

Contenu du cours

- Morphologie et structure de la cellule bactérienne
- Nutrition et physiologie bactérienne
- Croissance bactérienne

Objectifs du cours

A la fin de ce cours, l'étudiant sera capable de :

- Connaître les types de morphologies, et les éléments de la structure d'une cellule bactérienne (éléments essentiels, éléments non-essentiels) ;
- Identifier les besoins nutritifs et les conditions physico-chimiques nécessaires à la survie d'une cellule bactérienne ;
- Comprendre la notion de croissance bactérienne et reconnaître les paramètres influençant la cinétique de croissance.

La cellule bactérienne

Le monde microscopique est majoritairement procaryote (archées ou *Archaea* et bactéries ou *Bacteria*). La plupart des procaryotes connus et étudiés appartiennent au domaine des bactéries, qui se distinguent par leur très grande diversité, et les différents environnements qu'elles habitent¹.

Les bactéries sont profondément adaptées à leur environnement et interagissent avec lui. Cependant, les milliers d'espèces bactériennes qui ont été découvertes jusqu'ici se distinguent entre elles suivant une multitude de facteurs, morphologiques (la taille, la forme cellulaire), chimiques (composition chimique de la paroi cellulaire), physiologiques (besoins en éléments nutritifs, besoins en facteurs de l'environnement), biochimiques (types d'activités biochimiques et source d'énergie requise) et génétiques (structure et taille du génome, nombre et nature des gènes).

1. Morphologie

1.1. Taille

La taille des bactéries varie généralement entre celle des grands virus et celle des eucaryotes unicellulaires (algues unicellulaires, protozoaires). Cependant, les dimensions moyennes de la plupart des bactéries sont comprises entre des intervalles moins larges (0,2 à 2 μm de diamètre pour 1 à 10 μm de long). Par exemple, les entérobactéries comme *Escherichia coli* ont des dimensions de 1 μm \times 2 à 4 μm . La petite taille des bactéries, comparée à celle des cellules eucaryotes, est un facteur important qui favorise leur croissance et leur multiplication, leur permet de s'adapter rapidement aux conditions environnementales et d'exploiter facilement les ressources de leur milieu.

1.2. Forme et mode de groupement

Il existe une grande variété de formes chez les bactéries, mais trois formes sont les plus répandues : la forme sphérique ou **coccus**, la forme cylindrique ou **bacille** et la forme **spiralée**. Outre les trois principales formes, on trouve aussi d'autres formes, par exemple, des cellules en **étoile** (genre *Stella*), des bactéries **filamenteuses** (bactéries ferrugineuses), ainsi que des formes **mycéliennes** ramifiées ou pas (actinomycètes).

¹ Un grand nombre d'espèces bactériennes sont **ubiquistes**, c'est-à-dire qu'elles sont capables de croître dans des environnements très variés (eau, sols, air, hôtes eucaryotes, etc.).

Quand elles se divisent pour se reproduire (par scissiparité), les bactéries peuvent rester attachées les unes aux autres et se présenter en groupements caractéristiques de l'espèce à laquelle elles appartiennent. Les plans suivant lesquels les bactéries se divisent déterminent ce qu'on appelle le **mode de groupement** des cellules. Les bactéries qui ne restent pas attachées les unes aux autres après leur division ont un mode de groupement **isolé** ou **aléatoire**.

❖ **Forme ovoïde (coccus)**

Les cocci sont habituellement ronds, mais peuvent être ovales, allongés ou plats d'un côté (réniformes). Les modes de groupement des cocci sont variés. Ainsi, les cocci qui restent groupés par paires après s'être divisés sont appelés **diplocoques** (*Enterococcus faecalis*); ceux qui forment des chaînettes plus ou moins longues sont appelés **streptocoques** (*Streptococcus thermophilus*); ceux qui se divisent sur deux plans et constituent des groupements de quatre cellules portent le nom de **tétrades** (genre *Pediococcus*). Ceux qui se divisent sur trois plans et restent attachés en groupements cubiques de huit cellules s'appellent **sarcines** (genre *Sarcina*). Ceux qui se divisent selon une multitude de plans et forment des grappes sont appelés **staphylocoques** (*Staphylococcus aureus*).

❖ **Forme bacille**

La plupart des bacilles sont des bâtonnets simples. Certains bacilles ressemblent à des pailles, ou ont des extrémités effilées. D'autres sont ovales aux extrémités et ont une apparence tellement semblable à celle des cocci qu'on les appelle **coccobacilles** (*Escherichia coli*, *Salmonella*). Les bacilles peuvent également former des associations. Cependant, on observe moins de groupements de bacilles que de groupements de cocci. Les **diplobacilles** (*Moraxella*) restent attachés par paires après leur division et les **streptobacilles** (*Lactobacillus bulgaricus*) forment des chaînettes.

❖ **Forme spiralée**

Les bactéries spiralées présentent une ou plusieurs courbes ; elles ne sont jamais droites. Celles qui ont la forme d'un bâtonnet incurvé et qui ressemblent à des virgules s'appellent **vibrions** (*Vibrio cholerae*). D'autres, appelées **spirilles** (*Campylobacter jejuni*), ont une forme hélicoïdale, et un corps relativement rigide. Un troisième groupe est caractérisé par une forme flexible en hélice plus longue ; ce sont les **spirochètes** (*Treponema pallidum*).

2. Structure

La microscopie électronique a permis de mieux étudier la structure de la cellule bactérienne. Ainsi, cette dernière est entourée d'une enveloppe rigide, la **paroi**, qui lui confère sa forme, sa résistance et qui entoure une autre enveloppe beaucoup plus fine et plus fragile, la **membrane cytoplasmique**. Le **cytoplasme** sous-jacent est homogène, contient les ribosomes, et des substrats de réserve (corps gras, glycogène, phosphate, soufre, etc.) sous forme de **granules**, mais surtout l'**appareil nucléaire** ou **chromosome bactérien**, qui est caractérisé par son aspect fibrillaire, finement réticulé. Ces structures sont essentielles à la cellule et sont toujours présentes, d'autres structures secondaires, inconstantes, peuvent être présentes : la **capsule**, une enveloppe externe présente lorsque les conditions de sa synthèse sont réunies, les **flagelles**, responsables de la mobilité bactérienne, les **pili** et les **fimbriae**, appendices plus fins que les

flagelles, les **plasmides**, petit ADN cyclique non-chromosomique et les **spores**, forme de résistance aux conditions physico-chimiques extrêmes retrouvées chez certaines espèces uniquement (voir la figure 1).

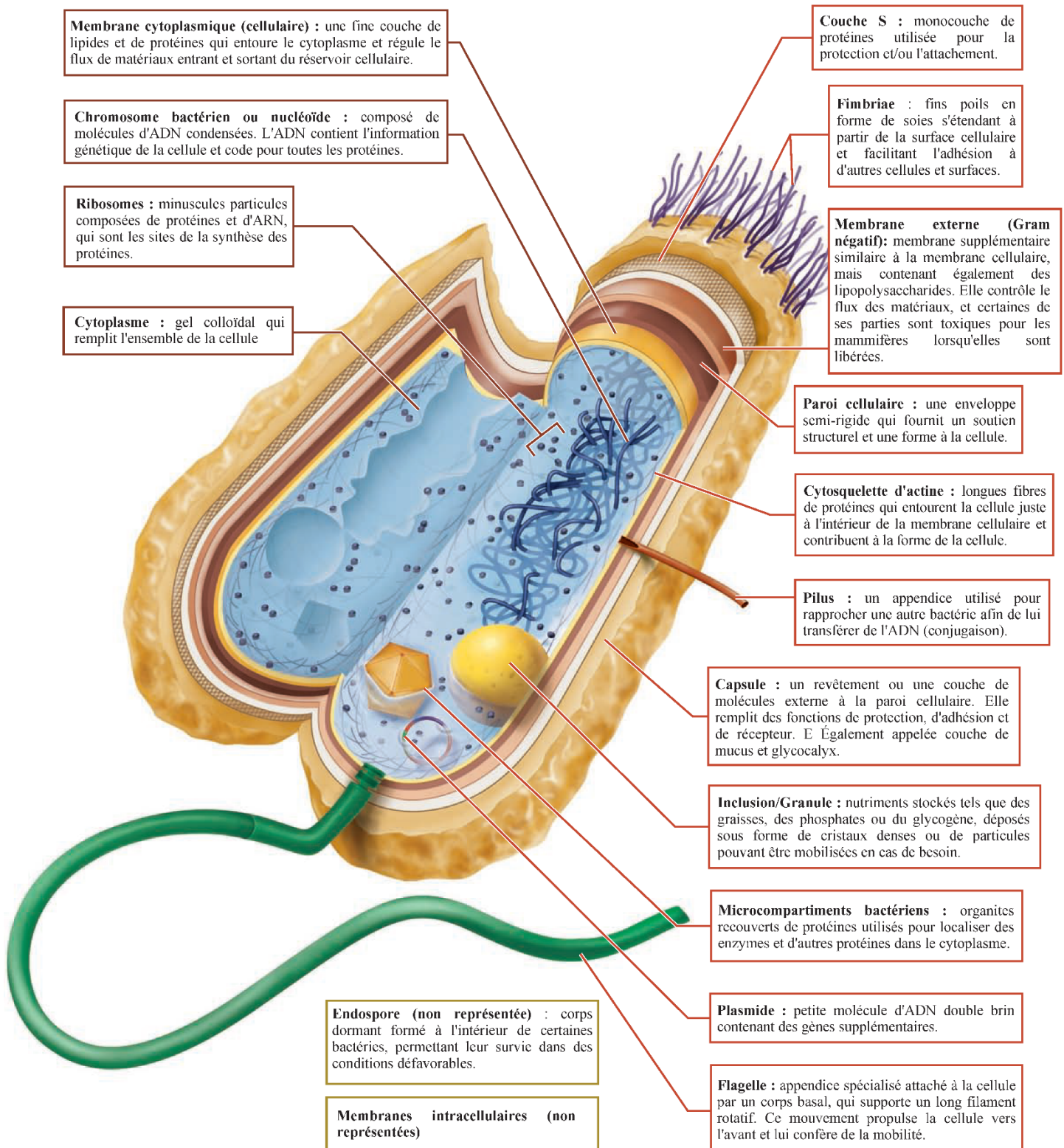


Figure 1. Organites possibles présents dans une cellule bactérienne.

2.1. Paroi cellulaire

Enveloppe caractéristique de la cellule bactérienne, la paroi est un exosquelette relativement rigide, de nature polymérique. Un polymère de base, spécifique des bactéries, est présent dans toutes les parois bactériennes, appelé **peptidoglycane**.

Toutefois, la structure et la composition chimique de la paroi ne sont pas les mêmes pour toutes les bactéries. Sur la base de cette différence, les espèces bactériennes se partagent en deux groupes majeurs, les bactéries **Gram positif** et les bactéries **Gram négatif**. La coloration de Gram révèle de manière simple ces différences.

En microscopie électronique, on observe une différence notable dans la structure des parois des bactéries Gram positif et Gram négatif. La paroi des Gram positif est en général plus épaisse (de 20 à 80 nm) et d'aspect plus homogène, alors que celle des Gram négatif est plus hétérogène et plus fine (de 6 à 15 nm).

2.1.1. Fonctions

Quel que soit sa structure et sa nature chimique, la paroi joue un rôle important dans :

- La forme de la cellule ;
- La résistance à la forte pression interne (entre 2 et 20 atmosphères) de la cellule (le cytoplasme est un milieu hypertonique) ;
- Certaines couches de la paroi sont des déterminants antigéniques majeurs.

2.1.2. Peptidoglycane

La forme cellulaire et la rigidité de la paroi sont principalement dues au peptidoglycane (appelé également mucopeptide, muréine ou mucocomplexe), qui est présent seul ou associé à d'autres substances. Ce polymère est formé d'un maillage (tissu, croisement) de 3 éléments différents :

- ✓ Une épine dorsale faite d'une alternance de molécules glucosidiques : le N-acétylglucosamine (NAG) et l'acide N-acétylmuramique (NAM) (c'est la chaîne glycane) ;
- ✓ Un ensemble de chaînes latérales peptidiques identiques, composées de 4 acides aminés et attachées à l'acide N-acétylmuramique ;
- ✓ Un ensemble de « ponts interpeptidiques » identiques.

Les chaînes glycanes sont les mêmes pour toutes les espèces bactériennes tandis que les chaînes latérales de tétrapeptides et les ponts interpeptidiques varient d'une espèce à l'autre.

2.1.2. Parois des bactéries Gram positif

Chez la plupart des bactéries à Gram positif, la paroi cellulaire est composée de multiples couches de peptidoglycane (peuvent dépasser 25 couches ou feuillettes), qui forment une structure homogène, épaisse et rigide.

En plus du peptidoglycane, la paroi cellulaire des bactéries Gram positif contient des acides teichoïques, qui sont formés principalement d'un alcool (glycérol, ribitol) et de phosphate. Il y a deux classes d'acides teichoïques : l'acide lipoteichoïque, qui traverse les couches de peptidoglycane et se lie aux lipides de la membrane plasmique, et l'acide teichoïque, qui se fixe aux couches externes et internes du peptidoglycane

uniquement. Il est possible que les acides teichoïques jouent un rôle dans la régulation du flux cellulaire (entrée/sortie), de protection contre la lyse de la paroi, en plus de leurs propriétés antigéniques.

2.1.3. Parois des bactéries Gram négatif

La paroi des bactéries Gram négatif contient une mince couche de peptidoglycane uniquement, à l'extérieur de laquelle se trouve une double couche phospholipidique appelée membrane externe, cette membrane contient des lipoprotéines assurant sa liaison avec le peptidoglycane et conférant une certaine solidité à l'ensemble.

La membrane externe contient également des lipopolysaccharides (LPS) remplaçant à certains endroits les molécules phospholipidiques. La partie glucidique est composée de sucres, appelés polysaccharides O, qui jouent le rôle d'antigènes. Tandis que la partie lipidique, est appelée lipide A ou endotoxine. Au moment de la mort cellulaire, cette endotoxine est libérée et devient toxique lorsqu'elle se retrouve dans la circulation sanguine des animaux.

Enfin, des protéines membranaires sont groupées pour former des pores au niveau de la membrane externe. On leur donne le nom de porines. Elles permettent le passage de petites molécules (nucléotides, disaccharides, peptides, acides aminés, vitamine B₁₂, fer, etc.).

L'espace situé entre la face interne de la membrane externe et la membrane cytoplasmique est appelé **espace périplasmique** et contient le **périplasma**. L'espace périplasmique contient une concentration élevée d'enzymes de dégradation et de transporteurs protéiques et abrite la couche de peptidoglycane.

2.2. Membrane cytoplasmique

La membrane plasmique ou **cytoplasmique**, ou **membrane interne** est une structure mince (8 nm d'épaisseur environ), à la fois souple et résistante, qui s'étend sous la paroi cellulaire et qui entoure et retient le cytoplasme de la cellule. Cette structure vitale constitue une barrière séparant l'intérieur de la cellule (cytoplasme) de son environnement.

2.2.1. Structure

Chez les bactéries, la membrane cytoplasmique est composée principalement de **phospholipides** disposés sous forme d'une **double couche**, traversée par des **protéines membranaires**. Les membranes cytoplasmiques bactériennes sont moins rigides que celles des eucaryotes puisqu'elles sont dépourvues de stérols.

La structure biomoléculaire de la membrane cytoplasmique n'est pas statique ; elle est conforme au modèle dit de mosaïque fluide où les molécules peuvent se déplacer en échangeant leurs positions à très haute fréquence.

❖ Phospholipides

Les molécules de phospholipides forment deux rangées parallèles ou **double feuillet**. Chaque molécule de phospholipide comprend une tête polaire, composée d'un groupement phosphate et de glycérol (sous forme de phosphate de glycérol), qui est hydrophile, et une queue non polaire composée de chaînes d'acides gras qui sont hydrophobes. Les têtes polaires occupent les deux surfaces exposées de la bicouche de phospholipides et les queues non polaires sont tournées vers l'intérieur de la bicouche.

❖ **Protéines membranaires**

Les molécules de protéines peuvent être disposées de plusieurs façons dans la membrane. Certaines, appelées **protéines périphériques**, sont situées à la surface interne ou à la surface externe de la membrane, et sont souvent des enzymes ou des molécules de structure. D'autres protéines, appelées **protéines intrinsèques (transmembranaires)**, s'enfoncent dans la bicouche phospholipidique en la traversant complètement, elles jouent souvent un rôle dans le transport membranaire.

2.2.2. Fonctions

i. **Barrière à perméabilité hautement sélective**, permettant à la bactérie de concentrer certains métabolites spécifiques et d'excréter ses déchets métaboliques.

ii. **Transfert de substances**, la membrane cytoplasmique est perméable à l'eau et à de nombreuses molécules, elle sélectionne le passage de certaines petites molécules organiques et minérales, et empêche celui des composés macromoléculaires :

❖ **Osmose**

L'eau diffuse par phénomène d'osmose à travers la membrane cytoplasmique.

❖ **Diffusion simple**

Pour les petites molécules hydrophobes (N₂, O₂, etc.) ou polaires non chargées (urée, CO₂, etc.), le flux moléculaire s'oriente selon le gradient de concentration du soluté. Il s'agit donc d'une **diffusion simple passive**.

Pour les molécules de tailles moléculaires plus importantes et hydrophiles, la diffusion dans le sens du **gradient de concentration** peut se faire de deux manières :

- **Diffusion facilitée** par protéine porteuse (transporteur), implique un changement de conformation de la protéine lors du transport ;

- **Diffusion facilitée** par canal protéique, n'implique pas de changement de structure (vitesses de transfert plus importantes).

❖ **Transport actif**

Les bactéries admettent et concentrent sélectivement certaines substances et en rejettent d'autres. Ceci leur permet d'assurer d'une part, l'équilibre chimiosmotique de part et d'autre de la membrane, et, d'autre part, la pénétration de substances **contre un gradient de concentration**. Dans tous les cas, les mécanismes de transfert nécessitent un apport énergétique et sont groupés sous le terme **transport actif**, plusieurs systèmes existent chez les bactéries pour ce type de transport : i. le transport actif primaire ou uniport ; ii. le transport par translocation de groupe (par phosphorylation du phosphoénolpyruvate (PEP)) et iii. le transport actif secondaire (cotransport : symport et antiport).

iii. **Exportation de protéines** synthétisées dans le cytoplasme. Ces protéines peuvent avoir deux destinées ; soit être excrétées par la bactérie (toxines, exoenzymes, etc.), soit être destinées aux membranes et à la paroi (protéines intrinsèques, etc.) ;

iv. **Support d'enzymes** et de **transporteurs** de molécules impliqués dans la biosynthèse ;

v. **Fonction respiratoire** par transport d'électrons et phosphorylation oxydative chez les espèces bactériennes aérobies ;

vi. **Photosynthèse.** Chez les bactéries photosynthétiques, les pigments et les enzymes qui participent au processus de la photosynthèse se trouvent dans des invaginations de la membrane plasmique qui s'enfoncent dans le cytoplasme. Ces structures membraneuses portent le nom de **chromatophores**, ou **thylakoïdes**.

2.3. Cytoplasme

Le cytoplasme des bactéries est dépourvu de certaines caractéristiques observées dans le cytoplasme des cellules eucaryotes, comme le cytosquelette, le réticulum endoplasmique et les mitochondries. C'est un gel colloïdal contenant l'ensemble des constituants cytoplasmiques, il est composé essentiellement d'eau (80 %) et de substances organiques et minérales. Les principaux éléments constitutifs du cytoplasme sont :

❖ La région nucléaire

La région nucléaire ou **nucléoïde**, du cytoplasme contient un long filament, continu, de forme circulaire, composé d'ADN bicaténaire et appelé **chromosome bactérien**. C'est le support de l'information génétique. L'absence de membrane nucléaire rend le chromosome bactérien très accessible et facilite la synthèse des protéines.

Remarque

Beaucoup de bactéries contiennent d'autres fragments d'ADN appelés **plasmides**. Ce sont de petites unités circulaires extrachromosomiques qui **ne sont pas essentielles** à la croissance et au métabolisme bactérien, mais elles confèrent souvent des traits ou caractères de résistance contre les antibiotiques et de production de certaines toxines et enzymes.

Les phénomènes bactériens de réplication et de transcription de l'ADN, ainsi que la traduction de l'ARN messager en séquences protéiques sont assez similaires à ce qu'on rencontre chez les eucaryotes. Toutefois, des spécificités liées à l'organisation et à la structure des gènes procaryotes ainsi qu'à la nature des enzymes impliquées dans ces phénomènes sont à noter.

❖ Ribosomes

Les **ribosomes** sont des petites structures sphériques qui occupent une grande partie du cytoplasme, souvent sous forme de chaînes (polysomes). Un ribosome est constitué exclusivement d'ARN (60%) et de protéines (40%).

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 polypeptidique.

❖ Granulations (granules, inclusions)

La bactérie peut accumuler de grandes quantités de substances organiques ou minérales en tant que réserves d'énergie qui forment souvent des **granulations** ou **inclusions**, entourées d'une membrane monocouche spéciale. De façon générale, chaque espèce ou chaque groupe bactérien synthétise une seule catégorie de substance de réserve.

Ces granulations ou inclusions peuvent renfermer des polymères organiques riches en énergie (ex : glycogène, acide poly- β -hydroxybutyrate), d'autres inclusions peuvent contenir des cristaux de composés

inorganiques (ex : polyphosphates, soufre, oxyde de fer ou magnétiite Fe_3O_4), et chez certaines espèces on retrouve des vésicules de gaz de même nature que le gaz du milieu extérieur (bactéries planctoniques).

2.4. Capsule

La capsule est un **enduit** (une muqueuse) excrété(e) par certaines bactéries et qui entoure leurs parois. Elle est habituellement de nature **polysaccharidique** (polyholosides), mais dans certains cas elle est de nature polypeptidique (polypeptide de l'acide D-glutamique chez *Bacillus anthracis*). Sa formation est largement influencée par les constituants du milieu. Par exemple, en l'absence des glucides, la bactérie ne forme pas de capsule, mais une fois transférée sur un milieu plus riche en glucides, elle commence à synthétiser une capsule.

❖ Fonctions

- Rôle de protection contre la phagocytose, et les bactériophages ;
- Rôle de protection contre le pouvoir létal des agents physiques et chimiques (réduit l'effet de la dessiccation par exemple) ;
- Rôle antigénique ;
- Rôle dans l'attachement des bactéries aux surfaces solides ou aux autres cellules.

2.5. Flagelles

Les bactéries sont mobiles grâce à des organes locomoteurs spécialisés : les flagelles. Ce sont des appendices filamenteux, composés entièrement de protéines. Les flagelles sont des organites longs, mobiles par rotation.

❖ Mode d'insertion des flagelles

Les flagelles sont des appendices plus ou moins longs et fins, libres à l'une de leurs extrémités et attachés à la cellule bactérienne par l'autre extrémité. La disposition des flagelles varie selon les bactéries, et influence le mode et la vitesse de mouvement.

Il y a quatre types d'arrangements (modes d'insertion) des flagelles bactériens : monotriche (un seul flagelle polaire), amphitriche (un ou plusieurs flagelles aux deux extrémités de la cellule), lophotriche (deux ou plusieurs flagelles à une extrémité de la cellule) (du grec *laphos* signifiant touffe, et *trichos* signifiant cheveux) et péritriche (des flagelles répartis sur toute la surface de la cellule) (*peri* signifie autour).

Les bactéries à flagelles polaires ou amphitriches se déplacent de façon rapide, en ligne droite ou en zigzag, tandis que les bactéries à flagelles péritriches se déplacent lentement en tournoyant.

❖ Structure des flagelles

Le flagelle est une structure hélicoïdale qui fonctionne par rotation. Il est constitué de trois parties principales : le filament, le crochet et le corps basal. Le filament est la partie visible du flagelle qui s'étend à partir de la surface de la bactérie. C'est un long segment de diamètre constant, en forme de cylindre creux et composé de flagelline (protéine globulaire). Le filament est fixé à un crochet un peu plus large, constitué d'une protéine différente. La troisième partie du flagelle est le corpuscule basal, qui fixe la structure dans la paroi cellulaire et la membrane plasmique et est responsable du mouvement du filament, grâce à sa structure protéique plus complexe (rotor+stator).

❖ Fonctions

- **Mobilité** dans les milieux aqueux ou gélosés ;
- **Chimiotactisme.** Les bactéries mobiles sont douées de chimiotactisme (**chimiotaxie** ou mobilité cellulaire par stimuli chimiques). Certaines substances (sucres, acides aminés, O₂) les attirent (chimiotactisme positif) ; d'autres (phénols, acides, bases) les repoussent (chimiotactisme négatif). A noter que le stimulus peut être la lumière et non un élément chimique, dans ce cas on parle de **phototactisme**.
- **Propriétés antigéniques.**

2.6. Pili et fimbriae

De nombreuses bactéries à Gram négatif (et rarement des bactéries à Gram positif) possèdent des appendices minces, plus courts et plus droits que les flagelles et qui servent à fixer la bactérie. Ces structures, constituées d'une protéine appelée piline assemblée en hélice, parfois autour d'un noyau central constitué d'un polypeptide mineur appelé adhésine, sont de deux types, les fimbriae (frange) (**pili communs**) et les pili (poils) (**pili sexuels**).

Le nombre de fimbriae peut varier de quelques-uns à plusieurs centaines par cellules, répartis de manière uniforme. Les fimbriae permettent aux bactéries d'adhérer aux surfaces pour former des biofilms, ou à d'autres cellules, notamment animales. Les **pili** (pilus au singulier), sont généralement beaucoup plus longs que les fimbriae et leur nombre ne dépasse pas un ou deux par cellule. Les pili relient les bactéries lors du phénomène de transfert d'ADN d'une cellule à l'autre appelé conjugaison. En dehors de leurs rôles d'adhésion, les fimbriae et les pili peuvent être des constituants antigéniques majeurs chez les bactéries pathogènes. A noter que les pili de type IV, peuvent intervenir dans le mouvement cellulaire.

2.7. Endospore (spore bactérienne)

Certains genres bactériens Gram positif, (*Bacillus*, *Clostridium*) peuvent se transformer en petites unités ovales ou sphériques, qui ne se divisent pas, sont métaboliquement statiques, et sont extrêmement résistantes lorsque le milieu s'épuise en éléments nutritifs ou lorsque les conditions physicochimiques extérieures changent (augmentation de la température, dessiccation, absence d'eau, présence d'agents chimiques toxiques, baisse ou augmentation du pH, rayonnements, etc.). Ce phénomène est appelé sporulation (sporogénèse) et les structures engendrées sont appelées spores ou endospores.

Si elles sont placées dans des conditions environnementales favorables, ces endospores germent et redonnent des cellules bactériennes complètes et actives, identiques à celles qui ont au départ donné naissance aux endospores. C'est la germination et les cellules formées sont dites végétatives.

❖ Morphologie et structure

La structure d'une endospore observée en microscopie électronique diffère nettement de celle d'une cellule végétative et présente deux grandes parties : i. une **région cytoplasmique** (centrale) contenant

essentiellement le matériel nucléaire en plus des ribosomes, les substances de réserve ainsi que des enzymes², et ii. les **enveloppes** constituées autour de la membrane sporale.

La disposition de ces enveloppes de l'intérieur vers l'extérieur est comme suit :

- La **paroi sporale**, entoure la membrane cytoplasmique et contient le peptidoglycane normal qui donnera après germination, la paroi de la cellule végétative ;
- Le **cortex**, couche épaisse d'aspect monomorphe (10 à 20 % de l'ensemble); il est formé d'un peptidoglycane de structure différente et une forte concentration de dipicolinate de calcium (favorise la déshydratation de la spore, empêche la dénaturation de l'ADN par la chaleur et la dessiccation cellulaire);
- Les **tuniques (interne et externe)**, de nature protéique, elles représentent de 20 à 25 % de l'ensemble ; leur imperméabilité est responsable de la résistance aux agents chimiques ;
- L'**exosporium**, la couche la plus externe, qui est une membrane lipoprotéinique contenant 20 % de sucres (n'est pas essentiel à la survie de la spore).

❖ Sporulation

Sous l'effet du stress environnemental, la multiplication des cellules s'arrête (phase stationnaire) et la sporulation bactérienne démarre³. La durée moyenne de la sporulation est de 7 à 8 heures. On peut la résumer en 7 stades cytologiques :

- **Stades 1 à 3.** La sporulation commence par la réplication de l'ADN chromosomique, puis la condensation d'une des copies de ce dernier au niveau d'une extrémité de la cellule, suivie par une division cellulaire asymétrique avec formation d'une double structure membranaire (septum transversal) qui partage la cellule en deux parties inégales ; l'une donnera naissance à la préspore et va contenir le chromosome bactérien ; l'autre, correspondant à la cellule végétative qui porte la spore embryonnaire, est appelée sporange.

- **Stade 4 à 6.** Dans le sporange, la préspore va « mûrir » en s'entourant progressivement de ces différentes enveloppes.

- **Stade 7.** Quand l'endospore est mûre, la paroi de la cellule végétative se rompt (lyse). La cellule végétative meurt et libère l'endospore.

Le diamètre de l'endospore peut être égal à celui de la cellule végétative. Il peut aussi être plus petit ou plus grand, dans le cas d'une spore **non déformante** et d'une spore **déformante**, respectivement. Selon l'espèce, la position de l'endospore dans la cellule végétative peut être **terminale** (formée à une extrémité), **subterminale** (formée près d'une extrémité) ou **centrale**.

❖ Germination

Les endospores sont **thermorésistantes**, peuvent résister à de nombreux **agents chimiques** (antiseptiques, antibiotiques) et **physiques** (rayons UV, pressions élevées), leur durée de survie peut être très importante.

² . La partie centrale (son pH est plus acide d'une unité que celui de la cellule végétative) contient, de plus, de fortes concentrations de petites protéines acido-solubles (SASP), elles ont un rôle de protection de l'ADN contre la dessiccation et l'action des UV et sont une source d'énergie lors de la germination).

³ Chaque cellule végétative donnera une seule endospore.

La germination de l'endospore pour donner une cellule métaboliquement active, comprend trois stades :

- **Activation.** La germination est activée par un agent qui détruit les tuniques sporales. Cet agent peut être mécanique (choc mécanique), physique (chaleur) ou chimique (acidité), cette activation doit souvent être accompagnée par la présence de nutriments dans le milieu ;

- **Initiation.** De nombreux constituants de la spore sont dégradés par des enzymes hydrolytiques. Après l'élimination du cortex, la spore s'imbibe d'eau, gonfle et devient plus perméable ;

- **Excroissance.** La cellule reprend sa biosynthèse et double son volume initial en se libérant de la tunique sporale, et la paroi sporale devient la paroi cellulaire.

3. Nutrition

La nutrition est un processus par lequel les substances chimiques appelées nutriments sont acquis de l'environnement et employés dans des activités cellulaires comme le métabolisme (catabolisme+anabolisme) et la multiplication cellulaire (croissance). Les bactéries, comme tout autre organisme, ont besoin de sources de ces éléments. Les différences entre les organismes vivants concernent la principale source d'un élément en particulier, sa forme chimique assimilée, et les besoins quantitatifs en cet élément.

La nutrition doit être satisfaite par deux types de substances (nutriments), qu'une bactérie doit trouver dans son environnement (naturel ou synthétique) : i. les **substances élémentaires**, c'est-à-dire les matériaux constitutifs de la cellule (carbonés, azotés, minéraux et eau), qui sont utilisés en grandes quantités ; ce sont les **macronutriments**, ou en quantités moindres ou à l'état de traces ; ce sont les **micronutriments** (oligoéléments) et ii. les **substances énergétiques** permettant à la cellule de réaliser la synthèse de ses propres constituants.

3.1. Besoins nutritifs

3.1.1. Macronutriments

❖ Carbone

Le carbone, est un élément indispensable à toutes les cellules. La source de carbone chez la plupart des bactéries est d'origine organique : acides aminés, acides gras, acides organiques, sucres, composés aromatiques, etc., ils sont assimilés par les bactéries pour synthétiser leurs composants cellulaires. Toutefois, quelques bactéries sont capables de construire toutes leurs structures cellulaires à partir de dioxyde de carbone (CO₂). L'énergie nécessaire à ce processus provient de la lumière ou de composés inorganiques.

❖ Azote

L'azote est un élément présent dans les protéines, les acides nucléiques et plusieurs autres constituants cellulaires. L'azote assimilable par les bactéries est sous forme inorganique : ammoniac (NH₃), nitrate (NO₃⁻), organique : les groupements amines des composés organiques de type R-NH₂ ou élémentaire : certaines bactéries utilisent l'azote atmosphérique (N₂) comme unique source d'azote.

❖ Phosphore et soufre

Le phosphore fait partie des phospholipides, les acides nucléiques, de nombreuses coenzymes et de l'ATP. Il est incorporé dans la cellule sous forme de phosphate inorganique. Le soufre est présent dans

certaines acides aminés (cystéine, méthionine) et donc dans les protéines sous forme de groupements thiols (HS^-), dans certaines vitamines (biotine, thiamine) et coenzymes. Le soufre cellulaire provient essentiellement de sources inorganiques (sulfate SO_4^{2-} , hydrosulfure HS^-).

3.1.2. Micronutriments

Bien que nécessaires en très faible quantité, les micronutriments sont néanmoins indispensables au bon fonctionnement cellulaire et au maintien de l'équilibre physicochimique du cytoplasme. Ils jouent généralement un rôle dans la catalyse en tant que composants de diverses enzymes. Souvent des métaux, ce sont notamment le sodium, le potassium, le magnésium, le chlore, le fer, le calcium, le manganèse, le cuivre, etc. Ils peuvent faire partie d'une enzyme ou d'une coenzyme (fer des cytochromes respiratoires, magnésium de la chlorophylle) et ont donc un rôle important dans la biocatalyse.

3.1.3. Besoins spécifiques : les facteurs de croissance

En plus des éléments de base (micro et macronutriments) cités précédemment, certaines bactéries exigent pour leur développement la présence de substances **organiques** qu'elles sont **incapables de synthétiser** appelées **facteurs de croissance**. En fonction de ces besoins, les bactéries sont classées en deux catégories : les **prototrophes** qui ne nécessitent pas de facteurs de croissance, et les **auxotrophes** qui les exigent.

Les facteurs de croissance englobent trois catégories de substances : les acides aminés, les bases puriques et pyrimidiques (bases azotées entrant dans la structure des acides nucléiques) et les vitamines. Ces facteurs de croissance agissent à des concentrations infiniment **petites** et ont une **action très spécifique**.

3.2. Diversité métabolique des bactéries

Les bactéries se distinguent par leur grande diversité métabolique, cela veut dire qu'elles sont capables d'utiliser une large gamme de réactions biochimiques dans le but de construire ces structures cellulaires et stocker de l'énergie. Les bactéries sont groupées sur le plan métabolique en types trophiques⁴, selon leur type nutritionnel, leur source d'énergie et leur source de carbone.

❖ Selon la source d'énergie

Selon le type d'énergie utilisé, les bactéries sont classées en deux catégories :

- Les **phototrophes** (ou photosynthétiques), qui puisent leur énergie dans le rayonnement lumineux ;
- Les **chimiotrophes** (ou chimiosynthétiques), qui utilisent l'énergie de l'oxydation de produits chimiques organiques ou minéraux.

❖ Selon la source de carbone

Selon la source de carbone, les bactéries sont classées en deux catégories :

- Les **autotrophes (lithotrophes)**, qui utilisent le dioxyde de carbone (CO_2) comme seule source de carbone et utilisent des substrats minéraux comme donneurs d'électrons (pour la réduction de la source de carbone en composés organiques) ;
- Les **hétérotrophes (organotrophes)**, qui utilisent des substrats organiques carbonés.

Selon les sources d'énergie et de carbone, 4 classes nutritionnelles différentes sont obtenues :

⁴ Du terme grec *trophus* : nourriture.

i. Les **photoautotrophes** (ou **photolithotrophes**), utilisent la lumière comme source d'énergie et le dioxyde de carbone comme principale source de carbone, leur source d'électrons est minérale. Exemple : les bactéries photosynthétiques (bactéries vertes et pourpres sulfureuses ou sulfatoréductrices), utilisent le soufre, les composés sulfurés ou le H₂ pour réduire le CO₂ et former des composés organiques ;

ii. Les **photohétérotrophes** (ou **photoorganotrophes**), utilisent la lumière comme source d'énergie, mais sont incapables de convertir le CO₂ en sucre ; à la place, ils emploient des composés organiques (alcools, acides gras, acides carboxyliques, etc.) et des glucides comme source de carbone et d'électrons. Exemple : bactéries vertes et pourpres non-sulfureuses ;

iii. Les **chimioautotrophes** (ou **chimiolithotrophes**), se servent du CO₂ comme principale source de carbone. Ils utilisent les électrons provenant des composés inorganiques réduits (sulfure d'hydrogène H₂S pour *Thiobacillus thiooxidans*, l'ion nitrite NO₂⁻ pour *Nitrobacter* ou l'ion ferreux Fe²⁺ pour *Thiobacillus ferrooxidans*, etc.) comme source d'énergie.

iv. Les **chimiohétérotrophes** (ou **chimioorganotrophes**), utilisent spécifiquement comme source d'énergie les électrons provenant des atomes d'hydrogène qui font partie des composés organiques. Presque toutes les bactéries d'importance en agroalimentaire, y compris les bactéries pathogènes, sont des chimiohétérotrophes.

4. Croissance

La croissance peut être définie comme un accroissement ordonné de tous les composants d'un organisme. La croissance bactérienne aboutit, non pas à une augmentation de la taille comme chez les organismes pluricellulaires, mais à une **augmentation du nombre** de cellules.

La plupart des bactéries se reproduisent par **fission binaire (scissiparité)** : une cellule mère se divise pour donner deux cellules filles identiques. Seuls quelques groupes bactériens restreints se reproduisent différemment par **bourgeonnement** (bactéries bourgeonnantes), par **fragmentation** (bactéries filamenteuses) ou par **sporulation** (actinomycètes).

4.1. Impact des facteurs physiques de l'environnement sur la nutrition et la croissance bactérienne

L'activité des bactéries et donc leur croissance varient selon des facteurs physiques (T°, pH, pression osmotique, radiation, etc.) et chimiques (disponibilité des nutriments surtout) de l'environnement. Ils peuvent l'empêcher, l'inhiber ou la favoriser.

4.1.1. Température

La température influence grandement la division et le métabolisme cellulaire. Chaque bactérie possède une **température minimale** au-dessous de laquelle il n'y a pas de croissance, une **température optimale** où la croissance est la plus rapide, et une **température maximale**⁵ au-dessus de laquelle la croissance n'est pas possible, ces trois températures sont appelées **températures cardinales**, et sont caractéristiques de chaque bactérie. Selon la température **optimale** de croissance, on distingue généralement trois catégories de bactéries⁶ :

⁵ En général, la température optimale est plus proche de la température maximale que de la minimale.

⁶ Cette classification n'a pas de limites strictes. Il peut exister des chevauchements entre les groupes.

❖ **Psychrophiles** : regroupent les bactéries qui peuvent se développer à 0°C, on distingue :

- Les psychrophiles **strictes** : peuvent se développer à des températures entre -10°C et 20°C, mais leur température optimale de croissance se situe dans l'intervalle 10 à 15 °C.

- Les **psychrotrophes** : peuvent se développer à des températures variant de 0 à 35°C et leur température optimale de croissance est comprise entre 20 et 30 °C.

❖ **Mésophiles** : peuvent se développer à des températures variant de 10 à 45°C, elles regroupent la majorité des bactéries notamment les pathogènes. Elles se sont adaptées à la vie dans le corps animal et ont de ce fait des températures optimales proches de celles de leur hôte.

❖ **Thermophiles** : sont des bactéries capables de se développer à des températures élevées et sont incapables de se développer à des températures inférieures à 45°C⁷.

4.1.2. pH

L'action du pH se situe à trois niveaux : le milieu, la perméabilité membranaire et l'activité métabolique. En effet, la disponibilité de certains nutriments (ions métalliques notamment) peut être modifiée par l'équilibre ionique, la synthèse d'ATP dépend étroitement des pompes ioniques (H⁺) et l'activité enzymatique est très sensible aux variations de pH.

Les bactéries se multiplient en grande majorité dans un pH neutre (6,5-7,5) (**neutrophiles**). Ces limites peuvent être plus larges. D'autres bactéries ont des préférences pour des pH basiques (**alcaliphiles** ou **basophiles**) ou acides (**acidophiles**).

4.1.3. Oxygène

C'est surtout vis-à-vis de l'oxygène que les exigences gazeuses des bactéries sont précises : certaines bactéries ont absolument besoin d'oxygène; ce sont des **aérobies strictes**. D'autres ne peuvent se développer qu'en absence d'oxygène, ce sont des **anaérobies strictes**. D'autres sont aérobies **facultatifs** (ou **aéro-anaérobies**), elles peuvent se multiplier en absence ou en présence d'oxygène. Enfin, d'autres bactéries dites microaérophiles, ne se reproduisent qu'en présence d'une faible concentration d'oxygène.

4.1.4. Humidité (activité d'eau A_w)

L'eau est utilisée de deux manières par les bactéries : comme solvant des nutriments, permettant ainsi leur transport et leur disponibilité, et comme agent chimique des réactions d'hydrolyse.

La quantité d'eau disponible peut être mesurée. On utilise l'**activité d'eau (A_w)** comme paramètre quantitatif de l'eau disponible⁸. Les bactéries exigent un certain seuil d'humidité, en présence d'une A_w faible, elles réagissent en ralentissant leur croissance. Dans le cas général, les bactéries nécessitent une A_w supérieure ou égale à 0,95.

4.1.5. Pression

❖ **Pression osmotique**

La concentration en molécules de solutés du milieu environnant la bactérie est un facteur de croissance essentiel. Le cytoplasme bactérien est très riche en molécules de toutes sortes et par conséquent la pression

⁷ On appelle thermotolérants tous les organismes mésophiles capables de se développer à des températures > 45 °C.

⁸ A_w est définie comme étant le rapport de la pression de vapeur saturante du milieu à la pression saturante de l'eau pure à la même température (A_w=P/P₀). Ce rapport est inférieur ou égal à 1.

osmotique y est généralement plus élevée que dans les milieux où vivent les bactéries. L'intervalle de salinité compris entre 0 et 3 % est celui dans lequel la grande majorité des bactéries peuvent croître.

D'autres facteurs physiques, comme la **pression mécanique** et les **rayonnements** peuvent influencer la croissance et le développement bactériens.

4.2. Cinétique de la croissance bactérienne

4.2.1. Paramètres de la cinétique bactérienne

Afin de quantifier la croissance bactérienne, on détermine le nombre de cellules (ou en **biomasse** notée **X**), ou éventuellement l'évolution de leurs métabolites (substrats, produits, constituants cellulaires). Le suivi de la variation de la quantité de biomasse en fonction du temps (*t*) permet de tracer une courbe $X = f(t)$, appelée **courbe de croissance**.

❖ Croissance exponentielle

Si une quantité de biomasse de départ X_0 est mise en culture à un moment t_0 dans des conditions physicochimiques stables où les nutriments sont régénérés et les déchets éliminés constamment, le nombre de cellules initiales va augmenter en suivant une progression géométrique selon l'équation :

$$X_n = X_0 2^n \dots\dots\dots(1)$$

Avec X_n : le nombre de cellules après *n* divisions et *n* : le **nombre de générations** (divisions)

L'expression logarithmique de cette équation est souvent utilisée pour tracer la courbe de croissance :

$$\log X_n = \log X_0 + n \log 2 \dots\dots\dots(2)$$

Donc le **nombre de divisions** $n = (\log X_n - \log X_0) / \log 2 \dots\dots\dots(3)$

Ce type de croissance est appelé **croissance exponentielle**. Et à partir de cette équation, on peut définir les paramètres suivants :

Le temps de génération noté **G**⁹: $G = (t_n - t_0) / n \dots\dots\dots(4)$

C'est le temps nécessaire à une bactérie pour réaliser une division, et donc à la survenue d'une **génération**. Ce temps est variable selon les espèces et les facteurs physico-chimiques de l'environnement.

La vitesse spécifique de croissance, notée μ :

$$\mu = \log(X_n/X_0) / t \dots\dots\dots(5)$$

C'est la vitesse de croissance rapportée à l'unité de biomasse et de volume (g. L⁻¹.h⁻¹ ou nombre de cellules. h⁻¹). μ_X est un facteur dépendant de l'espèce bactérienne et des conditions de culture.

4.2.2. Courbe de croissance bactérienne en milieu non renouvelé

La croissance des bactéries est limitée. Après une certaine durée de culture, variable selon les espèces, elle s'arrête. Ceci est dû au fait qu'on travaille avec un volume limité de **milieu de culture**¹⁰ avec des quantités précises et limitées de nutriments. Le milieu finit par s'épuiser. C'est ce que l'on appelle la croissance en milieu non-renouvelé.

Sur un milieu de culture non-renouvelé, la concentration en cellules en fonction du temps suit une courbe de croissance typique, qui comprend plusieurs événements réunis généralement en quatre phases :

⁹ Noté également θ , il est exprimé par unité de temps (h par exemple).

¹⁰ Solution de divers nutriments permettant la croissance cellulaire.

une phase de latence, une phase exponentielle, une phase stationnaire et une phase de déclin, schématisées sur la figure 2.

❖ **Phase de latence** : au départ, le nombre de cellules bactériennes varie très peu parce que celles-ci ne commencent pas à se reproduire immédiatement après leur introduction dans un nouveau milieu¹¹. Cette période durant laquelle les cellules ne se divisent pas, ou très peu s'appelle phase de latence, et sa durée est relative. Ce temps de latence correspond à une forte activité métabolique des cellules, qui mettent en place les enzymes qui interviendront dans les activités cellulaires (biosynthèse, division cellulaire).

❖ **Phase exponentielle** : après la phase de latence, les cellules commencent à se diviser ; elles entrent dans une période de croissance appelée phase exponentielle. C'est la période durant laquelle la reproduction cellulaire est la plus intense, et le temps de génération G est constant et a la plus courte durée et μ est maximale. C'est pendant cette phase que l'activité métabolique des bactéries est la plus intense.

❖ **Phase stationnaire** : la croissance finit par ralentir jusqu'à ce que le nombre de nouvelles bactéries, et la population se stabilisent. À ce moment, l'activité métabolique des cellules diminue elle aussi. Cette période d'équilibre s'appelle phase stationnaire.

Cette phase peut être expliquée par l'épuisement des nutriments, l'accumulation de déchets ainsi que des variations défavorables des conditions du milieu (pH en particulier).

❖ **Phase de déclin** : si la culture continue après la phase stationnaire, elle atteint un stade où le nombre de bactéries qui meurent dépasse le nombre de nouvelles bactéries ; la population entre alors dans la phase de déclin ou phase de décroissance. Cette phase se poursuit jusqu'à ce que X diminue fortement, ou jusqu'à ce que toutes les cellules meurent.

Le temps que durent ces quatre phases varie selon les espèces bactériennes. Ainsi, chez certaines espèces, elles peuvent se dérouler en quelques heures ou quelques jours seulement, tandis que chez d'autres espèces elles peuvent survenir sur des périodes encore plus longues.

Dans un milieu synthétique, contenant un mélange de deux substrats carbonés, on peut observer une courbe anormale diphasique comme si deux croissances se succédaient, ce phénomène est appelé **diauxie**.

Dans une population bactérienne, les cellules ne se divisent pas toutes en même temps et au même rythme. Ce décalage rend la croissance **asynchrone**. Une croissance **synchrone** peut être provoquée expérimentalement sous certaines conditions.

¹¹ Dépend de l'espèce cultivée et les conditions de culture.

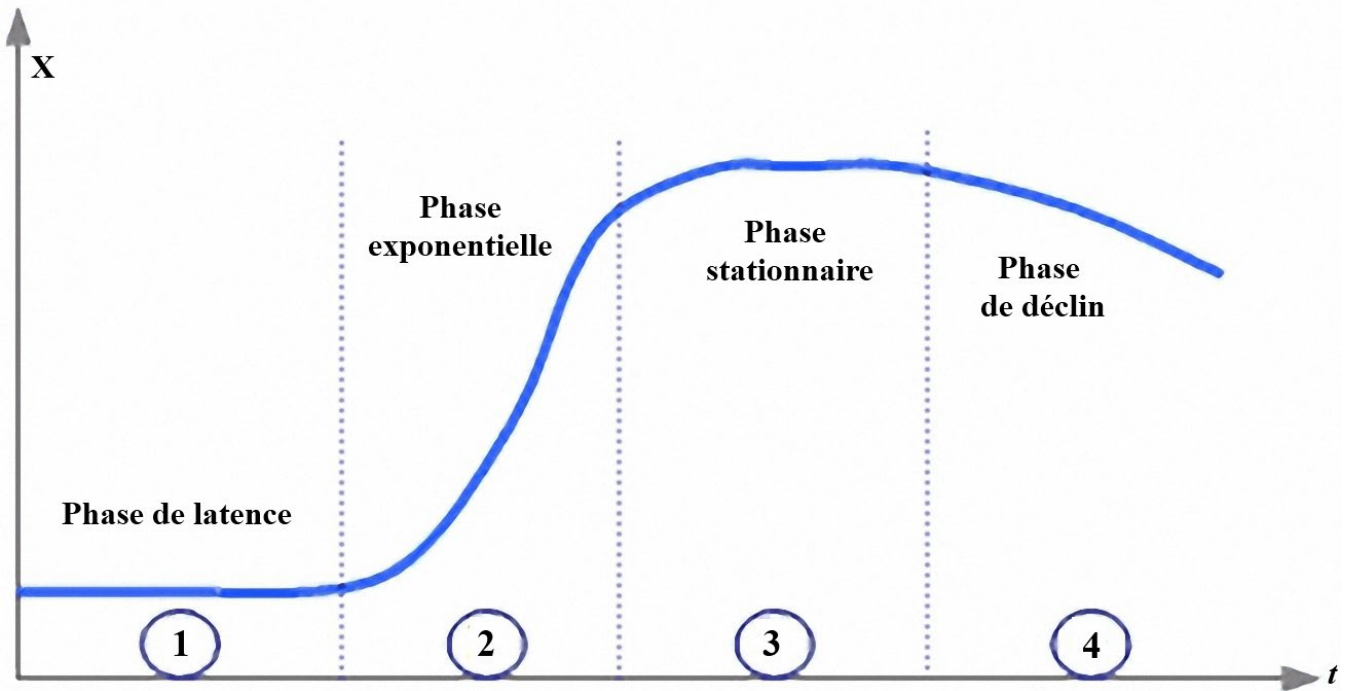


Figure 2. Courbe de croissance d'une population bactérienne (X) en fonction du temps (t), sur un milieu de culture non renouvelé.