❸ Constantes et expression de la croissance

La croissance d'une bactérie est définie par 2 constantes:

- *Le temps de génération*

  C'est le temps qui sépare 2 divisions successives (= temps nécessaire au doublement de la population).

$$G = t/n$$

t = *temps de croissance* (connu) et n = nombre de divisions

Ex. chez *E. coli* : G = 20 min

- *Le taux de croissance*

  C'est le nombre de divisions par unité de temps.

$$\mu = n/t \quad \text{donc} \quad \mu = 1/G$$

μ est exprimé en nombre de divisions/unité de temps

Ex. chez *E. coli* : μ = 3 div./h

❹ Expression mathématique de la croissance

Temps	*nombre de Bactéries*	
t_0	$N_0 = 1N_0$	$2^0 N_0$
t_1	$N_1 = 2N_0$	$2^1 N_0$
t_2	$N_2 = 2 \times 2 \times N_0$	$2^2 N_0$
t_3	$N_3 = 2 \times 2 \times 2 \times N_0$	$2^3 N_0$
t_4	$N_4 = 2 \times 2 \times 2 \times 2 \times N_0$	$2^4 N_0$
⋮		
t_n	$N_n = \underbrace{2 \times 2 \times 2 \times 2 \times \ldots}_{n \text{ fois}} N_0$	$2^n N_0$

(n = nombre divisions et N_0= nombre de bactéries à t_0)

$N = 2^n N_0$ (avec $\mu = n/t$ et $n = \mu t$) donc **$N = 2^{\mu t} N_0$**

❺ Représentation graphique de la Courbe de croissance

La croissance bactérienne est représentée par un graphe :

N = f(t) ou DO = f(t) ou autres

☞ *Représentation arithmétique*: $N = f(t)$

A t_0 correspond N_0 (ordre 10^5 à 10^6)

A t_1 correspond $N_1 = 2N_0$ ($2\ 10^5$ à $2\ 10^6$) avec $t_1 - t_0 = G$

A t_2 correspond $N_2 = 4N_0$ ($4\ 10^5$ à $4\ 10^6$) avec $t_2 - t_1 = G$

Courbe:

Nombre élevés posent un problème pour une échelle arithmétique

Expression logarithmique

$$N = 2^n N_0 \text{ (avec } \mu = n/t \text{ et } n = \mu t) \text{ donc } N = 2^{\mu t} N_0$$

$$\log N = \log 2^n N_0 \Rightarrow (n = \mu t) \Rightarrow \log N = \log 2^{\mu t} N_0$$

$$\Rightarrow \log N = \log 2^{\mu t} + \log N_0 \Rightarrow \log N = \mu\, t \log 2 + \log N_0$$

μ, $\log 2$ et $\log N_0$: Constante

Constante ⇐ Équation d'une droite ⇐ $y = a x + b$

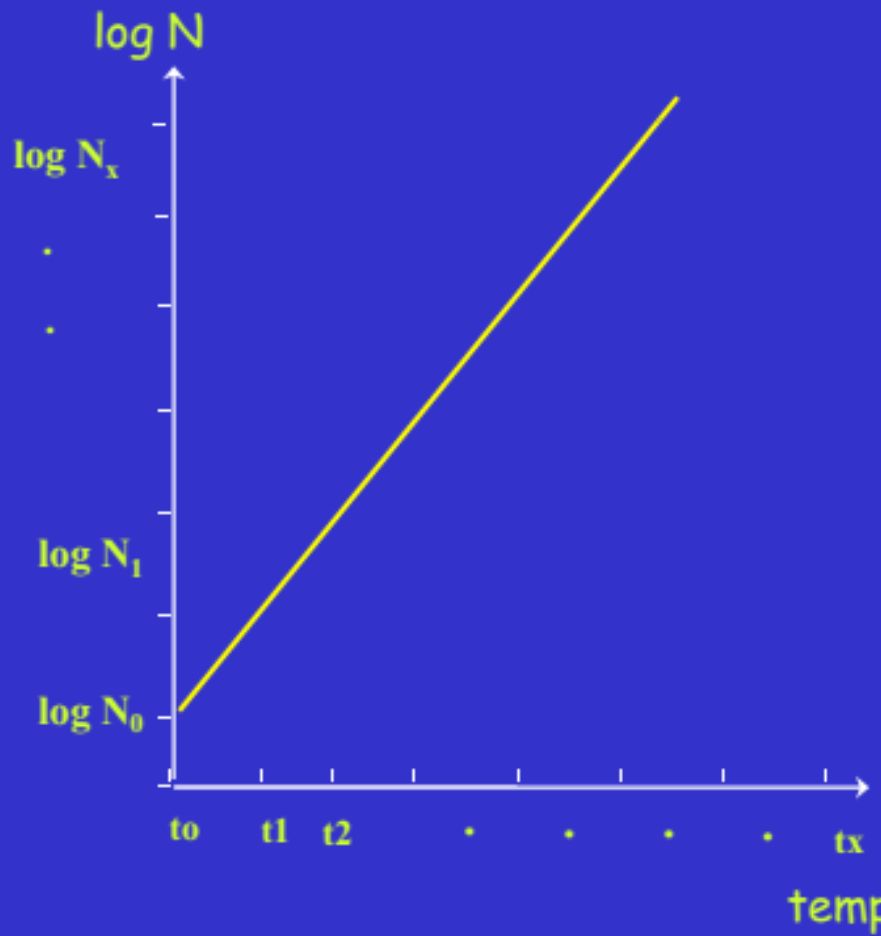
Pente de la droite: $P = a = \mu \log 2 \Rightarrow \mu = P / \log 2$

$$\mu = \frac{\log N - \log N_0}{t \log 2}$$

☞ *Représentation logarithmique*

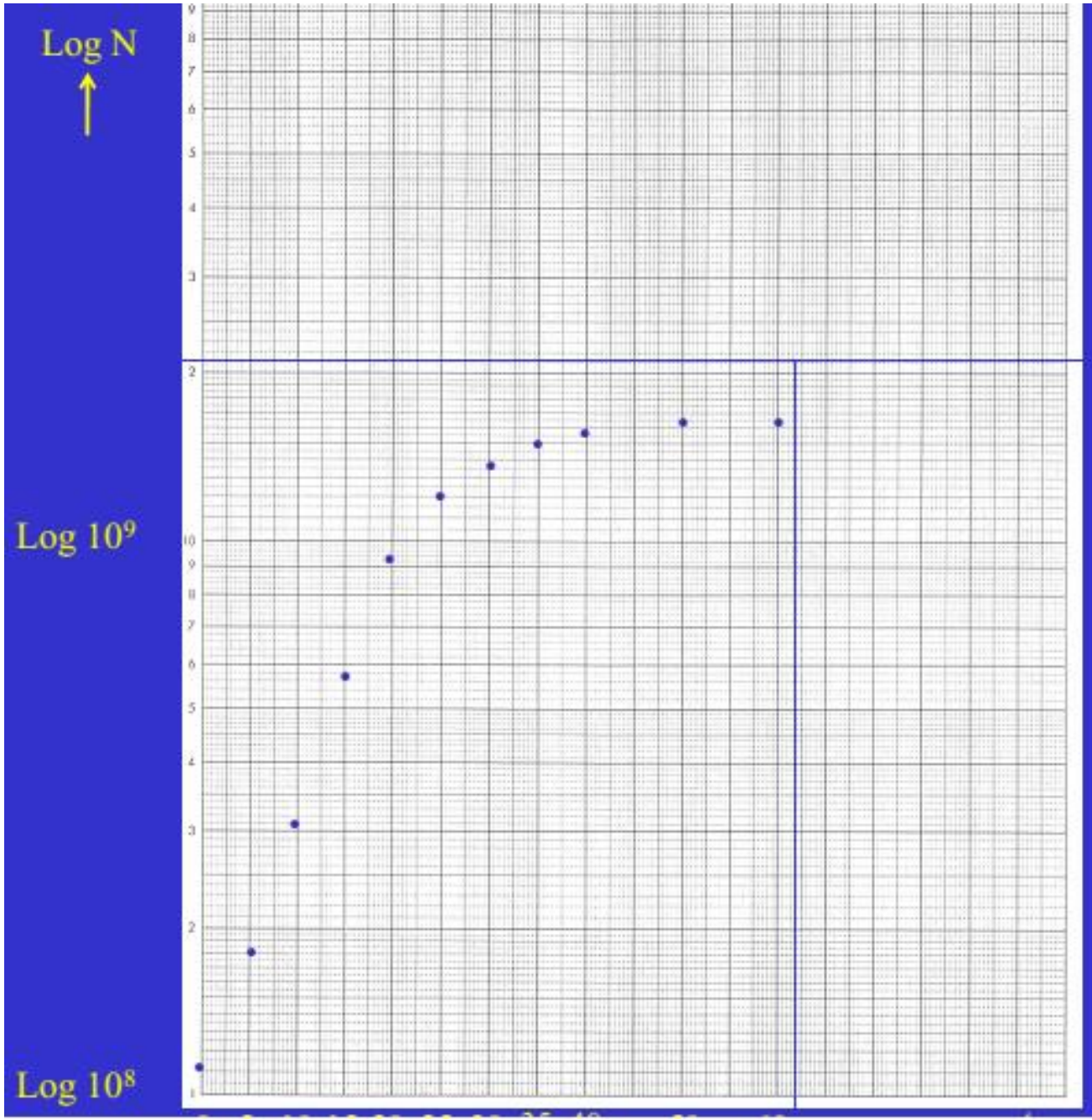
Courbe: log N = f (temps)

Echelle logarithmique



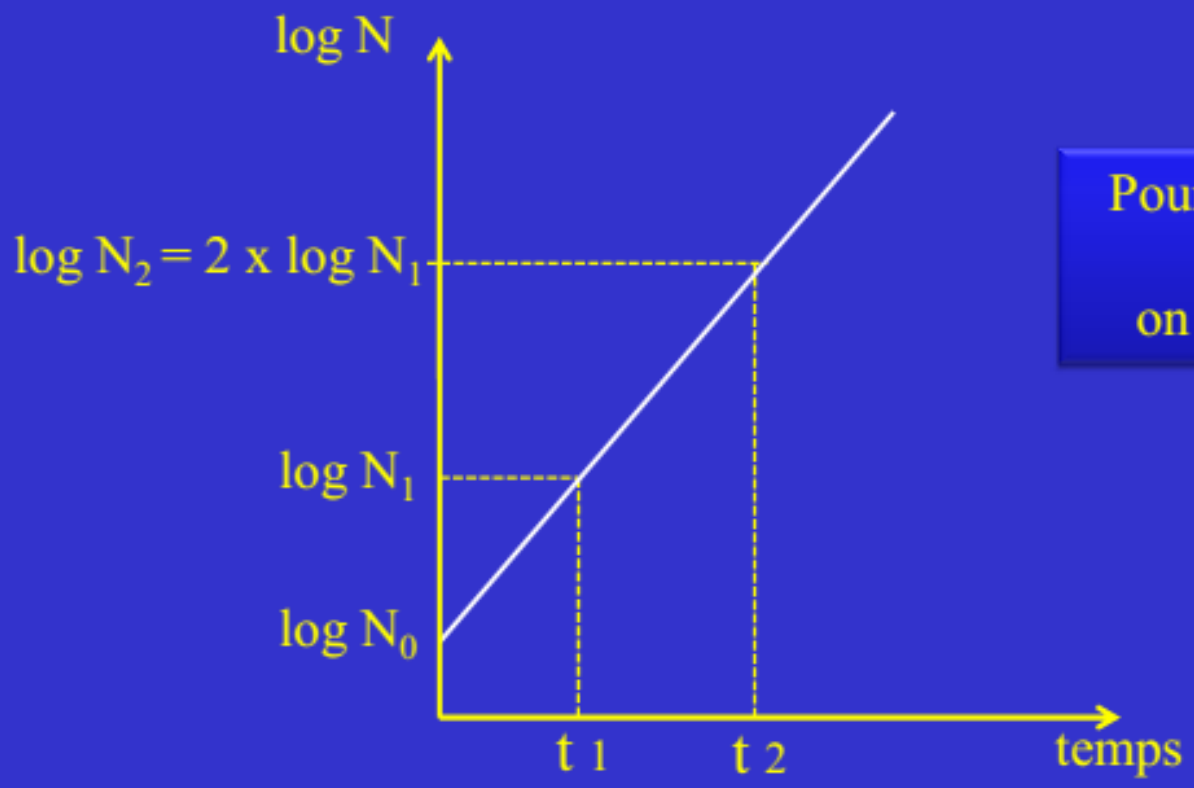
Echelle arithmétique

⊘ *Tracer la courbe sur un papier semi-logarithmique*



Temps en heure (H)	Nombre bactéries ml
0	$1,1\ 10^8$
5	$1,8\ 10^8$
10	$3,1\ 10^8$
15	$5,4\ 10^8$
20	$9,2\ 10^8$
25	$1,2\ 10^9$
30	$1,4\ 10^9$
35	$1,55\ 10^9$
40	$1,6\ 10^9$
50	$1,65\ 10^9$
60	$1,65\ 10^9$

❻ Détermination théorique des paramètres



Pour G, prendre N2 = 2 N1

on a alors G = t2 - t1

Pour calculer μ: $\mu = \frac{\log N2 - \log N1}{(t2 - t1) \log 2}$

Ou

$\mu = 1/G$

Eviter de prendre en considération le No.

✺ *La croissance n'est pas toujours exponentielle.*

Justification:

E. coli, à 37°C, *G* est de 20 min

$\mu = 1/G = 1/20 = 0{,}05$ div / min = 3 div / heure

Après 48 heures de croissance exponentielle et si on part au t0 d'une seule bactérie ($N_0 = 1$):

$\text{Log } N = \mu t \log 2 + \log No$ $\quad$ $\text{Log } N = 3 \times 48 \times 0{,}301 = 43{,}344$

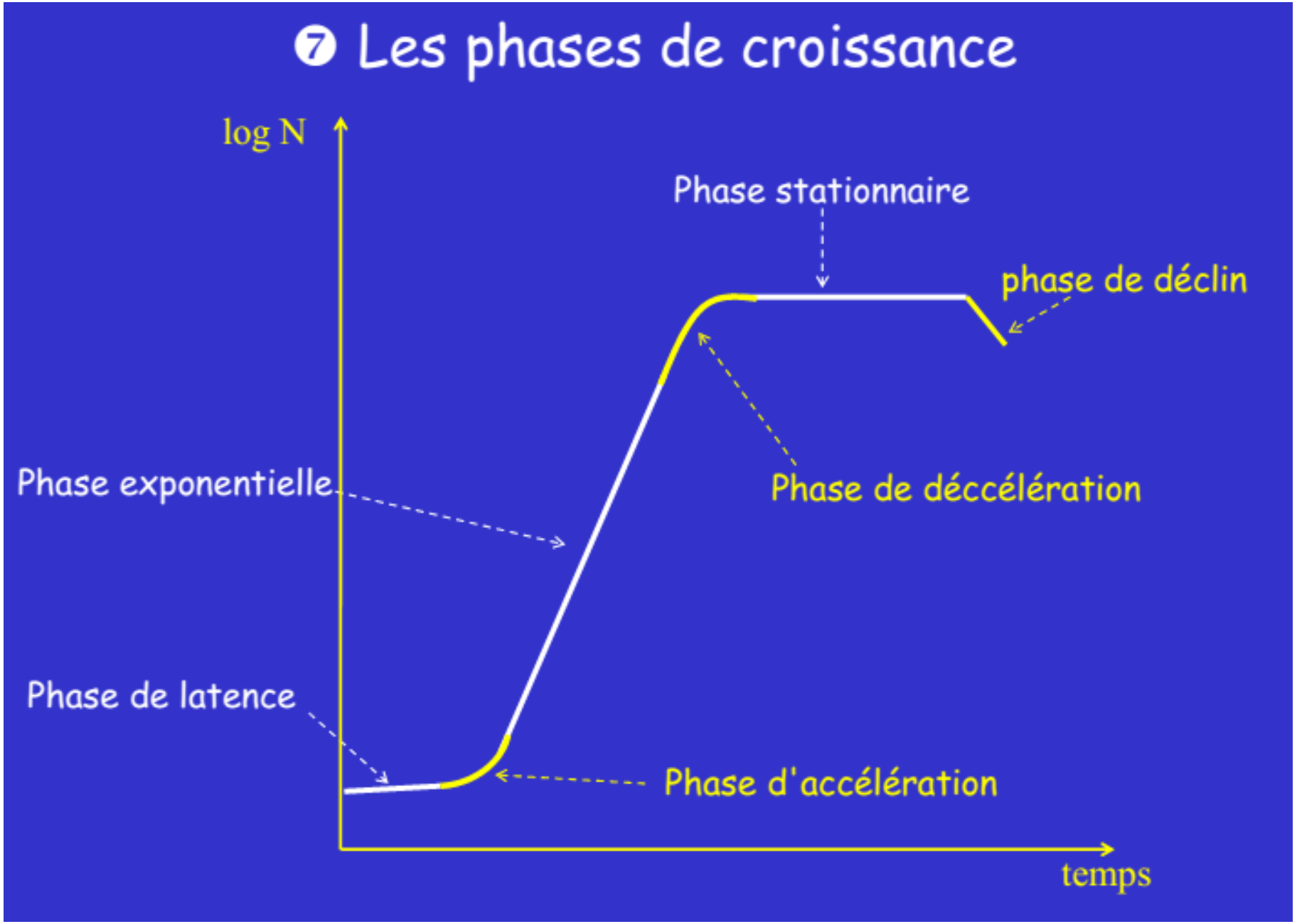
Le nombre de bactéries est: $N = 2{,}2\ 10^{43}$ bactéries.

Le poids 1 bactérie = $1{,}5\ 10^{-12}$ g

la masse bactérienne = $3{,}3\ 10^{31}$g soit $3{,}3\ 10^{25}$ tonnes

(poids de la terre = $5\ 10^{21}$ tonnes)

❼ Les phases de croissance



☞ *La phase de latence*

- Pas de croissance, N0 = Constant et donc : $\mu = 0$

Causes:

- L'âge des bactéries
- La composition du milieu de culture

☞ *La phase d'accélération*

- Début de croissance, le nombre bactérien augmente $\mu > 0$

Causes:

début d'adaptation des bactéries au milieu

La phase exponentielle

- C'est la phase physiologique idéale pour la croissance
- Le temps de génération **G est minimal**
- Le taux de croissance **$\mu > 0$, maximal et constant**
- Sur papier semi logarithmique: **phase exponentielle = droite** (relation proportionnelle entre le log N et le temps).

$$\text{Log } N = \mu t \log 2 + \log No$$

(équation d'une droite: $Y = ax + b$)

- La phase exponentielle dure généralement quelques heures.

☞ *La phase de ralentissement*

- **Taux de croissance** **μ diminue**
- L'augmentation de N dans le temps est plus faible que durant la phase exponentielle,
- Le milieu devient moins favorable à la croissance.

☞ *La phase stationnaire*

- **Il** n'y a plus de croissance: **$\mu = 0$**
- **Nombre de cellules viables est constant**:

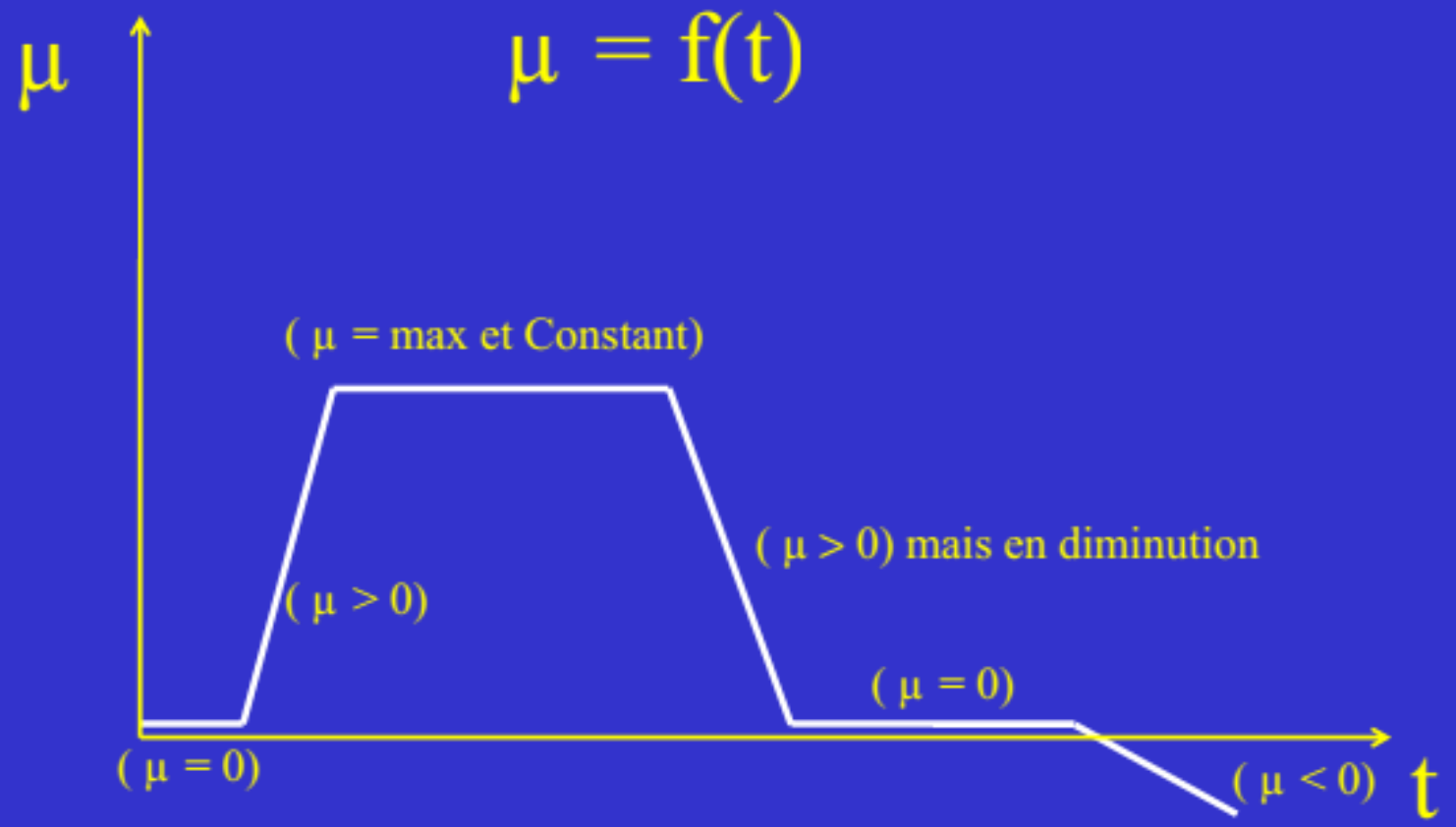
  Equilibre entre cellules qui meurent et celles qui apparaissent ou même nombre de cellules viables sans division ni disparition.

  Causes:
  - ✓ l'épuisement du milieu de culture,
  - ✓ l'accumulation de métabolites toxiques,
  - ✓ l'évolution défavorable des conditions physico-chimiques

☞ *La phase de déclin*

- Le taux de croissance est négatif ($\mu < 0$).
- Les **bactéries ne se divisent plus**, beaucoup meurent et certaines sont lysées
- Cette phase est visible ou pas selon la méthode d'étude: nb bactéries viables (toujours) /turbidimétrie (si lyse)

❽ Variation de μ pendant les phases de croissance

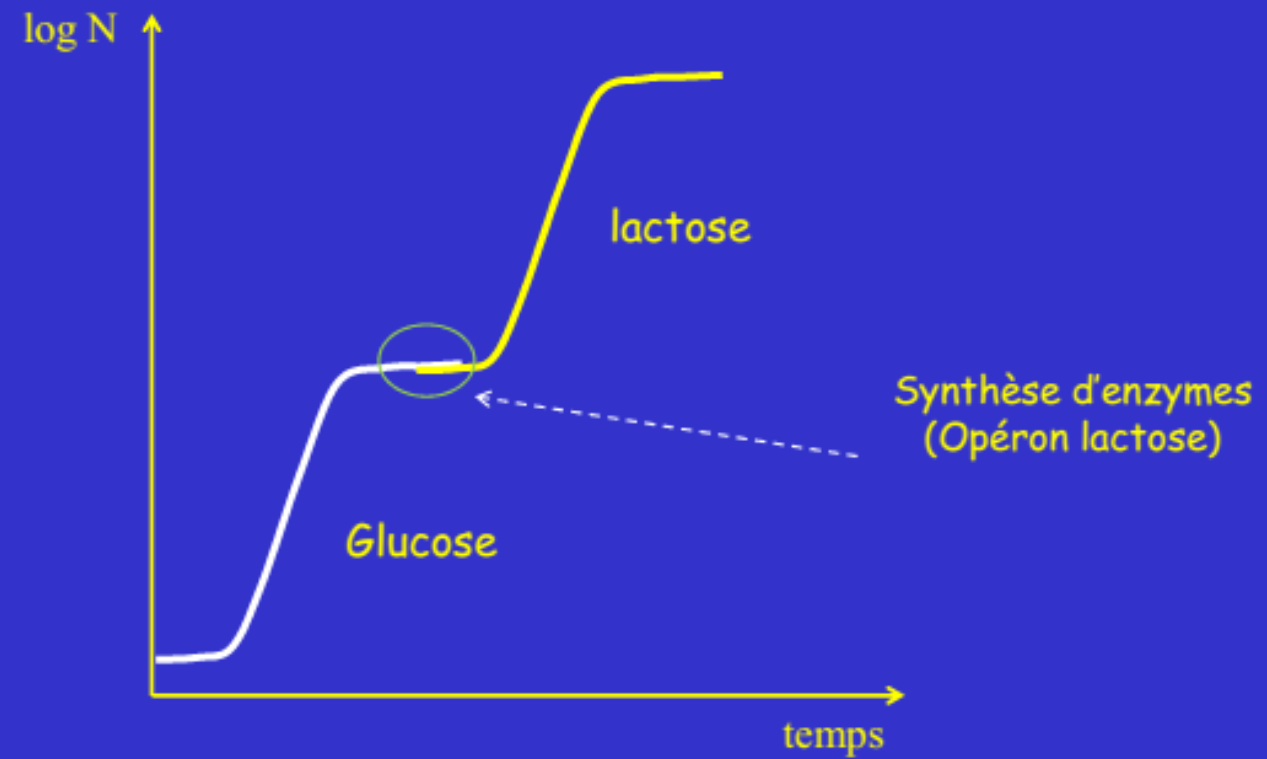


❾ Cas particuliers de croissance

9.1. Cas de la diauxie

Croissance dans 1 milieu synthétique en présence de 2 substrats carbonées.

Exemple: croissance d'*E. coli* en présence de glucose et de lactose

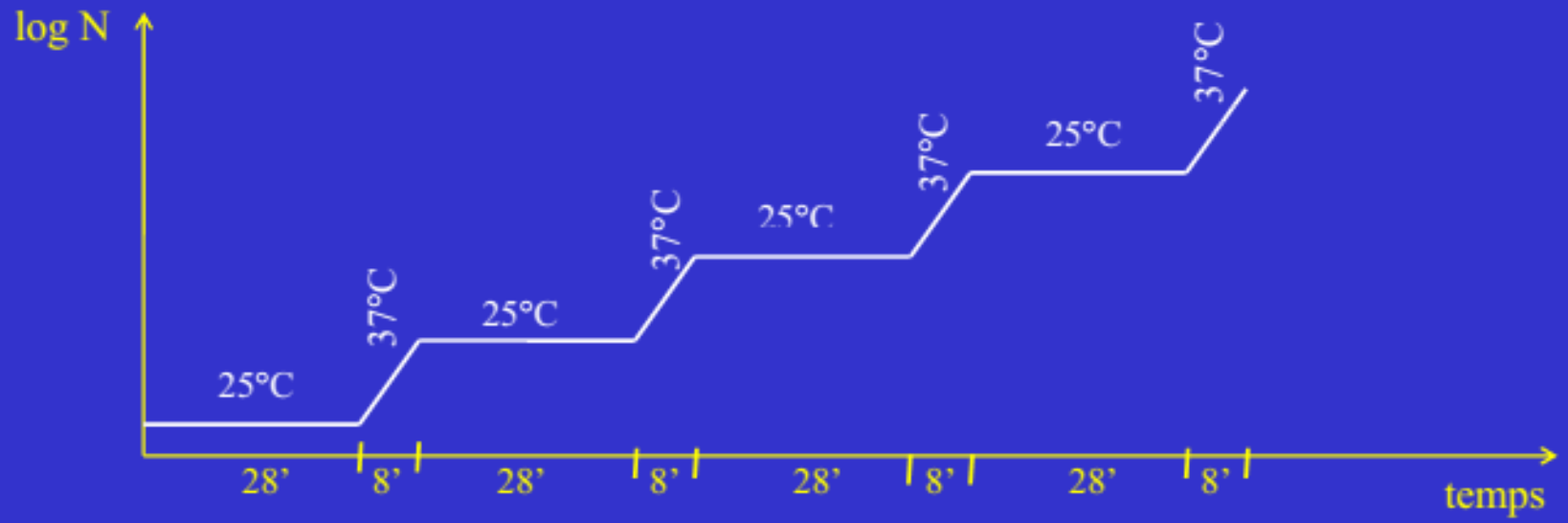


Courbe de croissance diphasique (diauxie)

9.2. Croissance synchrone

On peut amener les bactéries à se diviser au même moment, ce qui donnerait une croissance synchrone.

Par choc thermique chez *Salmonella typhimurium* : les bactéries sont incubées alternativement à une température de 25°C pendant 28 min, puis à 37°C pendant 8 min



La courbe montre une série de paliers successifs correspondant chacun à un doublement

9.3. Croissance continue

Dans les conditions habituelles de croissance, la phase exponentielle ne peut durer que quelques heures.

Expérimentalement, on peut maintenir une culture en croissance exponentielle pendant plusieurs heures voir plusieurs jours.

Pour cela, il faut renouveler constamment le milieu de culture tout en éliminant les produits résultant du métabolisme cellulaire.

C'est le principe des **fermenteurs industriels**.

Fermenteur de laboratoire



Fermenteurs industriels



10.2. Facteurs physico-chimiques:

☛ Effet du pH sur la croissance

La majorité des bactéries prolifèrent en milieux neutres ou légèrement alcalins. (tampons /exp: K_2HPO_4 et KH_2PO_4).

Il existe des bactéries présentant des tolérances particulières au pH:

Certaines exigent des **pH bas:** on parle de bactéries **acidophiles** cas de *Thiobacillus thiooxydans* qui a un pH optimal de l'ordre de 2

Inversement, les bactéries qui exigent un **pH élevé** sont dites des **basophiles** exp: *Vibrio* a un pH optimal de 9

Les bactéries ne se développant qu'au voisinage de la neutralité sont dites **neutrophiles**.

☛ Effet de la température sur la croissance

Les limites de température entre lesquelles les organismes vivants peuvent **croître** sont:

- 5°C : point de congélation de l'eau dans les cellules vivantes

+ 80°C : thermolabilité des protéines et des acides nucléiques

Selon la température optimale de développement, on distingue:

Types	T° min	T° opt	T° max
Psychrophiles	-15°C	+ 10°C	+ 20°C
Mésophiles	5 à 10°C	30 à 37°C	40 à 43°C
Thermophiles	40°C	42 à 55°C	60 à 80°C

A 37°C: G de *E. coli* est de 20 mn, A 42°C: G devient 50 mn

☛ Effet de la pression osmotique sur la croissance

La bactérie accumule dans le cytoplasme une concentration élevée en substrats

⬇

PO int > PO ext

Si forte augmentation de l'osmolarité du milieu extracellulaire

➡ risque d'efflux d'eau ➡ plasmolyse

⬇

inhibition de processus vitaux: biosynthèse de macromolécules, réplication de l'ADN etc… : arrêt de croissance,

pour éviter cela, la bactérie doit ajuster sa pression osmotique interne à une valeur supérieure à celle du milieu externe,

C'est l'osmorégulation: accumulation de K+, d'acides aminés, sucres etc…

Selon ce pouvoir d'osmorégulation, on distingue 4 groupes de bactéries

Groupe	Exemple	[NaCl] tolérée
Non Halophiles	*E. coli*	0 à 4 %
Halophiles	*Pseudomonas marina*	0,2 à 5 %
Halophiles modérés	*Pediococcus halophilus*	2,3 à 20,5 %
Halophiles extrêmes	*Halobacterium*	5 à 36 %

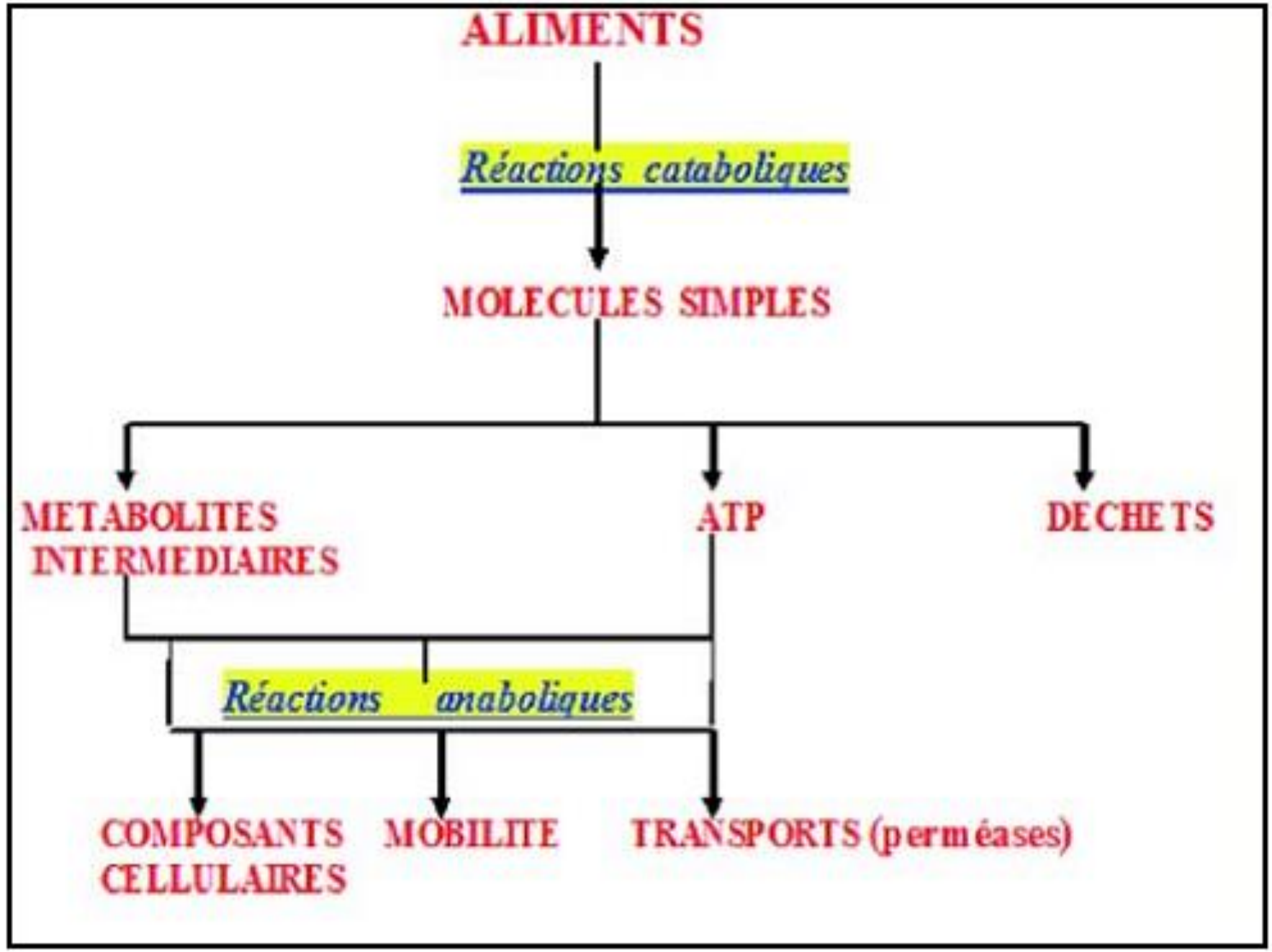
III- Le métabolisme microbien

1. Définitions

Le métabolisme bactérien = ensemble des réactions chimiques• (**cataboliques et anaboliques**) qui se produisent au niveau d'une cellule bactérienne•

* Ces réactions assurent l'élaboration des constituants bactériens et leur fonctionnement

* 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 (ATP)

* Les réactions 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 (ATP) utilisée dans ces biosynthèses provient du catabolisme .

2. Enzymes bactériennes

Le déroulement de toutes ces réactions nécessite l'intervention de catalyseurs appelés Enzymes.

Enzymes exocellulaires ou exoenzymes	Enzymes endocellulaires ou endoenzymes
- sont sécrétées dans le milieu extérieur - permettent la dégradation des macromolécules (ex : amylase, caseinase) -responsables du pouvoir pathogène (coagulase, ADNase, exotoxines)	- sont en solution dans le cytoplasme - participent au métabolisme intermédiaire de la cellule (ex : B-galactosidase, enzymes de la glycolyse, etc.).

3. Métabolisme énergétique

3-1 Généralités

Pour satisfaire leur besoin en énergie, deux voies principales s'offrent aux bactéries

A. Phototrophie

- C'est la photosynthèse bactérienne (**chromatophores avec bactériochlorophylle**)

- Caractérise les bactéries phototrophes (photosynthétiques)

- **La différence avec la photosynthèse des végétaux supérieurs :**
  - ne libère jamais d'oxygène libre,
  - les donneurs d'électrons sont soit de l'hydrogène, soufre, jamais l'eau comme chez les plantes

- Conduit à la libération d'ATP aux dépens d'ADP et de phosphate inorganique

La réaction caractéristique de ce phénomène est :



DH2 = donneur d'éléctrons

Selon la nature chimique de DH_2 on distingue deux types trophiques :

- **DH_2 minéral** → **photolithotrophie.**
- **DH_2 organique** → **photoorganotrophie.**

B. Chimiotrophie

- La plupart des bactéries sont chimiotrophes.

- L'énergie est tirée de la dégradation d'un composé chimique (organique ou inorganique)

- Le métabolisme général comporte trois étapes :

  * digestion des macromolécules en molécules simples à l'extérieur de la cellule (glucides ⟶ Glucose)

  * dégradation des molécules simples pour donner des métabolites intermédiaires (pyruvate, acétylCoA) et de l'énergie (ATP)

  * dégradation totale des métabolites intermédiaires en CO_2 et H_2O avec une grande production d'énergie (ATP)

- Les réactions chimiques énergétiques sont essentiellement des réactions d'oxydo-réduction.

- Un donneur d'hydrogène (DH_2) est oxydé en D avec libération d'énergie, c'est une oxydation.

Oxydation **DH2** (donneur d'hydrogène)

$-2H^+$ ⇩

$-2e$

D (produit oxydé) + **Energie**

- Un accepteur d'hydrogène A est réduit en AH_2, c'est une réduction.

Réduction **A** (accépteur d'hydrogène)

$+2H^+$ ⇩ $+2e^-$

AH2 (produit réduit)

- ces réactions sont couplées

Somme

$$DH_2 + A \rightarrow D + AH_2$$

ADP + Pi → **ATP**

Nature du donneur d'hydrogène DH2

Le composé organique (DH2) 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**

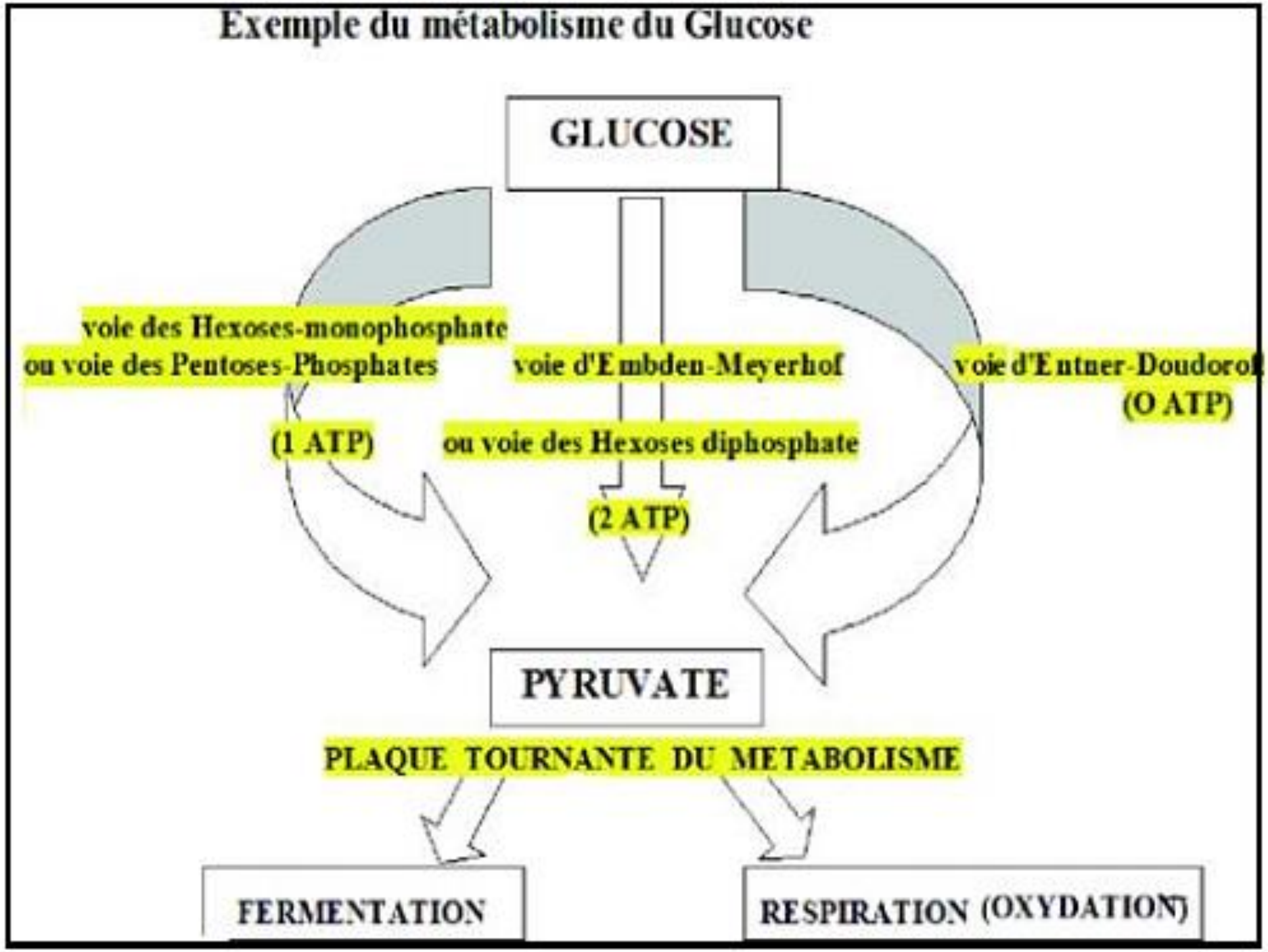
3-2. Voies du métabolisme intermédiaire

Il existe 3 principales voies enzymatiques , à localisation cytoplasmique , qui oxydent le glucose en acide pyruvique (= plaque tournante du métabolisme)

- 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
GLUCOSE
voie des Hexoses-monophosphate
ou voie des Pentoses-Phosphates
voie d'Embden-Meyerhof
voie d'Entner-Doudoroff
(O ATP)
(1 ATP)
ou voie des Hexoses diphosphate
(2 ATP)
PYRUVATE
PLAQUE TOURNANTE DU METABOLISME
FERMENTATION
RESPIRATION (OXYDATION)

3.3. Types métaboliques

Selon la nature de l'accepteur d'hydrogène, on distingue 2 types métaboliques :

Respiration		Fermentation
Respiration aérobie Si * A = oxygène	**Respiration anaérobie** Si •A = composé inorganique oxygéné (nitrates, sulfates, carbonates, etc) Ou •A = composé organique non fermentescible (fumarate, acétate, etc)	* A= molécule organique fermentescible (sucre, acides organique, acide aminé, purine, pyrimidine, etc)

La Respiration

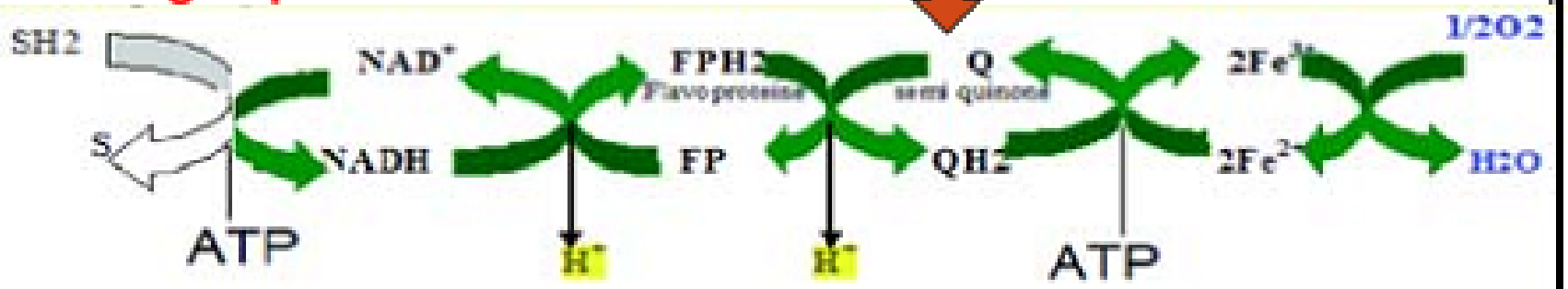
La Respiration est l'ensemble des voies métaboliques au cours desquelles :

- l'accepteur d'électrons et d'H2 dans les réactions redox est soit l'oxygène moléculaire (Respiration aérobie) ou des composés oxygénés inorganiques ou organiques non fermentescibles (Respiration anaérobie).

- Ces voies sont liées à la membrane cytoplasmique de la bactérie (présence d'une chaine respiratoire membranaire).

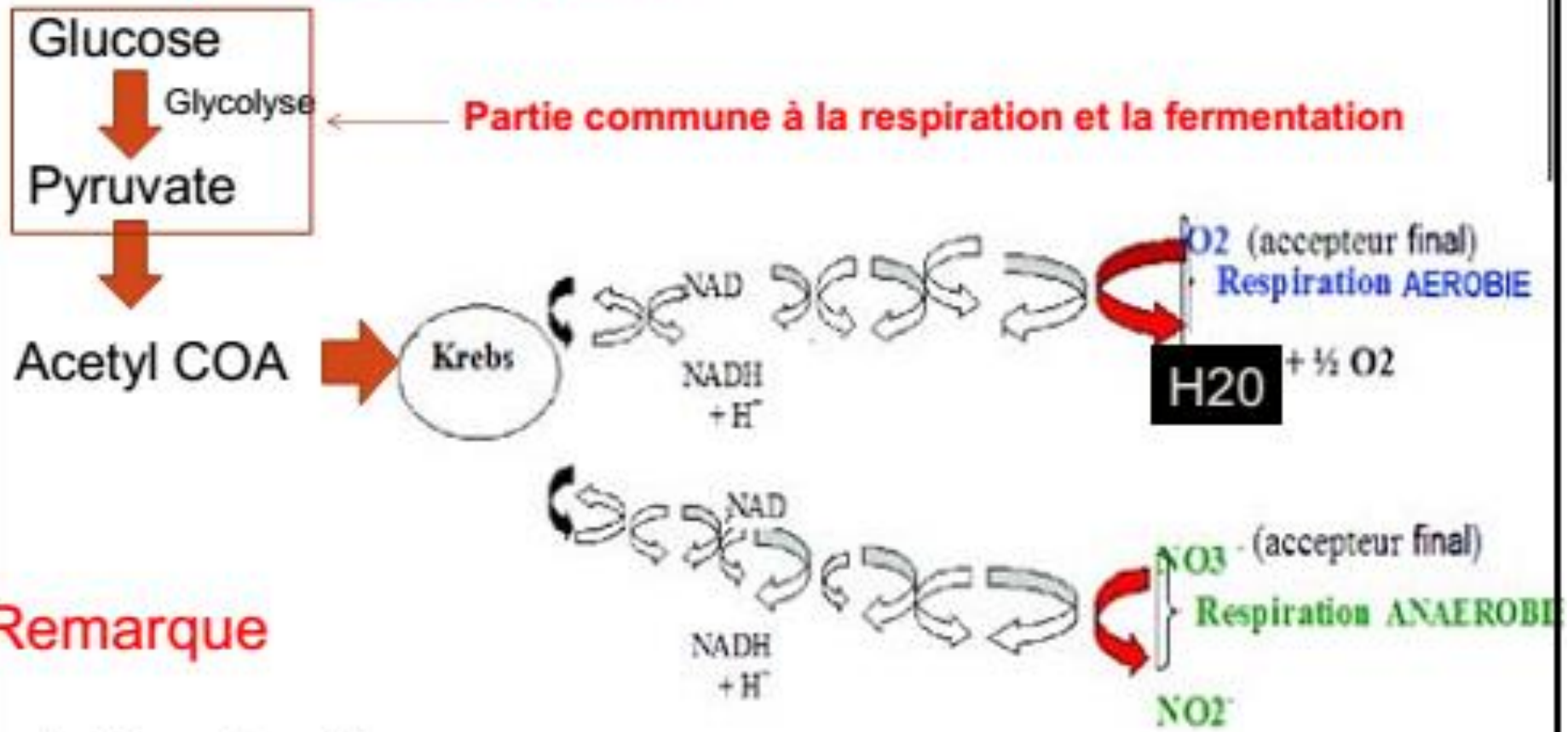
- L'énergie est produite par phosphorylation oxydative et libérée par paliers via une chaîne de transfert d'électrons ;

- Le bilan énergétique est élevé.



3.3.1. La respiration

Schéma général de la respiration



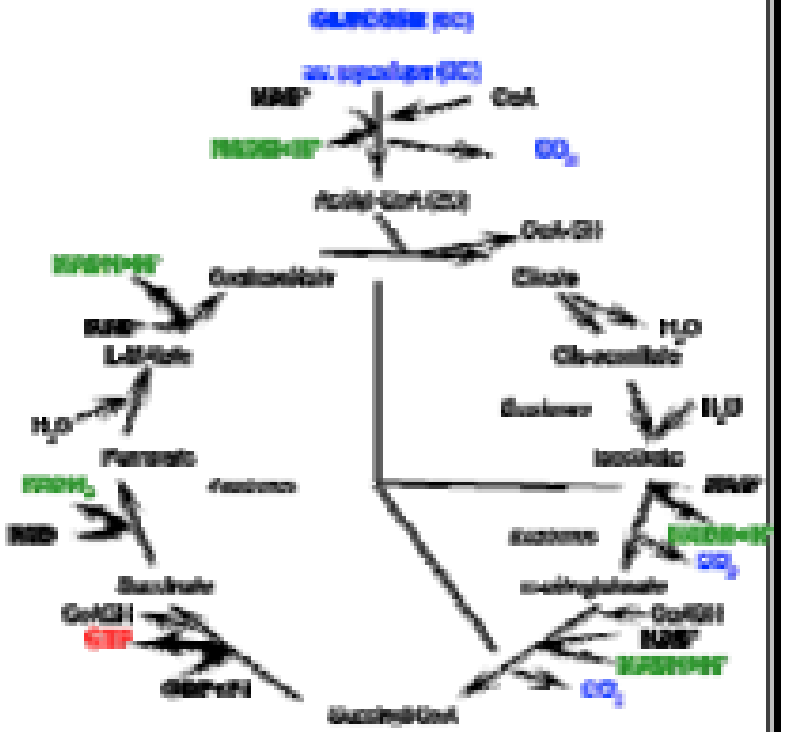
Remarque

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.

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 NADH2 couplées aux réactions d'oxydation .

* Du point de vue énergétique , chaque tour de cycle de Krebs produit une molécule d'ATP par molécule d'acide pyruvique oxydée et des coenzymes réduits supplémentaires (4 $NADH+H^+$ et 1 $FADH_2$).



Devenir des coenzymes réduits produits par le cycle de Krebs

Tous les coenzymes réduits (4 $NADH+H^+$ et 1 $FADH_2$) produits sont réoxydés au niveau d'une chaîne respiratoire permettant une production supplémentaire d'ATP par phosphorylation oxydative.

Phosphorylation oxydative et chaine respiratoire

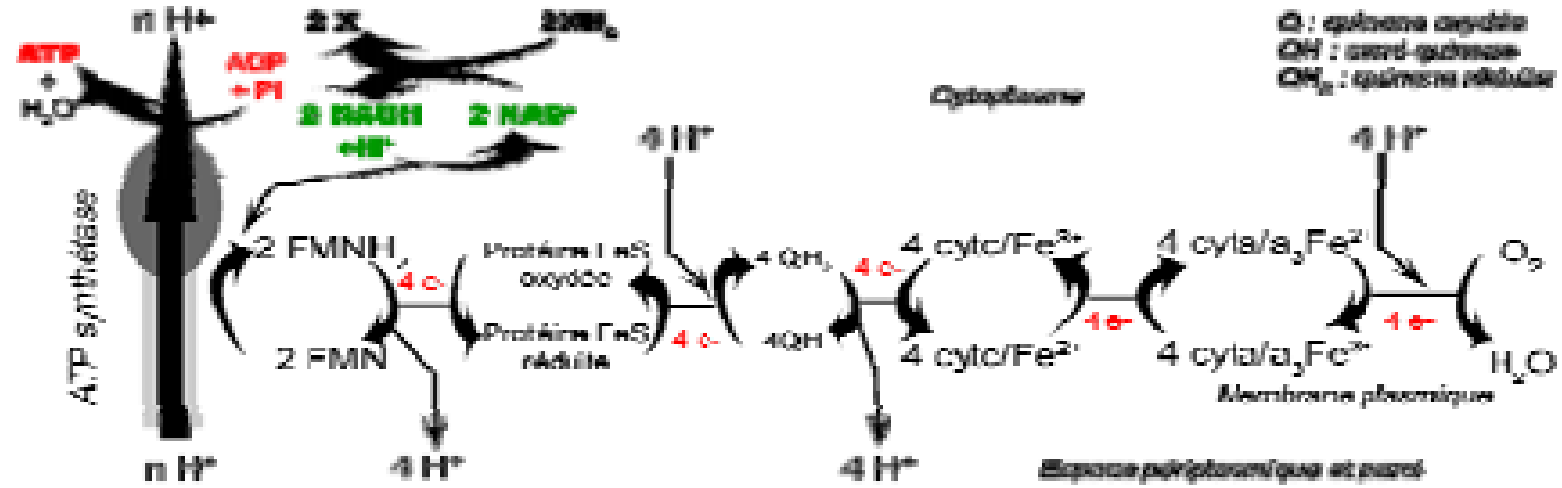
- C'est un processus essentiel de transfert d'énergie.

- l'énergie est fournie à partir du transfert du flux d'électrons libérés par les catabolites du métabolisme intermédiaire à l'oxygène.

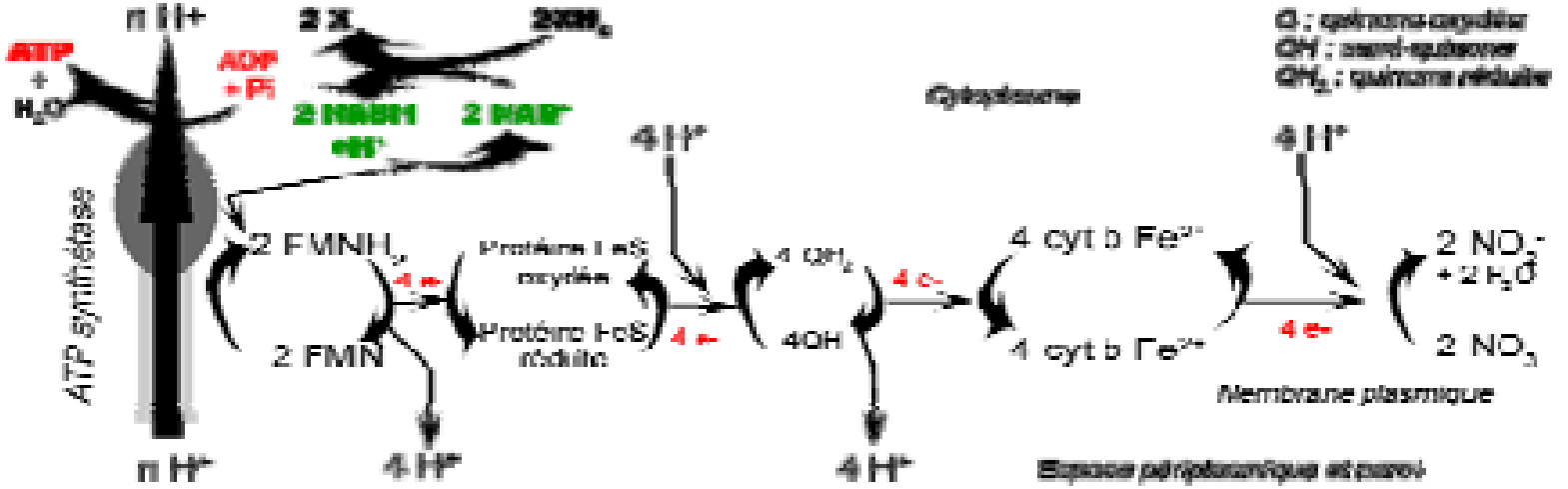
- L'énergie est fournie par l'oxydation des atomes d'hydrogène (somme protons plus électrons) récupérés des coenzymes réduits (NADH, H^+, $FADH_2$).

- De l'eau est produite à partir de l'hydrogène et de l'oxygène, au terme de la chaîne des réactions d'oxydoréduction dénommée chaîne respiratoire.

Respiration aérobie



Respiration anaérobie



Constituants de la chaine respiratoire

* une chaîne d'oxydoréduction transportant protons et électrons des coenzymes réduits vers l'oxygène (C'est la **chaîne cytochromique** de transfert des électrons)

* un mécanisme de **phosphorylation** assurant la synthèse d'ATP à partir de l'ADP catalysé par **l'ATP synthétase**

La respiration se fait donc en 2 étapes :

1) Le cycle tricarboxylique de Krebs , avec libération de CO_2 par oxydation couplée à la réduction de 3 NAD+ et de 1 FAD+ par tour de cycle .

2) La chaîne respiratoire avec coenzymes de déshydrogénases , Quinones et Cytochromes

Selon l'accepteur final d'électrons et d'H_2 , on peut distinguer :

1) Dans la respiration aérobie , l'accepteur final est l'O_2

2) Dans la respiration anaérobie , l'accepteur final est un composé inorganique ou ionique (NO_3^- , fumarate)

La fermentation

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

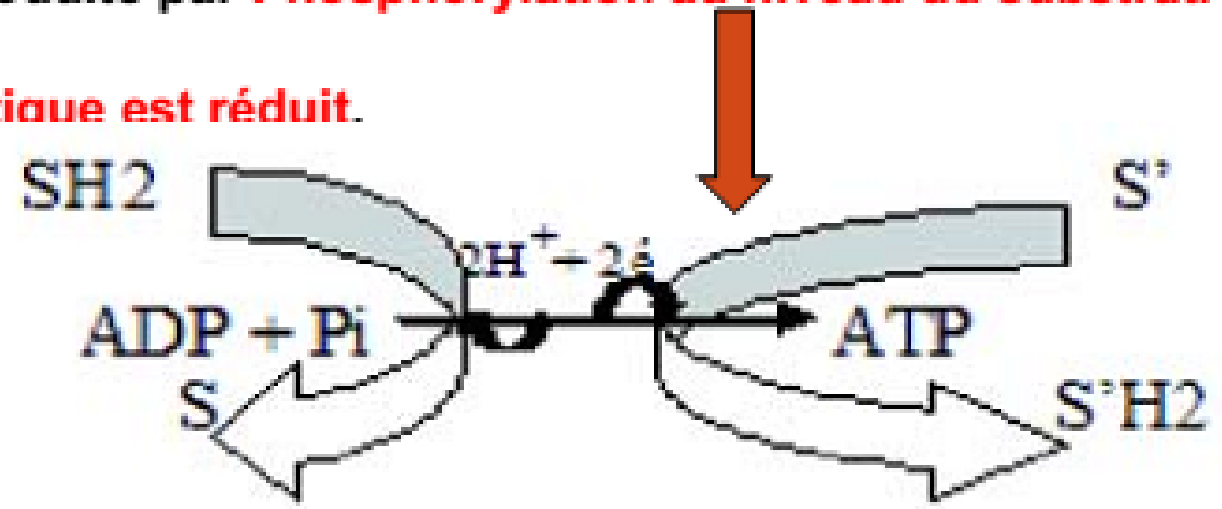
- C'est une oxydation biologique au cours de laquelle l'accepteur final d'H2 et d'é = composé organique fermentescible.

- Elle se déroule dans des conditions d'anaérobiose

- 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 dégradation des molécules nutritives n'est pas aussi poussée que pour la respiration.

- Il y a moins d'ATP formé dans le cytoplasme.

- Mais par contre il y a apparition de nouveaux produits qui s'accumulent

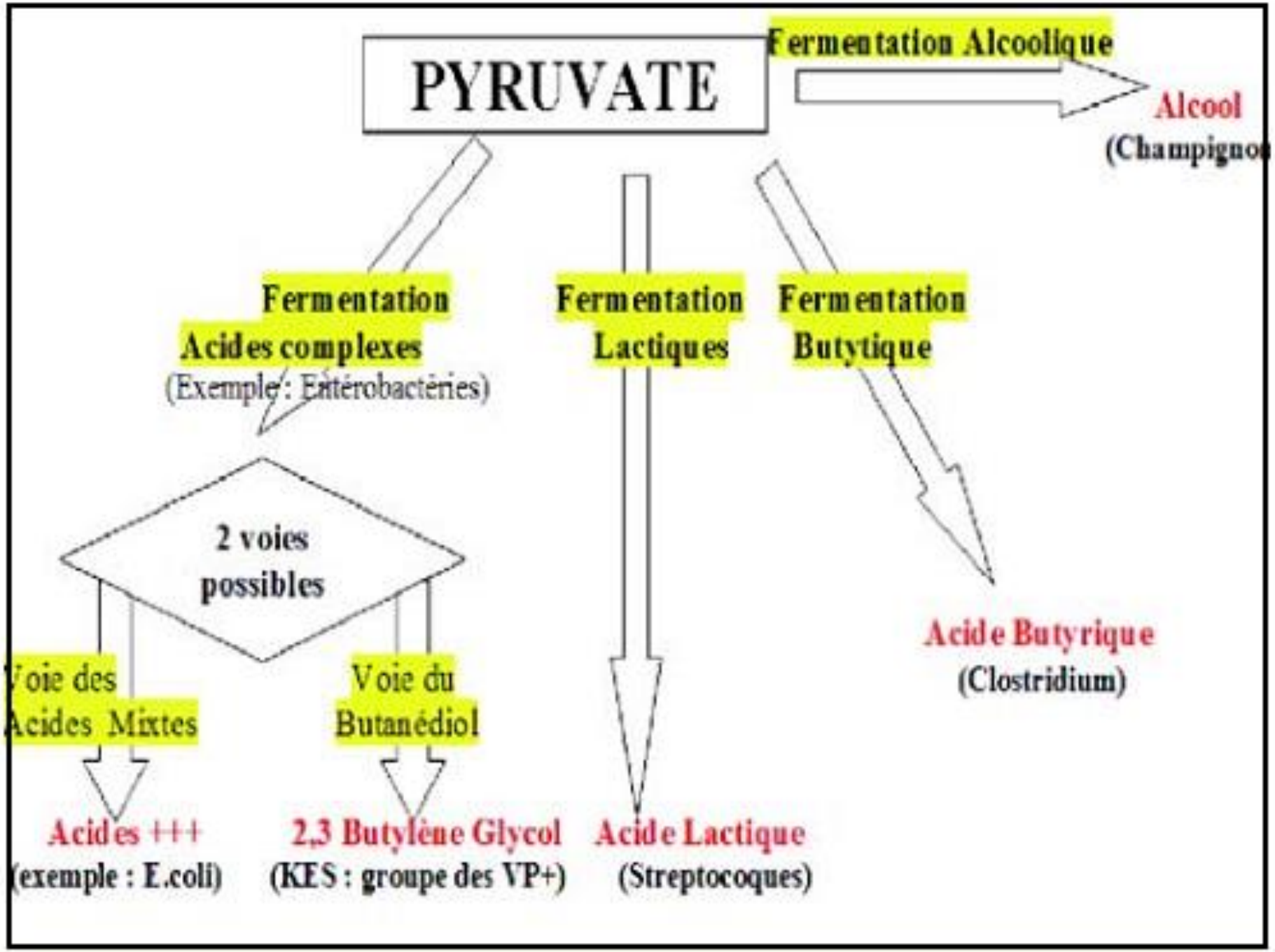
- Selon les bactéries, ces produits vont être différents et vont caractériser des espèces dites "fermentaires".

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 différentient les bactéries fermentaires car elles conduisent à des produits finaux divers , soit uniques soit plus souvent mélangés .

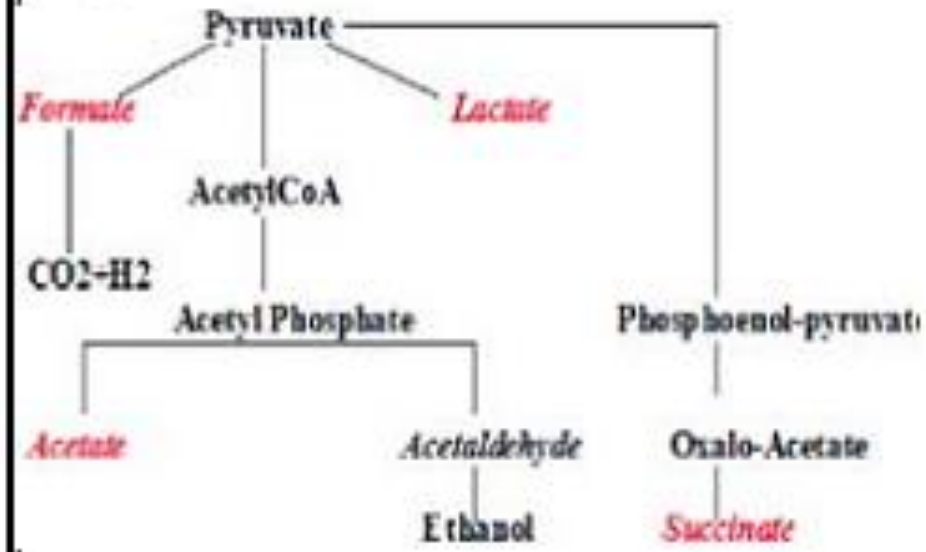
- selon la nature des produits finaux de fermentation, On distingue plusieurs types de fermentation :


PYRUVATE
Fermentation Alcoolique
Alcool
(Champignon
Fermentation
Acides complexes
(Exemple: Entérobactéries)
Fermentation
Lactiques
Fermentation
Butytique
2 voies
possibles
Voie des
Acides Mixtes
Voie du
Butanédiol
Acide Butyrique
(Clostridium)
Acides +++
(exemple : E.coli)
2,3 Butylène Glycol
(KES : groupe des VP+)
Acide Lactique
(Streptocoques)

* la fermentation Acides complexes

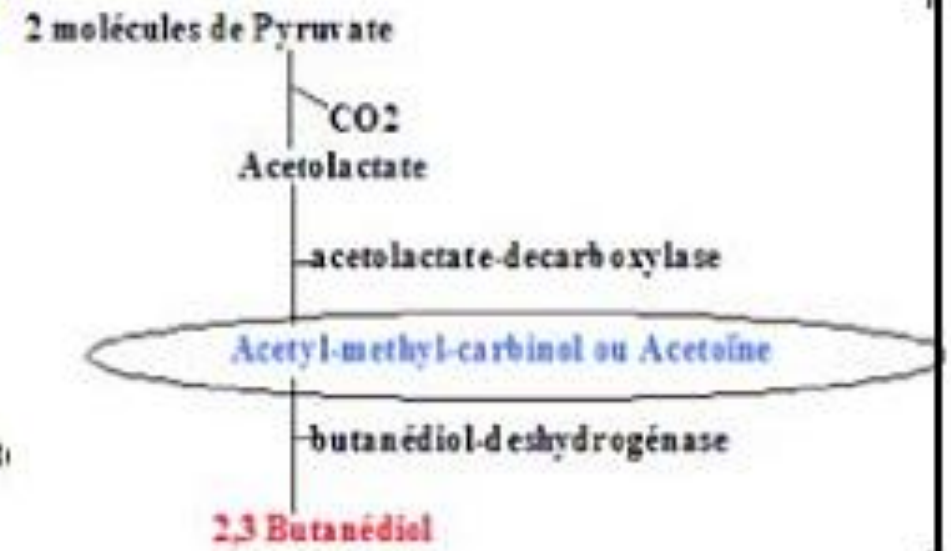
C'est le type de fermentation le plus répandu chez les bactéries.
Elle peut se présenter sous 2 formes possibles:

- fermentation Acide Mixte : caractéristique des Enterobactéries VP(-)



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

- fermentation butanédiolique :



Caractéristique des **Enterobacteries VP+ , Listeria monocytogenes, la plupart des Vibrio et Aeromonas** Ces bactéries possèdent, à côté du mode de fermentation Acides Mixtes, une voie fermentaire particulière, dite Butanédiolique ou Butylène glycolique.

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_2 et un pH bas

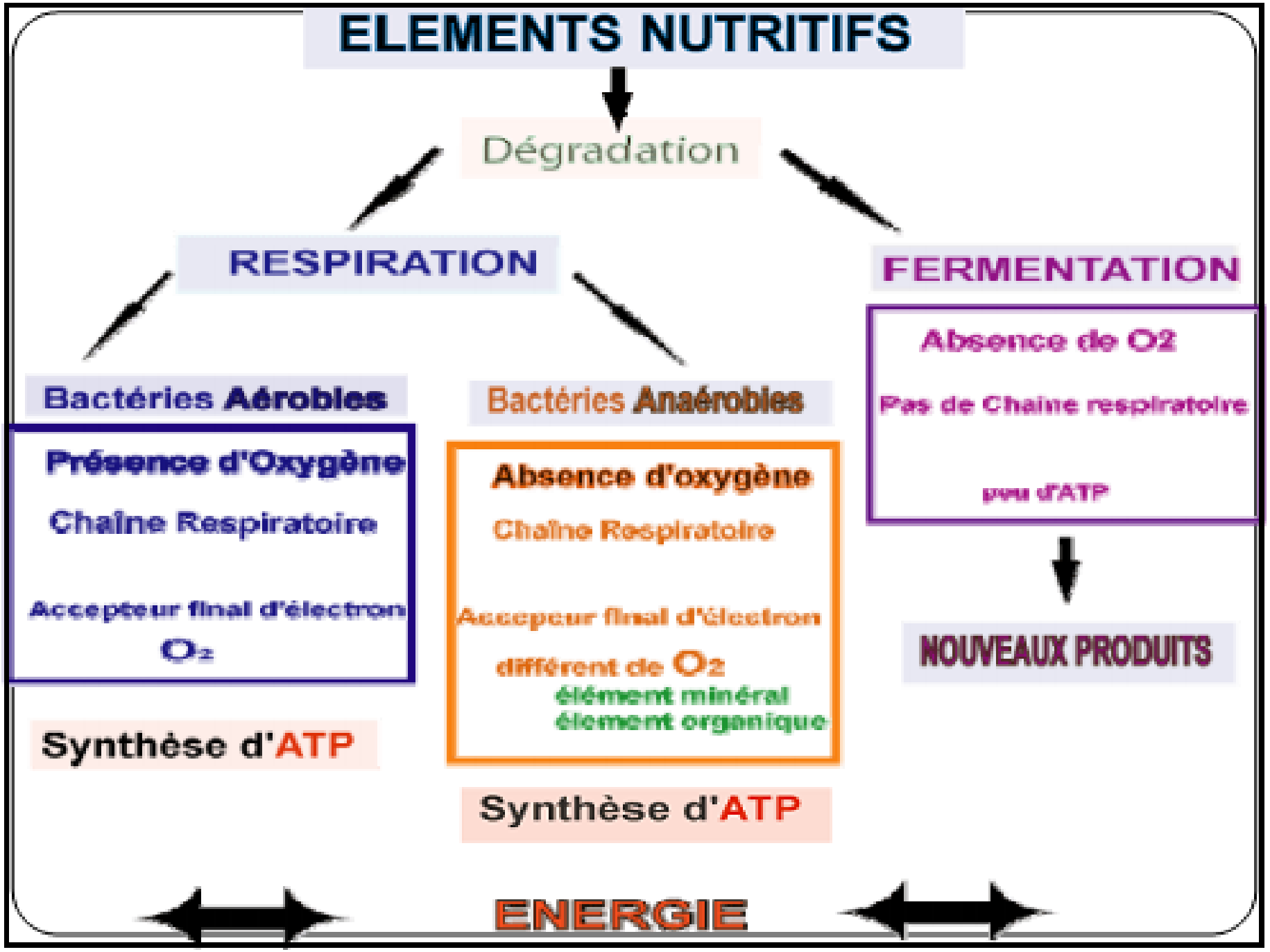
- Fermentation Aceto-lactique: retrouvée chez des bactéries du genre *Bifidobacterium* , s'accompagne de la production d'un mélange d'acide lactique et acétique.

Fermentation Alcoolique:

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

Fermentation Butyrique :

Elle aboutit à l'Acetate , le Butyrate, H_2 et CO_2 et qui est retrouvée chez les Clostridies dits Saccharolytiques


ELEMENTS NUTRITIFS
Dégradation
RESPIRATION
FERMENTATION
Bactéries Aérobies
Présence d'Oxygène
Chaîne Respiratoire
Accepteur final d'électron
O2
Synthèse d'ATP
Bactéries Anaérobies
Absence d'oxygène
Chaîne Respiratoire
Accepteur final d'électron
différent de O2
élément minéral
élément organique
Synthèse d'ATP
Absence de O2
Pas de Chaine respiratoire
peu d'ATP
NOUVEAUX PRODUITS
ENERGIE