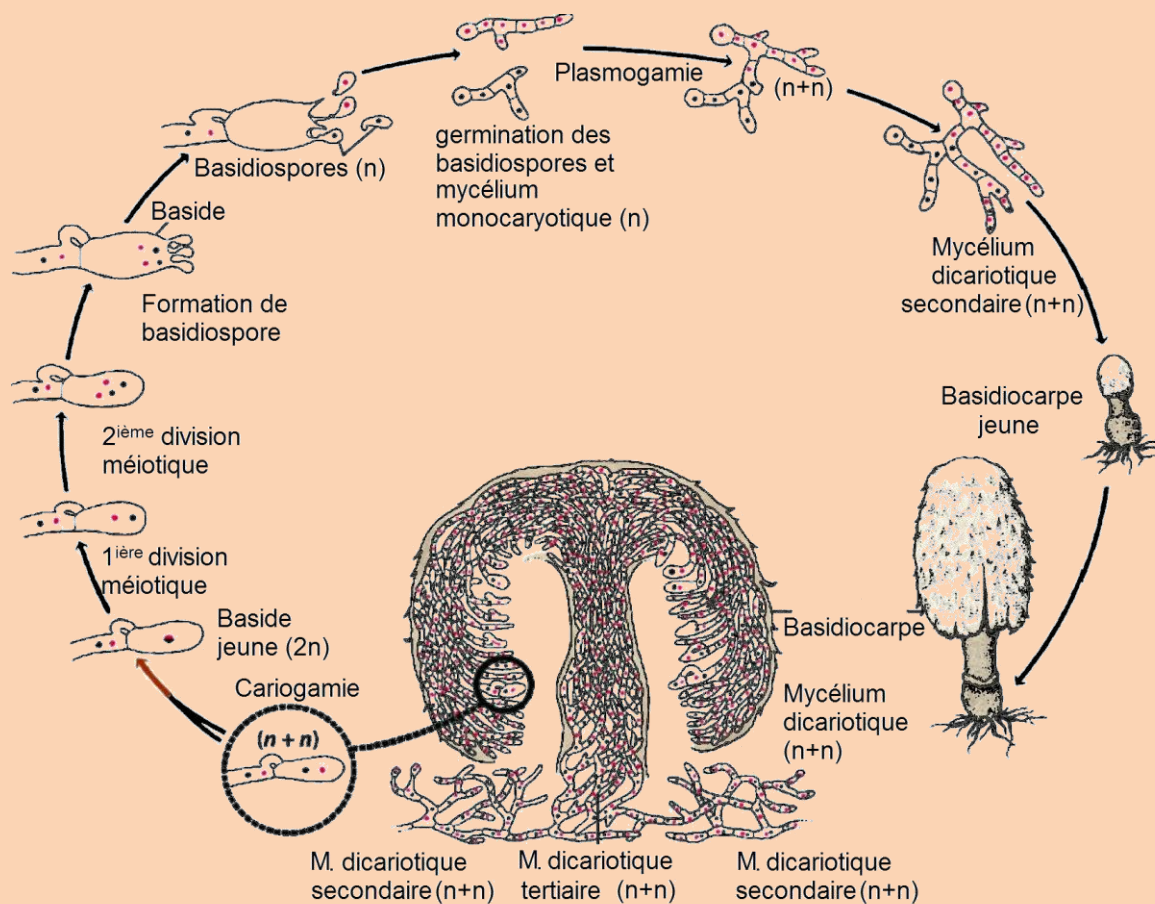


Fig. 49 Schéma de reproduction sexuée chez un Basidiomycète.

6.2. Notions de virologie

6.2.1. Introduction et définition

Ivanovski (1864-1920) fut le premier qui, en 1892, découvrit l'agent ultrafiltrable plus petit que les bactéries; le **virus** de la mosaïque du tabac, à partir de filtrats de plantes. Après 1948, les techniques de cultures cellulaires ont permis l'isolement et la caractérisation de nouveaux virus. En 1955, Franklin décrit la structure hélicoïdale et la liaison entre les capsomères et l'ARN du virus de la mosaïque du tabac. Actuellement, de nouveaux virus continuent à être découverts, comme par exemple le virus de l'hépatite C en 1989, le virus Nipah en 1999 (infection respiratoire du porc et encéphalite chez l'homme), le Métagroupevirus en 2001, le virus du SRAS (syndrome respiratoire aigu sévère) en 2003.

Le virus se distingue totalement de la bactérie et des autres microorganismes. Un virus est un agent infectieux très simple ou une particule (virion) contenant une information génétique protégée (ADN ou ARN). Il est capable de pénétrer une cellule vivante (animale, végétale, bactérienne, ou d'un protiste) et se reproduire aux dépens du métabolisme de la cellule hôte. Le virus mène une vie double, selon sa position, à l'intérieur de la cellule hôte où il réalise son programme génétique, où il existe en tant que particule virale stable (virion) à l'extérieur de la cellule hôte.

6.2.2. Taille du virus

Les plus petits virus ont une taille voisine des ribosomes (Parvovirus, 20 nm - parvus = petit), les plus gros ont une taille légèrement inférieure à celle des plus petites bactéries (Poxvirus, 300 nm - pox = pustule). Une comparaison des tailles de différents virus est rapportée dans la Fig. 50. Des ADN-virus exceptionnellement grands ont été récemment mis en évidence chez les amibes. Avec un diamètre de 400 nm ils atteignent la taille des petites bactéries. Le plus grand virus mis en évidence à ce jour chez les amibes est le Pandoravirus ($1\mu\text{m} \times 0.5\mu\text{m}$).

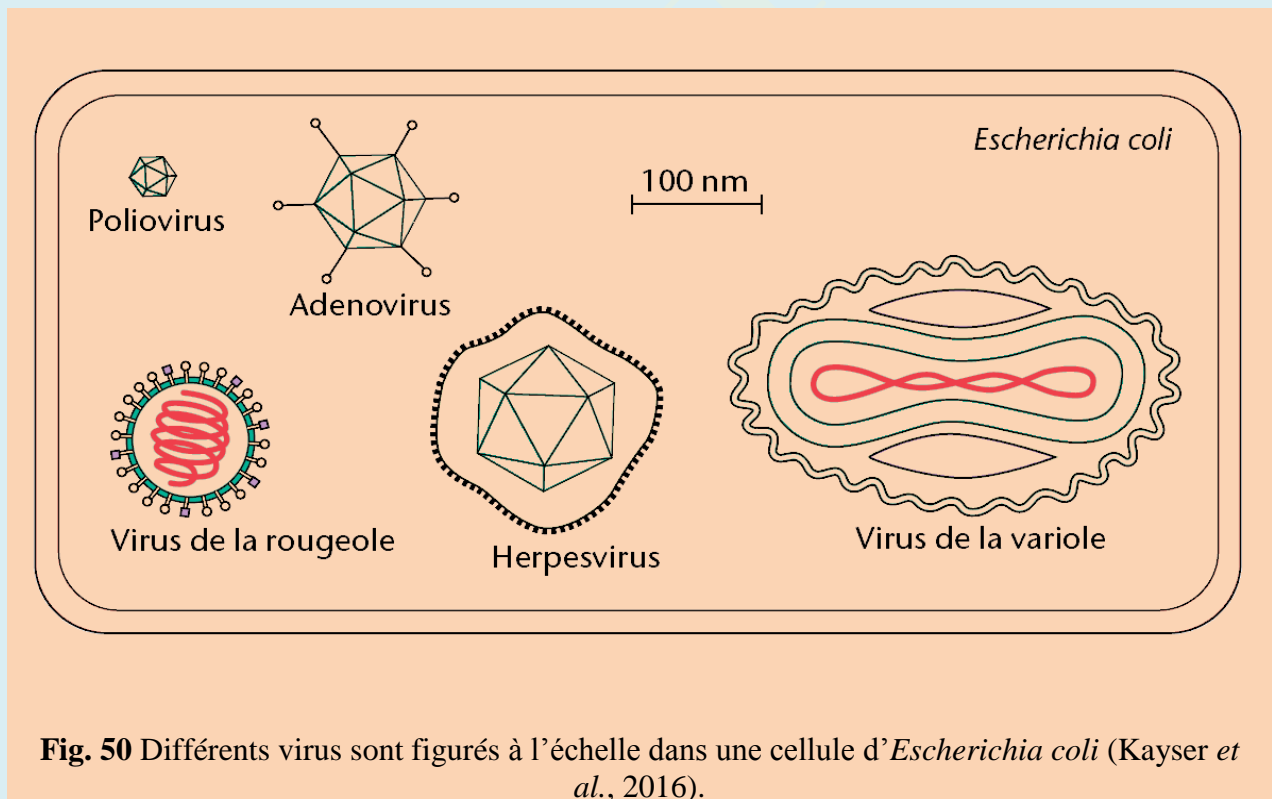


Fig. 50 Différents virus sont figurés à l'échelle dans une cellule d'*Escherichia coli* (Kayser et al., 2016).

6.2.3. Génome

Le génome viral constitue l'information génétique qui est traduite en protéines virales par la cellule-hôte. Il est composé soit de l'ADN, soit de l'ARN, et peut-être monocaténaire (à simple brin) ou bicaténaire (à double brin). On distingue donc des virus à ADN et des virus à ARN. La taille du génome diffère considérablement pour les virus à ADN (de 3 à 300 kb), alors qu'elle est plus restreinte (de 7 à 30 kb) pour les virus à ARN.

6.2.4. Capside

La capside (du grec : caps= boîte) est une structure protéique qui enveloppe et protège le génome viral. Elle porte les déterminants viraux responsables de la fixation du virion à la cellule. L'ensemble de la capside et du génome forme la nucléocapside. La capside a une conformation géométrique tubulaire ou polyédrique (Fig. 51).

6.2.5. Enveloppe

La nucléocapside de certains virus peut être entourée par un troisième élément : l'enveloppe (péplos). Sa présence (virus enveloppés) ou son absence (virus nus) a un rôle important dans le mode de transmission des maladies virales. C'est une membrane dans laquelle sont insérées des spicules. Celles-ci sont les déterminants viraux responsables de la fixation du virion à la cellule.

- on distingue donc : des **virus nus**, et des **virus enveloppés** (Fig. 51).

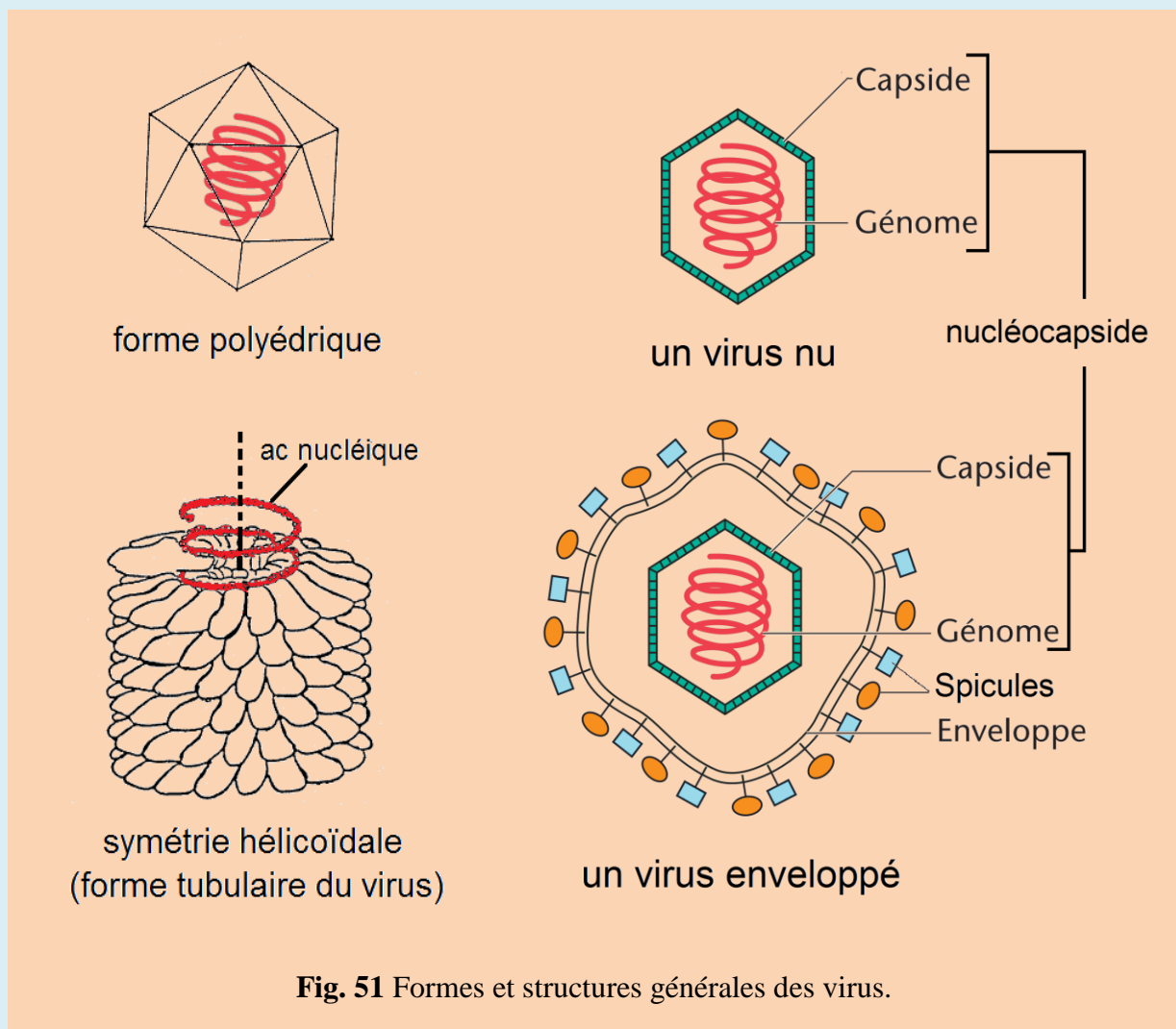
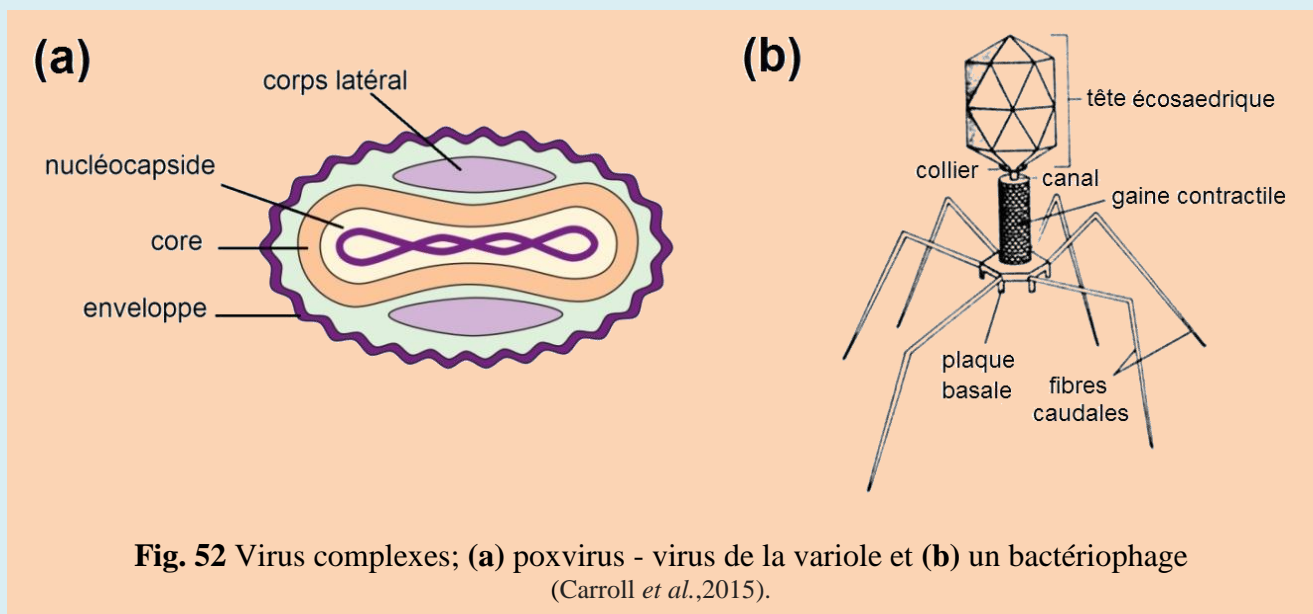


Fig. 51 Formes et structures générales des virus.

6.2.6. Virus complexes

Les **Poxvirus** sont les plus gros virus animaux connus et peuvent être aperçus au microscope photonique. Le génome forme un nucléotide central entouré d'une coque protéique, déprimée au centre par deux corps latéraux (Fig. 52a).

Parmi les **phages** infectant les bactéries (**bactériophages**), certains possèdent une queue de symétrie hélicoïdale prolongeant la capsidie icosaédrique qui abrite le génome. Cette queue sert de seringue pour l'injection du génome virai dans la bactérie. La queue est un tube creux rigide entouré d'une gaine contractile, terminée par une plaque basale portant des fibres qui sont responsables de la fixation (spécifique) à la bactérie. La fixation déclenche la contraction de la gaine et le tube traverse la paroi de la bactérie pour l'introduction du génome dans le cytoplasme (Fig. 52b).



6.2.7. Classification des virus

La classification des virus s'appuie sur des propriétés morphologiques, biologiques, biochimiques et de plus en plus aussi génétiques. Les critères principaux sont:

- La nature du génome : le type ADN ou ARN, la forme simple ou double brin, la polarité des virus à ARN, la présentation segmenté ou non segmenté, la taille...

- La forme de symétrie de la capsid : cubique, hélicoïdale ou complexe.
- La présence d'une enveloppe.
- Le site de multiplication : élaboration de la nucléocapside dans le noyau ou le cytoplasme de la cellule hôte.
- Le site de l'enveloppement : membrane du noyau, RE, Golgi, membrane plasmique.
- La taille du virion

Les domaines hiérarchiques de la systématique sont l'ordre (*-virales*, exp. *Mononegavirales*), la famille (*-viridae*, exp. *Paramyxoviridae*), la sous-famille (*-virinae* », exp. *Alphaherpesvirinae*) le genre (*-virus*, exp. *Morbillivirus*) et l'espèce.

6.2.8. Multiplication des virus

La multiplication virale se déroule en plusieurs étapes successives bien coordonnées dans le temps, identiques pour tous les virus (Fig. 53). Ces étapes sont :

- l'attachement du virus à la cellule hôte.
- la pénétration du virus.
- la décapsidation.
- la réplication des composants viraux.
- l'assemblage des composants viraux (encapsidation).
- la libération de la nouvelle génération de virus.

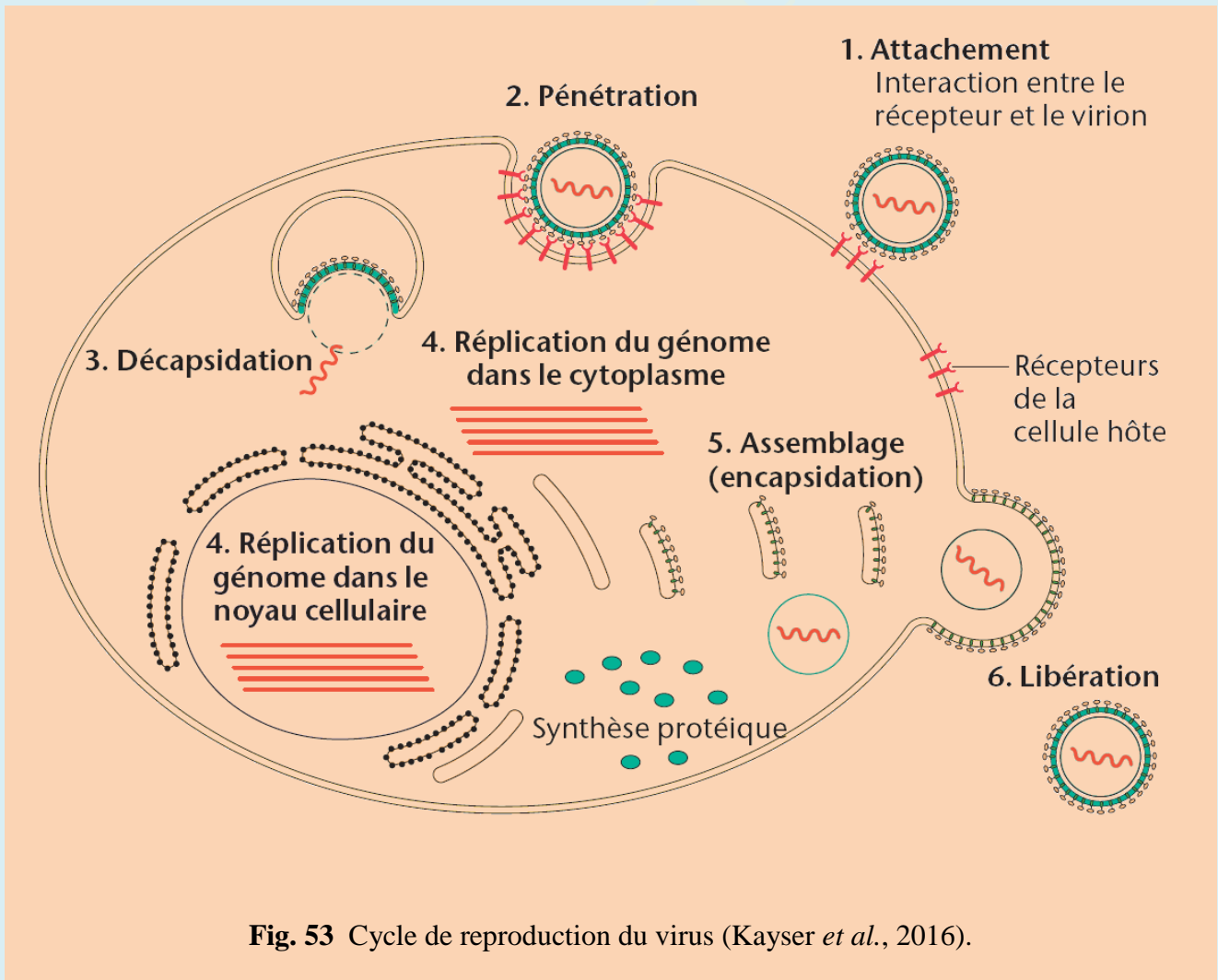


Fig. 53 Cycle de reproduction du virus (Kayser *et al.*, 2016).

Bibliographie

1. Ahmad, N., Alspaugh, J. A., Drew, W. L., Lagunoff, M., Pottinger, P. S., Reller, L. B., ... & Sherris, J. C. (2018). Sherris medical microbiology. McGraw-Hill Companies.
2. Baron S. (1996). Medical Microbiology, 4th edition: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7627/>
3. Barton, L. (2005). Structural and functional relationships in prokaryotes. Springer Science & Business Media.
4. Bousseboua, H. (2002). Eléments de microbiologie générale. Université constantine .
5. Brooks, G., Carroll, K. C., Butel, J., & Morse, S. (2012). Jawetz Melnick&Adelbergs Medical Microbiology 26/E. McGraw Hill Professional.
6. Carroll, K. C., Butel, J., & Morse, S. (2015). Jawetz Melnick and Adelbergs Medical Microbiology 27 E. McGraw-Hill Education.
7. Dedet, J. P. (2007). La microbiologie, de ses origines aux maladies émergentes. Dunod.
8. Hogg, S. (2013). Essential microbiology. John Wiley & Sons.
9. Kayser, F. H. (2005). Medical microbiology. Thieme.
10. Kayser, F.H., Böttger, E.C., Deplazes, P., Haller, O., & Roers, A., (2016). Manuel de poche de Microbiologie médicale. 2^{ième} Éd. Française. Lavoisier.
11. Leppard, K., Dimmock, N., & Easton, A. (2007). Introduction to modern virology.
12. Meyer, J., Deiana, & H. Leclerc, Cours de Microbiologie Générale, Doin Editeurs, Paris, (1984).
13. Moat, A. G., Foster, J. W., & Spector, M. P. (Eds.). (2002). Microbial physiology. John Wiley & Sons.
14. Prescott, L. M. (2002). Prescott-Harley-Klein: Microbiology 5th Edition. USA: The McGrawth-Hill Companies.
15. Prescott, L. M., Harley, J. P., Klein, D. A., & Willey, J. M. (2002): Microbiologie. De Boeck Université.
16. Rajesh, B. , & Rattan, L. I. (2008). Essentials of Medical Microbiology Fourth Edition.
17. Sankar Sastry, A. (2016). Essentials of Medical Microbiology. Jaypee Brothers Medical Publishers (P) Ltd.
18. Stuart, H. (2005). Essential microbiology. The University of Glamorgan, UK. Pub John Wiley and Sons, Ltd.
19. Todar K. (2009). Todar's Online Textbook of Bacteriology : <http://textbookofbacteriology.net/structure.html>
20. Warren, L. (2016). Review of medical microbiology and immunology.
21. Webster, J., & Weber, R. (2007). Introduction to fungi. Cambridge university press.
22. Willey, J. M., & Harley, P. (2008). Klein's Microbiology-7th international ed./Joanne M. Willey, Linda M. Sherwood, Christopher J. Woolverton. New York.