

Cours n°9

La croissance cellulaire et bactérienne

I La croissance

C'est l'augmentation coordonnée des différents constituants cellulaires mais c'est aussi la division de la cellule en deux cellules filles identiques. La croissance comprend en fait croissance + reproduction.

A. Besoins nutritifs courants

La cellule a besoin d'eau (80 % de la masse bactérienne).

Mais aussi de macroéléments :

_ C, O, H, N, S, O (g.L⁻¹)

à pour faire des glucides, lipides, protéines et acides nucléiques

_ Cations (mg.L⁻¹) : _ K⁺ à activité enzymatique de synthèse protéique

_ Ca²⁺ à thermorésistance d'endospore

_ Mg²⁺, Fe²⁺ ou Fe³⁺ à cofacteurs d'enzymes

_ Na⁺, Cl⁻ à chez les bactéries halophiles (qui aiment le sel)

_ Oligo-éléments (µg.L⁻¹) à partie d'enzymes et de cofacteurs

q Source de carbone (formation de squelette, de molécules organiques)

| Autotrophe = le CO₂ est la seule ou principale source de carbone

| Hétérotrophe = Molécules organiques réduites provenant d'autres micro-organismes

q Source d'énergie (réaction biochimique, mobilité, absorption de nutriments)

| Phototrophe = grâce à la lumière

| Chimiotrophe = oxydation de composés organiques et inorganiques

q Source d'H⁺/e⁻

| Lithotrophe = molécules inorganiques réduites

| Organotrophe = molécules organiques réduites

q Besoin en azote :

Sources : acides aminés, nitrates, atmosphère, NH₄⁺ } réduits en ammoniaque

è Synthèse de : acides aminés, acides nucléiques, glucides, lipides, cofacteurs d'enzymes

q Besoin en soufre :

Sources : SO₃⁻

è Synthèse de : acides aminés soufrés (Cys, Met), vitamines (biotine, thiamine), quelques glucides

q Besoin en phosphore :

Sources : phosphates inorganiques du milieu

è Synthèse de : acides nucléiques, phospholipides, nucléotides (ATP), cofacteurs, protéines

q Besoin en oxygène :

| Aérobie stricte : présence d'oxygène obligatoire pour croître
à microaérophile : besoin de peu d'oxygène

| Anaérobie stricte : absence d'oxygène obligatoire pour croître

| Aéro-anaérobie facultative : présence ou non d'oxygène
à anaérobie aérotolérant : anaérobie qui résiste à la présence d'oxygène

q Besoin en facteurs de croissance :

Les facteurs de croissance sont des constituants essentiels que le micro-organisme peut ne pas fabriquer et doit alors le trouver dans l'environnement. Ce peuvent être des acides aminés, des bases puriques et pyrimidiques et/ou des vitamines (biotine, thiamine).

| Auxotrophe : pas de synthèse de facteurs de croissance

| Prototrophe : synthèse d'un facteur de croissance à partir de molécules organiques

B. Température optimale de croissance

Z Thermophile : température optimale > 45°C

Ex : bactéries de sources chaudes

Z Mésophile : 15°C < température optimale < 45°C

Ex : bactéries pathogènes des animaux humains et non-humains

Z Psychrophile : température optimale < 15°C

Ex : bactéries des mers polaires

C. pH optimal de croissance

Z pH neutre

Z alcalophile (pH > 8)

Z acidophile (pH < 6)

Ces facteurs influencent la croissance des bactéries, mais ils n'agissent pas indépendamment. La modification de l'un peut engendrer la modification d'un autre.

Ex : on met une bactérie dans un milieu acide è sa température optimale diminue

D. Les différents milieux de culture

Il doit contenir tous les besoins nécessaires à la croissance de la bactérie.

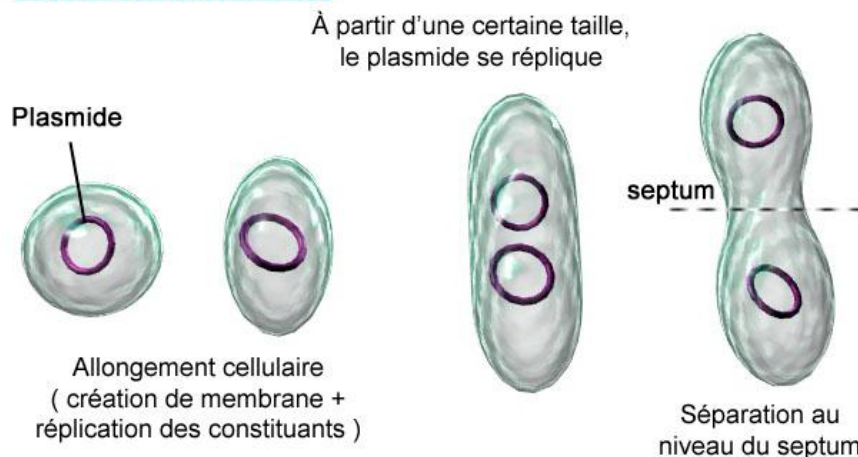
h Certains constituants inoffensifs peuvent devenir inhibiteurs voire toxiques s'ils sont trop concentrés

Milieu	Contenu
Minimum	Seulement les composés indispensables sous la forme la plus simple et la plus facilement assimilable (ex : sels minéraux + glucose + facteurs de croissance)
Riche = complet	De nombreux composés, pas forcément indispensables
Synthétique	On connaît parfaitement tous les constituants et leurs quantités
Complexe	On ne connaît ni la formule chimique, ni la quantité des composés (ex : extrait de levure)
Sélectif	Ne laisse croître que certains micro-organismes
Indicateur	Révèle un constituant

II Croissance et cycle cellulaire

La croissance d'une bactérie implique la croissance coordonnée des constituants cellulaires. Ceci se fait dans un ordre précis déterminé.

Ex : Escherichia Coli



C'est le cycle cellulaire ou le cycle de division cellulaire. Il dure pendant le temps de génération ou le temps de doublement.

Ex : Pour E. Coli, le temps de génération est de 20 minutes.

III Croissance des populations bactériennes

A. Mesure de la croissance bactérienne

1) Dénombrement des cellules

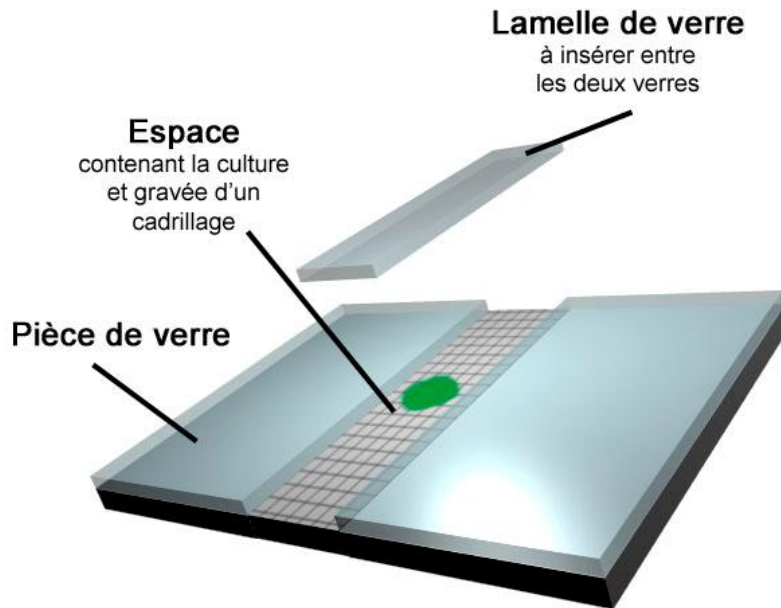
La croissance est liée au nombre de cellules. On peut le déterminer par :

- q Comptage total
- q Dénombrement des cellules viables ou UFC (Unités Formant Vivant)

I Méthodes pour le comptage total :

Z Utilisation de la cellule de Thoma :

- à Injection d'un petit volume entre la lamelle et l'espace
- à Comptage au microscope du nombre de cellules par carreaux puis conversion en unité de volume.



Z Turbidimétrie :

Les bactéries diffusent la lumière.

à Mesure de la variation d'intensité lumineuse à travers la solution au moyen d'un spectrophotomètre.

à Application de la loi de Beer-Lambert : $A = \log I_0/I = \epsilon * l * c$

I Méthodes pour le dénombrement de cellules viables :

Caractérisation des cellules viables ou non viables grâce à leur taille, forme, couleur, odeur ou consistance.

j Les aspects peuvent différencier en fonction du milieu de culture

h La taille peut varier en fonction de l'état de la cellule (carencée par exemple)

Z Comptage de cellules viables sur milieu solide

à Dilutions successives de la culture

à Ensemencement (= mise en culture sur milieu solide)

à Incubation

à Dénombrement au microscope des cellules viables

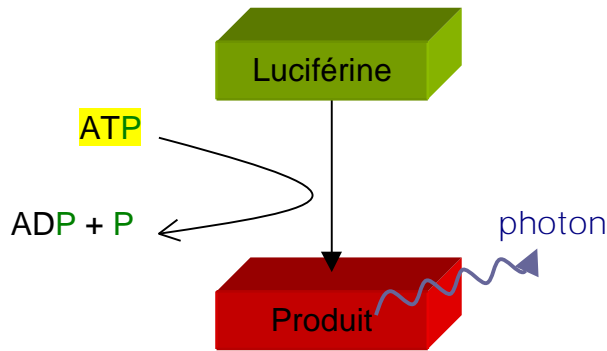
2) Mesure de l'activité cellulaire

- Mesure de la consommation d'un substrat

Le substrat peut être carboné, un nutriment azoté, de l'oxygène ou un facteur spécifique de croissance.

- Mesure d'un constituant cellulaire

à Dosage par bioluminescence (ATP, FAD, FMN)



à Dosage d'activité enzymatique (phosphatase)

- Suivi de variations physico-chimiques

à pH

à Potentiel d'oxydoréduction

à Température

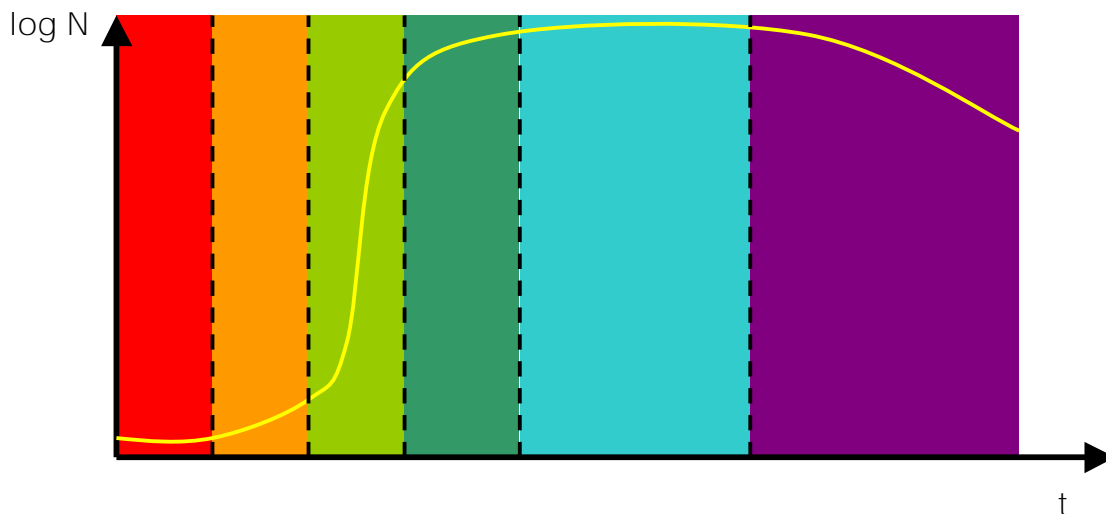
B. Croissance en milieu liquide

En milieu liquide, plus il y a de bactéries, plus le milieu est troublé.

1) Croissance asynchrone

Une croissance asynchrone signifie que les cellules ne se divisent pas en même temps.

è Mesure de l'évolution par turbidimétrie, on obtient une courbe de croissance caractéristique de l'espèce bactérienne dans les conditions de l'expérience.



Phase de latence : adaptation des bactéries à leur nouvel environnement

Phase d'accélération

Phase exponentielle (ou phase logarithmique) = croissance maximale et constante

Phase de ralentissement

Phase stationnaire : autant de cellules naissent et meurent

Phase de létalité (ou phase de déclin) : les ressources sont épuisées

Taux de croissance spécifique :

$$\ln (N_2 / N_1) = \mu (T_2 - T_1)$$

Temps de génération : (= temps d'un cycle cellulaire)

$$g = \ln 2 / \mu$$

2) Croissance continue

I Méthode pour la croissance continue en milieu liquide :

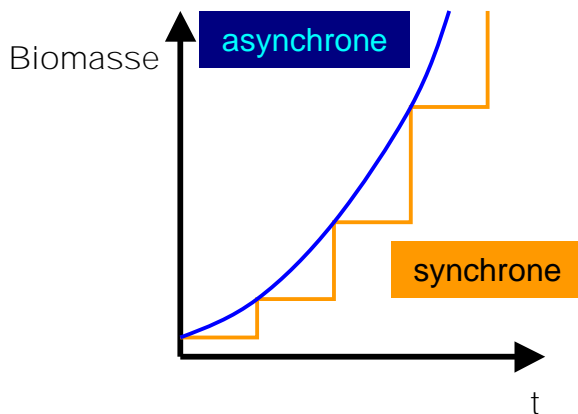
è Dans ces conditions, les fluctuations des déchets et des concentrations sont faibles et on garde ainsi un temps de croissance continue.

3) Croissance synchrone

La croissance synchrone, c'est quand toutes les cellules se divisent en même temps.

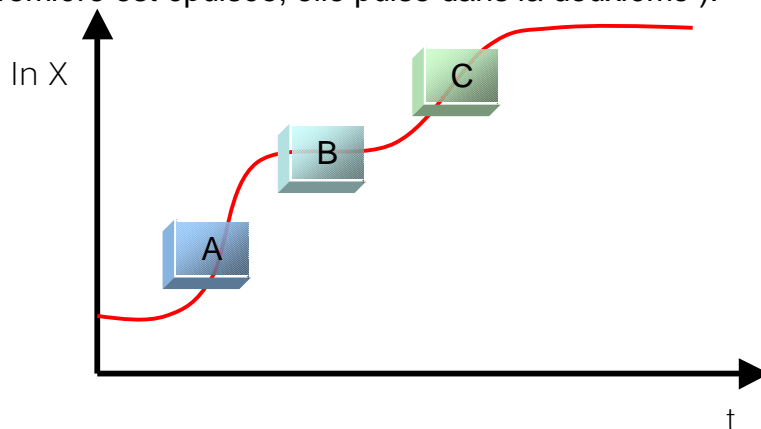
Z Filtration sélective

On fait passer les cellules à travers un filtre, qui ne laissera passer que les cellules d'une certaine taille, c'est-à-dire, d'une certaine évolution.



C. Croissance diauxique

Quand une cellule reçoit un mélange de deux substances nutritives différentes, celle-ci peut en utiliser une de préférence plutôt que l'autre (quand la première est épuisée, elle puise dans la deuxième).



- A : Utilisation du fructose seul
- B : Phase d'adaptation à l'arabinose
- C : Utilisation de l'arabinose