

# Physiologie Bactérienne

## Nutrition –Métabolisme - Croissance

**Dr.A.BENSLIMANI**

**Cours de Résidanat de Microbiologie**

**1<sup>ère</sup> Année de Microbiologie et 3<sup>ème</sup> Année de Biologie Clinique 8 et 11 /11/2006**




La physiologie bactérienne consiste à étudier:

❖ La Nutrition

❖ Le Métabolisme

❖ La croissance

des bactéries en fonction des variations  
(naturelles ou contrôlées) du milieu dans lequel  
elles vivent.






# DEFINITIONS

Nutrition bactérienne : c'est l'analyse des besoins élémentaires , énergétiques et spécifiques nécessaires au fonctionnement et à la croissance de la bactérie , ainsi que des facteurs physico-chimiques susceptibles de les influencer .

Métabolisme biochimique bactérien : C'est l'ensemble des transformations chimiques ( anabolisme ou biosynthèse et catabolisme ou dégradation) qui assurent l'élaboration des constituants bactériens et leur fonctionnement .

Croissance bactérienne : C'est l'accroissement ordonné de tous les composants de la bactérie. Elle se manifeste par une augmentation numérique des cellules bactériennes et non pas une augmentation de taille comme chez les organismes supérieurs ( homme, animal, plante).





# NUTRITION BACTERIENNE



**NUTRIMENTS (substances alimentaires)**



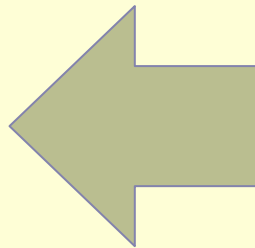
**Éléments simples (N,C,Minéraux)**

**Énergie**

**Constituants cellulaires (structure, enzymes)**

**Besoins nutritifs  
communs**

**Eau**  
**Source d'énergie**  
**Source de Carbone**  
**Source d'Azote**  
**Éléments minéraux**





# Composition Chimique de la Bactérie

- H<sub>2</sub>O : 75 à 90 % de son poids total

- Matière sèche :

50 % de Carbone

20 % d'Oxygène

8 à 15 % d'Azote

10 % d'Hydrogène


1 à 6 % de Phosphore

0,1 à 1 % de Soufre

Autres : Potassium , Calcium, Magnésium,


Chlore, Sodium, Zinc, Cobalt , Manganèse .....


: 0,3 % (traces)





# 1. Besoins élémentaires:


- L'eau
  - En grande quantité : l'oxygène, l'hydrogène, l'azote, le carbone le phosphore et le soufre,
  - En quantité plus faible: des ions minéraux (Mg, K, Cl, Fe, Co...)
  - Sous forme de traces: des oligoéléments (Cu, Zn, Mn, ...).
- 



## ➤ H<sub>2</sub>O

Besoin majeur , il entre dans la composition de tous les milieux de culture .

C'est une source d'H<sub>2</sub> et d'O<sub>2</sub>.





➤ A fournir en grandes quantités

➤ **Carbone ,**

➤ **Azote ,**

➤ **Phosphore ,**

➤ **Soufre**



## Aliments cellulaires constitutifs

Le Carbone : un des éléments les plus abondants de la bactérie  
Le plus simple des composés carbonés est le CO<sub>2</sub>

On distingue les bactéries en 2 catégories :

- capacité de développement en milieu inorganique contenant le CO<sub>2</sub> comme seule source de Carbone : Bactéries **AUTOTROPHES** (Stricte/ CO<sub>2</sub> obligatoire , Facultatif /CO<sub>2</sub> ou composé organique) ex. bactéries photosynthétiques
- Exigence en composés organiques comme source de carbone : bactéries **HETEROTROPHES** ( capacité de dégrader une panoplie de substances hydrocarbonées : Alcool , acide acétique , acide lactique (molécules simples) , polysaccharides (complexes).

L'Azote : entrent dans la composition des protéines bactériennes.

- L'azote peut être fixé par la bactérie :
  - sous forme d'azote moléculaire ex. les Rhizobium – Azotobacter et certains Clostridiums.
  - Sous forme de composés inorganiques :
    - ex. NO<sub>2</sub><sup>-</sup> par les Nitrobacter
    - Sous forme de composés organiques R-NH<sub>2</sub> dont les groupements aminés représentent la source d'azote .

Phosphore : Il entre dans la composition des acides nucléiques , de nombreux coenzymes et de l'ATP .

Il est incorporé dans la bactérie sous forme de Phosphate inorganique .

Il permet la récupération , l'accumulation et la distribution de l'énergie dans la cellule .

Soufre : Il entre dans la composition des acides aminés , des protéines ( groupement thiol ) .

Il est incorporé dans la cellule sous forme de sulfate , de composés soufrés organiques , rarement sous forme de soufre réduit.

**CARBONE**  
40 à 50 %  
pour toutes les  
molécules organiques

**AUTOTROPHE**  
absence de  
composés organiques  
ex : CO<sub>2</sub>, CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>

**HETEROTROPHE**  
présence de  
composés organiques  
ex : glucides, lipides, ...

**AZOTE**  
10 à 15 %  
pour les protéines, les  
bases "azotées"

\* N<sub>2</sub> libre  
\* NO<sub>2</sub><sup>-</sup> et NO<sub>3</sub><sup>-</sup>  
\* NH<sub>4</sub><sup>+</sup> en sels  
\* acides aminés, ...

**PHOSPHORE**  
3 %  
pour les ADN / ARN  
pour les coenzymes et l'ATP

Phosphate inorganique

**SOUFRE 0,1-1%**  
pour AA, Proteines  
(G.Thiol)

S<sub>0</sub>3 - composé soufré organique



➤ **En plus faible quantité sont apportés les éléments minéraux :**

- certains interviennent dans l'équilibre physico-chimique de la cellule : Na ,K , Mg et Cl.
- D'autres constituent les enzymes ou les coenzymes : Fer des cytochromes .

➤ **A l'état de traces , souvent apportés par l'eau :on les appelle les oligo-éléments car ils sont indispensables en quantité infime : Ce sont Ca , Mg , Co , Cu , Mn....**

**NB : De nombreux ions métalliques peuvent être toxiques pour certaines cellules ex : les sels de cuivre ,**


**Par contre, d'autres ions sont indispensables à des concentrations précises , soit pour la synthèse d'un métabolite : ex : 0.14 mg de Fer/l pour la synthèse de la toxine diphtérique ,**

**soit pour la synthèse de pigment : ex : Fer+Magnésium pour la production de Prodigiosine chez Serratia marcescens.**



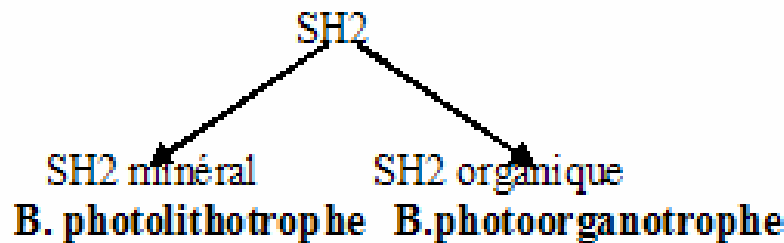
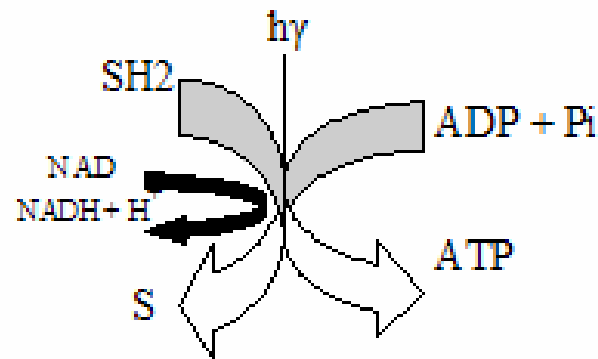


## 2. Besoins énergétiques

- Ils couvrent les dépenses engagées dans les processus catabolisme et de biosynthèse .
  - Les bactéries peuvent utiliser comme source d'énergie
    - soit l'énergie lumineuse (bactéries Phototrophes),
    - soit l'énergie fournie par les processus d'oxydo-réduction (bactéries Chimiotrophes).
- 

## Bactéries Phototrophes

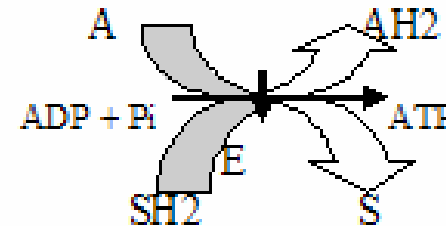
Elles utilisent un substrat oxydable minéral ou organique, comme source d'électrons.



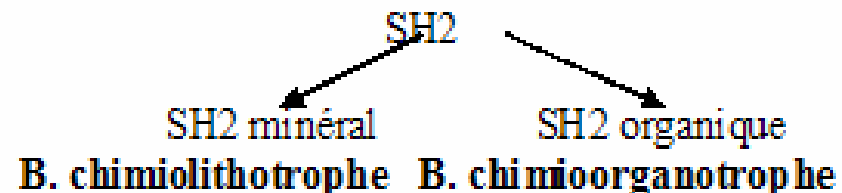
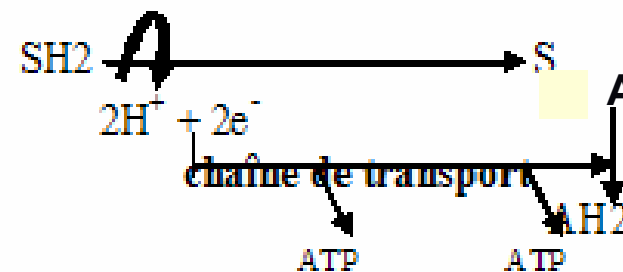
## Bactéries Chimiotrophes

Elles puisent leur énergie au niveau de réaction REDOX, couplant une réaction d'oxydation d'un substrat SH2 à une réaction de réduction. L'énergie est fabriquée au cours de ces réactions REDOX par Phosphorylation. On distingue 2 types de Phosphorylation :


- Phosphorylation au niveau du substrat :



- Phosphorylation oxydative :




- 
- Les bactéries **Phototrophes** font appel à des composés minéraux ou organiques comme sources d'électrons.
  - Si le substrat oxydable est minéral, la bactérie est dite **Photolithotrophe** : elle est capable de se développer dans un milieu purement minéral comme le font les végétaux : exemple les bactéries sulfureuses pourpres ou vertes.
  - Si le substrat oxydable est organique, la bactérie est dite **Photoorganotrophe** : exemple les bactéries pourpres non sulfureuses.
- 



Dans les réactions REDOX, les bactéries **Chimiotrophes** utilisent des composés minéraux ou organiques comme "donneurs ou "accepteurs d'électrons".

➤ Si le donneur d'électrons est un corps minéral, la bactérie est dite **Chimiolithotrophe**, ex. bactérie oxydant l'hydrogène .

➤ Si le composé est organique , la bactérie est dite **Chimioorganotrophe** ( bactéries pathogènes d'intérêt médical, de contamination alimentaire, d'usage industriel ...)





# 3. Substances spécifiques:

- Ce sont des métabolites essentiels dont certaines bactéries ont besoin et qu'elles sont incapables de synthétiser par défaut enzymatique.
  - On les appelle Facteurs de croissance.
  - Ils peuvent appartenir à la classe des Acides aminés, des bases puriques et pyrimidiques ou des vitamines.
  - Les besoins quantitatifs sont de l'ordre de 10 microgrammes pour la 1ère et la 2ème classe et de l'ordre de 1 microgramme pour la 3ème classe.
  - Les facteurs de croissance présentent des caractères communs:
    - ils sont actifs à concentration infime
    - ils sont étroitement spécifiques
- 



Les bactéries exigeant des facteurs de croissance sont appelées : Bactéries **Auxotrophes** .


Les bactéries non exigeantes sont dites : Bactéries **Prototrophes**.

Exemples :

E.Coli est une bactérie prototrophe : n'exigeant aucun facteur de croissance, elle se multiplie sur milieu minimum.

Haemophilus influenzae est une bactérie auxotrophe.

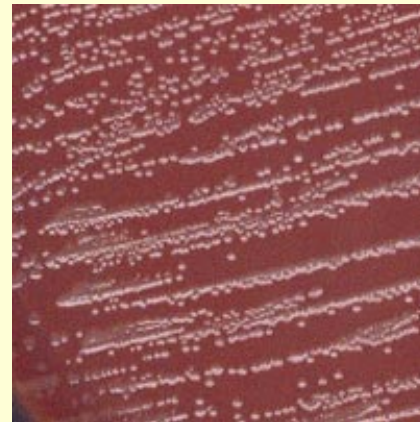
Elle ne peut cultiver dans un milieu minimum car il lui manque dans son système enzymatique les enzymes nécessaires à la synthèse du facteur V (coenzyme I et II) et du facteur X (Hémine).



**Culture  
d'Escherichia coli**



**Culture  
d'Haemophilus  
influenzae  
et  
test du satellitisme**





# **4- Facteurs influençant la croissance**

**Les facteurs physiques** : Ils interviennent de façon primordiale dans l'obtention d'une culture optimale .En effet les nutriments doivent être apportés à la bactérie dans les conditions d'environnement qui lui conviennent , sinon , ils peuvent l'inhiber.





# La Température : Selon le comportement de la bactérie vis à vis de la température , on distingue :

- les bactéries mésophiles :

T° Optimale de croissance= 20°C -40°C ( 30°C pour les mésophiles saprophytes , 37°C pour les mésophiles pathogènes ). La majorité des microorganismes de l'homme et de l'animal sont des mésophiles : Bactéries pathogènes , bactéries des cavités naturelles ou du revêtement cutané-muqueux humain ....

- Les bactéries thermophiles :


T° Optimale de croissance=45°C -65°C , généralement 55°C. Ce sont les bactéries des sources thermales .ex. Bacillus et Clostridium.

- Les bactéries psychrophiles :

T° Optimale de croissance= 0°C. T° de réfrigération mais multiplication abondante à 10°C ou 20°C. Ces bactéries contaminent souvent les produits laitiers , de même que les produits biologiques (sang ou dérivés sanguins) conservés à basse température .ex .Pseudomonas , Acinetobacter, Aeromonas.

- Les bactéries cryophiles :

T° Optimale de croissance inférieure à 0°C :Ce sont les bactéries des océans et des glaciers.





**ETUVE BACTERIOLOGIQUE**



# Le pH

Les bactéries préfèrent un pH neutre ou légèrement alcalin (7 –7.5).


Exemples : E.coli cultive entre pH 4.4 et pH8

Lactobacillus acidophilus cultive mieux à pH 6

Vibrio cholerae se multiplie au pH optimal de 9

**Solutions Tampons :** Ils sont inclus dans les milieux de culture bactériologiques afin d'éviter les brusques variations de pH dues aux modifications chimiques qui résultent de la dégradation de substrats.

Les tampons phosphates ( $K_2HPO_4$  et  $KH_2PO_4$ ) sont les plus utilisés parce qu'ils permettent de garder le pH dans une large zone autour de 7 , parce qu'ils ne sont pas toxiques et qu'ils représentent une source de phosphore.






# La Pression Osmotique

Grâce à une paroi spécifique des procaryotes ( Muréine) qui leur confère une rigidité et une résistance aux chocs , les bactéries tolèrent des variations de concentrations ioniques .

Certaines bactéries tolèrent des concentrations salines importantes ex. Enterococcus (6.5% NaCl)  
Staphylococcus aureus ( 7.5%NaCl)



# La Pression partielle d'Oxygène

1 – Bactérie aérobie stricte :  
ex : *Pseudomonas aeruginosa*

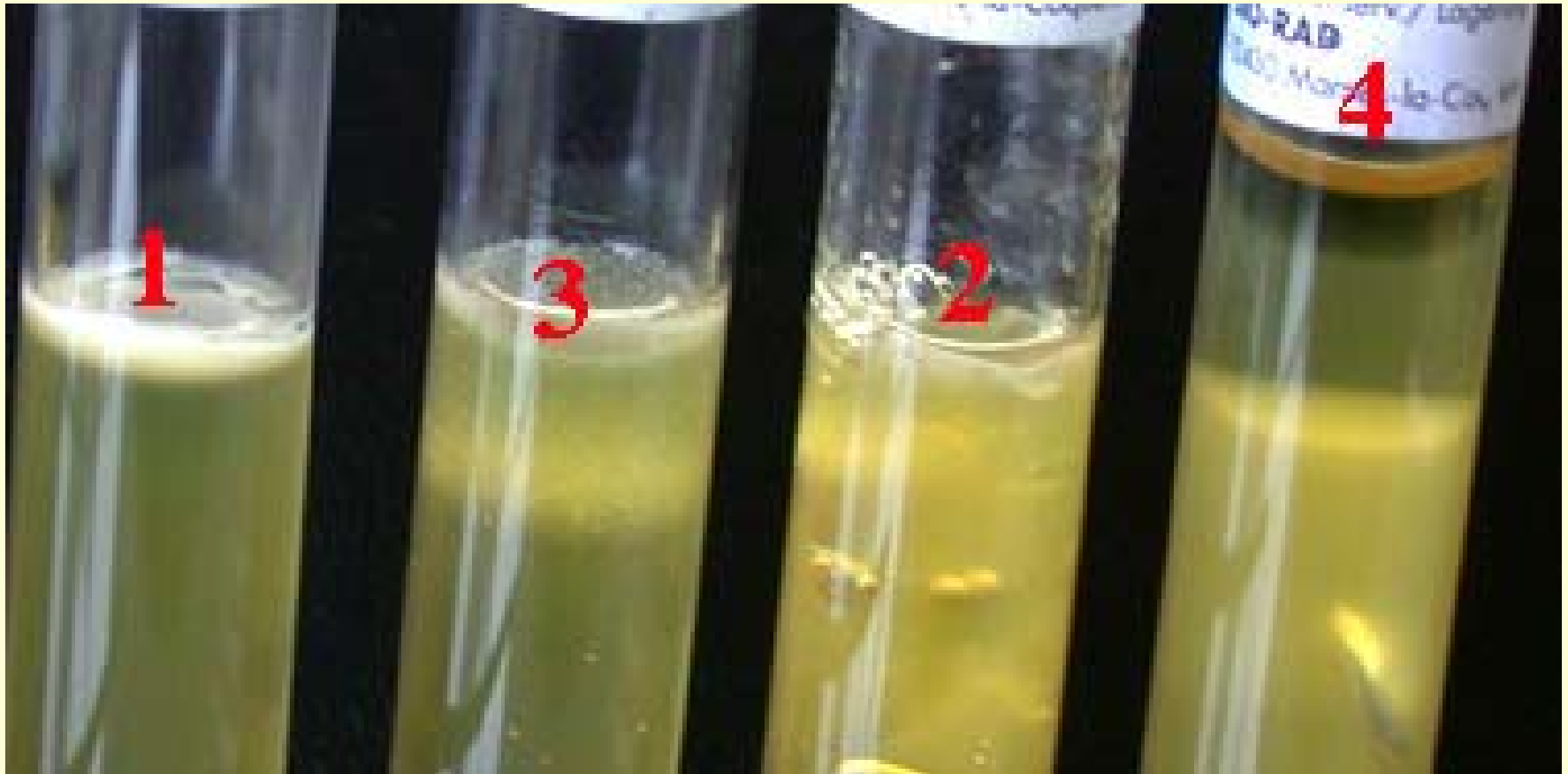
2- Bactérie Microaérophile :  
ex: *Campylobacter jejuni*

3- Bactérie aérobie-anaérobie  
facultative : ex. les Entérobactéries

4- Bactérie anaérobie stricte :  
ex. *Bacteroides fragilis*

**Gélose VF**  
**(Viande-Foie)**





**Aérobic  
Stricte**

**MicroAérophile**

**Aérobic-  
Anaérobic  
facultative**

**Anaérobic  
Stricte**



## 5- Généralités sur les Milieux de culture

Connaissant l'ensemble des besoins nutritifs de la bactérie, nous pouvons introduire la notion de culture bactérienne.

La culture bactérienne a donné un essor considérable à l'étude des bactéries puisque nous sommes passé, grâce aux milieux de culture, du simple examen microscopique à l'isolement, et de là, à l'identification des bactéries.

Pour cela, des milieux de culture ont été mis au point.





# Définition :


Le milieu de culture doit apporter à la bactérie un mélange équilibré de tous les nutriments nécessaires, à des concentrations qui permettent une croissance optimale, c'est à dire :

- ni trop faible, sinon le milieu s'appauvrit vite et la bactérie cultive mal ;
- ni trop forte sinon le milieu devient vite toxique.

La composition du milieu de culture varie à l'infini.

Elle est choisie en fonction du but à atteindre et des besoins requis par la bactérie.

Le milieu peut être liquide ou solidifié par addition d'Agar : C'est une substance extraite d'algues marines et qui possède la propriété de fixer une grande quantité d'eau d'où gélification.




# CRITERES de Classification

## Composition chimique

<b>Naturels ou Complexes</b>	<b>Semi-synthétiques</b>	<b>Synthétiques</b>
<p>-Extraits de Matière Organique + Glucose</p> <p>-<u>Exemples</u> : Gélose nutritive</p> <p>-Types :</p> <p>Extraits de Levure Peptones pepsiques Peptones tryptiques Peptones pancréatiques</p>	<p>Milieu synthétique + Extrait de Levure</p> <p><u>Exemple</u> : Citrate de Kristensen</p>	<p>Composition chimique bien définie</p> <p><u>Exemple</u> : Citrate de Simmons</p>

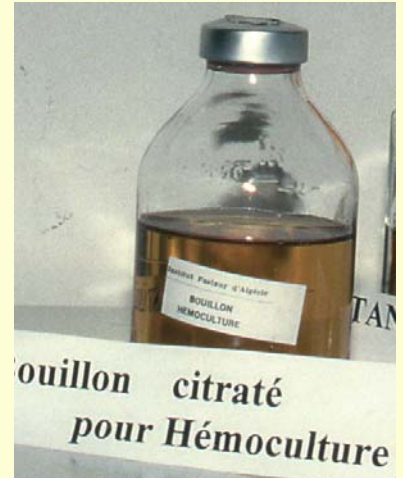


## Consistance

- milieu liquide (ex. bouillon de Clark Lubs)
  - milieu solide ou gélosé (ex. gélose Chapman)
  - milieu semi-liquide ou faiblement gélosé (ex. milieu Mannitol-mobilité).
- 

# Utilisation

- les milieux usuels ou de base (ex. gélose nutritive , bouillon nutritif)
- les milieux enrichis (ex. gélose au sang , Bouillon pour Hémoculture )
- les milieux sélectifs ou électifs (ex. gélose Hektoen)
- les milieux d'identification (ex. milieu TSI)
- les milieux de conservation
- les milieux de transport (milieu T.G.V.)





**Ensemencement**



**Incubation à l'étuve**



**Incubation sous jarre**





# **CROISSANCE BACTERIENNE**





# 1- Définition

C'est l'accroissement ordonné de tous les composants d'un organisme.

Chez les bactéries (organismes unicellulaires), elle aboutit à une augmentation du nombre d'individus .

Il y a multiplication d'une bactérie, donnant naissance par scissiparité , à 2 nouvelles bactéries identiques .


On définit le Temps de génération comme le temps requis pour un dédoublement du nombre de bactéries.

ex. E.coli :TG= 20mn      M.tuberculosis : TG= 20 h

On définit le Taux de croissance comme le nombre de divisions par unité de temps (ex. 3 pour E.coli).

Au cours de la croissance, le milieu s'appauvrit en éléments nutritifs disponibles et s'enrichit en produits du catabolisme, souvent toxiques .

Des modifications touchent le pH, le potentiel Redox , la pression osmotique ...






## **2- Techniques de mesure de la croissance bactérienne :**

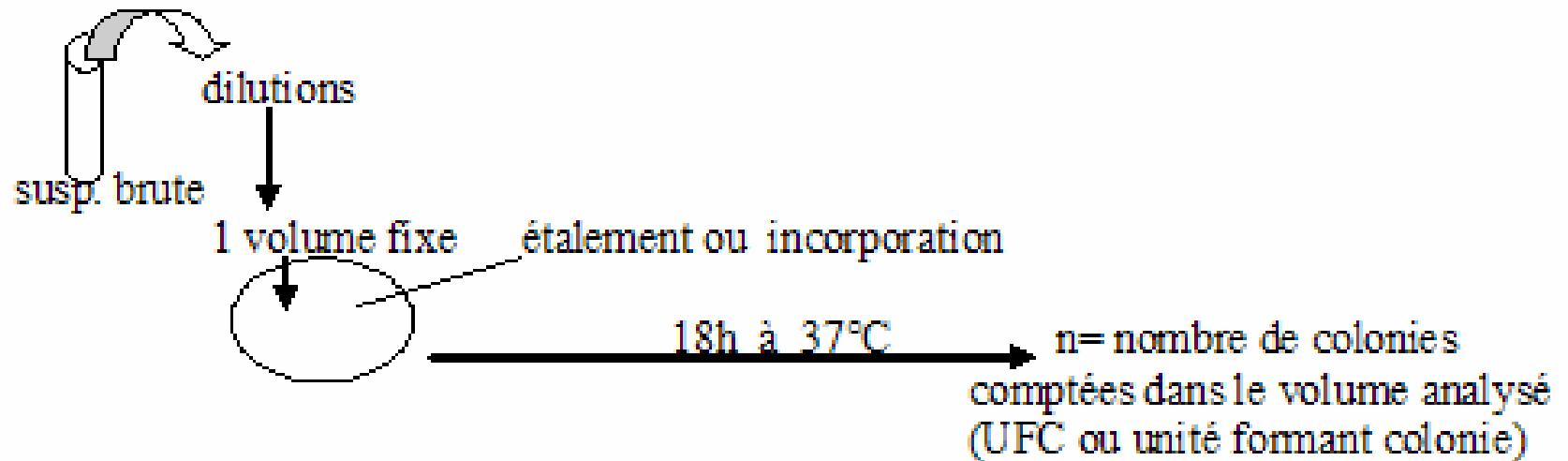
### **a- Dénombrement direct des bactéries :**

#### **a-1- Numération totale :**

- Examen au microscope à l'aide d'une cellule hématimétrique
  - Mesure automatisée avec un compteur de particules , des bactéries en suspension dans une solution d'électrolyte
  - Méthode d'épifluorescence ( Acridine Orange)
- 

## a-2- Numération des cellules viables :

Les bactéries cultivables forment des colonies sur un milieu de culture approprié : on utilise la culture en boîtes de Pétri ou Plate Count.

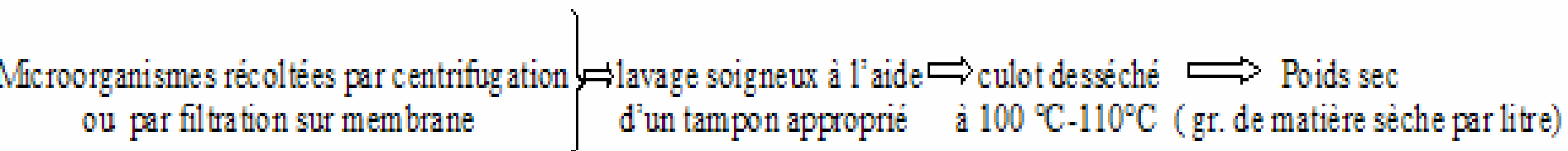


### Inconvénient :

- Plusieurs cellules agglomérées peuvent ne donner qu'une seule colonie.
- De nombreuses cellules isolées ne forment pas nécessairement de colonie.

## b- Mesure de la biomasse :

### b-1- détermination du poids sec :




Inconvénient : toute la masse cellulaire est mesurée . De plus ,  
c'est une technique longue et délicate.



## **b-2- Mesure de la Densité optique (DO) :**


**On évalue la DO du milieu de croissance en fonction du temps , à une longueur d'onde donnée . La mesure de la D.O. se fait à une longueur d'onde allant de 450 à 550nm et les cultures bactériennes sont diluées de façon à obtenir des D.O. inférieures à 0,4 ( les DO évoluent linéairement à la concentration cellulaire).**





### **b-3- Technique de la Cytométrie en flux :**

**Elle consiste à mesurer un ou plusieurs paramètres spécifiques d'une cellule isolée , entraînée par un flux liquide . Cette technique est couramment appliquée en hématologie . Elle est encore en cours d'évaluation en microbiologie.**





## **c- Marqueurs chimiques :**

**Il s'agit de dosage des protéines , DNA , ATP,  
peptidoglycane ..**





# **3- Cinétique de la croissance bactérienne :**

L'étude de la croissance bactérienne dans le temps ou cinétique de la croissance peut être représenté sur un graphique en portant:

- en ordonnée, les valeurs des log de la D.O du milieu de culture;
- en abscisse, le temps.

L'utilisation des log de base 2 facilite cette représentation:  
La courbe de croissance obtenue montre alors 6 phases:





**Phase A**: Phase de latence

**Phase B** : Phase d'accélération

**Phase C**: Phase de croissance exponentielle : Le taux de croissance atteint la valeur maximale .

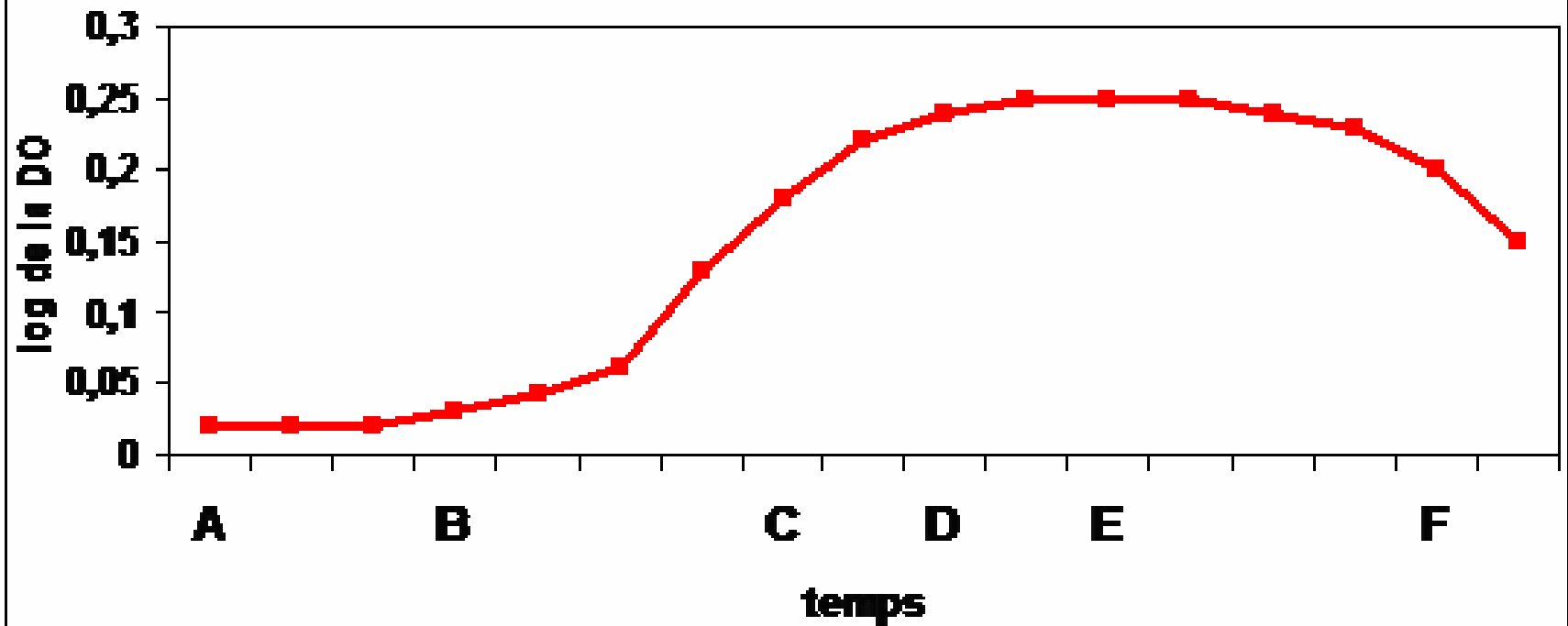
**Phase D**: Phase de ralentissement

**Phase E**: Phase stationnaire: La masse bactérienne est maximale .

**Phase F**: Phase de déclin: La masse bactérienne décroît du fait de la lyse accélérée des bactéries.



## Courbe de croissance bactérienne (milieu de culture non renouvelé)





# 4- modifications de la courbe de croissance :

## a- Croissance continue :

utilisées dans l'industrie pour obtenir des corps bactériens de même âge (préparation de vaccins bactériens), ou des métabolites bactériens (vitamines) ,des toxines bactériennes (préparation d'anatoxines) en grande quantité.

b- La diauxie : on fournit à la bactérie 2 sources de carbone et d'énergie.








# **METABOLISME BIOCHIMIQUE BACTERIEN**





# 1- Définition :

- Il est défini comme l'ensemble des transformations chimiques (réactions de biosynthèse et de dégradation), qui assurent l'élaboration des constituants bactériens et leur fonctionnement.
  - Grâce à un équipement enzymatique très complet, toutes les réactions chimiques du métabolisme bactérien sont catalysées par des enzymes spécifiques.
  - L'étude du métabolisme bactérien permet de définir des caractères d'identification biochimique qui représentent des critères essentiels dans la classification (ou Taxonomie) bactérienne.
- 

**ALIMENTS**

*Réactions cataboliques*

**MOLECULES SIMPLES**

**METABOLITES  
INTERMEDIAIRES**

**ATP**


**DECHETS**

*Réactions anaboliques*

**COMPOSANTS  
CELLULAIRES**


**MOBILITE**


**TRANSPORTS (perméases)**



Les réactions cataboliques permettent à la bactérie de convertir les aliments mis à sa disposition ( Protéines , Lipides , Polysaccharides) en molécules organiques simples ou en métabolites intermédiaires , avec production d'énergie sous forme de liaison phosphate  $ADP \sim Pi$  .

Les liaisons anaboliques sont les voies de biosynthèse que la bactérie emprunte à partir de ces molécules simples pour synthétiser des macromolécules intervenant dans la structure et le fonctionnement bactérien . L'énergie utilisée dans ces biosynthèses provient du catabolisme .





## 2- Métabolisme énergétique :

### 2-1- Généralités

- La bactérie produit de l'énergie au cours du catabolisme par le biais de réactions **EXERGONIQUES** .


Pour éviter toute perte sous forme de chaleur , ces réactions exergoniques (productrices d'énergie) sont couplées à des réactions dites **ENDERGONIQUES** (absorbent l'énergie).

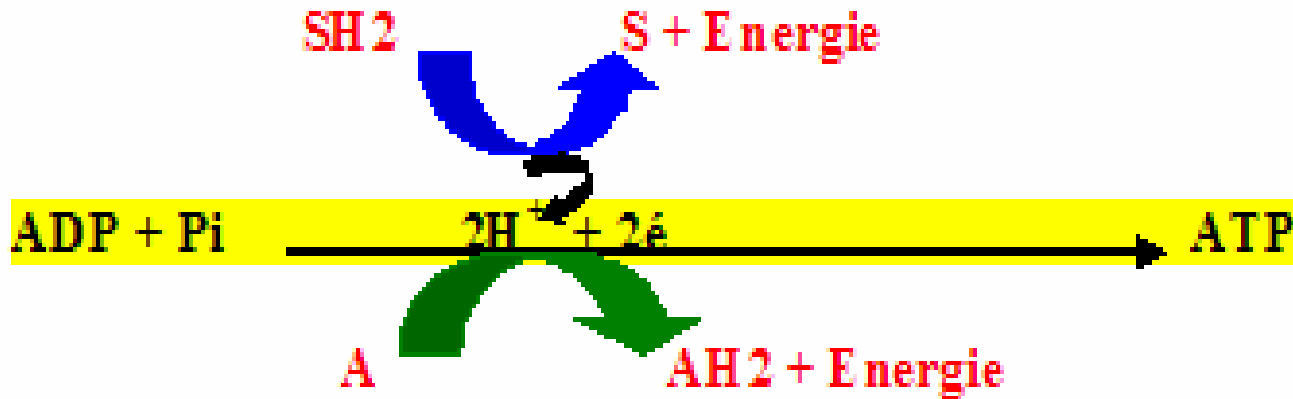
L'énergie est ainsi emmagasinée dans des molécules d'ATP ou immédiatement consommée dans une réaction qui nécessite de l'ATP..

- Chez les bactéries d'intérêt médical , les réactions exergoniques sont **des réactions d'oxydoréduction d'un composé organique**.

A partir d'un substrat  $SH_2$  , la réaction d'oxydation ou DESHYDROGENATION fait perdre 2 électrons et 2 protons au substrat qui est oxydé.

Ne pouvant rester libres , ces derniers sont éjectés puis captés par un accepteur d'électrons A qui est ainsi réduit en  $AH_2$  .






## La réaction REDOX

Le métabolisme énergétique d'une bactérie chimioorganotrophe est constitué d'une suite de réactions REDOX avec libération d'énergie, partant d'un substrat organique.

Le composé organique peut être :

- un hydrate de carbone (surtout le glucose) source la plus importante d'énergie
- un acide aminé
- un acide gras
- un alcane
- une base purique ou pyrimidique



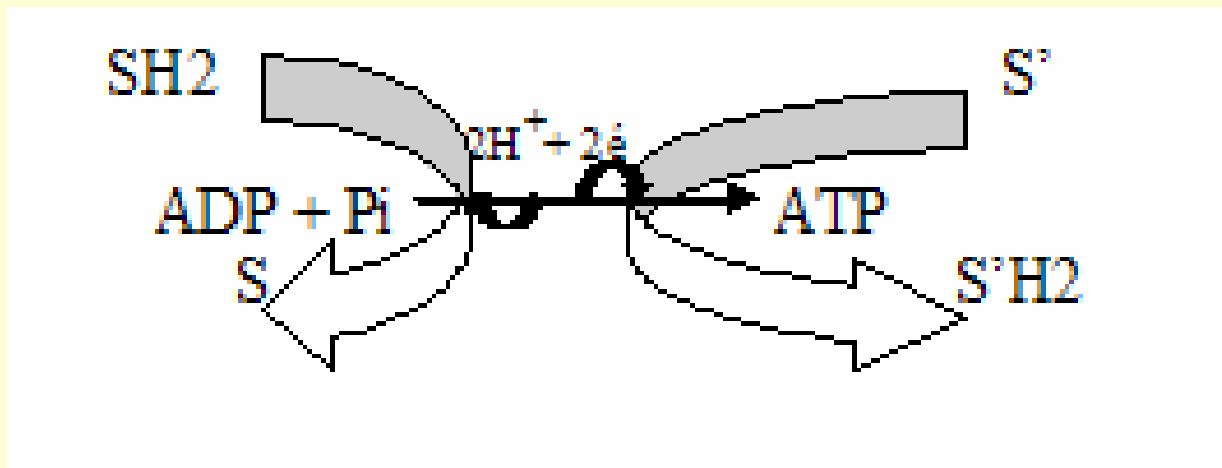
**Les réactions redox productrices  
d'énergie sont intégrées dans 2  
types de processus énergétiques :**

**La Fermentation et la Respiration**

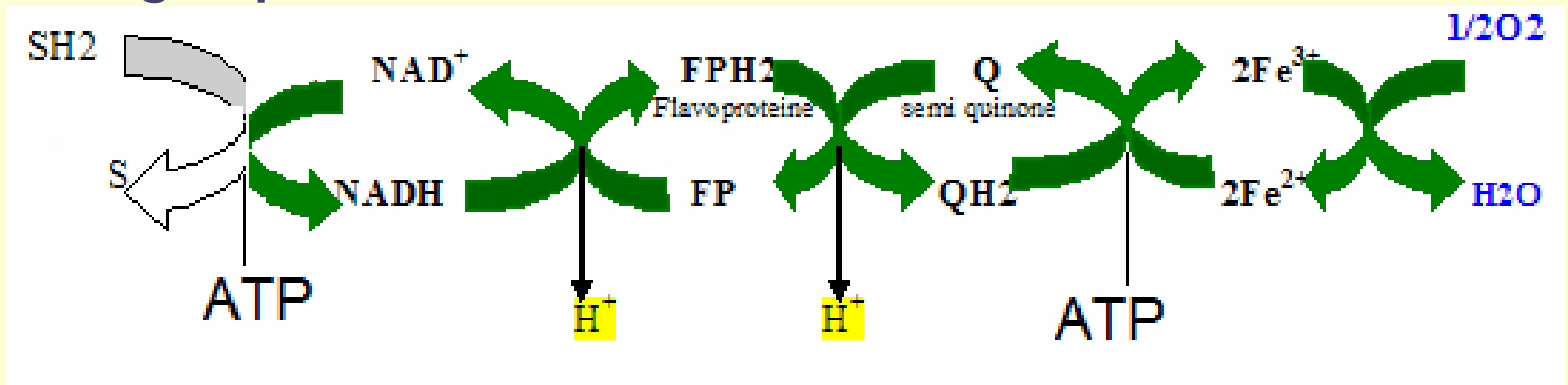


La fermentation a été définie par Pasteur comme la  
« vie sans air » .

C'est une oxydation biologique au cours de laquelle l'accepteur final d' $H_2$  et d' $e^-$  est un composé organique. Ce composé peut être présent dans le milieu ou provenir de la dégradation d'un substrat oxydable . Les voies fermentaires se déroulent au sein du cytoplasme bactérien. L'énergie est produite par Phosphorylation au niveau du substrat. Le bilan énergétique est réduit.




La Respiration est l'ensemble des voies métaboliques au cours desquelles l'oxygène moléculaire ou des composés oxygénés inorganiques ou ioniques jouent le rôle d'accepteur d'électrons et d' $H_2$  dans les réactions redox. Ces voies sont liées à la membrane cytoplasmique de la bactérie. L'énergie est produite par phosphorylation dite oxydative et libérée par paliers via une chaîne de transfert d'électrons ; Le bilan énergétique est élevé.



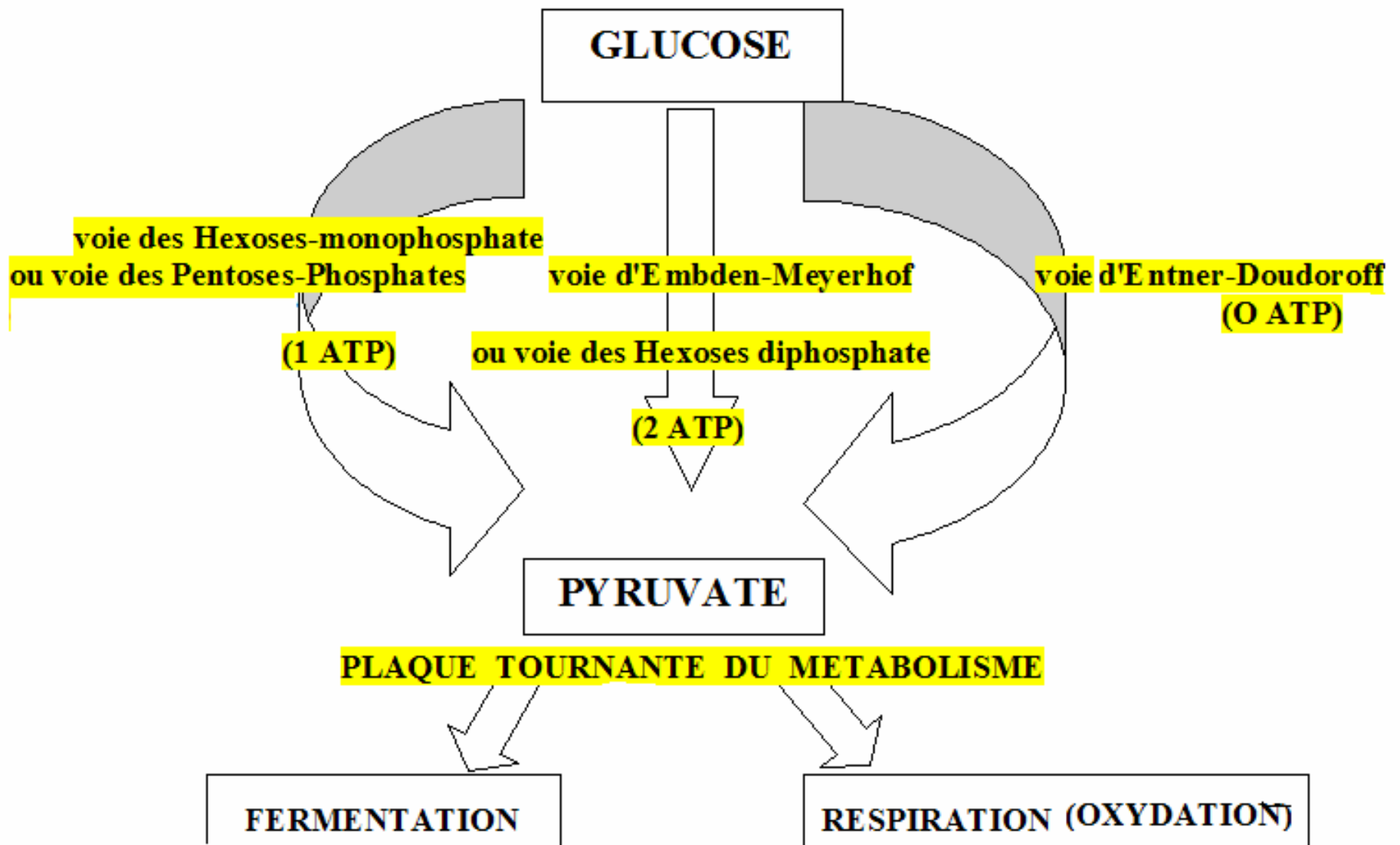


## 2-2- Voies du Métabolisme intermédiaire

On distingue 3 principales voies enzymatiques , à localisation cytoplasmique , qui oxydent le glucose en acide pyruvique , véritable plaque tournante du métabolisme et situé au carrefour du métabolisme intermédiaire :

- La voie d'embden-Meyerhof ou voie des Hexoses-Diphosphates , voie comparable à la voie de la glycolyse des êtres supérieurs .Elle aboutit à la production de 2 moles d'ATP par mole de glucose.
  - La voie des Hexoses-Monophosphates ou voie des Pentoses-Phosphates ou Shunt oxydatif ou cycle de Dickens-Horecker .Elle produit 1 mole d'ATP par mole de glucose.
  - La voie du 2-céto-3-déoxy-gluconate ou voie d'Entner-Doudoroff est assez propre aux microorganismes . Elle ne produit pas d'ATP.
- 

## Exemple du métabolisme du Glucose





## 2-3- La respiration :

Le Pyruvate est le point d'aboutissement obligé de toutes les voies de dégradation du Glucose et des voies d'oxydation de nombreux acides aminés. Il est transformé en Acetyl~CoA par décarboxylation oxydative.






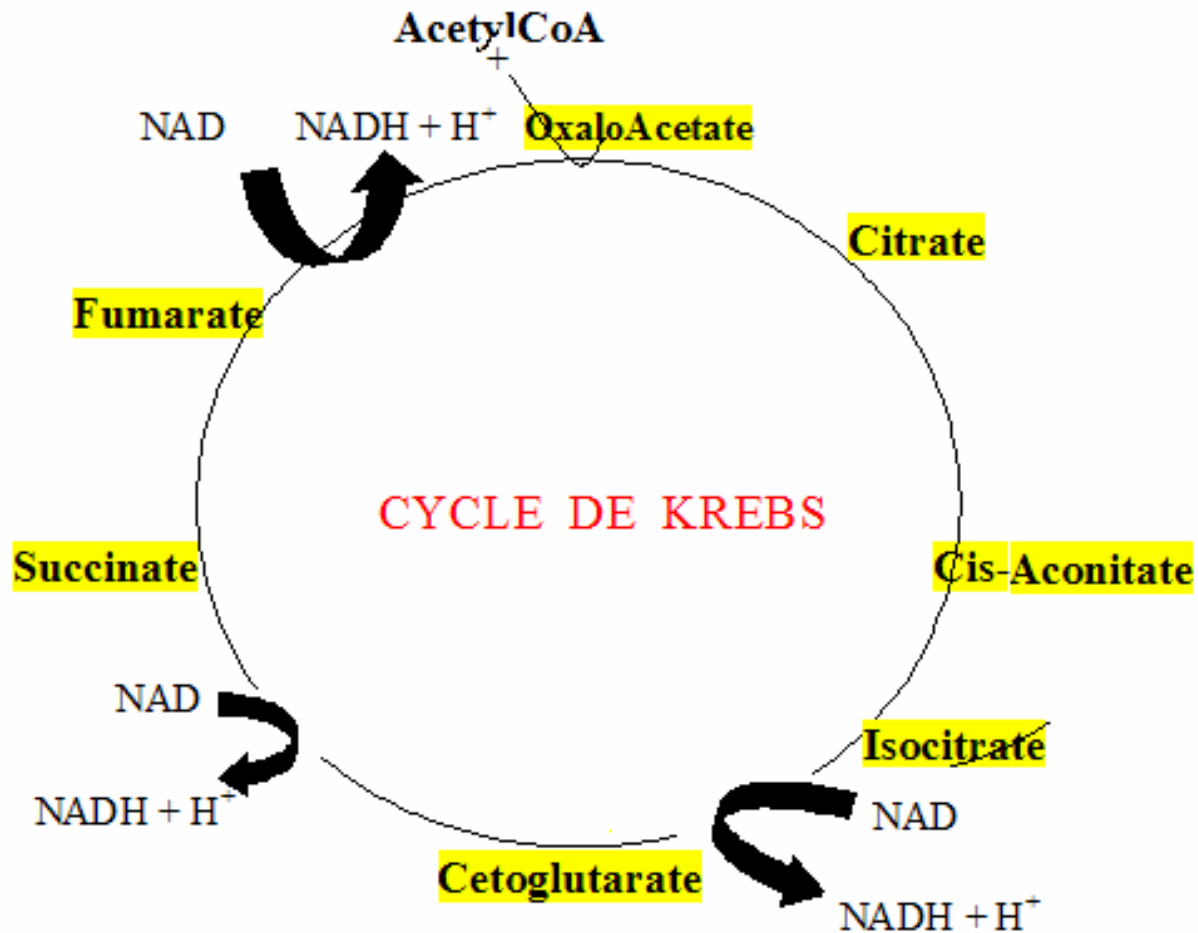
## 2-3-1- Le cycle de Krebs :

L'Acetyl~CoA réagit avec l'acide oxaloacétique pour former de l'acide citrique .

Il s'en suit une succession de réactions d'oxydation et de décarboxylation , avec réductions de NAD en NADH<sub>2</sub> couplées aux réactions d'oxydation .Du point de vue énergétique , chaque tour de cycle de Krebs génère 4 réactions de déshydrogénation donc un bilan énergétique de 12 ATP.

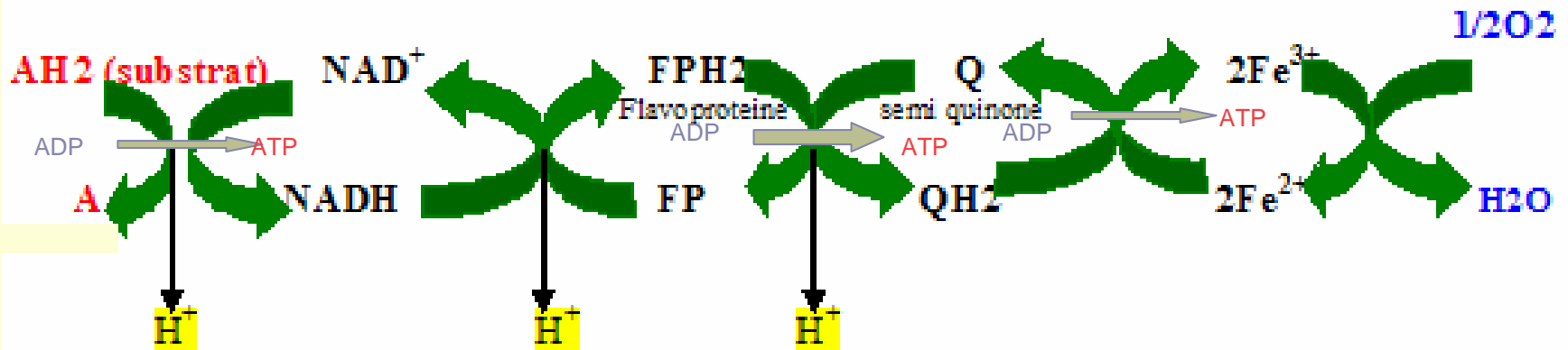


# PYRUVATE




## 2-3-2- La chaîne respiratoire :

C'est la chaîne cytochromique de transfert des électrons , à laquelle sont associés des phosphorylations oxydatives . Ses composants sont disposés de façon séquentielle en fonction de leur potentiel redox. Le mouvement des électrons ou des protons le long de la chaîne s'effectue graduellement à partir des constituants les plus électronégatifs pour aller vers le constituant le plus électropositif ( $O_2$ ). Ces composants sont des enzymes associés à des groupements prosthétiques et qui agissent comme transporteurs d'électrons.



**FP peut être FMN ou FAD**



\* **NAD : Nicotinamide Adénine Dinucléotide ou Coenzyme I :**  
Coenzyme fonctionnant comme transporteur d'hydrogène dans de nombreuses réactions redox. La molécule d'H<sub>2</sub> est portée sur le résidu Nicotinamide.

Forme oxydée : NAD<sup>+</sup>

Forme réduite : NADH + H<sup>+</sup>

(N.B. NADP = Coenzyme II)

\* **FP :** Ce sont des protéines de haut poids moléculaire contenant des flavines comme groupement prosthétique . Appartiennent aux FP la Flavine mononucléotide (FMN) et Flavine Adénine dinucléotide (FAD). Ces flavoprotéines ont pour fonction d'accepter l'H<sub>2</sub> qui provient du NADH.

\* **Ubiquinone ou Coenzyme Q :** transporteur d'hydrogène , non lié à une protéine.





\* Cytochromes : Systèmes redox qui transfèrent des électrons et ne sont pas capables de transporter de l'hydrogène.


Ce sont des protéines dont le groupement prosthétique est une protoporphirine portant un atome de fer central qui participe au transport électronique. Cette protoporphirine s'appelle **Hème** quand le fer est à l'état  $Fe^{++}$  (ferreux) et **Hémine** lorsque le fer est à l'état  $Fe^{+++}$  (oxydé ou ferrique).

De nombreux cytochromes ont été décrits chez les bactéries : a , a<sub>3</sub> , b, c , o.

**Le cytochrome terminal qui joue le rôle d'accepteur final d'électron est appelé Cytochrome Oxydase.**

Au cours de la respiration , il y a dégagement important d'énergie puisqu'il y a oxydation du substrat jusqu'au stade  $H_2O + CO_2$  .

De ce fait , l'énergie , trop importante pour être libérée d'un seul coup, est libérée par palier au cours d'une succession de réactions redox allant de la réduction du NAD puis d'une flavoprotéine et d'une ubiquinone avec transfert d'électrons et de protons jusqu'à l'accepteur final , les électrons étant transférés seuls par les cytochromes .




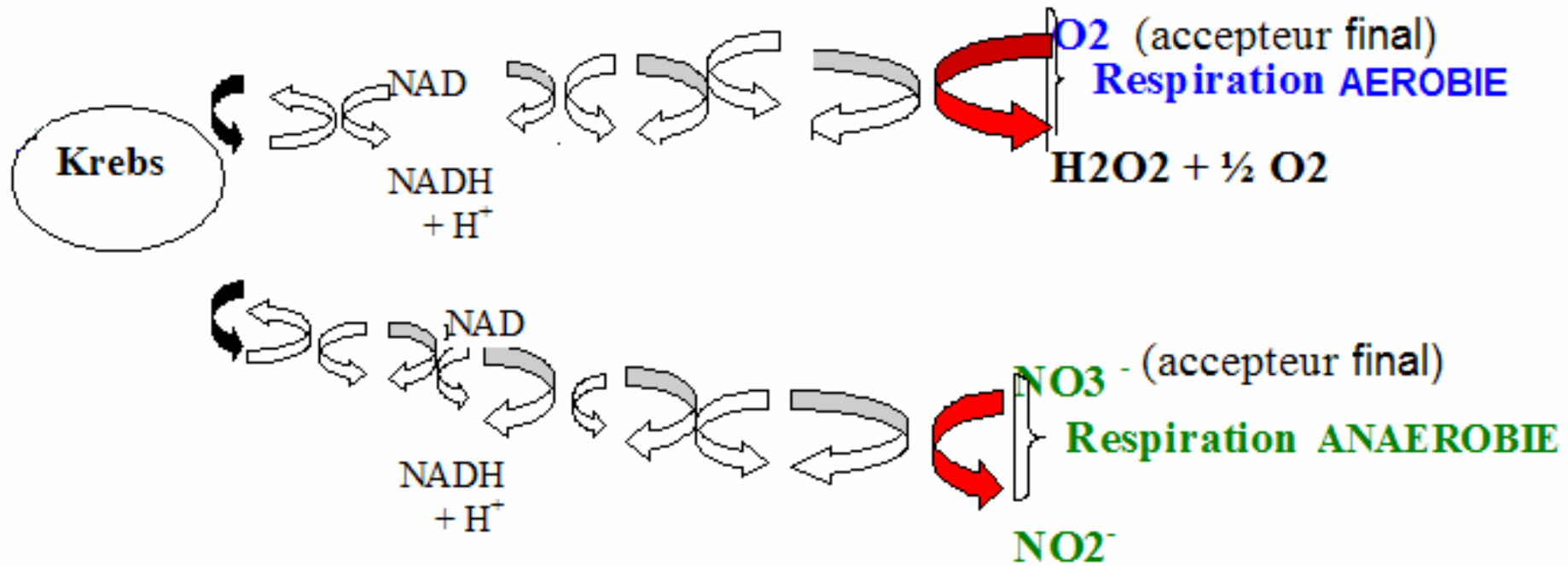


La respiration se fait donc en 2 étapes :

- 1) Le cycle tricarboxylique de Krebs , avec libération de CO<sub>2</sub> par oxydation couplée à la réduction de 3 NAD<sup>+</sup> et de 1 FAD<sup>+</sup> par tour de cycle .
- 2) La chaîne respiratoire avec coenzymes de déshydrogénases , Quinones et Cytochromes .

Selon l'accepteur final d'électrons et d'H<sub>2</sub> , on peut distinguer :

- 1) Dans la respiration aérobie , l'accepteur final est l'O<sub>2</sub>
  - 2) Dans la respiration anaérobie , l'accepteur final est un composé inorganique ou ionique (NO<sub>3</sub>-fumarate)
- 




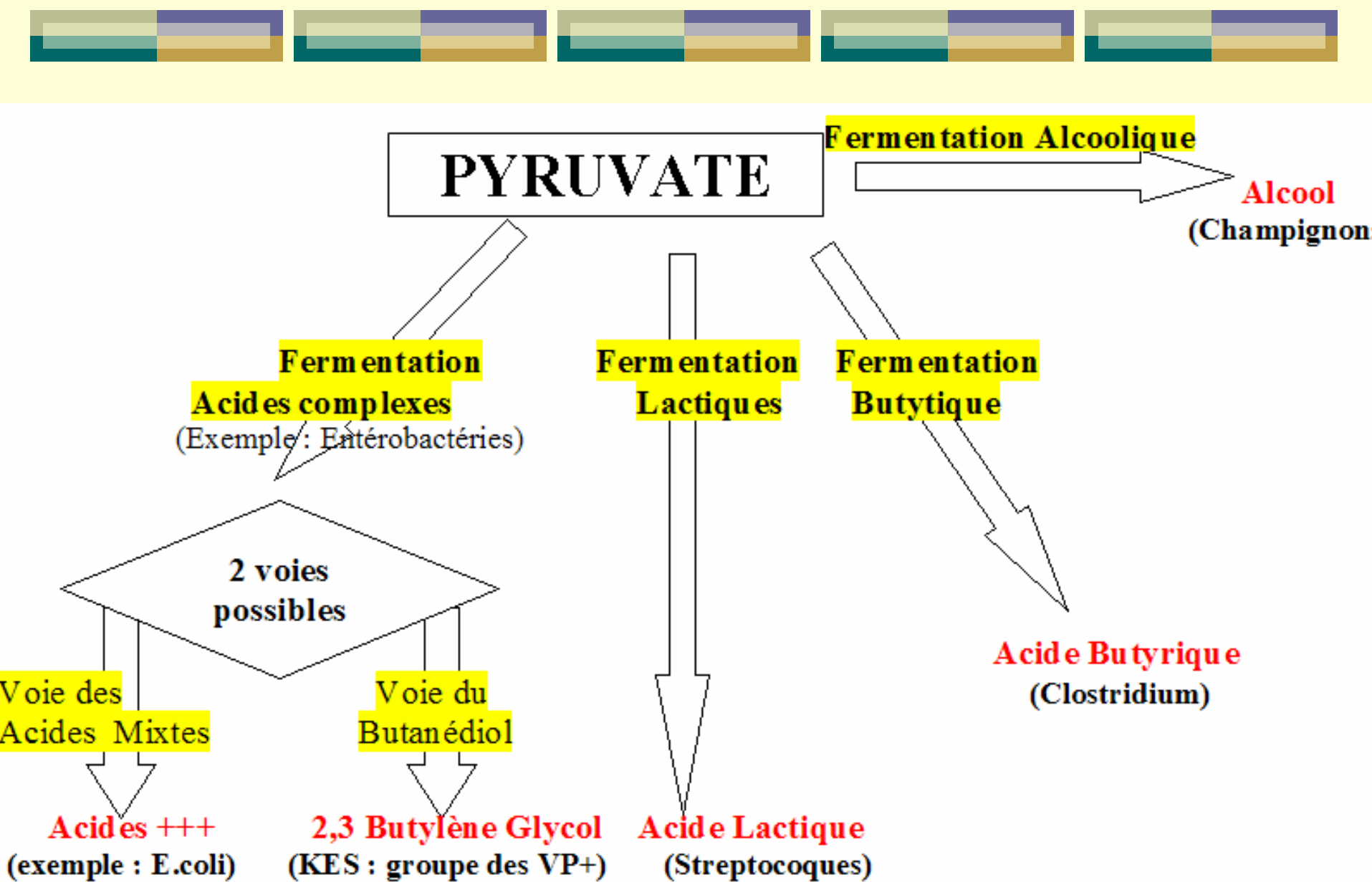


## 2-4- Fermentation du Glucose :

La première étape comporte les différentes voies du métabolisme intermédiaire qui aboutissent au Pyruvate .

Puis viennent les réactions de réduction du Pyruvate qui différencient les bactéries fermentaires car elles conduisent à des produits finaux divers , soit uniques , soit plus souvent mélangées . On distingue , selon la nature des produits finaux de fermentation :




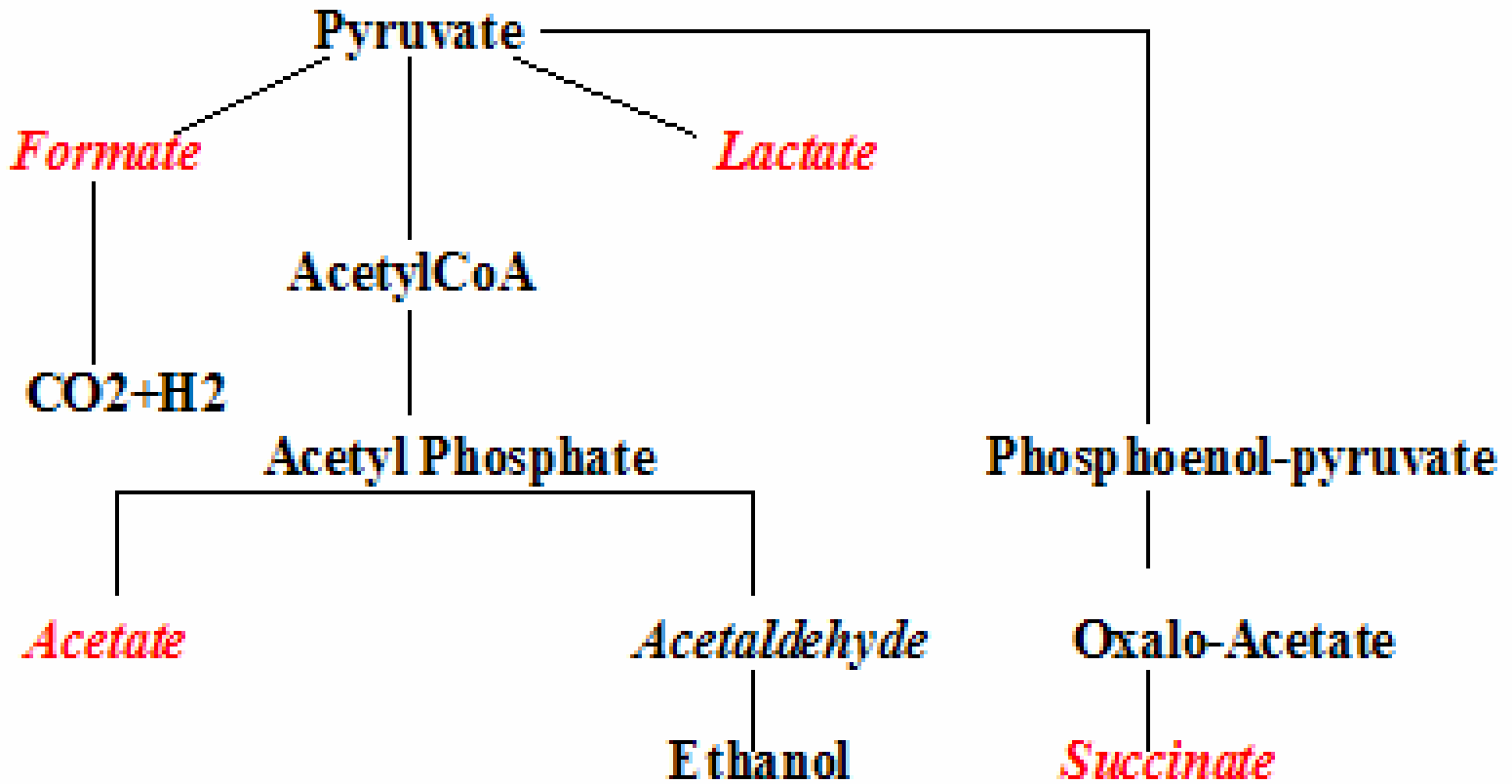




# \* la fermentation Acides complexes

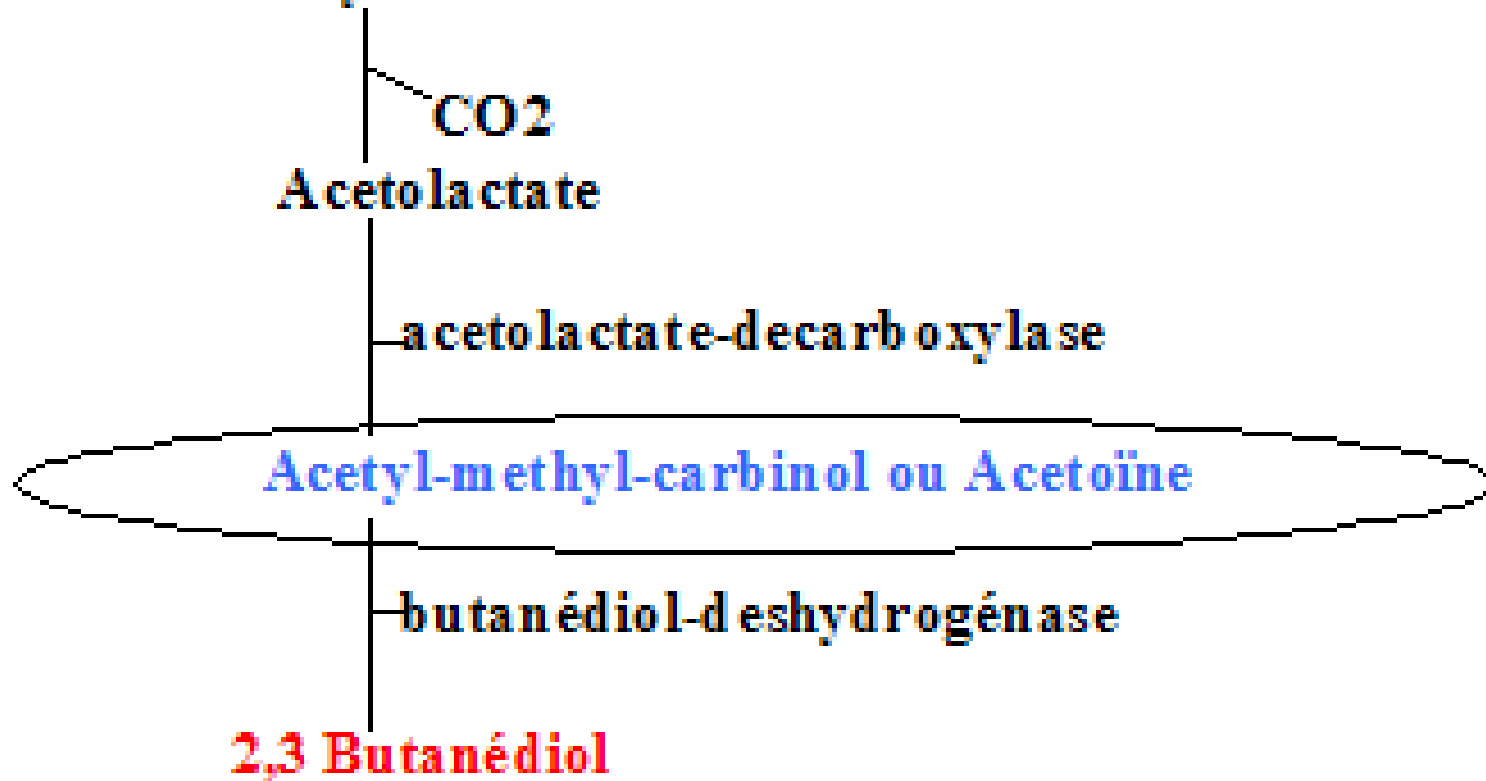
C'est le type de fermentation le plus répandu chez les bactéries.  
Elle peut se présenter sous 2 formes possibles:

- fermentation Acide Mixte : caractéristique des Enterobactéries VP(-)
  - fermentation butanédiolique : Les Enterobacteries VP+ , Listeria monocytogenes, la plupart des Vibrio et Aeromonas
- 



L'accumulation d'Acides dans le milieu de culture aboutit à un PH final bas.

**2 molécules de Pyruvate**




Les Enterobacteries VP+ , *Listeria monocytogenes*, la plupart des *Vibrio* et *Aeromonas* possèdent , à côté du mode de fermentation Acides Mixtes, une voie fermentaire particulière, dite Butanédiolique ou Butylène glycolique. Cette voie aboutit à la libération d'un produit neutre: Le ***2,3 Butylène Glycol***.



# Fermentation lactique :

On distingue 3 modèles:

- - Fermentation Homolactique : retrouvée chez les Streptocoques : C'est une fermentation sans production de gaz et s'accompagnant d'une diminution importante du PH du milieu.
  - - Fermentation Hétérolactique: retrouvée chez les Lactobacilles, Comprend une production importante de CO<sub>2</sub> et un PH bas.
  - - Fermentation Aceto-lactique: retrouvée chez des bactéries du genre Bifidobacterium , s'accompagne de la production d'un mélange d'acide lactique et acétique.
- 



## \* Fermentation Alcoolique:


C'est une fermentation retrouvée chez les champignons et les cellules végétales.






## \* Fermentation Butyrique :

Elle aboutit à l'Acetate , le Butyrate, H<sub>2</sub> et CO<sub>2</sub> et qui est retrouvée chez les Clostridies dits Saccharolytiques






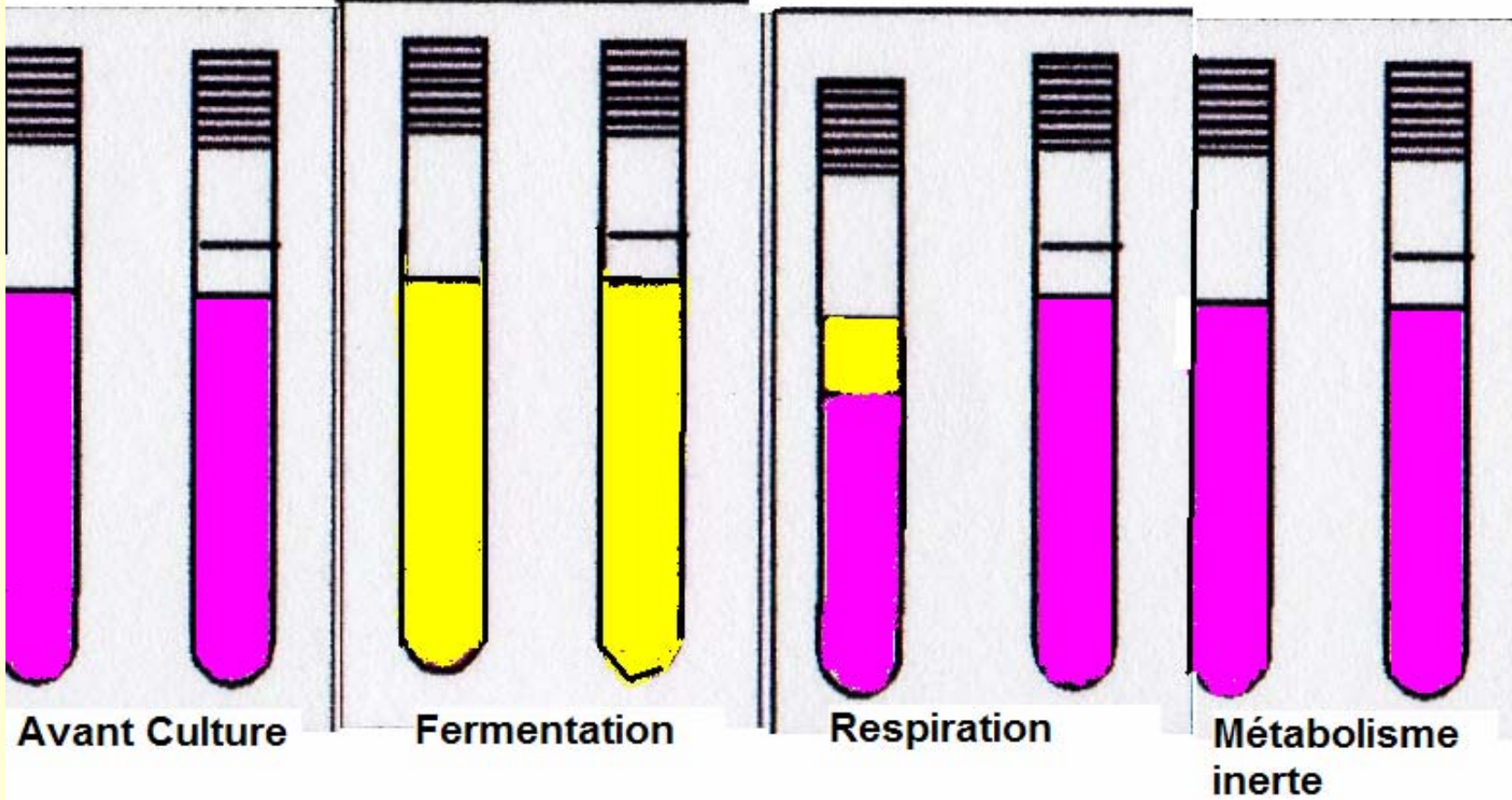
## 2-5- Tests d'exploration du métabolisme énergétique :

### **2-5-1- Épreuve de HUGH et LEIFSON :**

**Milieu d'Etude de la Voie d'Attaque des Glucides (M.E.V.A.G) :**  
Géloses molles , faiblement peptonée , additionnées de glucose à 1% , coulées en culot , fondues au moment de l'emploi .L'ensemencement se fait par piqûre centrale de 2 tubes de milieu , à partir d'une suspension riche du germe à étudier. Un tube est laissé ouvert « O » , l'autre est fermé par une couche de vaseline « F ».



# MEVAG

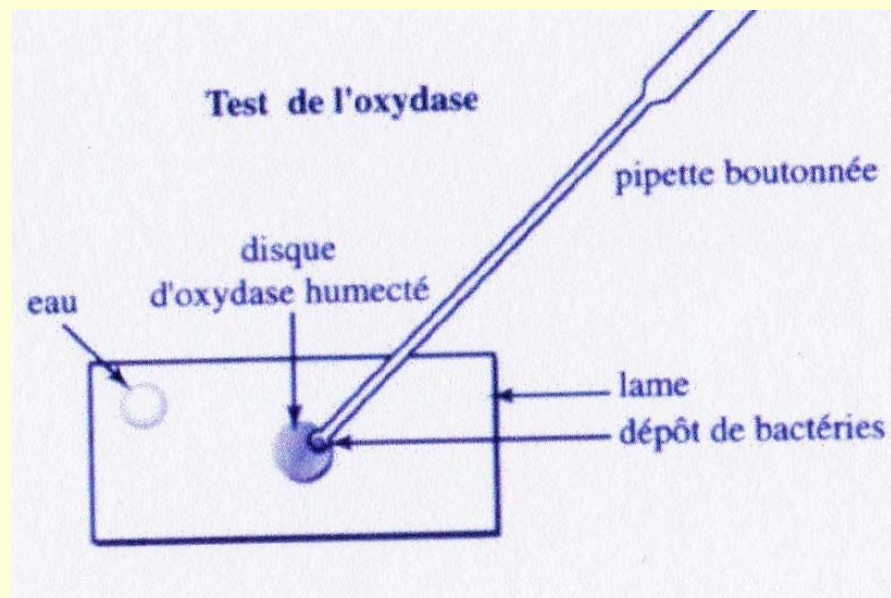


## 2-5-2- Test dit de l'Oxydase :

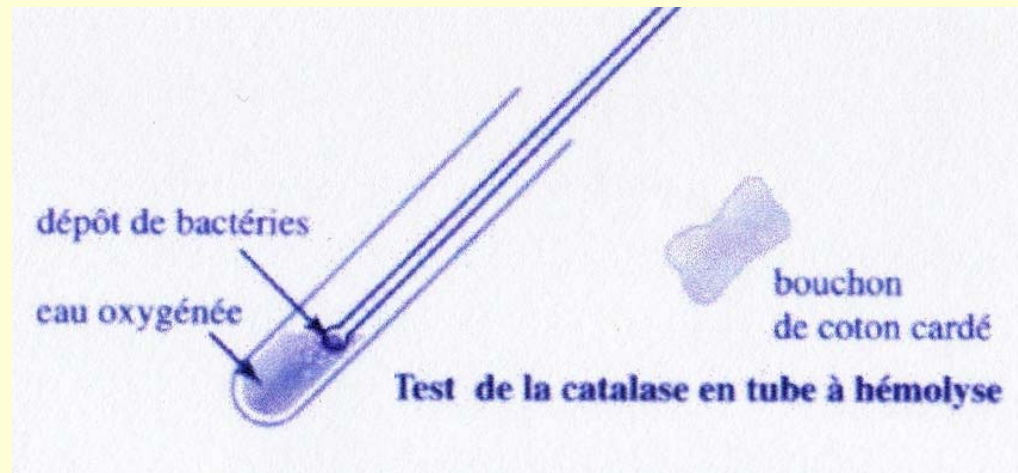
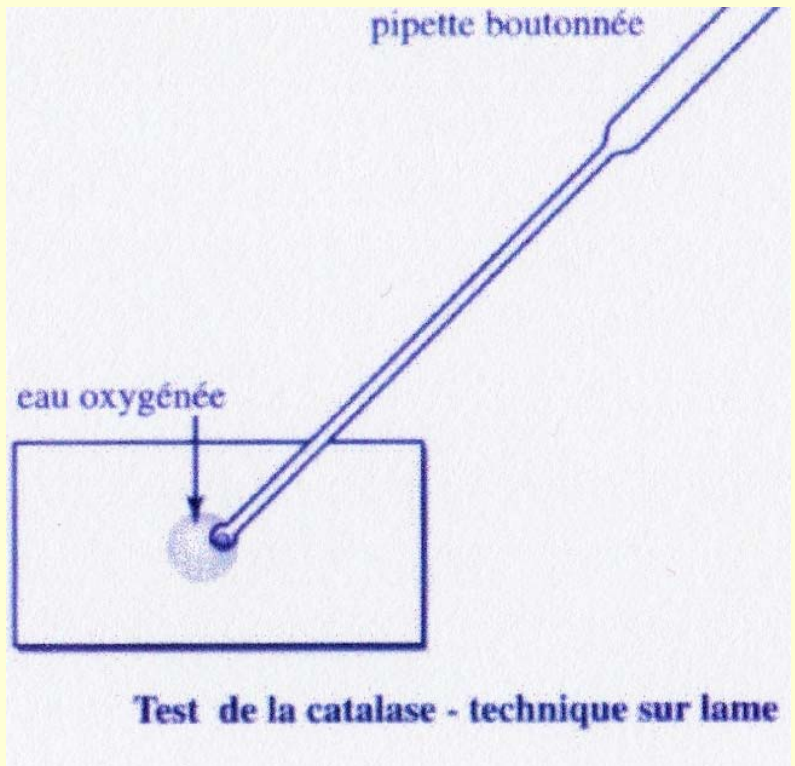
Cyt aa3 + Cyt c ont la propriété d'oxyder le dimethyl ou le tetramethylparaphénylène diamine en une demi-quinone rouge.



Attention : - ne pas utiliser d'anse bactériologique métallique pour faire le test  
- ne pas faire le test à partir d'une pente de TSI ou KIA



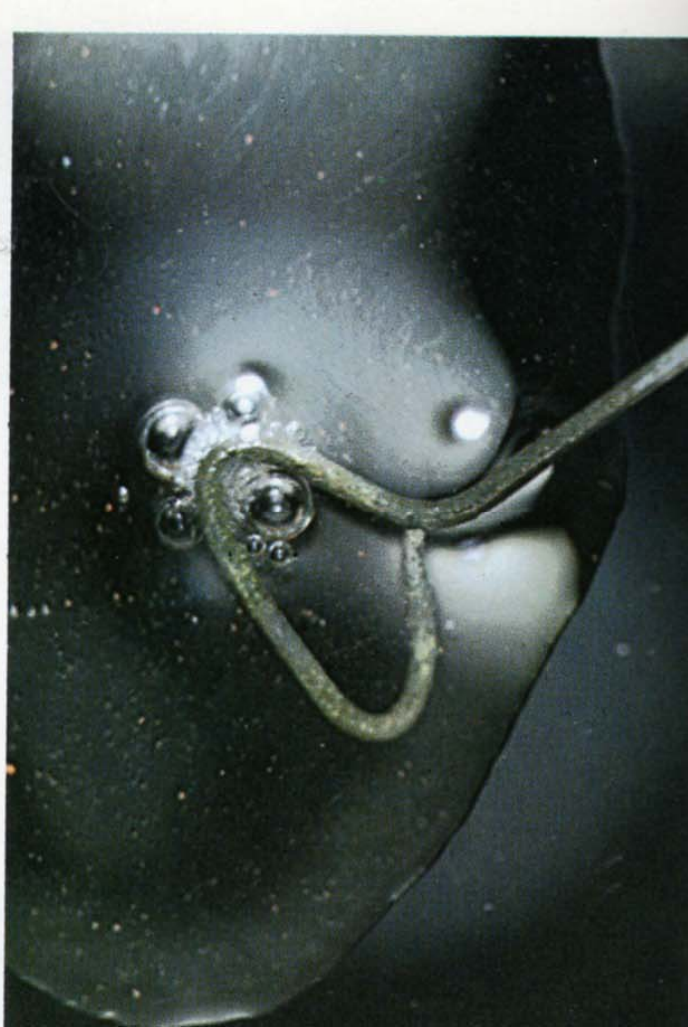
**2-5-3- Recherche de la catalase** : on met en présence une colonie microbienne et une goutte d'eau oxygéné sur une lame . L'apparition de bulles d'air signe la présence d'une catalase . Attention : ne pas prélever la culture à partir d'une gélose au sang.



Catalase -



Catalase +



GN non  
ensemencée

Staphy.aureus

Enterococcus  
faecalis

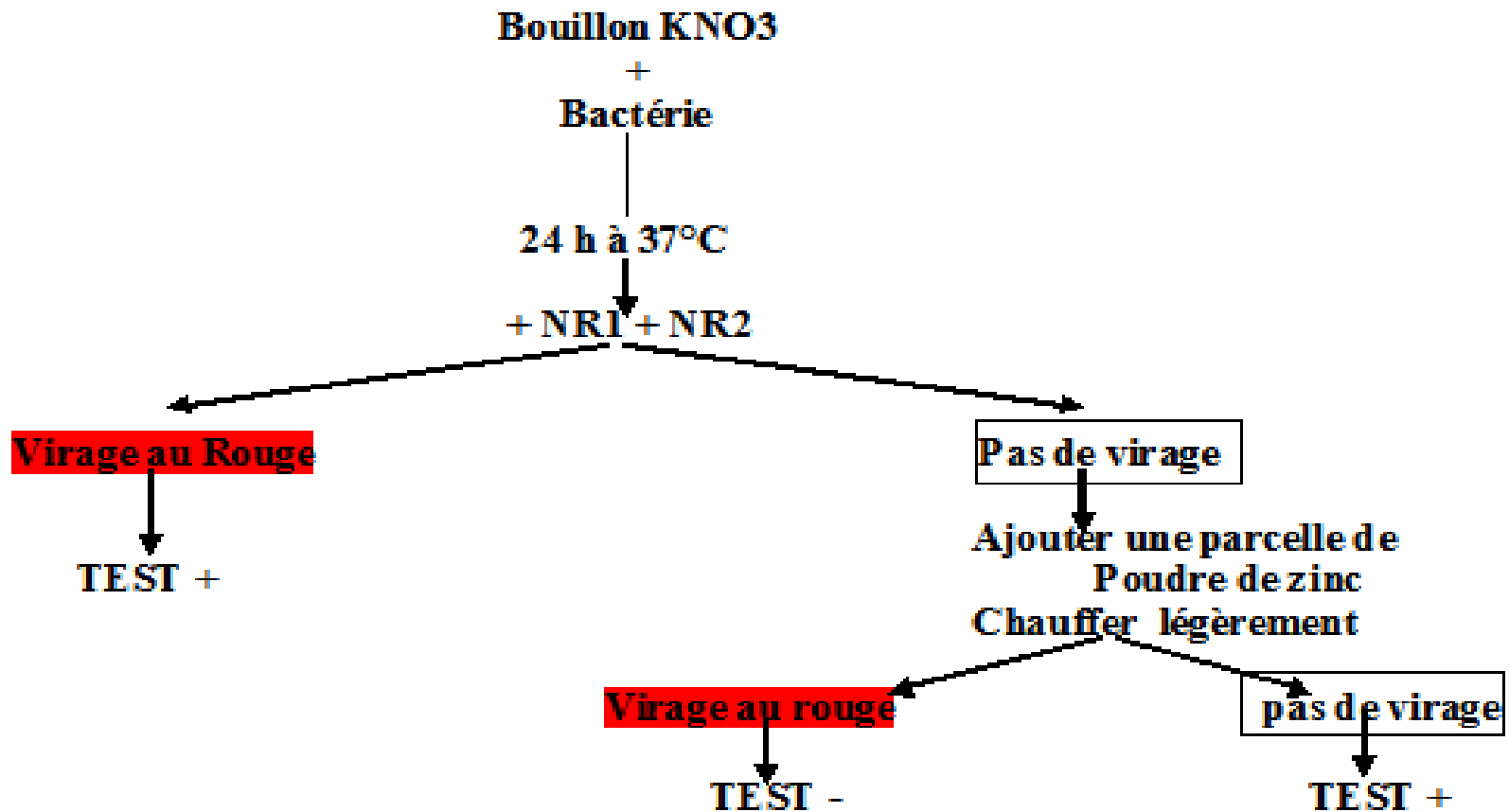
Culture sur  
Gélose au sang

## 2-5-4- Test de GRIESS-ILOSWAY :

Bouillon Nitrate à 1‰  $\text{KNO}_3$  ensemencé à partir de la souche à étudier

Réactifs de révélation : Acide Sulfanilique et alpha-naphtylamine

Poudre de Zinc



## 2-5-4- Etude de la voie fermentaire des Acides complexes: Bouillon CLARK et LUBS

Bouillon CLARK et LUBS inoculé par une goutte d'une suspension trouble de bactéries.

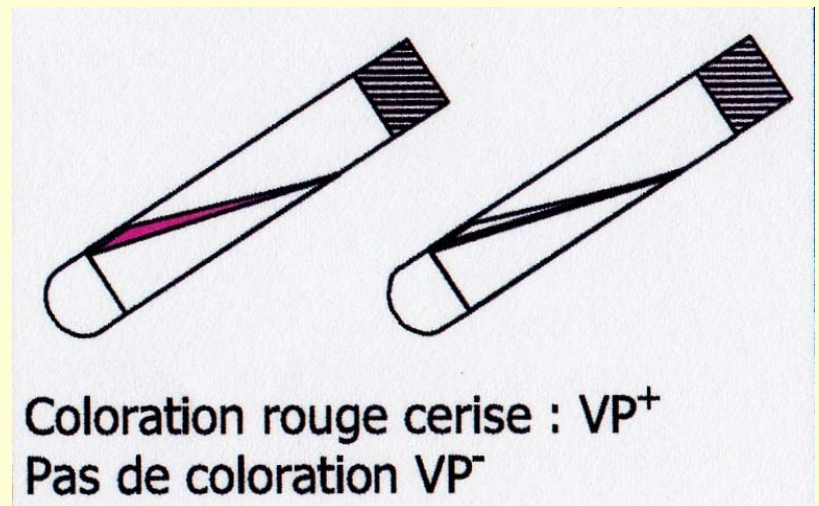
Après 18h à 37°C, on divise le bouillon dans 2 tubes stériles.

Chaque tube sert à révéler une des 2 voies :

- Voie des Acides mixtes : Addition d'une goutte de ROUGE de METHYL (test au RM)
- Voie Butylène-Glycolique : Addition de 2 gouttes de KOH à 10% et d'Alpha-naphtol ( Réaction de VOGES-PROSKAUER)



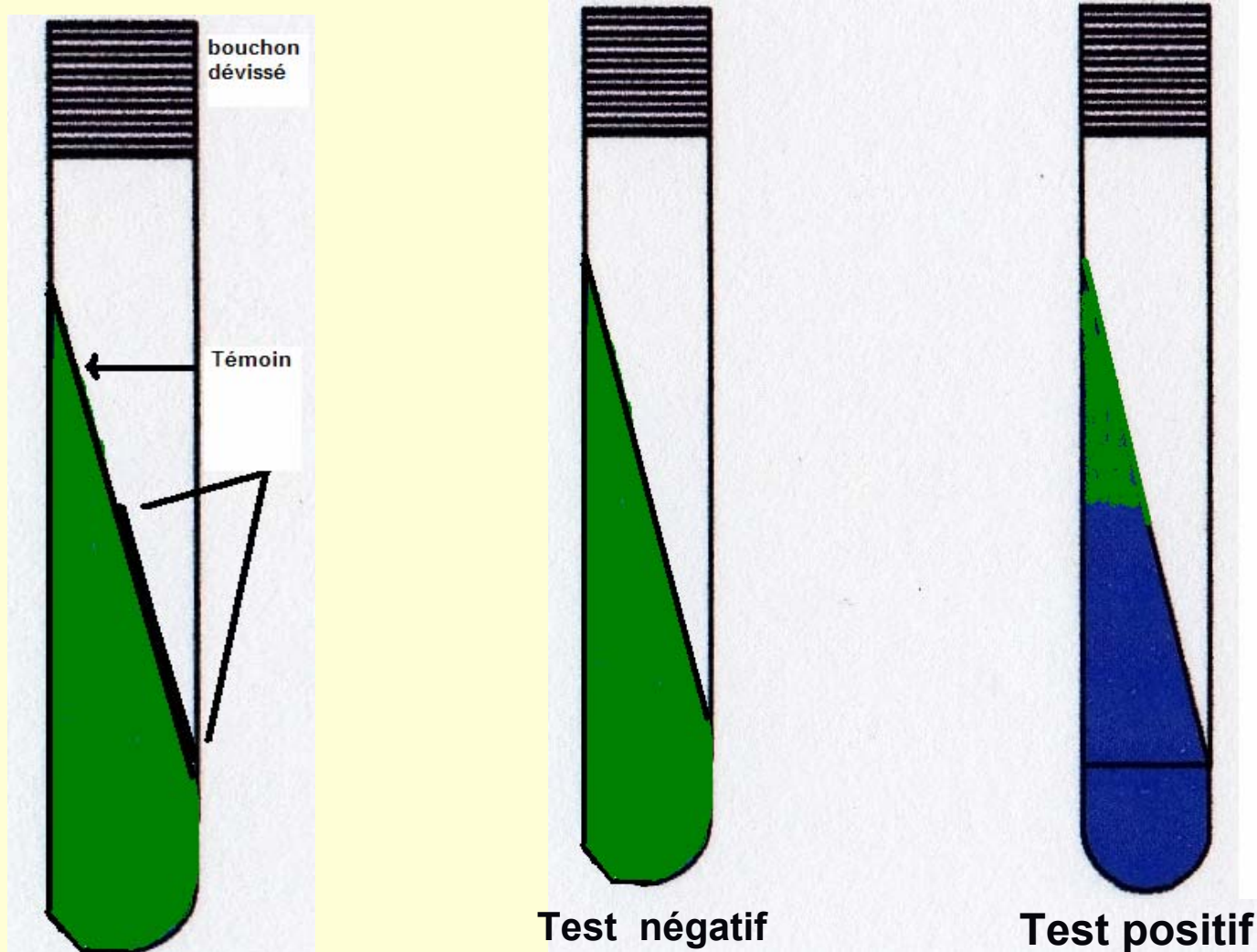
Jaune : RM<sup>-</sup>  
Rouge : RM<sup>+</sup> (beaucoup d'acides produits)



Coloration rouge cerise : VP<sup>+</sup>  
Pas de coloration VP<sup>-</sup>

## 2-5-5- Utilisation du Citrate comme seule source de Carbone : Milieu au Citrate de SIMMONS ou au Citrate de KRISTENSEN

Milieu au  
Citrate de  
SIMMONS





# 3- Métabolisme Glucidique :

**3-1- L'Auxanogramme : Etude d'une gamme de sucres dégradables par la bactérie (en milieu liquide ou solide)**

**3-2- L'étude de l'attaque des sucre en :**

- Milieus glucidiques gélosés simples : gélose + sucre + indicateur de pH (exemple : le milieu Mannitol-mobilité-nitrate )

- Milieus gélosés glucidiques complexes :

TSI (Tri-Sugar-Iron ) et

KIA (Kligler-Iron-agar)

Ce sont des géloses inclinées avec pente +culot :

1%o Glucose et 10%o Lactose et Saccharose

L'indicateur de pH est le Rouge de Phénol





géluse molle  
avec des nitrates  
avec du mannitol  
+ indicateur de pH

Mannitol-Mobilité



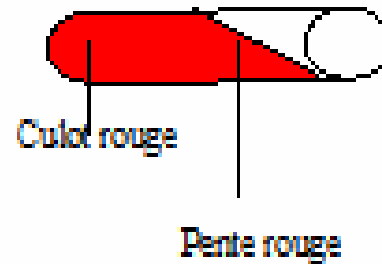
Galerie API 20<sup>E</sup> (identification des Enterobactéries)



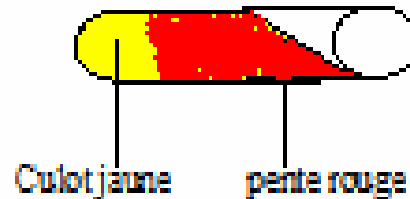
Exemples de Milieux Glucidiques simples

# Lecture : T.S.I.

Bactérie  
oxydative

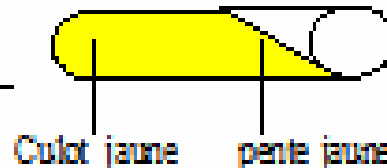


Bactérie  
fermentaire  
lactose – et saccharose –



l'attaque des peptones  
alcalinise la pente

Bactérie  
Fermentaire  
lactose + et/ou Saccharose +



l'attaque des peptones  
alcalinise la pente mais  
l'acidification par attaque des  
sucres prend le dessus.

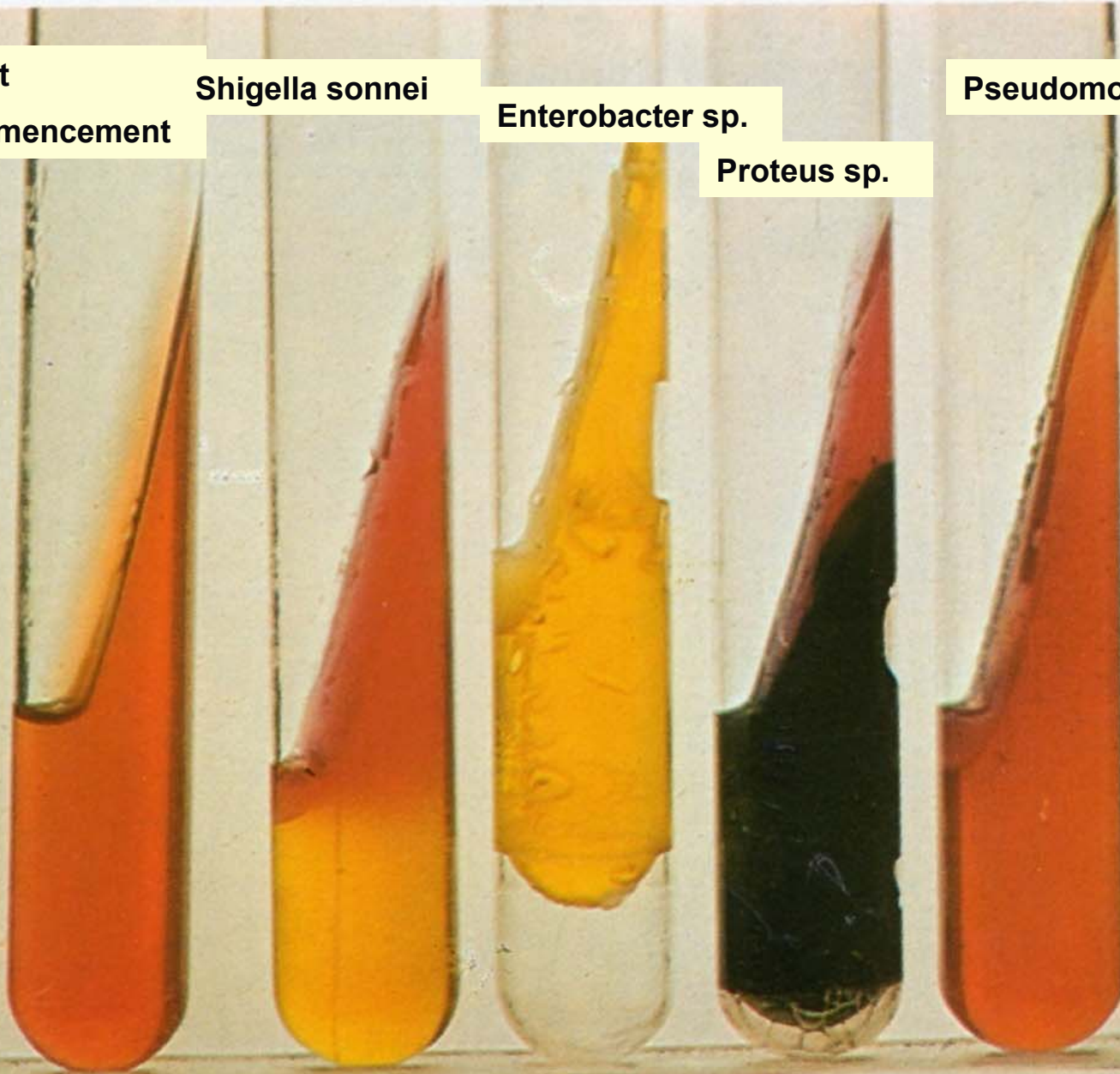
Avant  
ensemencement

*Shigella sonnei*

*Enterobacter* sp.

*Proteus* sp.

*Pseudomonas* sp.

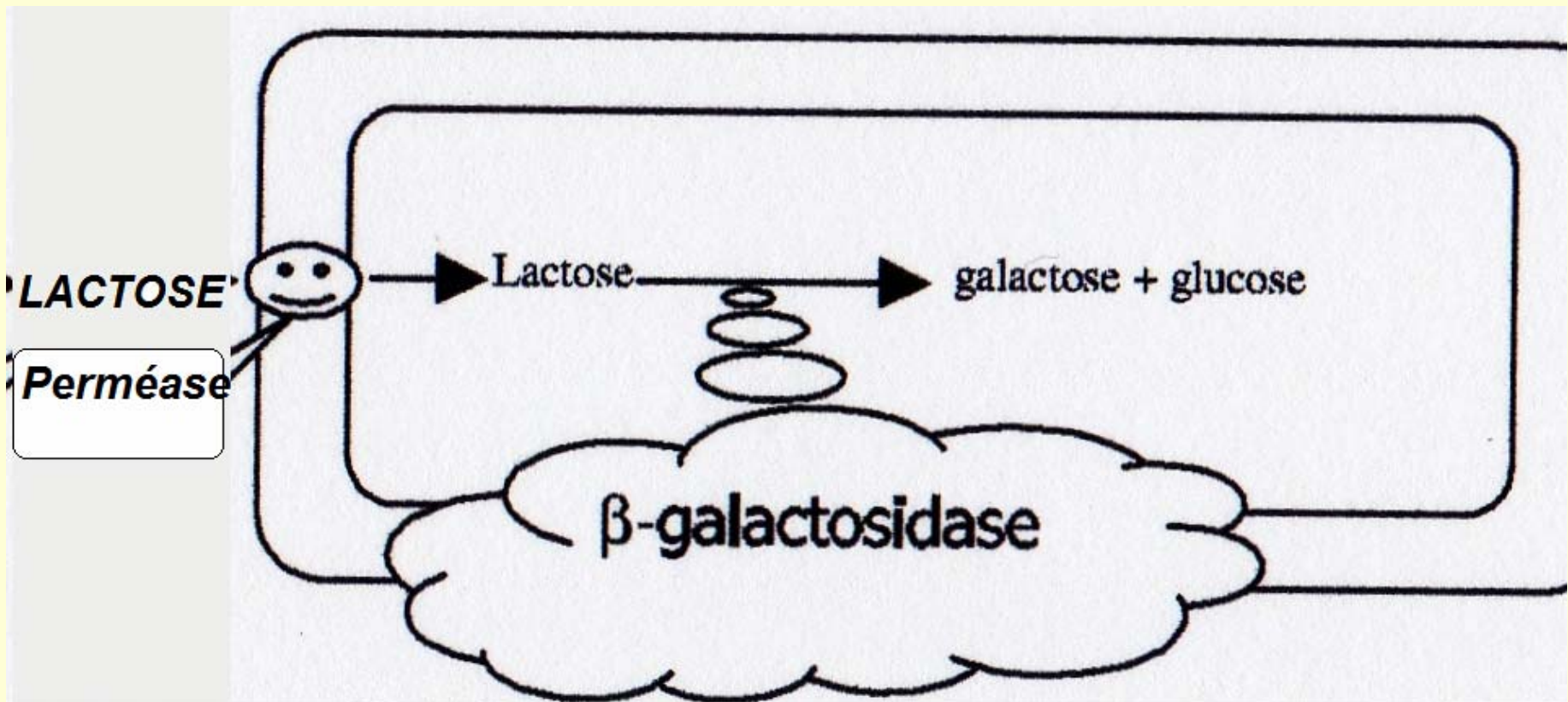


### 3-3- Révélation d'enzymes du métabolisme glucidique:

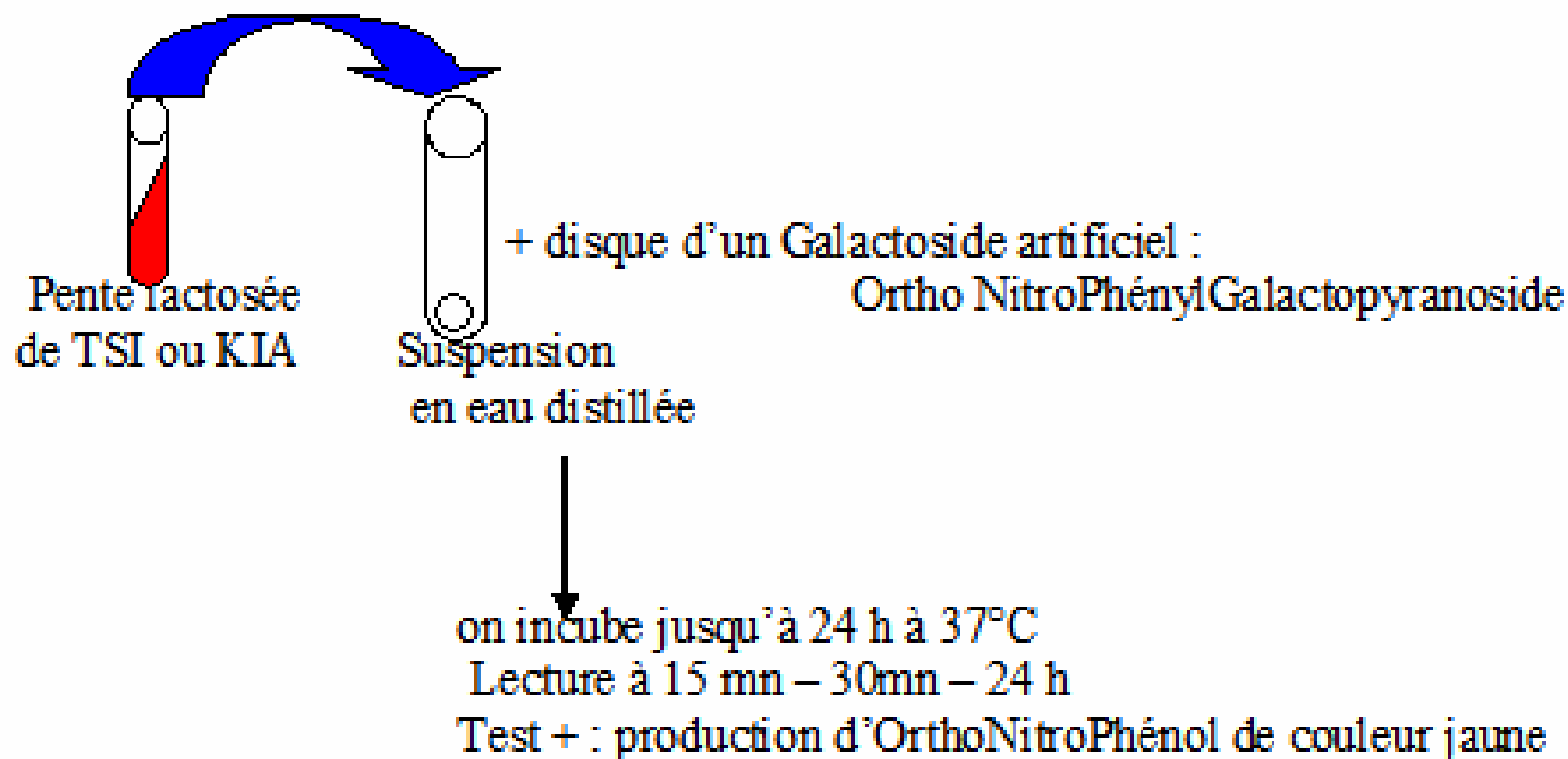
on détecte essentiellement la Bêta galactosidase , enzyme qui dégrade le lactose en glucose et galactose.

Cette enzyme a 2 caractéristiques : 1) elle est intra-cellulaire  
2) elle est inducible

Il faut donc une perméase pour faire passer quelques molécules de lactose en intra-cellulaire et induire la synthèse de l'enzyme.

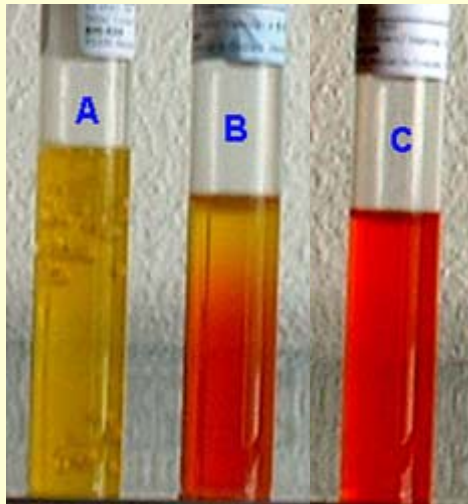


Le test de laboratoire est appelé test ONPG



### **3-4- Etude de la voie énergétique d'attaque d'un sucre :**

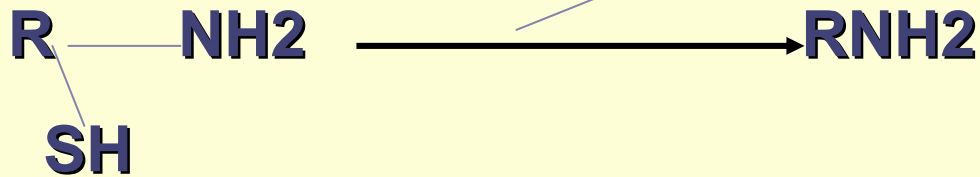
**Milieu utilisé : MEVAG SANS SUCRE + sucre à étudier (1%)**





## 4-1- Métabolisme des Acides Aminés soufrés (Cystéine, Méthionine):

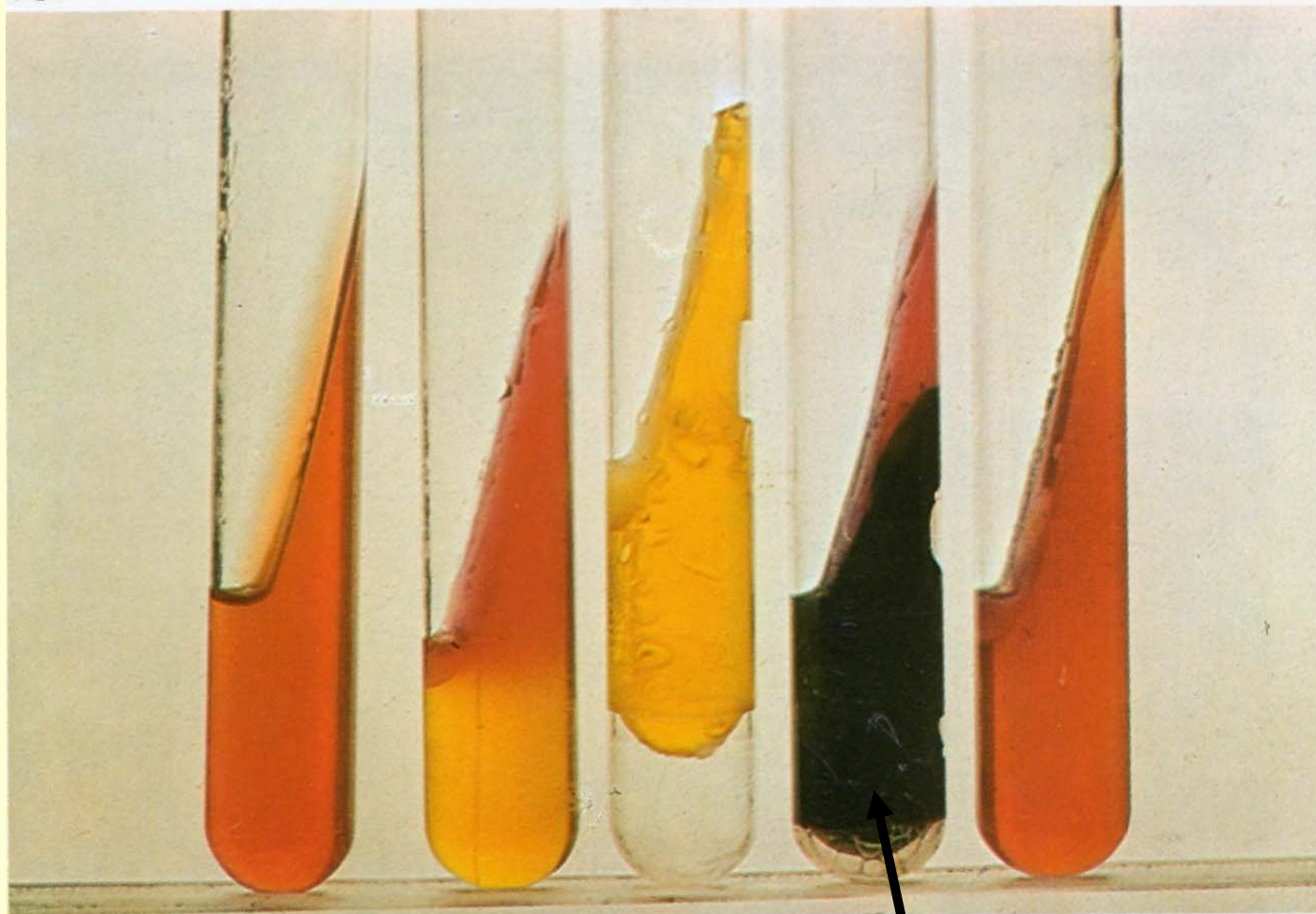
**H<sub>2</sub>S** + sulfate de Fer = Sulfure de fer



TEST :On utilise le milieu TSI ou KIA (milieux glucidiques gélosés complexes) qui contiennent Thiosulfate de sodium (liaison thiol)

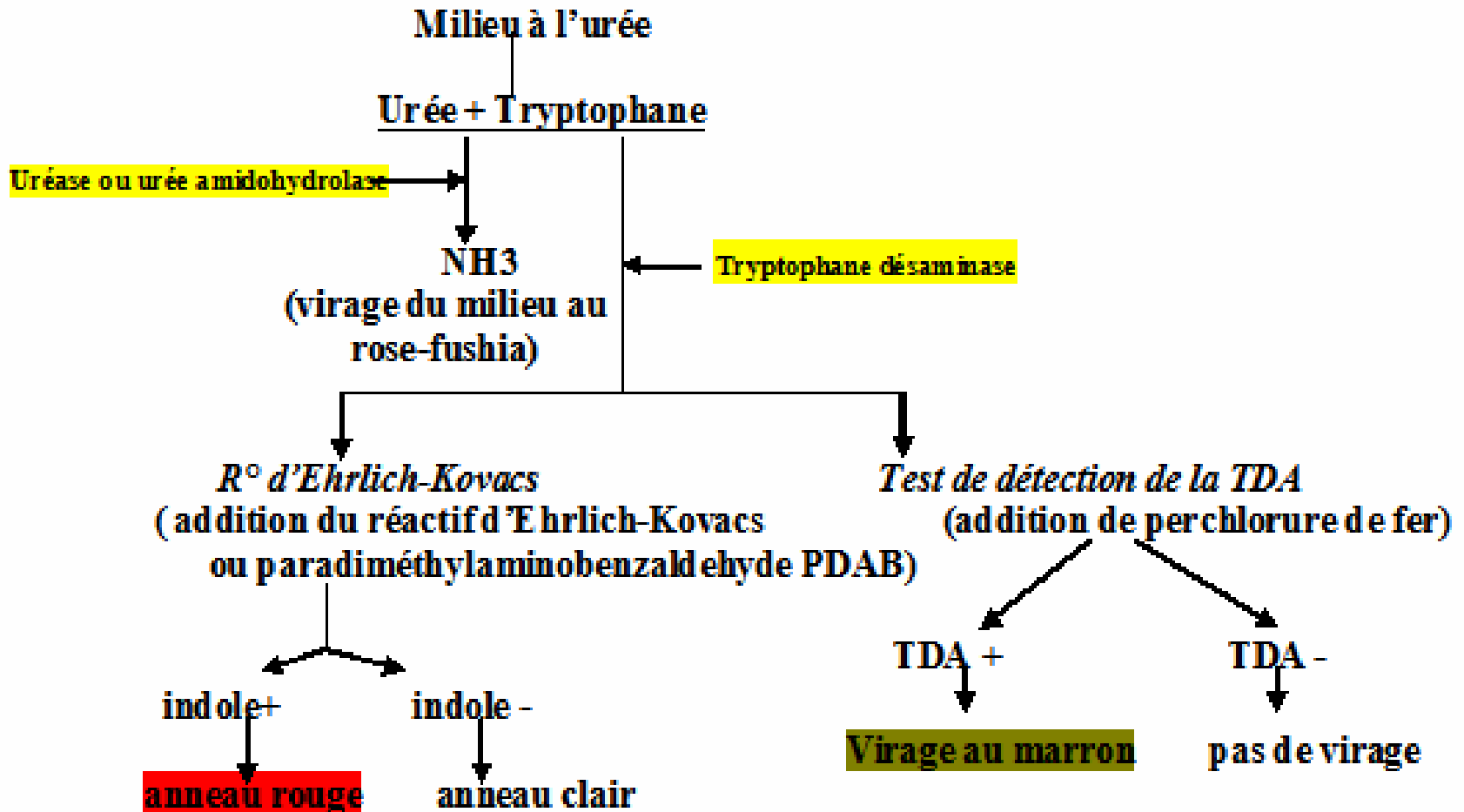


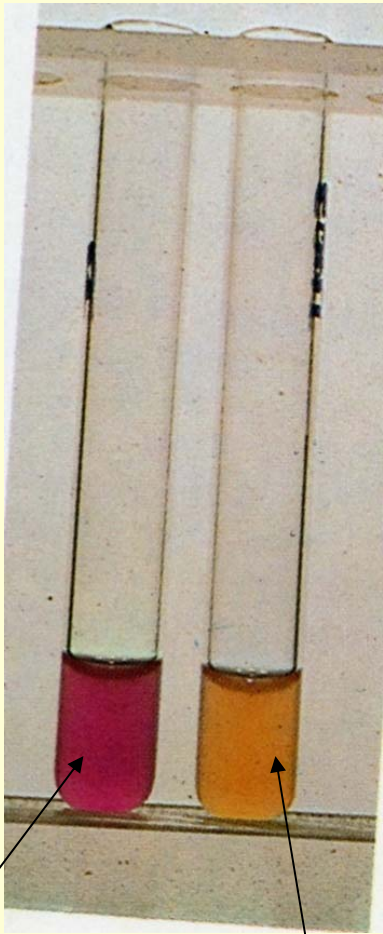
301



H<sub>2</sub>S +

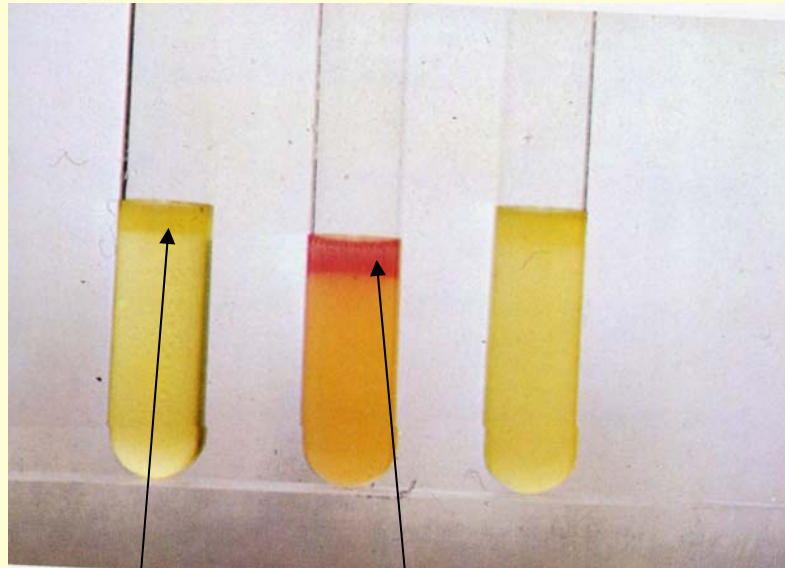
## 4-2- Métabolisme de l'urée et du Tryptophane





**Urée +**

**Urée -**

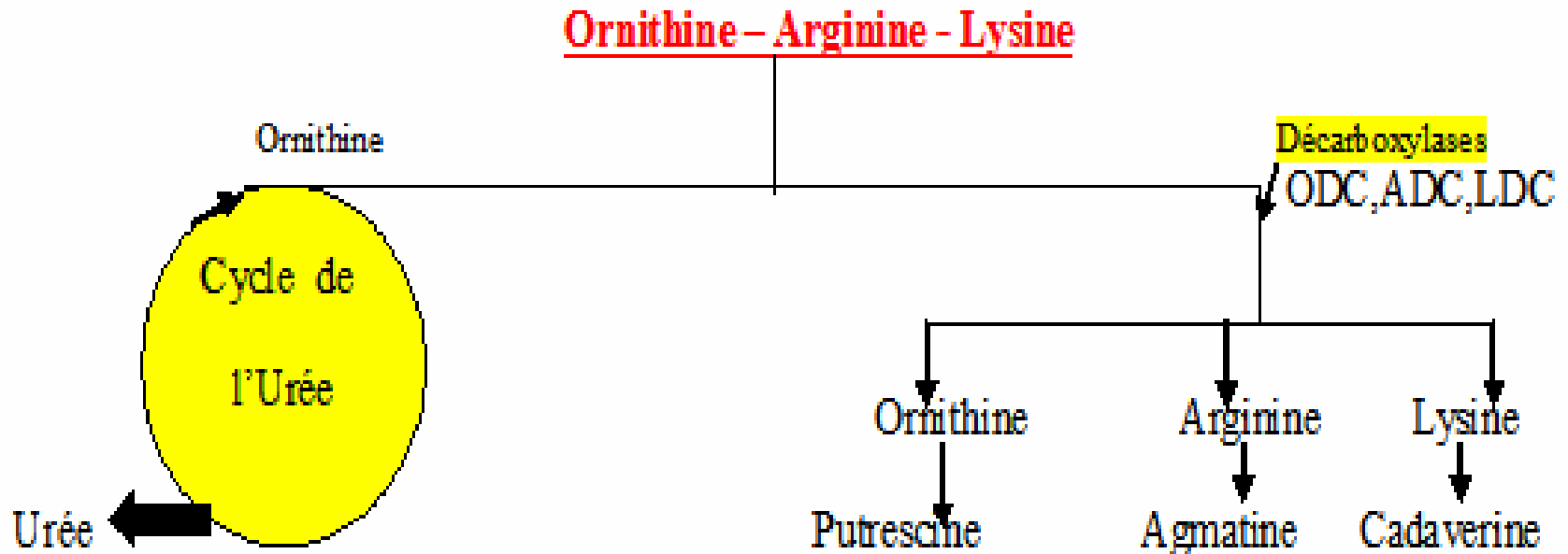


**Indole -**

**Indole +**

## 4-3- Catabolisme des Acides Aminés:

Catabolisme de l'Ornithine, Arginine et Lysine :

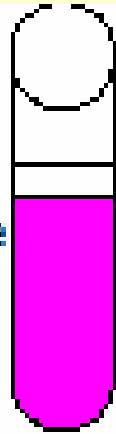


## Le test des décarboxylases :

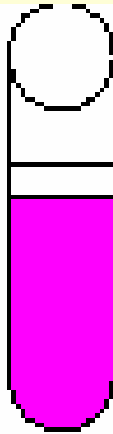
Au laboratoire , on met en évidence les décarboxylases sur milieu de MOELLER-FALKOW :

(sucre=Glucose , Indicateur=Pourpre de Bromocrésol

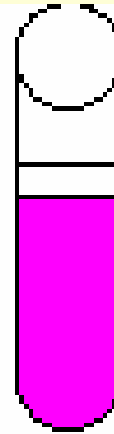
Vaseline  
stérile



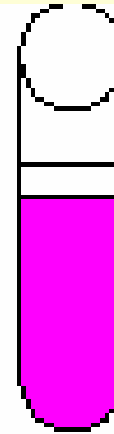
Milieu + Ornithine



Milieu + Arginine

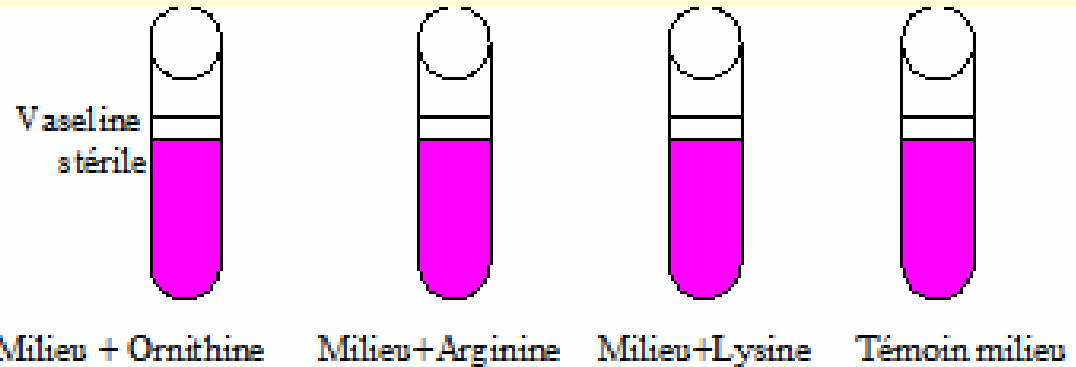


Milieu + Lysine

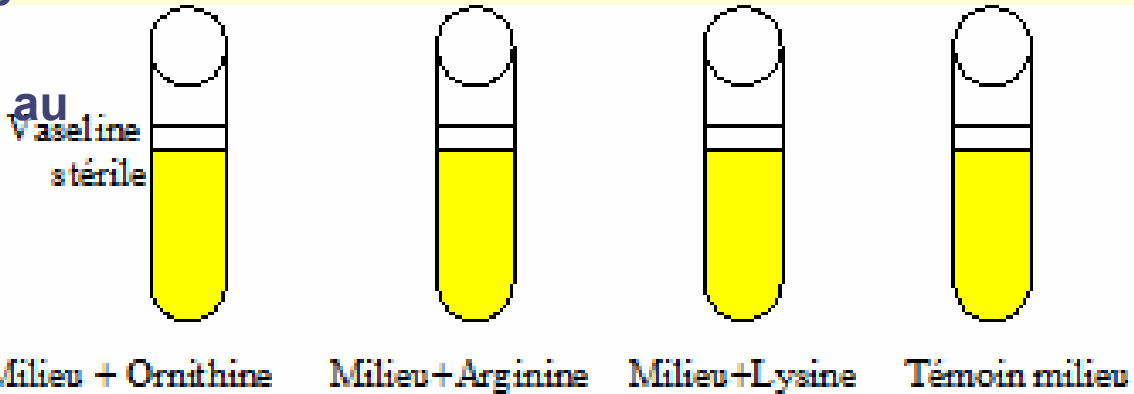


Témoin milieu

1<sup>er</sup> temps : Au départ, tous les tubes sont « couleur violette »

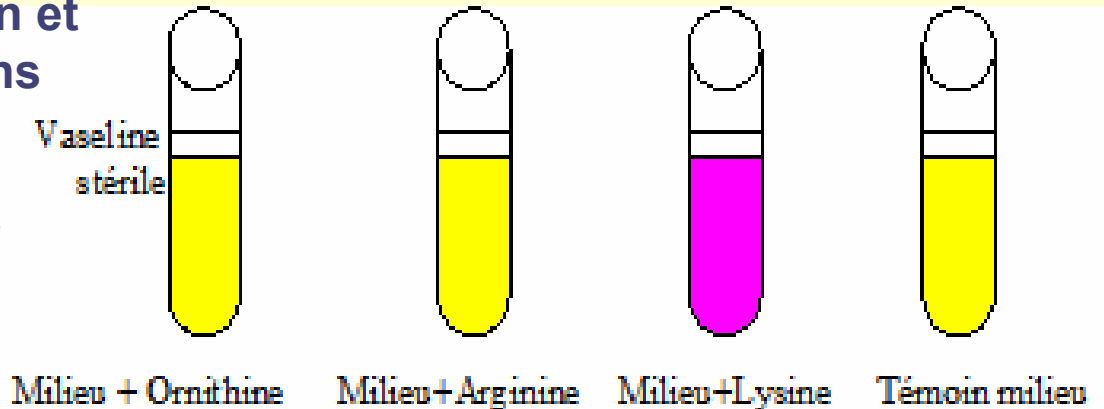


2<sup>ème</sup> temps : Acidification de tous les tubes par attaque du glucose: Tous les tubes virent au « jaune »

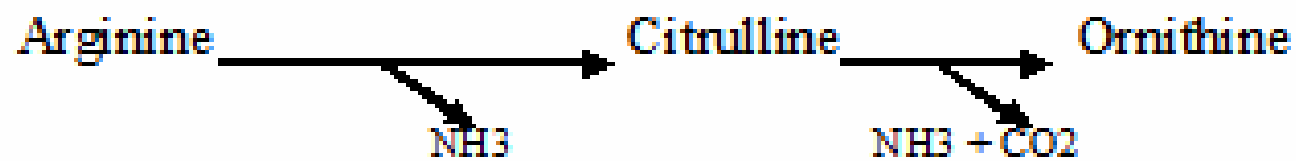


3<sup>ème</sup> temps : Décarboxylation et libération de catabolites alcalins d'où virage au bleu violacé- le tube témoin reste jaune

Lecture : tube jaune : négatif  
tube violet : positif



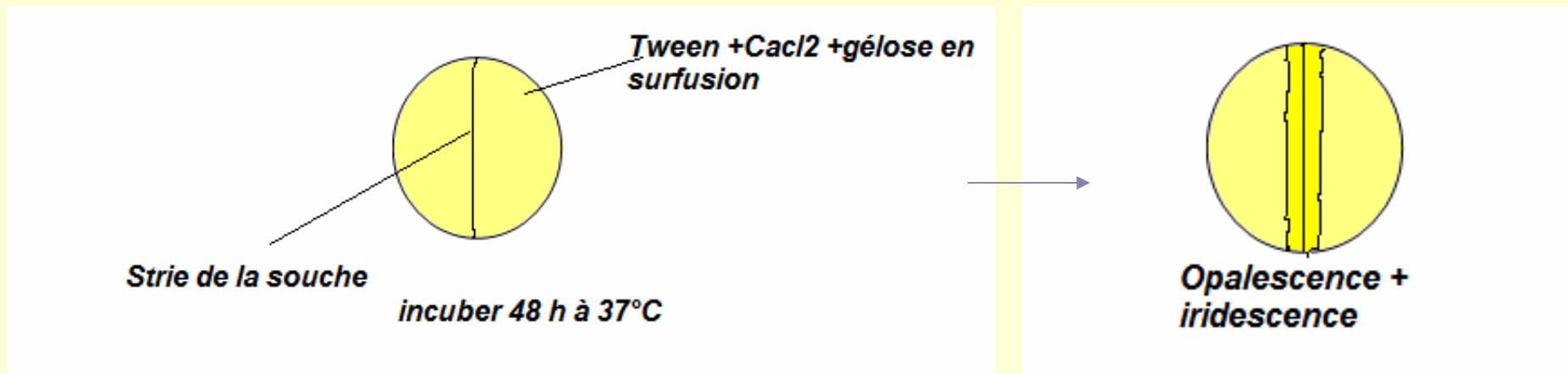
Il existe une autre voie dégradant l'Arginine par le biais d'une Arginine Dihydrolase .



# 5- Métabolisme lipidique :

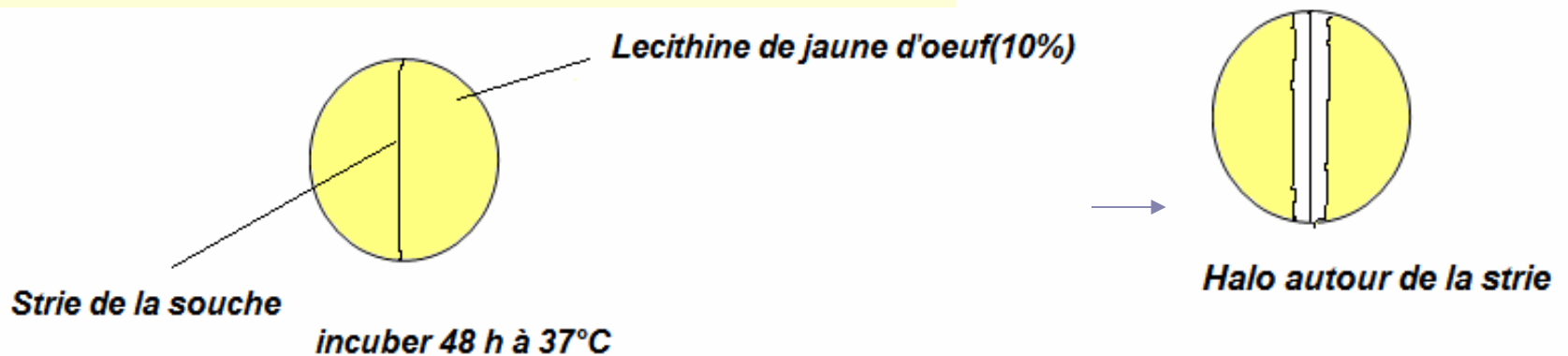
**Lipase** : enzyme qui hydrolyse les esters d'acide gras à longue chaîne carbonée.

**Test de laboratoire** : Technique de SIERRA : Comme ester d'acide gras utilisé au laboratoire , on distingue les TWEEN qui sont des Esters de Sorbitol et d'Acide gras.



# enzymes qui hydrolysent les Lécithines

**Test de Laboratoire** : on utilise communément la Lécithine du jaune d'œuf incorporé à 10 % dans la gélose (émulsion dans de l'eau physiologique) .



# APPLICATIONS DE LA PHYSIOLOGIE BACTERIENNE

**1-Le diagnostic bactériologique: culture et identification des germes à partir du prélèvement pathologique (urine , selle , sang , LCR...)**






## **2- L'Antibiothérapie:**

**Les modifications de la courbe de croissance permettent de mesurer l'activité anti-bactérienne d'un nouvel antibiotique sur une bactérie donnée.**

## **3- L'efficacité de la stérilisation:**

**L'étude de la courbe de croissance permet de vérifier la vitesse de destruction des bactéries par la chaleur , les UV, ou d'autres agents physiques ou chimiques.**

## **4- L'industrie:**


- Dosage microbiologique des vitamines et autres substances qui sont des facteurs de croissance pour les bactéries,**
  - Culture de grandes quantités d'antibiotiques, d'enzymes et de vitamines grâce à la croissance en milieu de culture renouvelé,**
  - Culture de grandes quantités de bactéries destinées à l'alimentation en particulier animale (génie génétique).**
- 

## 5- Les Systèmes pour hémoculture:

### 5-1- Systèmes non automatisés: ex. Hémoculture Signal (OXOID)

Le Gaz dégagé par le  
métabolisme bactérien est  
détecté par l'Indicateur






## **5-2- Systèmes automatisés:**

**Basés sur le principe de détection d'un produit du métabolisme biochimique ;**

**Exemple : Détection du CO<sub>2</sub> d'origine bactérienne**

**L'un des automates les plus récents : BACT/ALERT Microbial Detection System (Biomérieux) , basé sur la détection par technique colorimétrique.**



## 6- Les Biofilms:

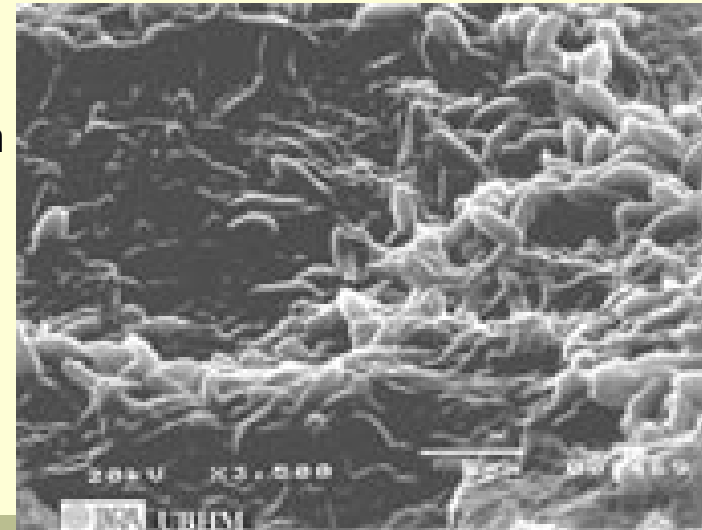
**Dans les habitats naturels, les bactéries sont attachées à des surfaces , plus souvent que libres en suspension dans un milieu liquide.**

**Ainsi, les bactéries attachées à des surfaces s'organisent en communauté en s'entourant d'une matrice de polymères organiques : le Biofilm**

**C'est sous cette forme que les bactéries colonisent les matériel d'exploration ou de soin : Endoscopie, cathéters , sondes respiratoires ou urinaires.**

**Elles seraient protégées des agents antimicrobiens car elles se trouvent au repos ou dans un état de latence peu propice à l'action des antimicrobiens .**

**Les bactéries des bio films imposent une réflexion en matière d 'hygiène hospitalière, de prévention et de désinfection du matériel de soin .**





## Bibliographie

**1- Leclerc H. , Gaillard J.L., Simonet M. Microbiologie générale :La Bactérie et le monde bactérien Edition DOIN 1995**

**2- Marchal N., Bourdon J.L. , Richard CL .Les Milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries , Édition DOIN 1991**

**3- Olds R.J. Atlas en couleurs de Microbiologie Édition MALOINE 1979**

**4- Consultez les liens disponibles dans le site du Réseau AARN (Algérien Antimicrobial Resistance Network) que vous trouverez à l'adresse Internet : [WWW.sante.dz](http://WWW.sante.dz)**

