Chapitre III : Taxonomie bactérienne (Suite)

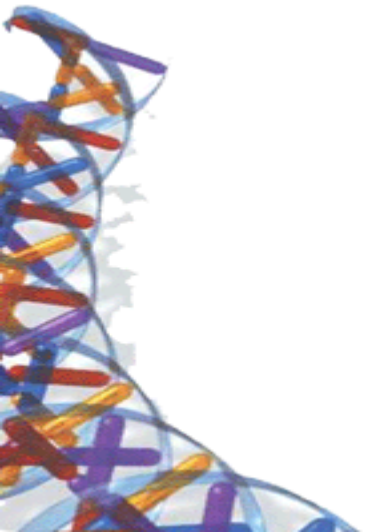
1. Place des microorganismes dans le monde vivant
2. Classification biologique contemporaine
3. Classification des protistes procaryotes

Définir une espèce procaryote



- **On ne peut utiliser la même définition que pour les organismes eucaryotes supérieurs car les procaryotes ne se reproduisent pas de façon sexuée.**

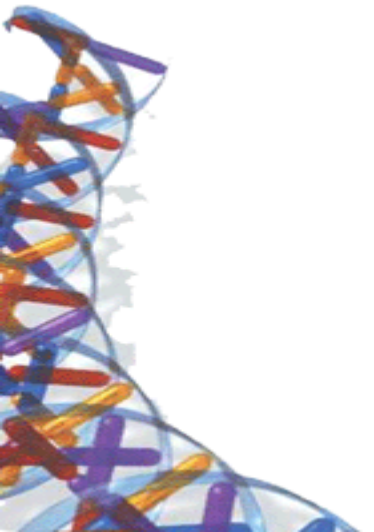
- **Deux définitions possibles:**
  - **Ensemble de souches qui partagent de nombreuses propriétés stables et diffèrent des autres groupes de souches.**
  - **Ensemble des organismes qui partagent les mêmes séquences pour l'essentiel de leurs gènes domestiques (gènes qui codent pour les produits nécessaires à toutes les cellules et qui sont habituellement exprimés en permanence).**



Une souche



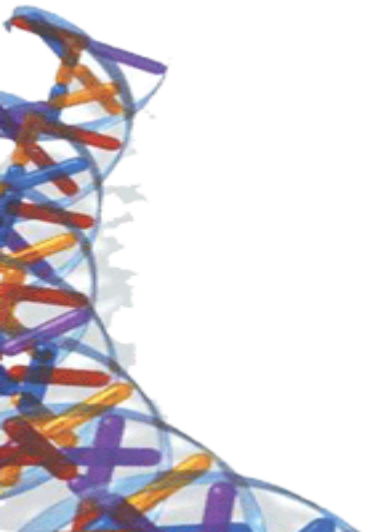
- **On considère qu'elle provient d'un organisme unique ou d'un isolat de culture pure.**
  - **Biovars: Différences biochimiques ou physiologiques.**
  - **Morphovars: Différences morphologiques.**
  - **Sérovars: Propriétés antigéniques distinctes.**



Une souche type



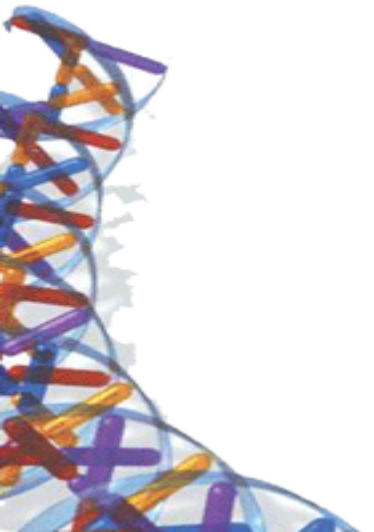
- **Habituellement une des premières souches étudiées.**
- **Souvent plus complètement caractérisée que les autres souches.**
- **Cependant, elle n'est pas toujours le membre le plus représentatif.**
- **La souche type de l'espèce est appelée espèce type. C'est le type nomenclatural ou détenteur du nom de l'espèce.**



Système binomial de nomenclature



- **Développé par Carl von Linné (Carolus Linnaeus).**
- **Le nom latin comprend deux parties:**
  - **Nom du genre: italique et débutant par une majuscule (i.e. *Escherichia*).**
  - **L'épithète spécifique: italique et minuscule (i.e., *coli*).**
- **Peut être raccourci après le premier usage (i.e., *E. co***

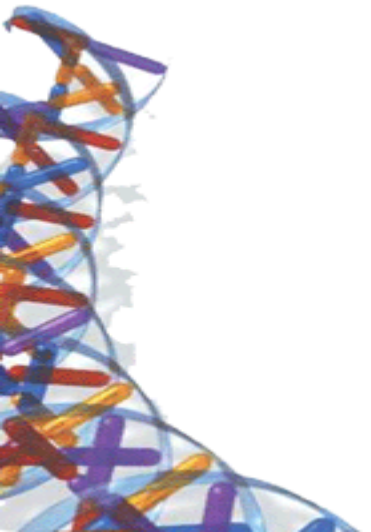


Les systèmes de classification



- **Classification naturelle**
  - **Arrange les organismes en groupes dont les membres ont en commun de nombreuses caractéristiques.**
  - **Reflète autant que possible la nature biologique des organismes.**

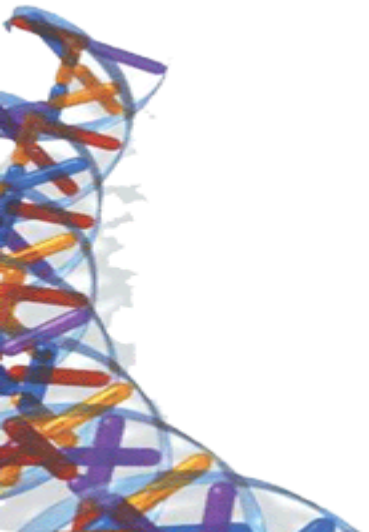
- **Deux méthodes principales de construction:**
  - **Phénétique**
    - **Groupe les organismes suivant la similitude de leurs caractères phénotypiques.**
  - **Phylogénique**
    - **Groupe les organismes selon des relations évolutives plutôt que des ressemblances générales. Utilise des caractères de nature moléculaire.**



Les caractéristiques principales utilisées en taxinomie



- **Deux groupes de carctéristiques:**
  - **Caractéristiques classiques**
    - **Morphologiques**
    - **Physiologiques et métaboliques**
    - **Écologiques**
    - **Analyse génétique**
  - **Caractéristiques moléculaires**
    - **Composition en base des acides nucléiques**
    - **Hybridation des acides nucléiques**
    - **Séquençage des acides nucléiques**
    - **Prise d'empreintes génomiques**
    - **Séquençage des protéines**



Quelques caractéristiques morphologiques, physiologiques et métaboliques coura utilisées en phénétique



Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

Table 19.4 Some Morphological Features Used in Classification and Identification

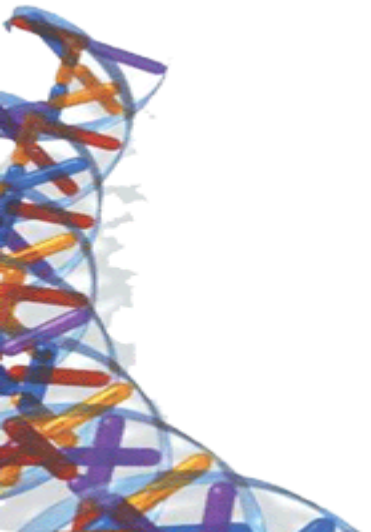
Feature	Microbial Groups
Cell shape	All major groups[a]
Cell size	All major groups
Colonial morphology	All major groups
Ultrastructural characteristics	All major groups
Staining behavior	Bacteria, some fungi
Cilia and flagella	All major groups
Mechanism of motility	Gliding bacteria, spirochetes
Endospore shape and location	Endospore-forming bacteria
Spore morphology and location	Bacteria, protists, fungi
Cellular inclusions	All major groups
Color	All major groups

[a]Used in classifying and identifying at least some bacteria, fungi, and protists.

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

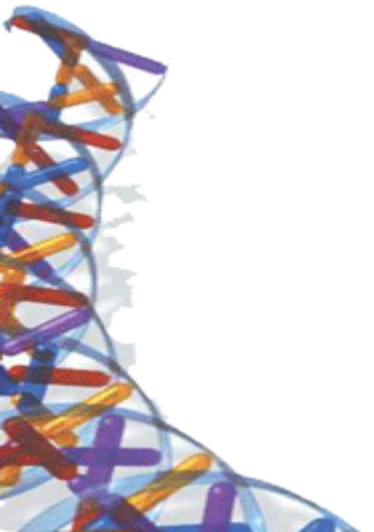
Table 19.5 Some Physiological and Metabolic Characteristics Used in Classification and Identification

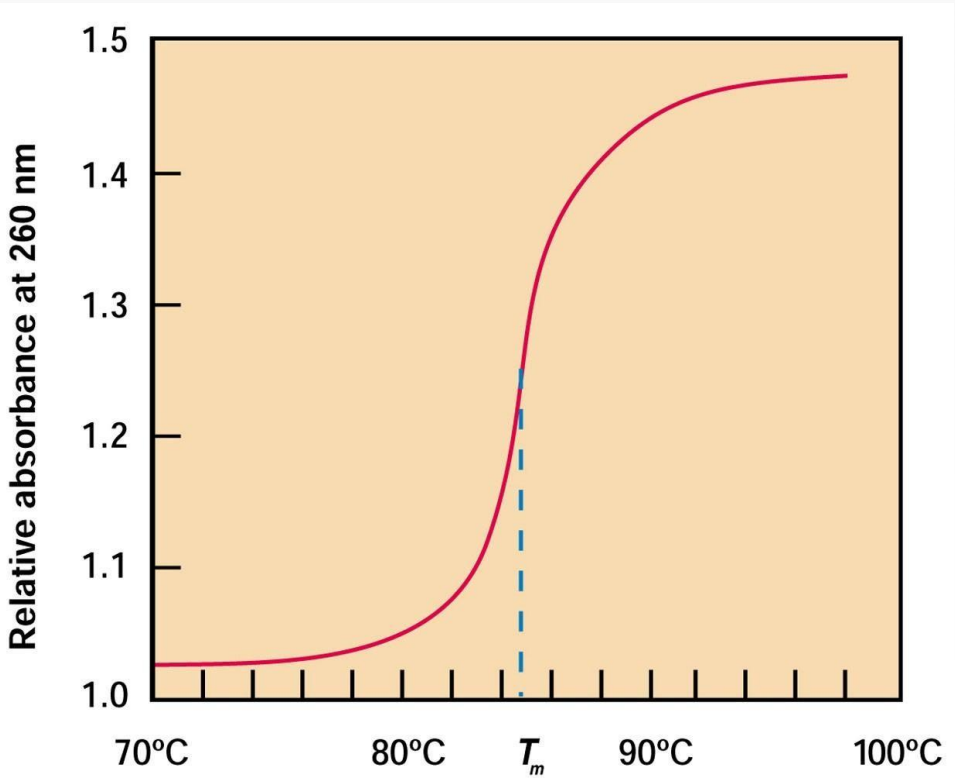
Carbon and nitrogen sources
Cell wall constituents
Energy sources
Fermentation products
General nutritional type
Growth temperature optimum and range
Luminescence
Mechanisms of energy conversion
Motility
Osmotic tolerance
Oxygen relationships
pH optimum and growth range
Photosynthetic pigments
Salt requirements and tolerance
Secondary metabolites formed
Sensitivity to metabolic inhibitors and antibiotics
Storage inclusions



Composition en base des acides nucléiques

- **Contenu en GC**
  - **Mol% G + C = $\frac{(G + C)}{(G + C + A + T)} \times 100$**
  - **Le contenu en GC est déterminé à partir de la température de fusion (T_m pour melting temperature).**
  - **Variation à l'intérieur d'un genre bactérien généralement < 10%.**





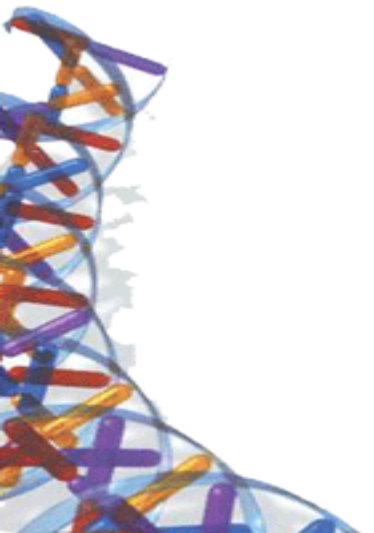
Contenus en GC représentatifs des micro-organismes



Copyright ©The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

Table 19.6 Representative G + C Content of Microorganisms

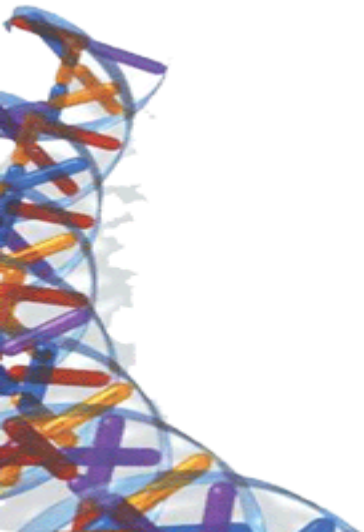
Organism	Percent G + C	Organism	Percent G + C	Organism	Percent G + C
Bacteria		*Rhodospirillum*	62–66	*Peridinium triquetrum*	53
Actinomyces	59–73	*Rickettsia*	29–33	*Physarum polycephalum*	38–42
Anabaena	39–44	*Salmonella*	50–53	*Plasmodium berghei*	41
Bacillus	32–62	*Spirillum*	38	*Scenedesmus*	52–64
Bacteroides	28–61	*Spirochaeta*	51–65	*Spirogyra*	39
Bdellovibrio	49.5–51	*Staphylococcus*	30–38	*Stentor polymorphus*	45
Caulobacter	62–65	*Streptococcus*	33–44	*Tetrahymena*	19–33
Chlamydia	41–44	*Streptomyces*	69–73	*Trichomonas*	29–34
Chlorobium	49–58	*Sulfolobus*	31–37	*Trypanosoma*	45–59
Chromatium	48–70	*Thermoplasma*	46	*Volvox carteri*	50
Clostridium	21–54	*Thiobacillus*	52–68		
Cytophaga	33–42	*Treponema*	25–53	**Fungi**	
Deinococcus	62–70			*Agaricus bisporus*	44
Escherichia	48–59	**Protists**		*Amanita muscaria*	57
Halobacterium	66–68	*Acanthamoeba castellanii*	56–58	*Aspergillus niger*	52
Hyphomicrobium	59–67	*Acetabularia mediterranea*	37–53	*Blastocladiella emersonii*	66
Methanobacterium	32–50	*Amoeba proteus*	66	*Candida albicans*	33–35
Micrococcus	64–75	*Chlamydomonas*	60–68	*Claviceps purpurea*	53
Mycobacterium	62–70	*Chlorella*	43–79	*Coprinus lagopus*	52–53
Mycoplasma	23–40	*Cyclotella cryptica*	41	*Fomes fraxineus*	56
Myxococcus	68–71	*Dictyostelium*	22–25	*Mucor rouxii*	38
Neisseria	48–56	*Euglena gracilis*	46–55	*Neurospora crassa*	52–54
Nitrobacter	59–62	*Lycogala*	42	*Penicillium notatum*	52
Oscillatoria	40–50	*Nitella*	49	*Polyporus palustris*	56
Prochloron	41	*Nitzschia angularis*	47	*Rhizopus nigricans*	47
Proteus	38–41	*Ochromonas danica*	48	*Saccharomyces cerevisiae*	36–42
Pseudomonas	58–69	*Paramecium* spp.	29–39	*Saprolegnia parasitica*	61

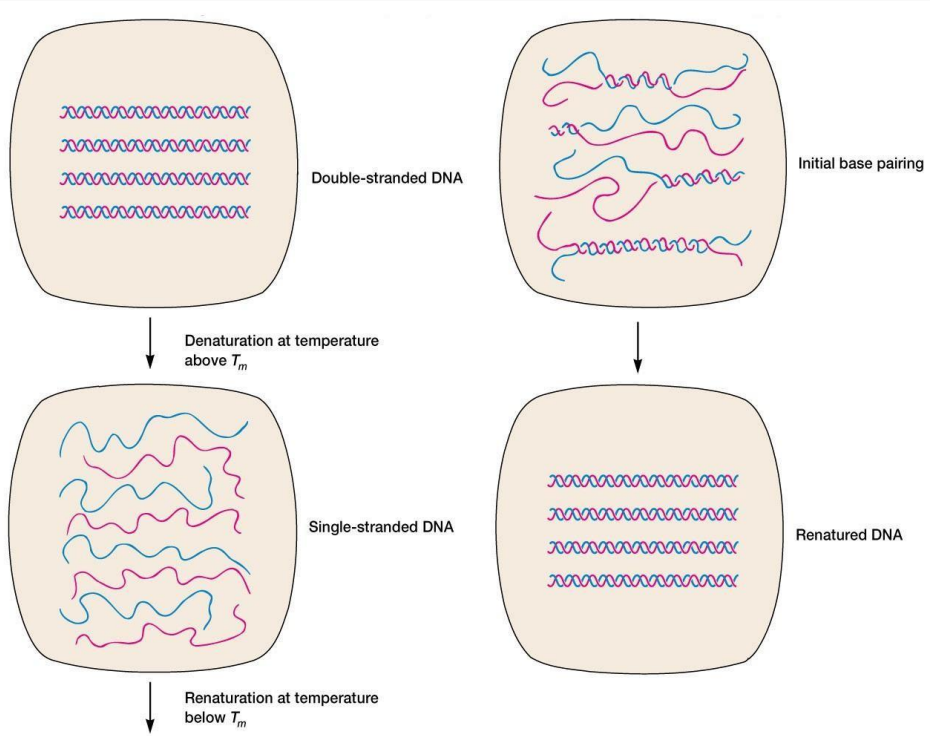


Hybridation des acides nucléiques



- **Mesure la similitude entre génomes.**
- **Une des technique les plus courantes:**
  - **ADN non radioactif de l'espèce A dénaturé et fixé à une membrane de nitrocellulose.**
  - **Incubation avec l'ADN simp marqué à la radioactivité.**
  - **On lave la membrane puis c restante attachée à la memb réflète le degré d'hybridatio les ADN.**





Hybridation des acides nucléiques



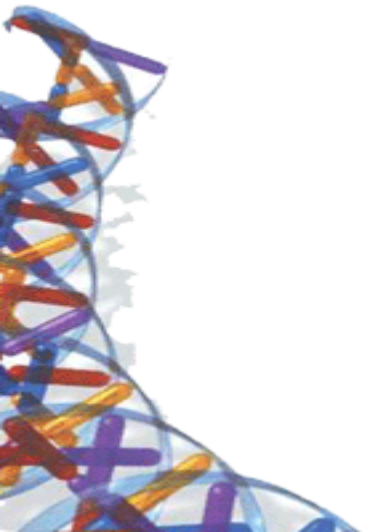
Table 19.6 Comparison of *Neisseria* Species by DNA Hybridization Experiments

Membrane-Attached DNA[a]	Percent Homology[b]
Neisseria meningitidis	100
N. gonorrhoeae	78
N. sicca	45
N. flava	35

Source: Data from T. E. Staley and R. R. Colwell, "Applications of Molecular Genetics and Numerical Taxonomy to the Classification of Bacteria" in *Annual Review of Ecology and Systematics,* 8: 282, 1973.

[a]The experimental membrane-attached nonradioactive DNA from each species was incubated with radioactive *N. meningitidis* DNA, and the amount of radioactivity bound to the membrane was measured. The more radioactivity bound, the greater the homology between DNA sequences.

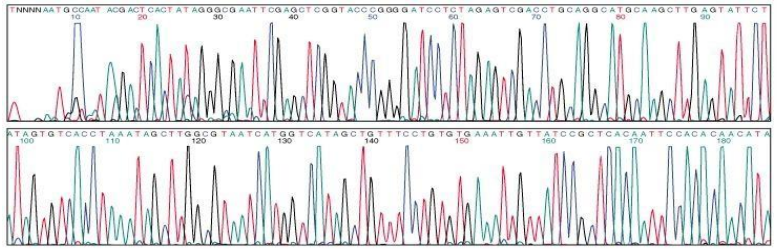
[b] $\dfrac{\text{N. meningitidis DNA bound to experimental DNA}}{\text{Amount bound to membrane-attached N. meningitidis DNA}} \times 100$

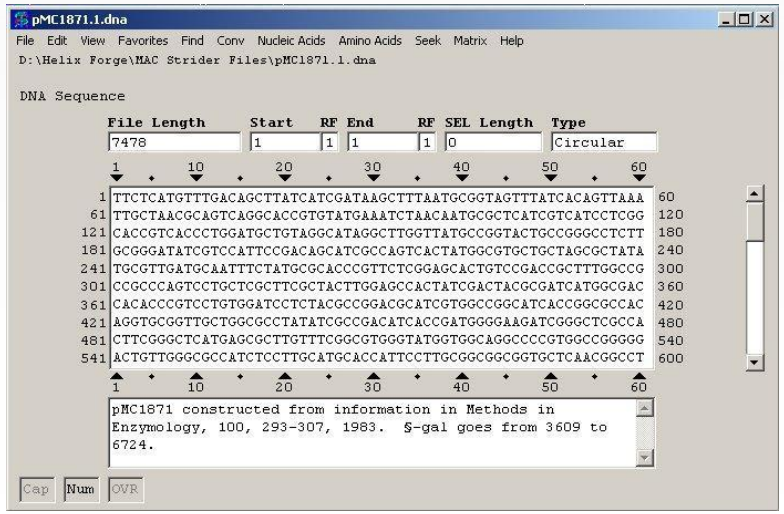


Séquençage des acides nucléiques

- **Très souvent, on séquence les gènes ribosomaux (ARNr) 16S et 18S.**
- **Récemment des génomes procaryotes complets ont été séquencés. La comparaison directe de séquences de génomes complets deviendra importante en taxinomie.**







Séquençage des acides nucléiques



- L'analyse comparative de séquences d'ARNr 16S ou 18S de milliers d'organismes à démontré la présence de signatures oligonucléotidiques.
- Le typage de séquence multilocus (MLST pour *multilocus sequence typing*) est une autre approche basée sur l'analyse de séquences et la comparaison de 5 à 7 gènes domestiques, permettant de déterminer l'identité d'une l'espèce ou d'une souche.

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

Table 19.8 Selected 16S rRNA Signature Sequences for Some Bacterial Groups[a]

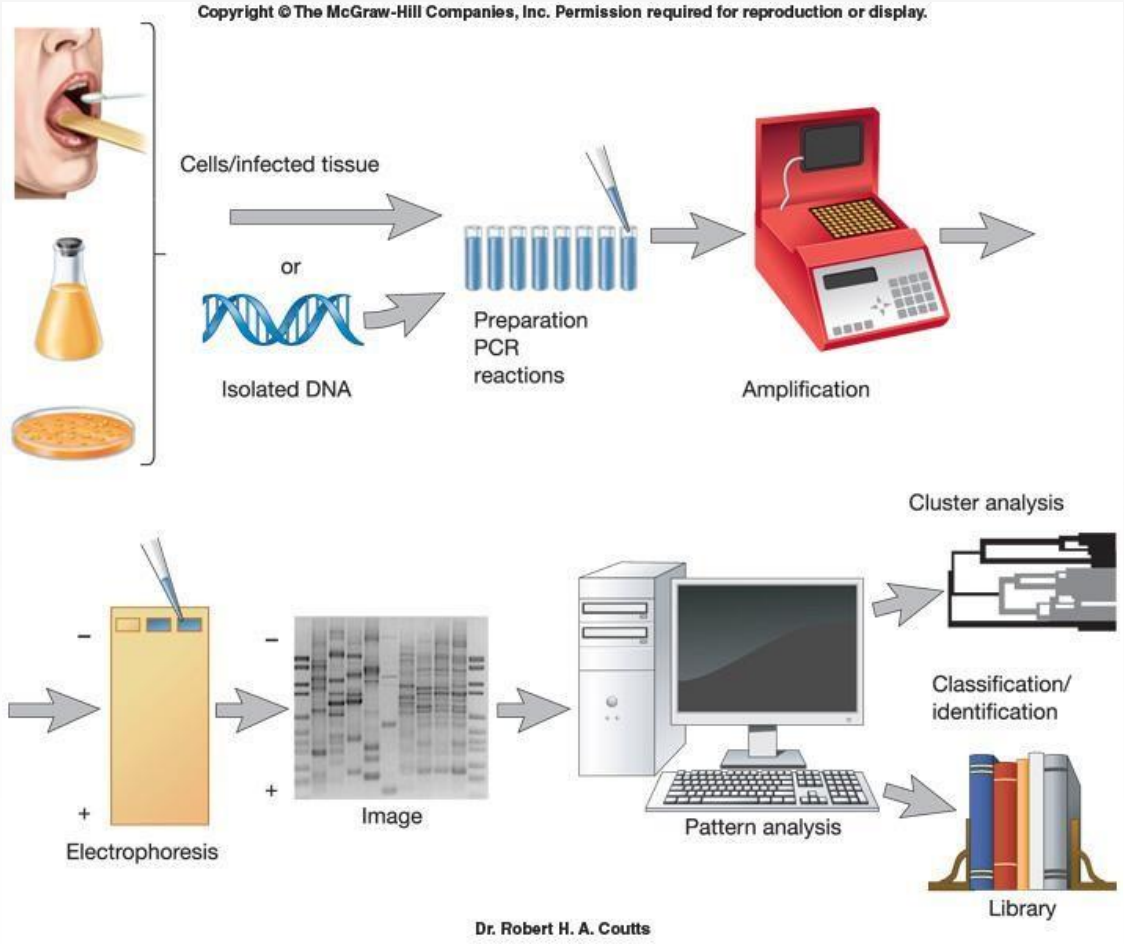
Position in rRNA	Consensus Composition	Cyanobacteria	Spirochetes	*Bacteroides*	Green Sulfur	Green Nonsulfur	*Deinococcus*	Gram Positive (Low GC)	Gram Positive (High GC)	*Planctomyces*
47	C	+	+	U	+	+	+	+	+	+	G
53	A	+	+	G	+	+	G	+	+	+	G
570	G	+	+	+	U	+	+	+	+	+	U
812	G	c	+	+	+	+	+	C	+	+	+
906	G	Ag	+	+	+	+	A	+	+	A	+
955	U	+	+	+	+	+	+	+	+	A	C
1,207	G	+	C	+	+	+	+	+	C	C	+
1,234	C	+	+	a	U	A	+	+	+	+	+

[a]A plus sign in a column means that the group has the same base as the consensus sequence. If the letter is given in upper case, it is changed in more than 90% of the cases. A lowercase letter signifies a minor occurrence base (< 15% of the cases).

Prises d'empreintes génomiques

- La prise d'empreintes génomiques n'implique pas de séquençage nucléotidique .

- Deux principales approches existent:
  1)**Polymorphisme de longueur de fragments de restriction (RFLP)** et
  2)**rep-PCR** (BOX-PCR, ERIC-PCR et REP-PCR).



Réaction de polymérase en chaîne



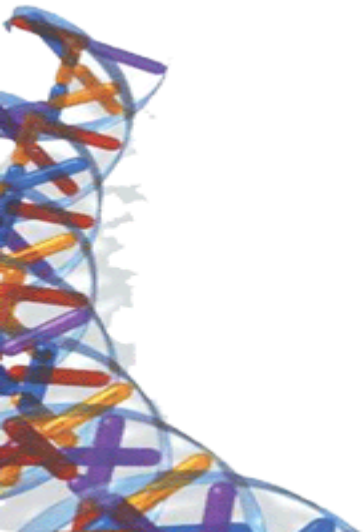
Si on connaît la séquence de certaines portions d'un gène ou d'un fragment d'ADN d'intérêt, on peut l'amplifier en conditions *in vitro*. Cette procédure s'appelle la réaction de polymérase en chaîne (PCR ou *polymerase chain reaction* en anglais).

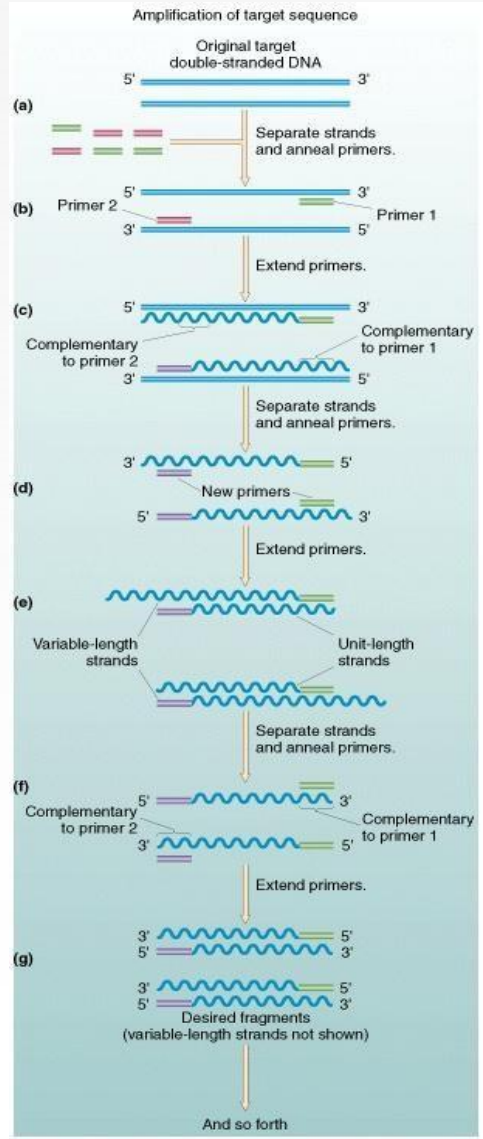
Étapes de la réaction:

1)Dénaturation (95°C)
étape qui dénature les deux fragments d'ADN

2)Hybridation (température variable) étape où les amorces s'hybrident à leurs séquences complémentaires

3)Élongation (72°C)
Extension des amorces par l'ADN polymérase

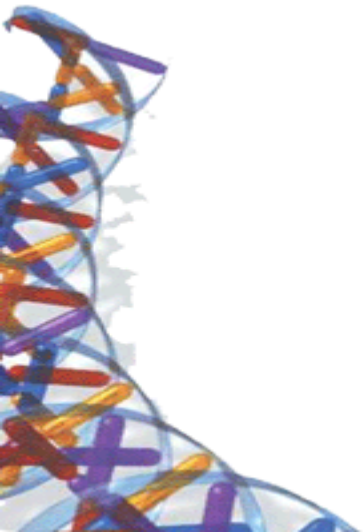




Les enzymes de restriction



- Enzymes qui clivent l'ADN
- Reconnaissent des séquences nucléotidiques spécifiques
- 1ère enzyme découverte chez *Haemophilus influenzae* en 1970
- Différentes enzymes sont disponibles commercialement
- Nomenclature: BamHI
  - B première lettre du genre bactérien (*Bacillus*)
  - am lettres de l'espèce bactérienne (*amyloliquefaciens*)
  - H représente la souche ba
  - I première enzyme découv

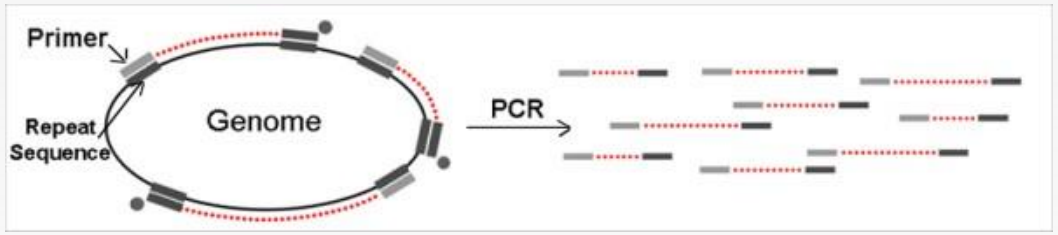


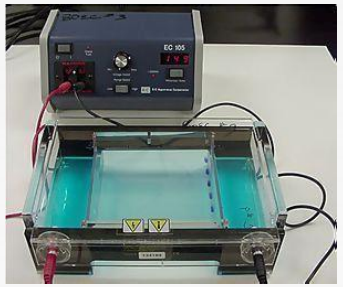
Some restriction enzymes

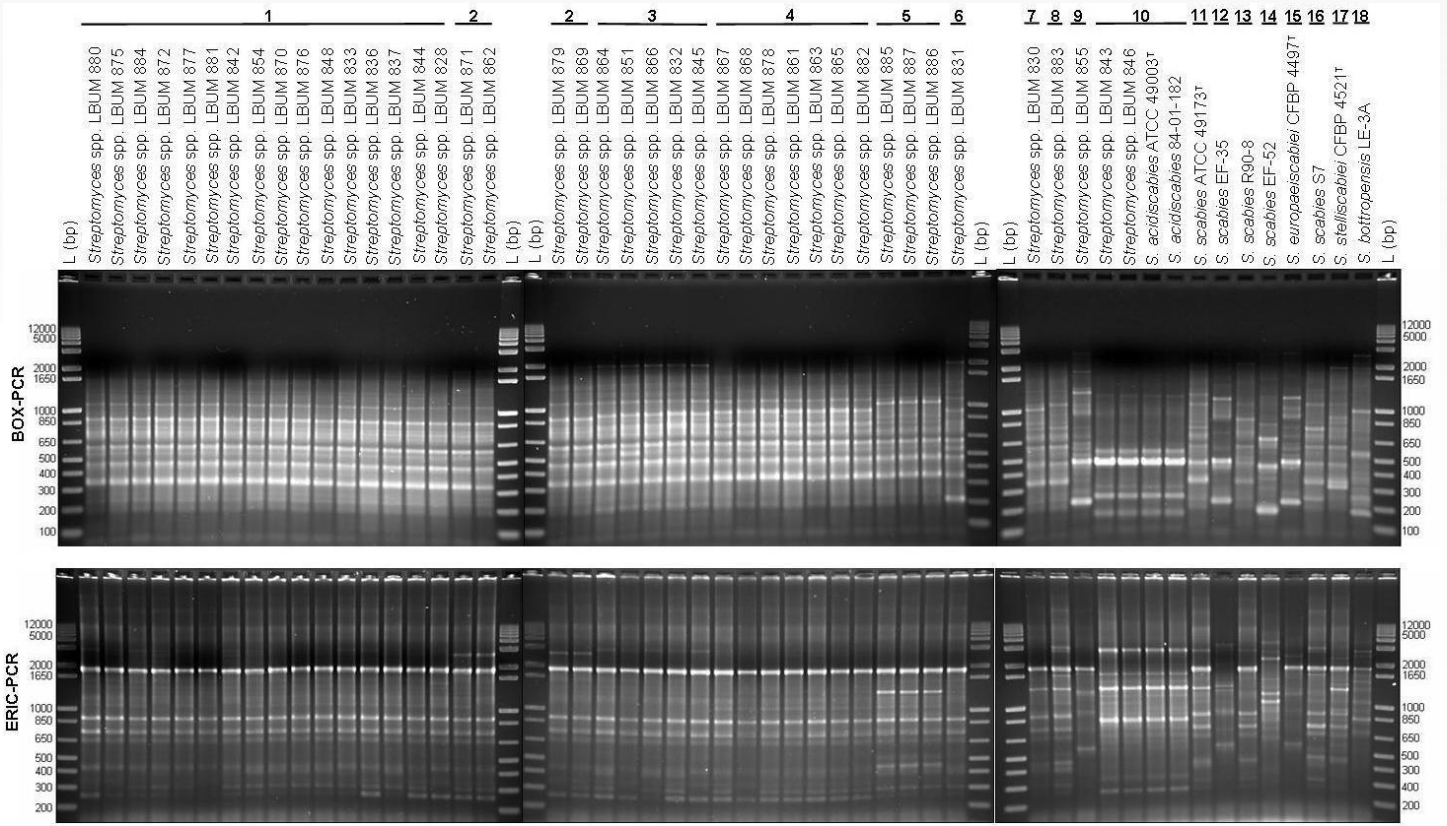
Enzyme	Source organism	Restriction recognition site in double-stranded DNA	Structure of the cleaved products
(a)			
EcoRI	*Escherichia coli*	5′ —G—A—A—T—T—C— 3′ 3′ —C—T—T—A—A—G— 5′	—G 5′ A—A—T—T—C— —C—T—T—A—A 5′ G— 5′ overhang
PstI	*Providencia stuartii*	5′ —C—T—G—C—A—G— 3′ 3′ —G—A—C—G—T—C— 5′	—C—T—G—C—A 3′ G— —G 3′ A—C—G—T—C— 3′ overhang
SmaI	*Serratia marcescens*	5′ —C—C—C—G—G—G— 3′ 3′ —G—G—G—C—C—C— 5′	—C—C—C G—G—G— —G—G—G C—C—C— Blunt ends
(b)			
HaeIII	*Haemophilus aegyptius*	5′ —G—G—C—C— 3′ 3′ —C—C—G—G— 5′	—G—G 5′ C—C— —C—C 5′ G—G— Blunt ends
HpaII	*Haemophilus parainfluenzae*	5′ —C—C—G—G— 3′ 3′ —G—G—C—C— 5′	—C C—G—G— —G—G—C 5′ C— 5′ overhang

Rep-PCR




Primer
Repeat Sequence
Genome
PCR

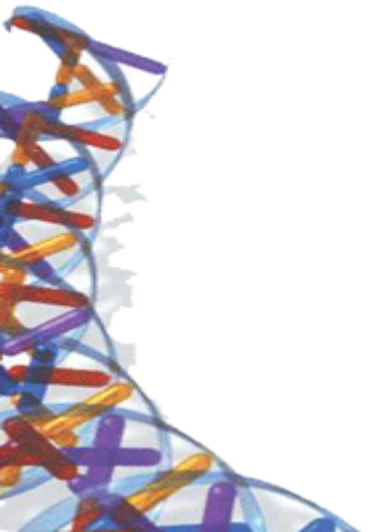



BOX-PCR
ERIC-PCR
L (bp)
Streptomyces spp. LBUM 880
Streptomyces spp. LBUM 875
Streptomyces spp. LBUM 884
Streptomyces spp. LBUM 872
Streptomyces spp. LBUM 877
Streptomyces spp. LBUM 881
Streptomyces spp. LBUM 842
Streptomyces spp. LBUM 854
Streptomyces spp. LBUM 870
Streptomyces spp. LBUM 876
Streptomyces spp. LBUM 848
Streptomyces spp. LBUM 833
Streptomyces spp. LBUM 836
Streptomyces spp. LBUM 837
Streptomyces spp. LBUM 844
Streptomyces spp. LBUM 828
Streptomyces spp. LBUM 871
Streptomyces spp. LBUM 862
Streptomyces spp. LBUM 879
Streptomyces spp. LBUM 869
Streptomyces spp. LBUM 864
Streptomyces spp. LBUM 851
Streptomyces spp. LBUM 866
Streptomyces spp. LBUM 832
Streptomyces spp. LBUM 845
Streptomyces spp. LBUM 867
Streptomyces spp. LBUM 868
Streptomyces spp. LBUM 878
Streptomyces spp. LBUM 861
Streptomyces spp. LBUM 863
Streptomyces spp. LBUM 865
Streptomyces spp. LBUM 882
Streptomyces spp. LBUM 885
Streptomyces spp. LBUM 887
Streptomyces spp. LBUM 886
Streptomyces spp. LBUM 831
Streptomyces spp. LBUM 830
Streptomyces spp. LBUM 883
Streptomyces spp. LBUM 855
Streptomyces spp. LBUM 843
Streptomyces spp. LBUM 846
S. acidiscabies ATCC 49003T
S. acidiscabies 84-01-182
S. scabies ATCC 49173T
S. scabies EF-35
S. scabies R90-8
S. scabies EF-52
S. europaeiscabiei CFBP 4497T
S. scabies S7
S. stelliscabiei CFBP 4521T
S. bottropensis LE-3A
12000
5000
2000
1650
1000
850
650
500
400
300
200
100

Séquençage des protéines



- **Déterminer la séquence en acides aminés de protéines ayant la même fonction.**
- **Méthodes indirectes:**
  - **Comparer la mobilité électrophorétique des protéines.**
  - **Déterminer les propriétés immunologiques des protéines.**
  - **Comparer des propriétés enzymatiques.**

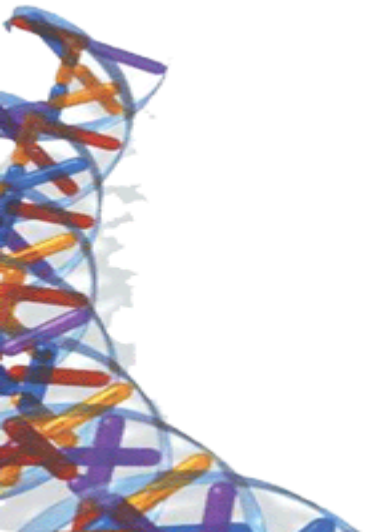


Résolution taxinomique des différentes techniques moléculaires



Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

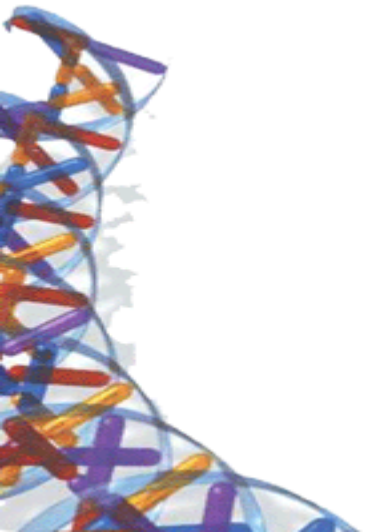
Family	Genus	Species	Subspecies	Strain
Genome sequencing				
16S rDNA sequencing				
	Mol% G+C			
	DNA-DNA hybridization			
		Multilocus sequence typing		
		Whole cell protein profiling		
		Genomic fingerprinting		



L'évolution de la phylogénie microbienne



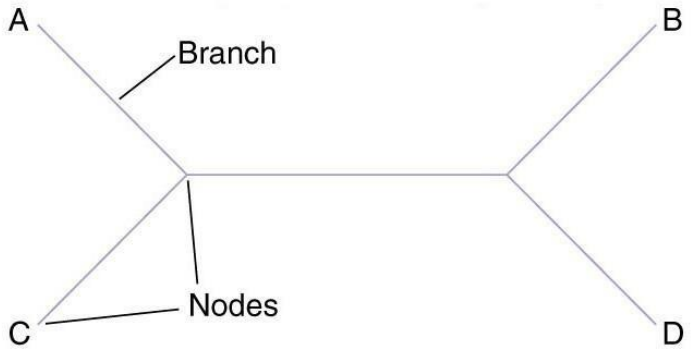
- **Chronomètres moléculaires**
  - **Les séquences d'acides nucléiques et de protéines changent avec le temps et sont considérées comme des chronomètres moléculaires.**
  - **Ceci est basé sur l'hypothèse qu'il existe une horloge de l'évolution.**
    - **Les séquences changent au cours du temps sans que leurs fonctions soient perdues ou fortement modifiées.**
    - **On suppose que de tels changements sont neutres en terme de sélectivité.**
    - **Le nombre de changement augmente de façon linéaire avec le temps.**
  - **Problèmes avec les chronomètres moléculaires:**
    - **La vitesse du changement des séquences peut varier.**
      - **Différentes molécules ou diverses parties d'une même molécule peuvent changer à des vitesses différentes.**



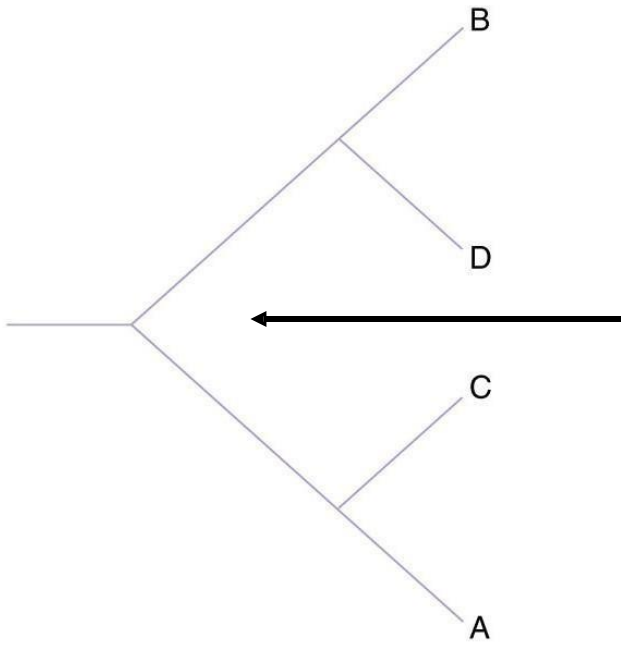
Les arbres phylogénétiques



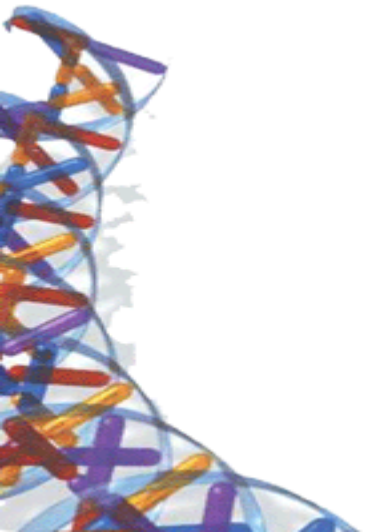
Noeuds = Unités taxinomiques (i.e., espèce ou genre)



Noeuds terminaux = Organismes vivants



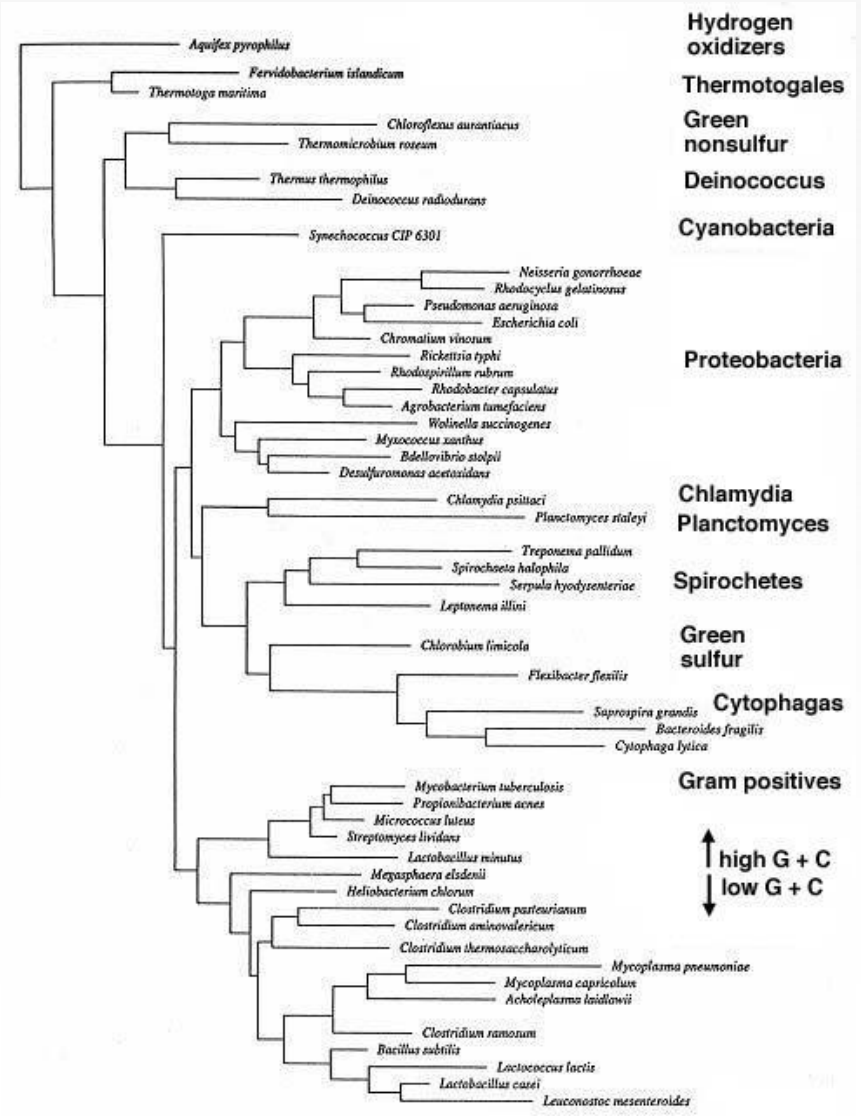
Arbres racinés = Comporte un noeud qui sert d'ancêtre commun



Créer un arbre phylogénétique à partir de données moléculaires



- Aligner les séquences.
- Déterminer le nombre de positions qui varient entre les séquences.
- Exprimer cette différence
  - i.e., distance évolutive
- Utiliser cette mesure de différence pour créer un arbre phylogénétique.

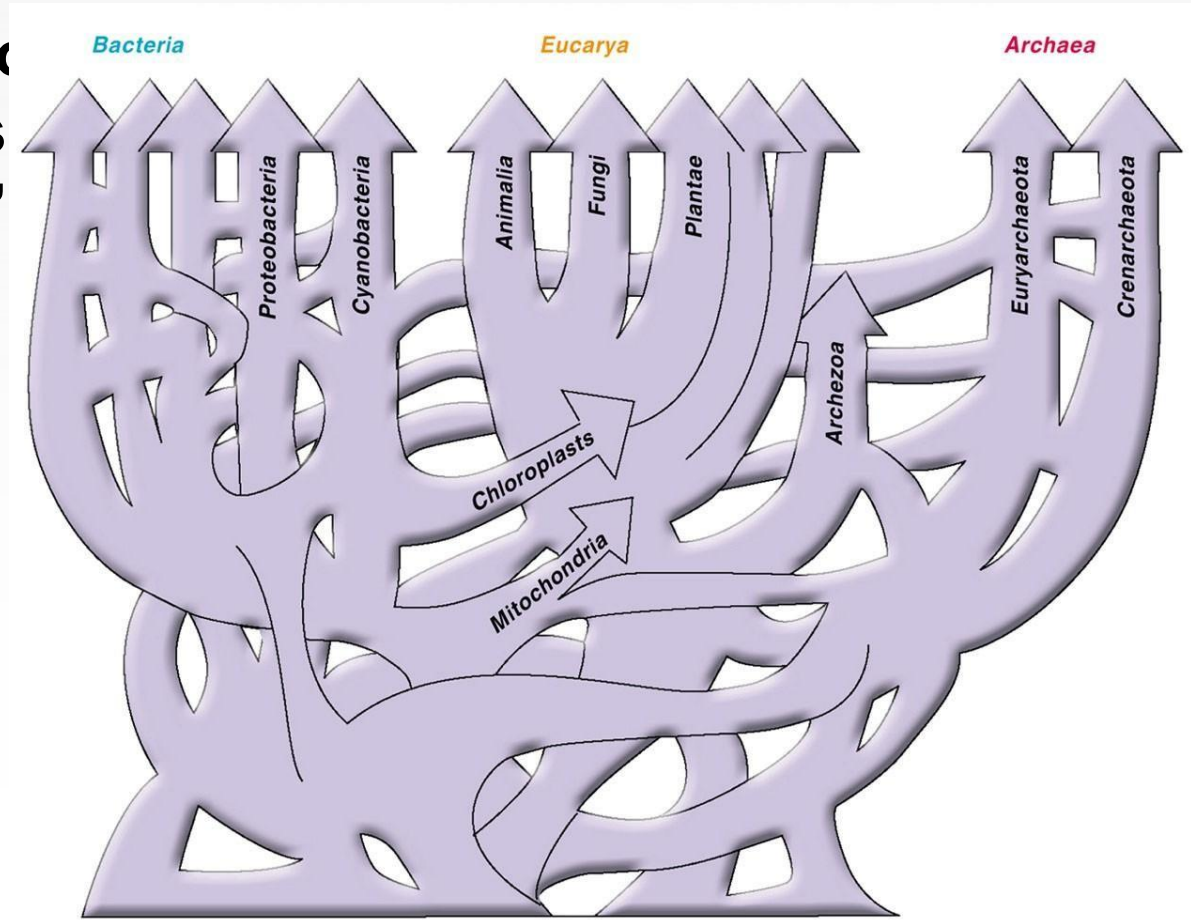


Les transferts génétiques horizontaux



- **Un transfert génétique horizontal considérable a lieu à l'intérieur et entre les domaines.**

- **Le pattern de l'évo**
n'est donc pas auss
qu'on ne l'avait d'

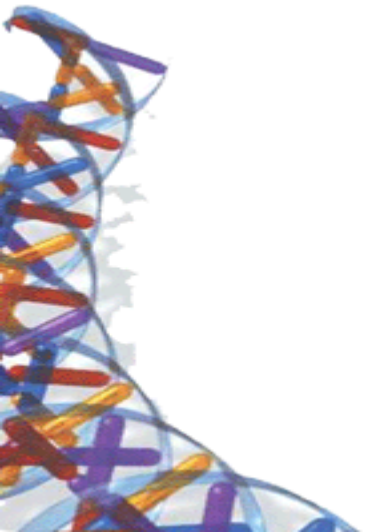




Le *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*

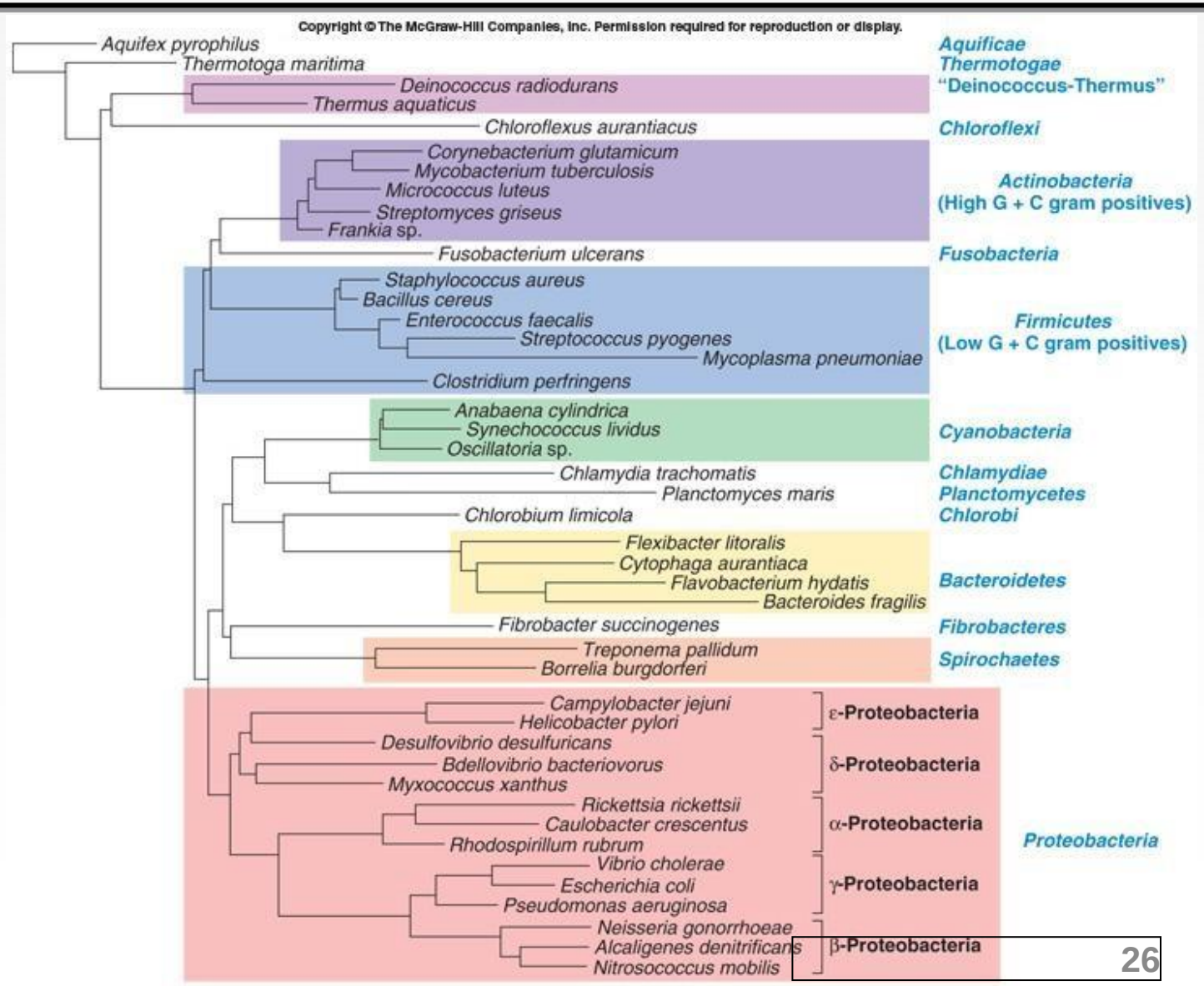


- **Travail détaillé comportant des descriptions de toutes les espèces procaryotes actuellement identifiées.**
- **La première édition du *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology***
  - **Principalement phénétique.**
- **La deuxième édition du *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology***
  - **Principalement phylogénique plutôt que phénétique.**



La phylogénie des bactéries (*Bacteria*)

25 Phyla



Chapitre 4
Nutrition et métabolisme bactériens

A. NUTRITION BACTERIENNE.

Définition

Les bactéries se nourrissent :

*** de substances organiques simples (acides aminés, glucides, acides gras, vitamines, hydrocarbures, ect.) et**

*** de certaines substances inorganiques (phosphates, soufre, nitrates, ect.).**

*** Plusieurs types de bactéries sécrètent des enzymes digestives qui leurs permettent d'absorber certains constituants alimentaires plus ou moins complexes .**

Besoins nutritifs des bactéries

• Les bactéries se nourrissent à partir des aliments présents dans les milieux de culture et dans des conditions physico-chimique bien précises

• les besoins nutritifs des bactéries sont de deux types :

* Besoins élémentaires

- eau,
- une source d'énergie,
- une source de carbone,
- une source d'azote et
- éléments minéraux .

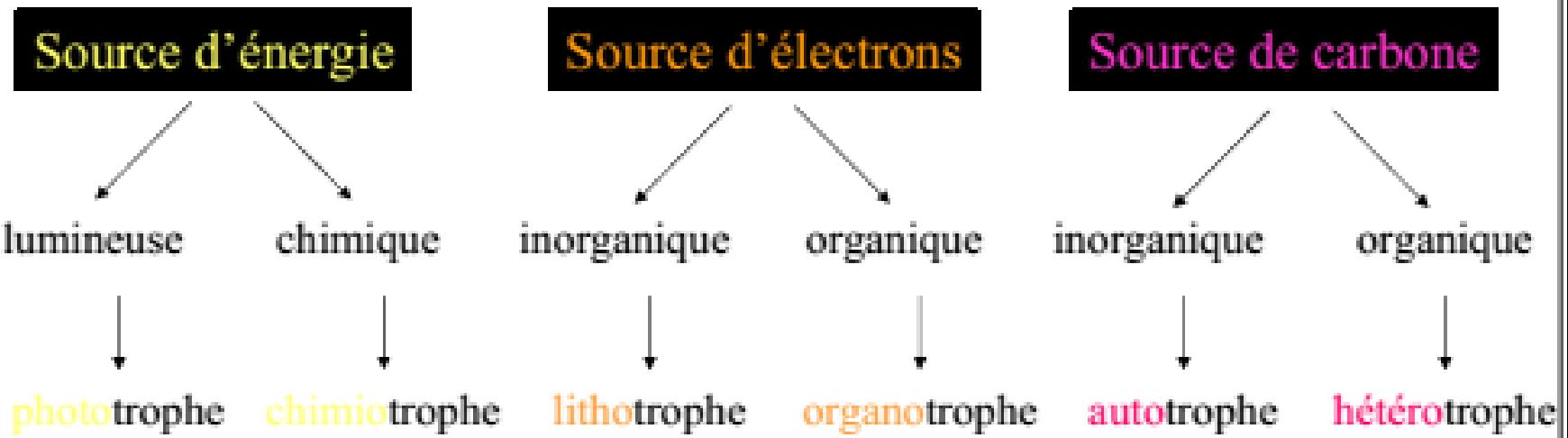
Besoins communs à toutes les bactéries

* Besoins spécifiques

- facteurs de croissance

Besoins essentiels pour certains types de bactéries

Diversité de types trophiques



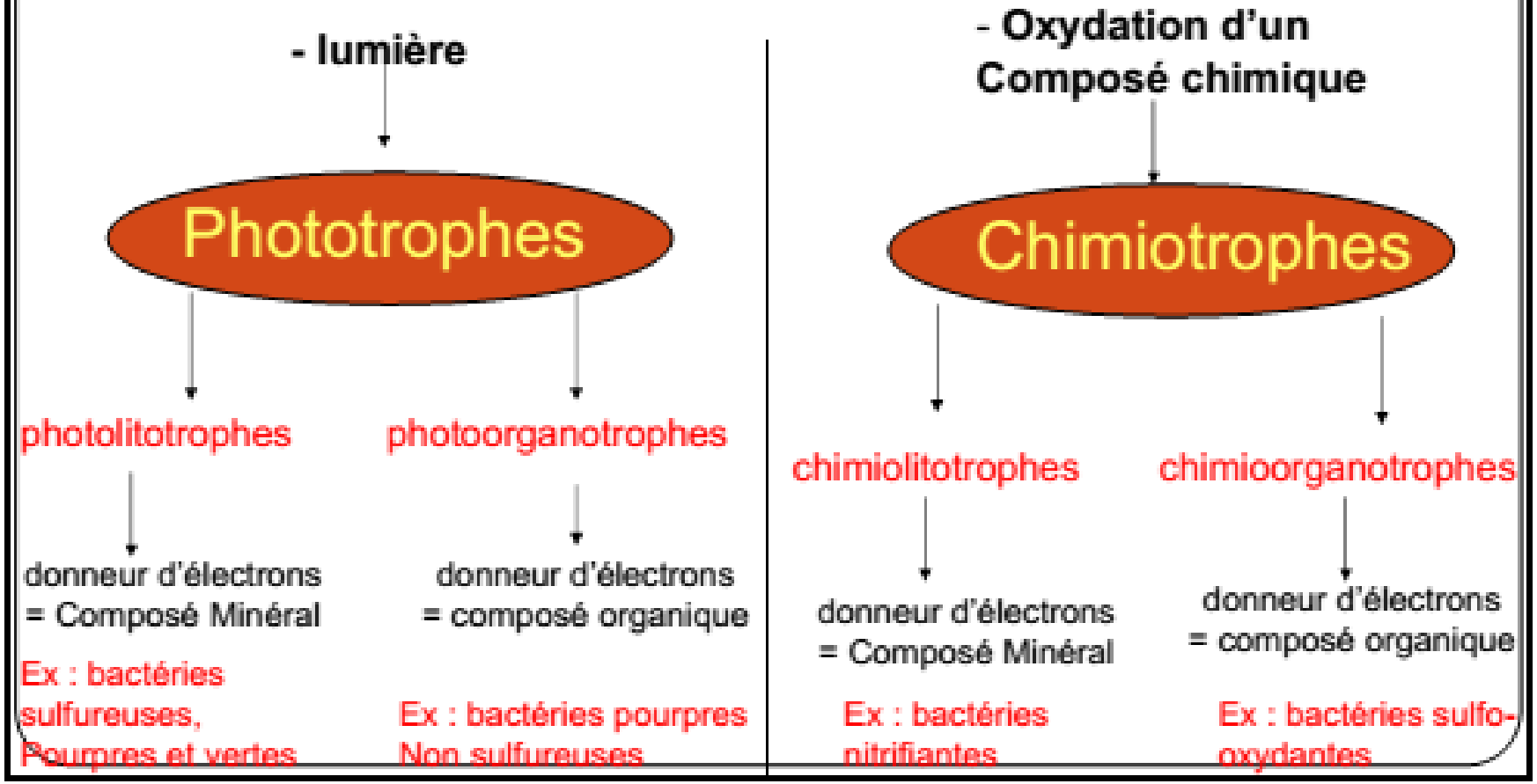
Types majoritaires : photolithoautotrophe, photoorganohétérotrophe, chimiolithoautotrophe, chimioorganohétérotrophe

Types minoritaires (mixotrophes) : photolithohétérotrophe, photoorganoautotrophe, chimiolithohétérotrophe, chimioorganoautotrophe

A. Besoins élémentaires

Selon la nature des besoins nutritifs, on définit différentes catégories de bactéries : ce sont les types trophiques

1) Source d'énergie



2) Source de carbone

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

Selon la source de carbone on distingue :



Se développent en milieu inorganique
CO_2 = seule source de carbone

Exigent des composés organiques
Pour se reproduire

2) Source d'azote

• La synthèse des protéines nécessite des substances azotées .

• La source d'azote peut être :



nodules de Rhizobium sur des racines

* L'azote moléculaire :

- bactéries vivant en symbiose avec des légumineuses (*Rhizobiom*)

- bactéries jouant un rôle dans la fertilisation des sols. (*Azotobacter)*



* **composés inorganiques** (ammoniac, sels d'ammonium, nitrites, nitrates)

* **sources organiques** (groupements amines des composés organiques

Chez la majorité des bactéries

3) Eléments minéraux

- Le souffre et le phosphore sont particulièrement importants .

  * Le souffre est présent dans certains acides aminés (groupement thiol) et il est incorporé sous forme de sulfate ou de composés souffrés organiques.

  * Le phosphore fait partie des acides nucléiques, de nombreuses coenzymes et de l'ATP. il est incorporé sous forme de phosphate inorganique .

- Le sodium, le potassium, le magnésium et le chlore jouent un rôle dans l'équilibre physico-chimique de la cellule

- le fer, le manganèse, le molybdène, le calcium, le vanadium ou le cobalt sont des oligoéléments nécessaires à des concentrations très faibles .

B. Besoins spécifiques = facteurs de croissance

• les bactéries capables de croitre en présence d'eau, d'une source d'énergie, d'une source de carbone, d'une source d'azote et d'éléments minéraux sont qualifiées de prototrophes.

• Les bactéries nécessitant, en plus, un ou plusieurs facteurs de croissance qu'elles sont incapables de synthétiser sont dites auxotrophes

Définition

Un facteur de croissance est un élément indispensable à la croissance

De la bactérie (auxotrophe pour ce facteur). Il doit être présent dans

l'environnement car la bactérie est incapable de le synthétiser .

Nature des facteurs de croissance

Les facteurs de croissance	Besoins quantitatifs
• des bases puriques ou pyrimidiques,	10 µg/ml
• des acides gras,	10 µg/ml
• des acides aminés,	10 µg/ml
• des vitamines (coenzymes, précurseurs de coenzymes, groupements prosthétiques de diverses enzymes)	1 µg/ml

* Si une bactérie a besoin d'un facteur de croissance, ce dernier doit être introduit dans le milieu de culture

* Quelques fois les besoins en facteur de croissance d'une espèce bactérienne peuvent être satisfaits par la présence dans le milieu d'une autre espèce capable de synthétiser ce facteur : c'est le phénomène de Syntrophie

Exemple : la culture sur la même boite de :

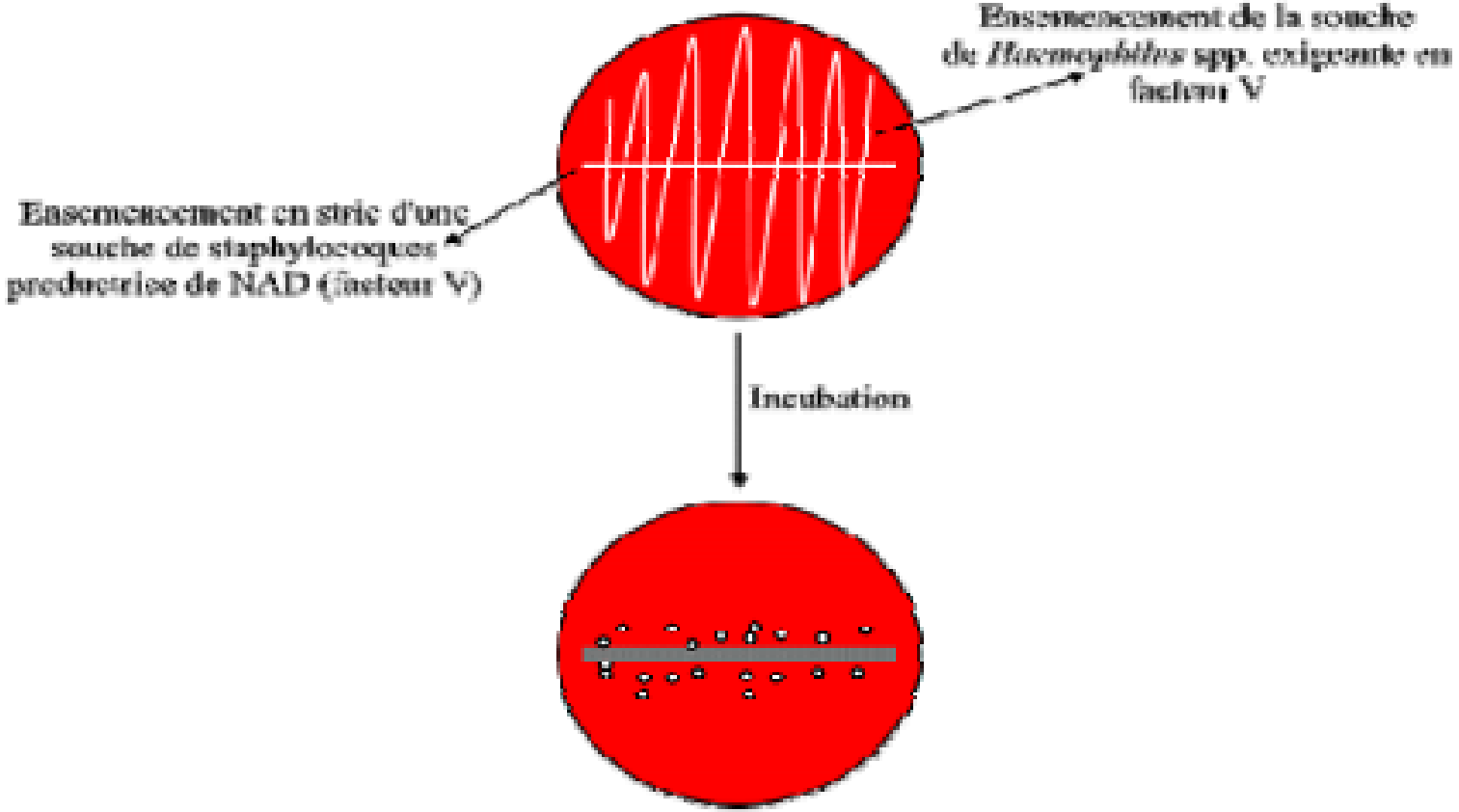
* *Haemophilus spp* = bactérie auxotrophe au facteur V (NAD)

* *Staphyloccoque* = bactérie productrice de NAD

Donne une culture en satellite de *Haemophilus spp*

Un exemple de syntrophie

Croissance d'une souche de *Haemophilus* spp. exigeante en facteur V



Après incubation, la culture de la souche de *Haemophilus* spp. n'est observée qu'à proximité de la culture de la souche de staphylocoques

C. facteurs physiques

• On appelle facteurs physiques les facteurs qui relèvent de l'environnement

* ces facteurs peuvent favoriser, empêcher ou inhiber la nutrition et la croissance bactérienne

- Eau
- température
- pH
- oxygène
- pression osmotique

a) Eau :

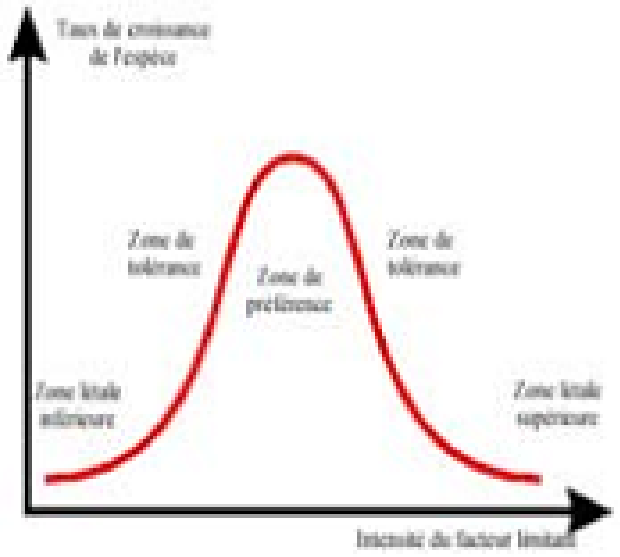
* représente 80 % des constituants cellulaires,
* indispensable au développement
* solvant des nutriment et agent des réactions d'hydrolyse

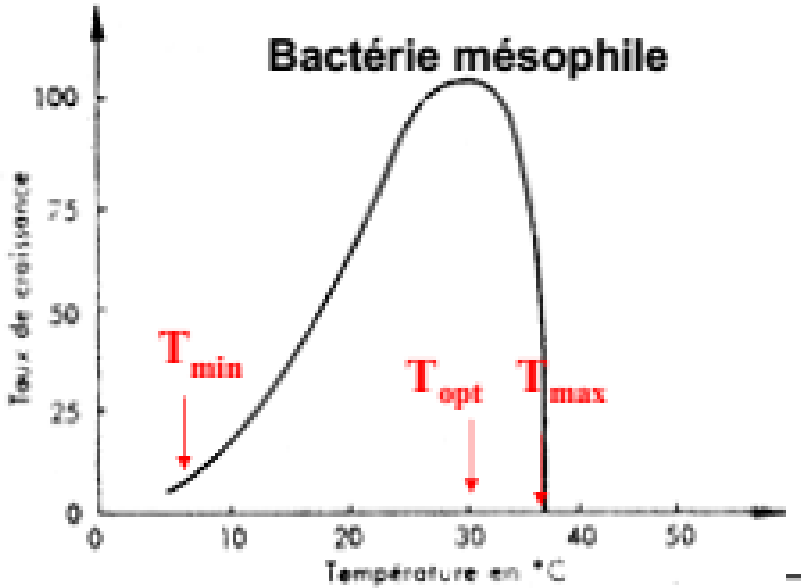
b) Température

* Elle influence aussi bien la multiplication que le métabolisme bactérien

* Les différentes espèces bactériennes ont une température

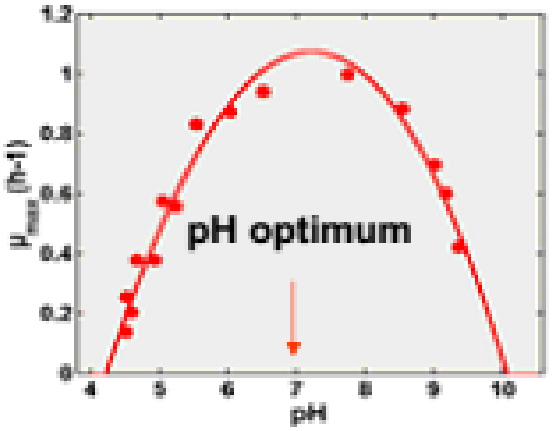
* **minimale** : à laquelle elles peuvent se développer
* **optimale** : c'est la meilleure à laquelle elles peuvent se développer
* **maximale** : au-delà de laquelle elles ne peuvent se développer





c) Le pH

* Il influence l'équilibre ionique du milieu, les réactions métaboliques
Et l'activité enzymatique



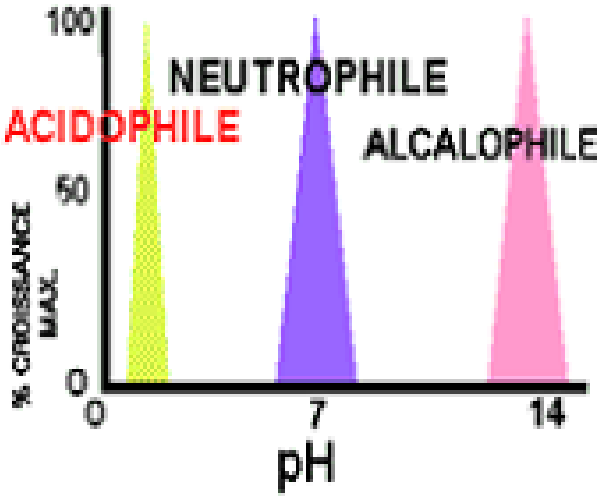
•Les milieux de culture doivent avoir un pH favorable à la croissance de l'espèce recherchée.
C'est la raison pour laquelle ces derniers contiennent Généralement des tampons (ex : K_2HPO_4 , KH_2PO_4)

* Selon leur pH optimale de croissance on distingue des bactéries :

- Acidophiles (1– 4)

- Neutrophiles (5,5 – 8,5)

- Basophiles (alcalophiles) (8,5 à 11,5)

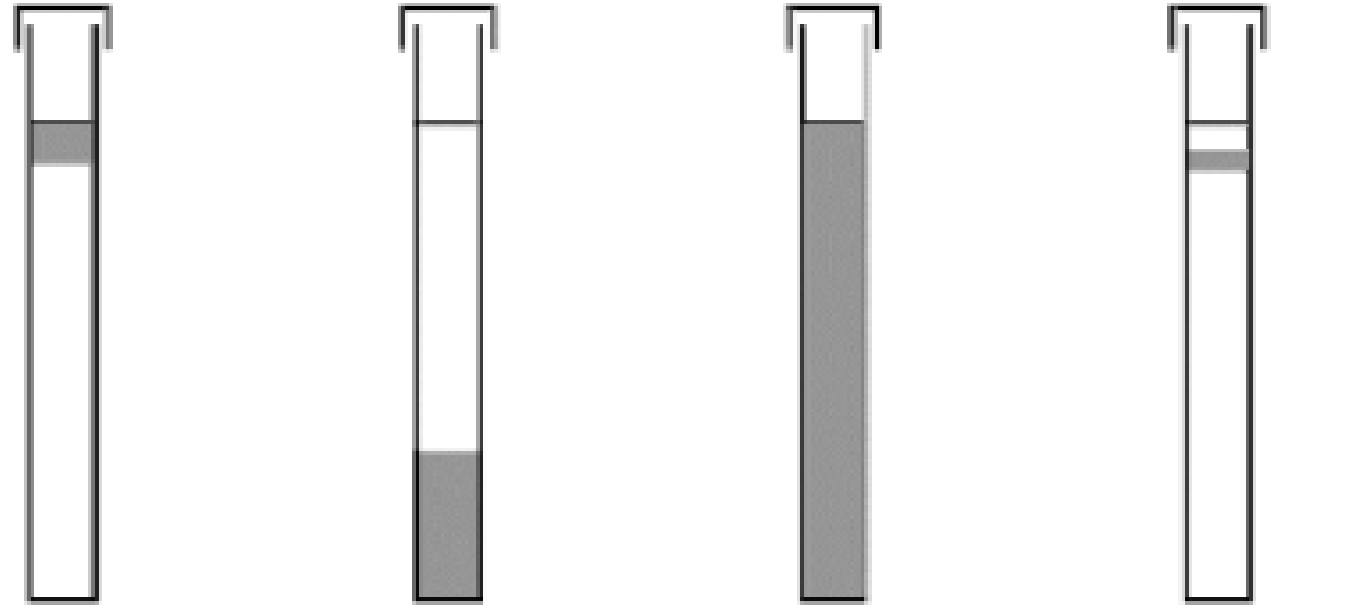


d) oxygène

* En fonction de leur exigence en oxygène, on distingue 4 types respiratoires de bactéries :

- Aérobies stricts : exigent l'oxygène libre pour leur croissance
- Aéro-anaérobies (anaérobies facultatives) : capables de croitre avec ou sans oxygène libre.
- Anaérobies stricts : ne peuvent pas se multiplier en présence d'oxygène libre
- Microaérophiles : se multiplient en présence d'une faible tension d'oxygène

* Mise en évidence du type respiratoire des bactéries



Aérobie | Anaérobie | Aéro-anaérobie ou anaérobie-aérotolérante | Microaérophile

Les milieux utilisés doivent contenir du glucose et ne pas contenir de nitrates qui pourraient servir d'accepteurs et permettre le développement en anaérobiose de certaines bactéries aérobies comme les *Pseudomonas* spp.

Le milieu le plus utilisé est la gélose viande-foie. Ce milieu est coulé dans des tubes longs et étroits. Avant ensemencement, les tubes sont régénérés dans un bain-marie bouillant durant 20 minutes, capsule déviasée, afin de chasser l'oxygène contenu dans le milieu. Les milieux sont ensemencés sur toute la hauteur des tubes (pipette Pasteur boutonnée) lorsque leur température est d'environ 45 °C.

La lecture est effectuée après incubation d'au moins 18 heures à une température compatible avec la multiplication de la bactérie à étudier.

e) La pression osmotique

* La plupart des bactéries sont insensibles à la pression osmotique

(protégée par la paroi rigide)

* Seules les bactéries marines adaptées à une concentration de 35 g/l de

NaCl sont sensibles aux variations de ce paramètre.

•Selon cette sensibilité on distingue

- les non-halophiles : (NaCl < 0,2 M) (entérobactéries)
- les halophiles : 0,2 <NaCl<5,2 M (*Ps. Marina, Halobacterium salinarium*)
- Les halotolérants : NaCl élevée (*Staphyloccus*)

Généralités sur les Milieux de culture

* La mise au point des milieux de culture est une étape importante En microbiologie

* C'est grâce aux milieux de culture que l'étude des bactéries

Est passée du simple examen microscopique à l'isolement,

et de là à l'identification de bactéries

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 DES MILIEUX DE CULTURE

1) Composition chimique

Naturels ou Complexes	Semi-synthétiques	Synthétiques
- Composition chimique non définie (Extraits de Matière Organique + Glucose) -Exemples : Gélose nutritive -Types : Extraits de Levure Peptones pepsiques Peptones trypsiques Peptones pancréatiques	Milieu synthétique + Extrait de Levure Exemple : Citrate de Kristensen	- Composition chimique bien définie Exemple :Citrate de Simmons

LES MILIEUX D'ISOLEMENT DES COQUES GRAM +

Le gélose trypticase soja

Composition

Peptone trypsique de caséine	15 g	Source de C et N
Peptone papaïnique de soja	5 g	
Chlorure de sodium	5 g	Source minérale
Agar (gélose)	15 g	
ED	qsp 1 L	

pH = 7,2

Milieu d'isolement riche qui convient à tous les microorganismes
Non exigeants

2) 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).

3) 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 SS)

* les milieux d'identification (ex. milieu TCBS)

* les milieux de conservation

* les milieux de transport