

Croissance bactérienne



D^R RADIA CHEMLAL
COURS DE MICROBIOLOGIE
L2 SNV/FSB
2020

Définition de la croissance bactérienne



- La croissance se définit comme l'accroissement ordonné de tous les composants d'un organisme.
- Chez les microorganismes, la croissance aboutit à l'augmentation du nombre d'individus, c'est donc synonyme de multiplication cellulaire.
- Ex: *Escherichia coli*, toutes les 20mn, **la cellule mère** peut se diviser en **deux cellules filles**.

Au cours de la croissance, on constate:

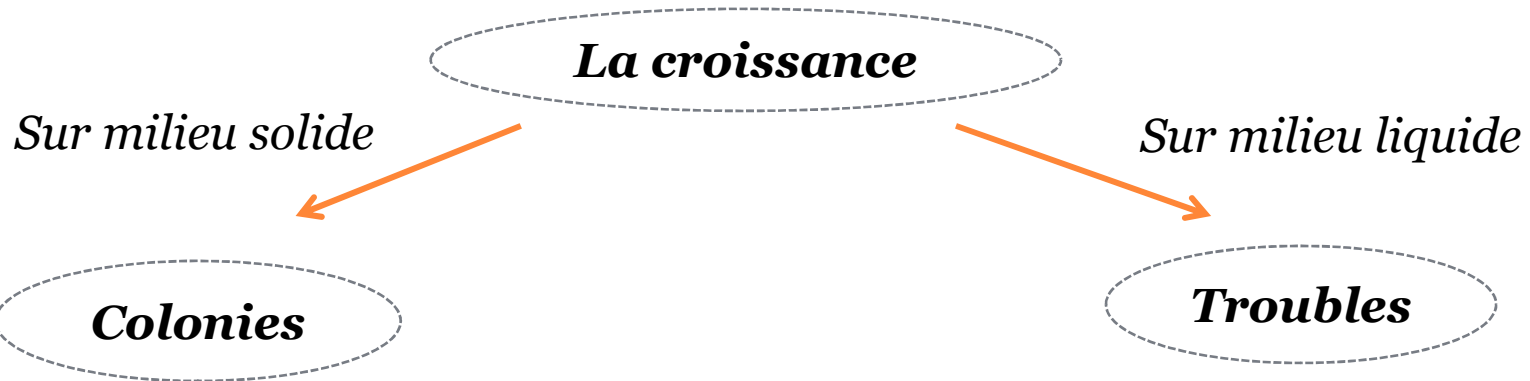
Epuisement des éléments nutritifs dans le milieu de culture

Modification des paramètres physico-chimique du milieu

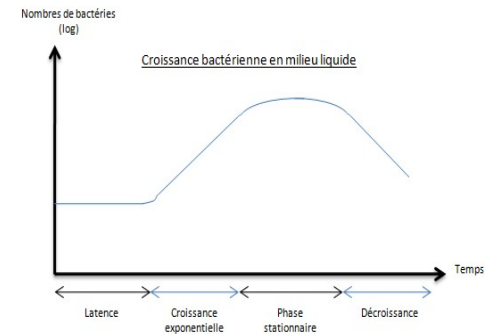
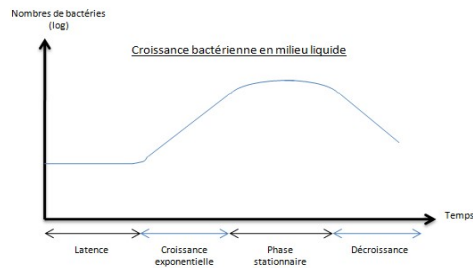
Synthèse des métabolites



Mesure de la croissance



On ne peut pas suivre la croissance au sein de la colonie



Dans un milieu liquide, on s'intéressera donc au **nombre de microbes**.

Méthodes de mesure de la croissance microbienne



Les méthodes reposent sur l'évolution du nombre de microbes ou de leur masse par unité de volume ou de poids du milieu.

a/ Mesure du nombre de cellules microbiennes:

C'est la détermination de la concentration cellulaire c'est-à-dire le nombre de microbes par unité de volume.

- ✓ Lecture au microscope (méthode directe);
- ✓ Dénombrement des cellules après culture.

b/ Mesure de la masse:

- ✓ Détermination du poids sec;
- ✓ Mesure du trouble.

c/ Mesure de l'activité cellulaire.

Etude cinétique de la croissance bactérienne



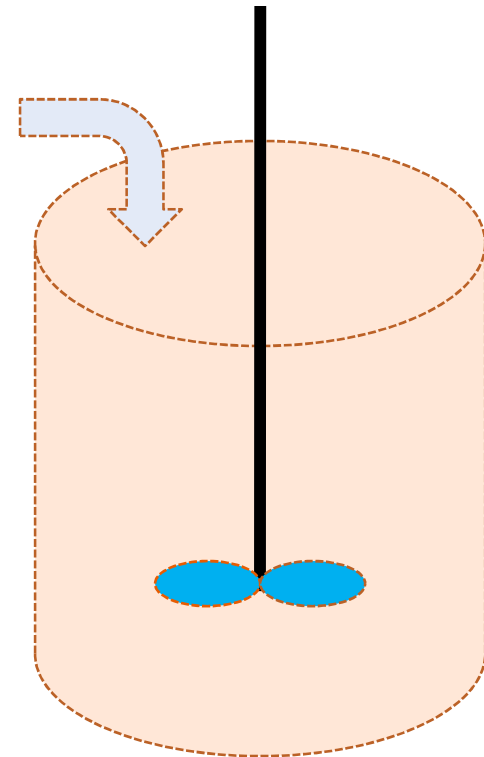
Croissance en batch ou en discontinue:

L'étude de la croissance bactérienne est effectuée en culture discontinue c'est-à-dire que les éléments nutritifs ne sont pas renouvelés, la phase de croissance ne dure que quelques heures.

So: concentration initiale en nutriments.

No: concentration initiale en microorganismes.

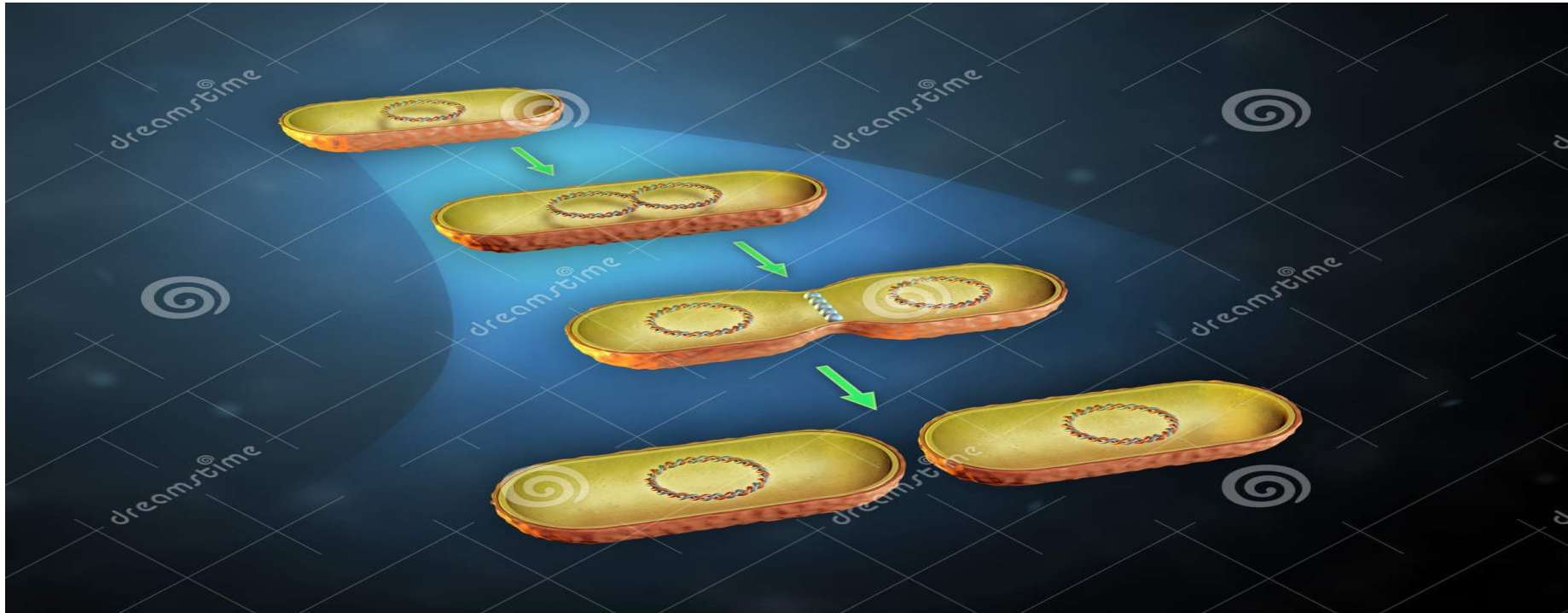
So
No



Les constantes de la croissance

La croissance d'une bactérie placée dans des conditions idéales de culture peut être définie par deux constantes:

- ✓ Temps de génération « G »;
- ✓ Taux de croissance « μ ».



Download from
Dreamstime.com

This watermarked comp image is for previewing purposes only.

ID 98383746

© Andrus | Dreamstime.com

Temps de génération et taux de croissance



• **Temps de génération:** c'est l'intervalle de temps entre deux divisions successives ou celui nécessaire au dédoublement de la population. Si on part d'une cellule son accroissement se fait selon une progression géométrique: 1-2-4-8, etc.

➤ La population se multiplie par un facteur constant à chaque unité de temps.

$$G = t/n \text{ (mn ou h)}$$

➤ n=nombre de divisions; t=temps connu.

➤ Le **G** n'est pas le même pour toutes les bactéries:

Mycobacterium tuberculosis $G=120$ à 240 mn.

Escherichia coli $G= 20$ mn.

• **Taux de croissance:** nombre de division par unité de temps.

$$\mu = n/t \text{ donc } \mu = 1/G \text{ (mn}^{-1} \text{ ou h}^{-1}\text{)}$$

n=nombre de divisions; t=temps connu.

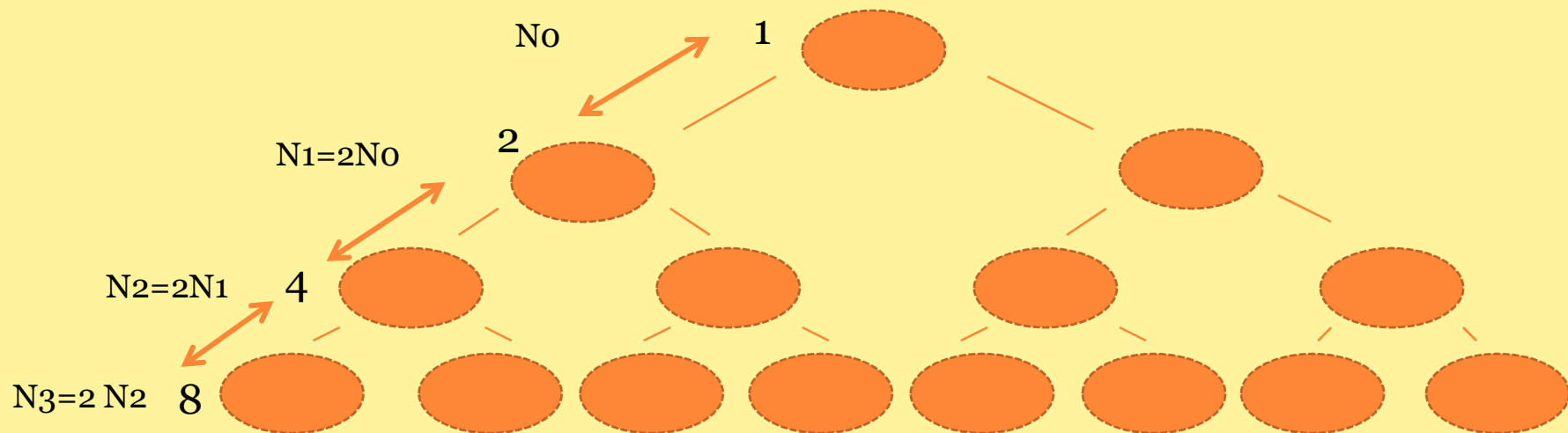
Escherichia coli $\mu=1/20$

Expression mathématique de la croissance



La division binaire chez les bactéries

La population se multiplie par un facteur constant à chaque unité de temps.



Si on a une population bactérienne à une concentration initiale N_0 , elle augmentera à chaque génération de la façon suivante :

Après 1 génération: $N_1 = 2N_0$

2 générations: $N_2 = 2 \times 2N_0 = 2^2N_0$

3 générations: $N_3 = 2 \times 2 \times 2 N_0 = 2^3N_0$

N générations: $N_n = 2^n N_0$

Or $\mu = n/t \Rightarrow n = \mu t$ donc $N = 2^{\mu t} N_0$

Si on prend la forme logarithmique de cette formule, on aura :

$$\text{Log } N = \text{Log } 2^{\mu t} + \text{Log } N_0$$

$$\text{Log } N = \mu t \text{ Log } 2 + \text{Log } N_0$$

$$\text{Log } N - \text{Log } N_0 = \mu t \text{ Log } 2$$

$$\mu = (\text{Log } N - \text{Log } N_0) / t \text{ Log } 2$$

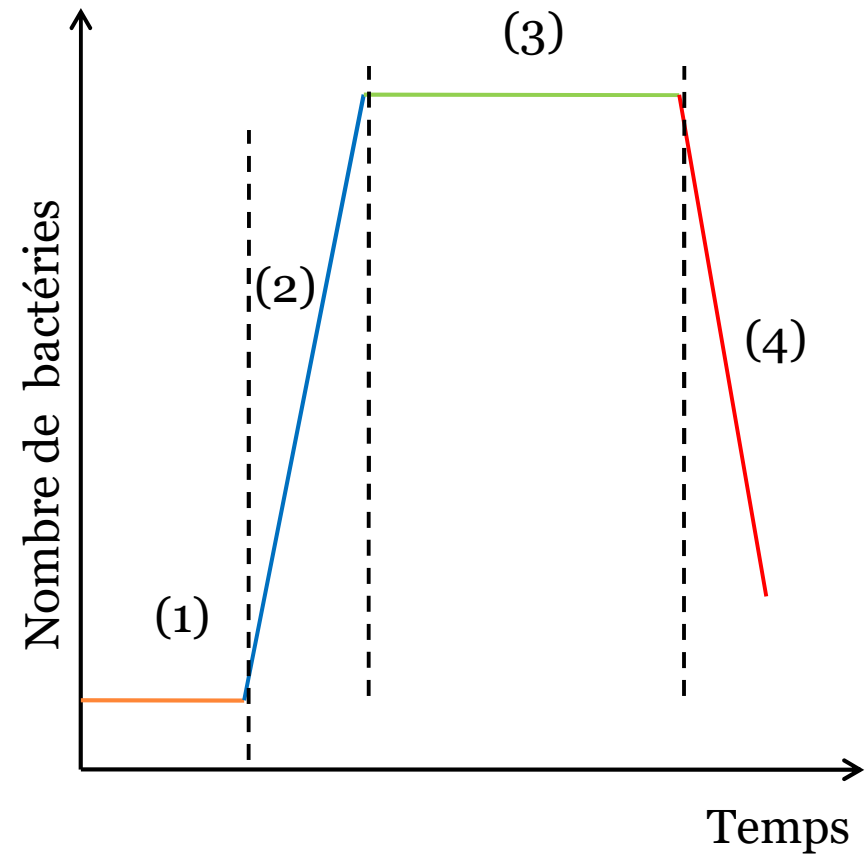
La courbe de croissance



La courbe se divise en quatre phases distinctes, chacune ayant un taux de croissance différent.

On distingue :

- (1) la phase de latence;
- (2) la phase de croissance exponentielle;
- (3) la phase stationnaire;
- (4) la phase de déclin.



Phase de latence

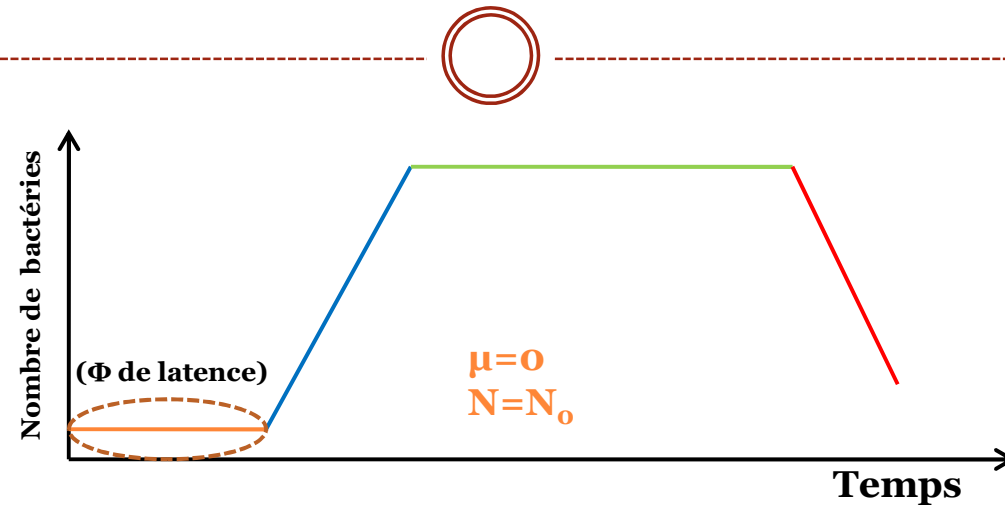


Schéma de la cinétique de la croissance bactérienne en batch.

1-Phase de latence (2 à 3 heures): ou encore phase d'adaptation des bactéries au milieu est en quelque sorte phase de maturation des cellules. Elle s'observe pour tous les microorganismes.

Cette phase dépend:

- ✓ -du germe étudié;
- ✓ -de la concentration du germes inoculés;
- ✓ -de l'âge du germe;
- ✓ -de la composition du milieu de culture.

Phase exponentielle

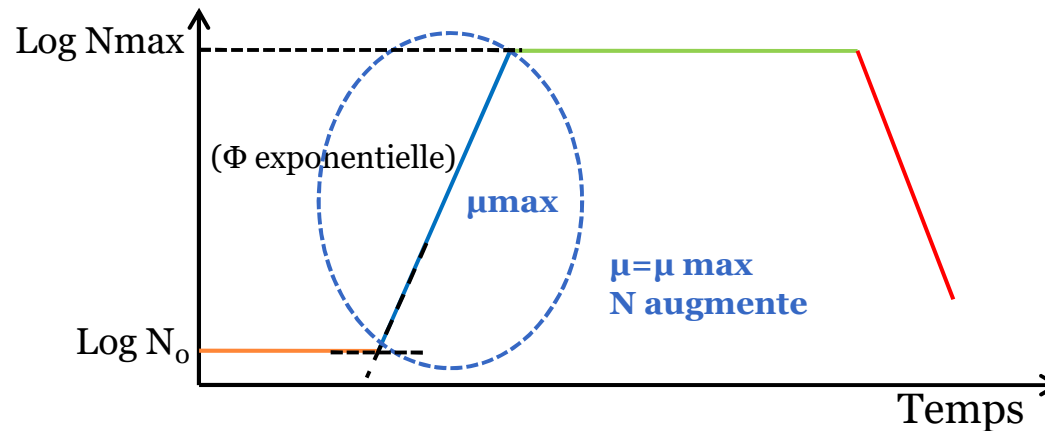


Schéma de la cinétique de la croissance bactérienne en batch.

2- Phase exponentielle:

- ✓ μ est maximal et constant;
- ✓ G est minimal;
- ✓ Proportionnalité entre la nombre de cellule et la vitesse de croissance;
- ✓ La pente de la droite est déterminé par μ .

Phase stationnaire

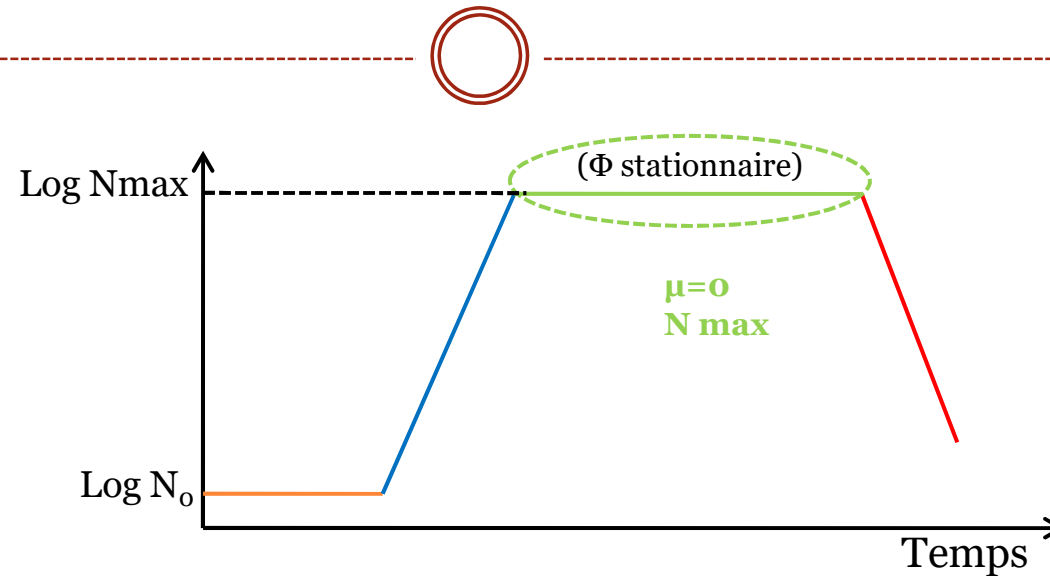
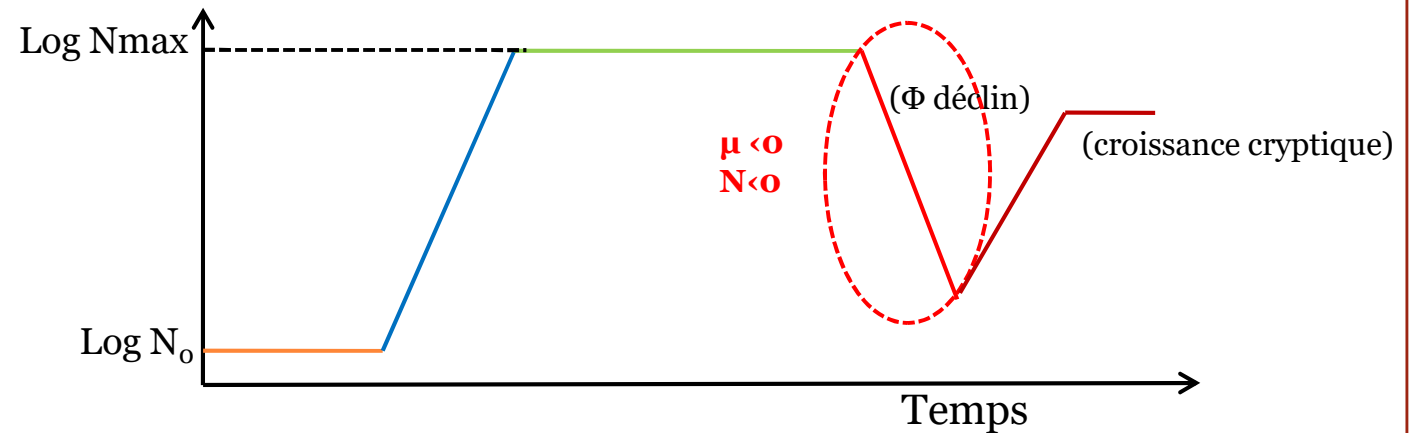


Schéma de la cinétique de la croissance bactérienne en batch.

3-Phase stationnaire:

- ✓ Le milieu devient défavorable à la croissance;
- ✓ *nombre de cellules viables restent constant;*
- ✓ *épuisement des éléments nutritifs;*
- ✓ *accumulation des déchets toxiques;*
- ✓ *évolution défavorable du pH;*
- ✓ *déclanchement de la sporulation.*

Phase de déclin



4-Phase de déclin:

- ✓ Les bactéries meurent et sont lysées par les enzymes qu'elles libèrent;
- ✓ les bactéries ne se divisent plus;
- ✓ N diminue proportionnellement au temps.

Dans certains cas, les bactéries survivantes peuvent amorcer une nouvelle phase de multiplication aux dépens des substances libérées par la lyse (croissance cryptique).

Phénomène de diauxie ou biphasique (Monod 1941)

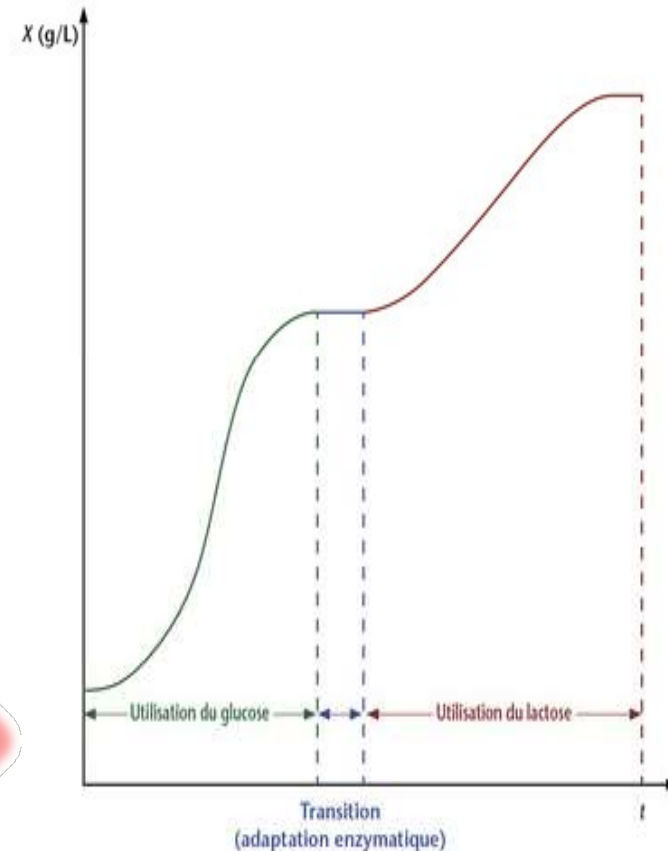
Jacques Monod a découvert la croissance diauxique en 1941 lors de ses expériences avec Escherichia coli et Bacillus subtilis. Tout en cultivant ces bactéries sur différentes combinaisons de sucres, Monod a observé que souvent, deux phases de croissance distinctes sont clairement visibles dans la culture en *batch*.

Au cours de la première phase, les cellules métabolisent préférentiellement le sucre sur lequel elles peuvent croître plus rapidement (souvent du glucose mais pas toujours). Une fois le premier sucre épuisé, les cellules passent au second. Au moment du "décalage diauxique", il existe souvent une période de latence pendant laquelle les cellules produisent les enzymes nécessaires à la métabolisation du second sucre.

Courbe de croissance d'*Escherichia coli* cultivée dans un milieu contenant deux glucides (glucose et du lactose).

*Triauxie: mélange de trois sources de carbones
Glucose-glycerol-sorbitol.*

Phénomène de diauxie chez *Escherichia coli*



<http://monde.ccdmd.qc.ca/media/image449/116192.jpg>

Facteurs influençant la croissance



Les facteurs physico-chimiques peuvent influencer la croissance, les plus importants sont la température, l'aération et la nature du substrat.

1-Effet de la température:

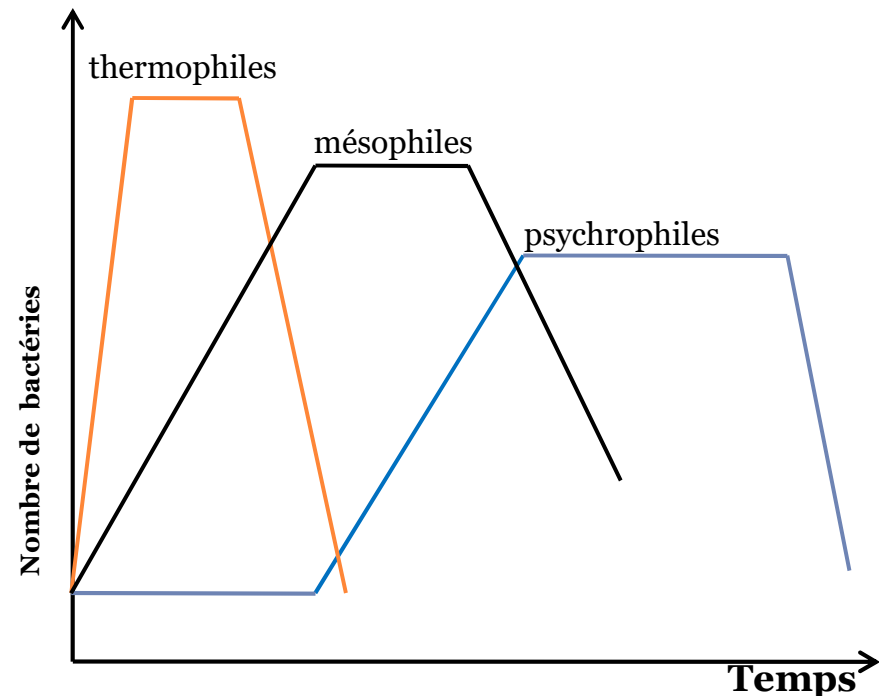
Les bactéries peuvent être classées selon leur température optimale de croissance.

-Les mésophiles.

-Les thermophiles.

-Les hyperthermophiles (Ex : *Thermus aquaticus* températures de croissance comprises entre 70 et 110°C).

-Les psychrophiles.



Les psychrophiles:

- μ faible;
- Φ de latence longue de 2 à 8 jours;
- Φ logarithmique progresse lentement;
- Φ stationnaire est étalée longuement;
- Φ de déclin brutale.

Les thermophiles:

- μ très fort;
- Φ de latence très courte;
- Φ stationnaire réduite ;
- Φ de déclin brutale.

Pour *E. coli*: le μ varie en fonction de la température de la culture

$\mu=0.5$ à 18°C et de 3.3 à 40°C.

Il existe pour chaque espèce une température dite optimale à laquelle μ sera optimale.

2-Le substrat:

Le μ d'une espèce bactérienne dépend étroitement de la composition du milieu de culture.

Ex : *Bacillus subtilis*

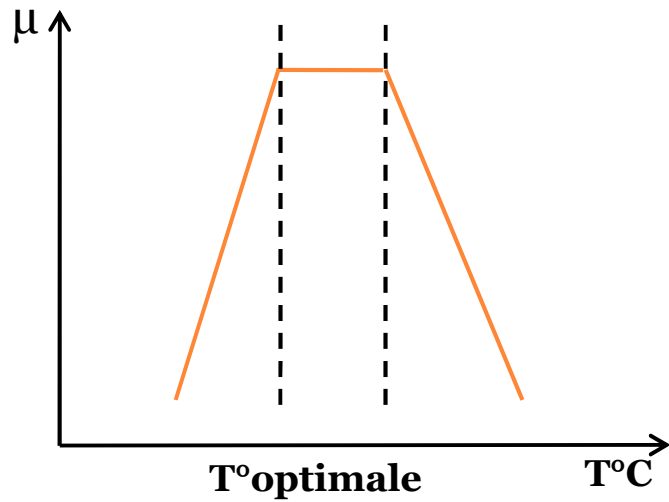
- sur milieu synthétique citraté $\mu=0.3$;
- bouillon nutritif $\mu=2$.

Le μ dépend de :

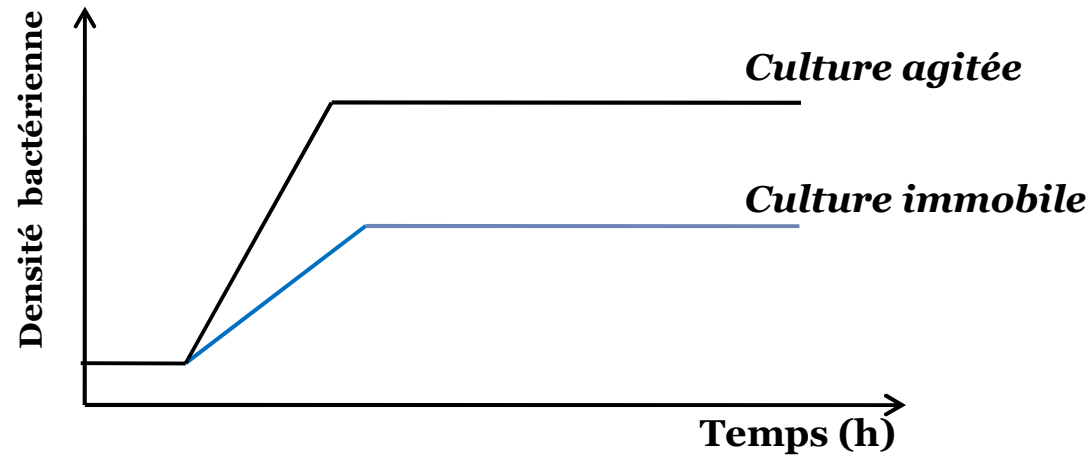
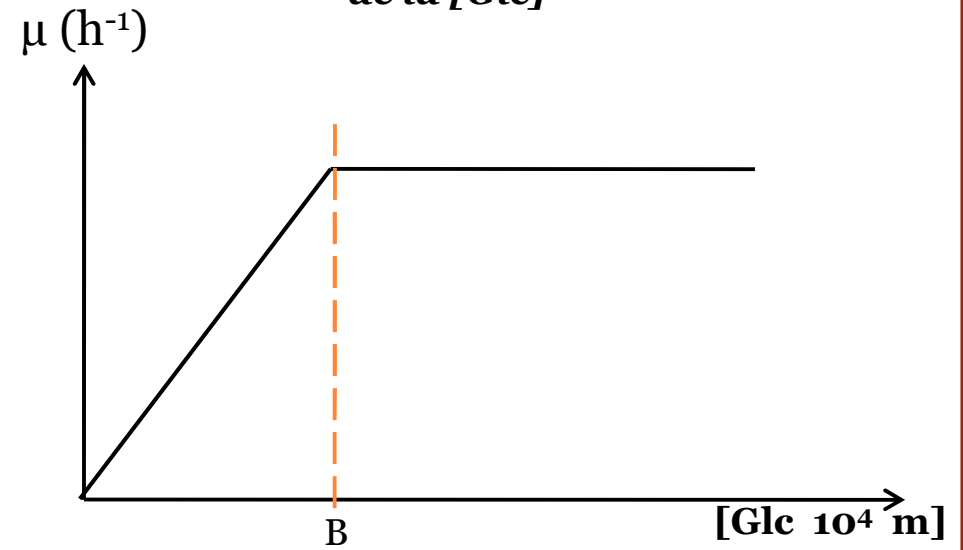
La nature du substrat.

La concentration du facteur limitant.

Taux de croissance en fonction de la température



Taux de croissance d'E.coli en fonction de la [Glc]



Courbes de croissance d'E.coli cultivée dans des conditions d'oxygénation différentes

Temps de génération (TG) de quelques espèces bactériennes

Bactérie	<i>In vitro</i> (min)	<i>In vivo</i> (h)
<i>Escherichia coli</i>	20-40	5
<i>Salmonella Typhimurium</i>	20-40	3-5
<i>Staphylococcus aureus</i>	40	3-5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	40	4
<i>Vibrio cholerae</i>	20	2-5
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	120-240	24-48

<http://www.microbes-edu.org/etudiant/phisio-croissance.html>

In vivo, la croissance bactérienne n'est pas similaire à celle observée *in vitro*. Elle est beaucoup plus ralentie. La phase de latence est beaucoup plus longue. Les bactéries n'ont pas toujours tous les nutriments à leur disposition pour leur croissance. *In vivo*, les bactéries peuvent être phagocytées par les macrophages et les polynucléaires et être inhibées par les produits antibactériens comme le lysozyme ou le complément.

Croissance synchrone et asynchrone



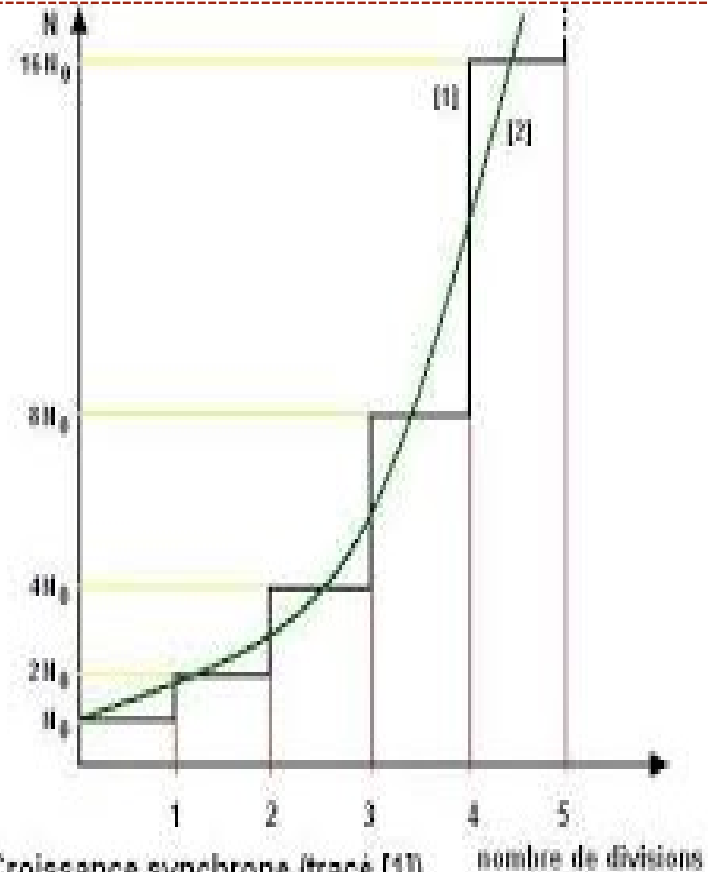
Dans une population en croissance, deux situations extrêmes peuvent être envisagées:

A - Croissance synchrone

Les bactéries se multiplient toutes au même moment et elles ont toutes le même âge. La phase exponentielle de la croissance s'effectue par paliers successifs et le nombre de cellules va augmenter selon un profil en marches d'escalier car toutes les cellules se divisent à la même vitesse. Pour synchroniser la croissance des cellules, il existe des techniques telles que: la filtration sélective.

B - Croissance asynchrone

Les bactéries n'ont pas le même âge, l'augmentation du nombre de bactérie se fait en continue.



Croissance synchrone (tracé [1])

Croissance asynchrone (tracé [2])

<http://microbia.free.fr/TS1BC/2.%20Physiologie%20odes%20microorganismes.pdf>

Croissance en biofilm



Les bactéries peuvent s'attacher aux surfaces, s'associer entre elles et s'entourer d'un polymère organique pour constituer un biofilm. Leur organisation et leur métabolisme dépendent de la nature de la surface et de l'environnement physico-chimique. Les biofilms intéressent tous les domaines de la microbiologie et de la médecine (matériels d'exploration, matériels implantés, muqueuses lésées).

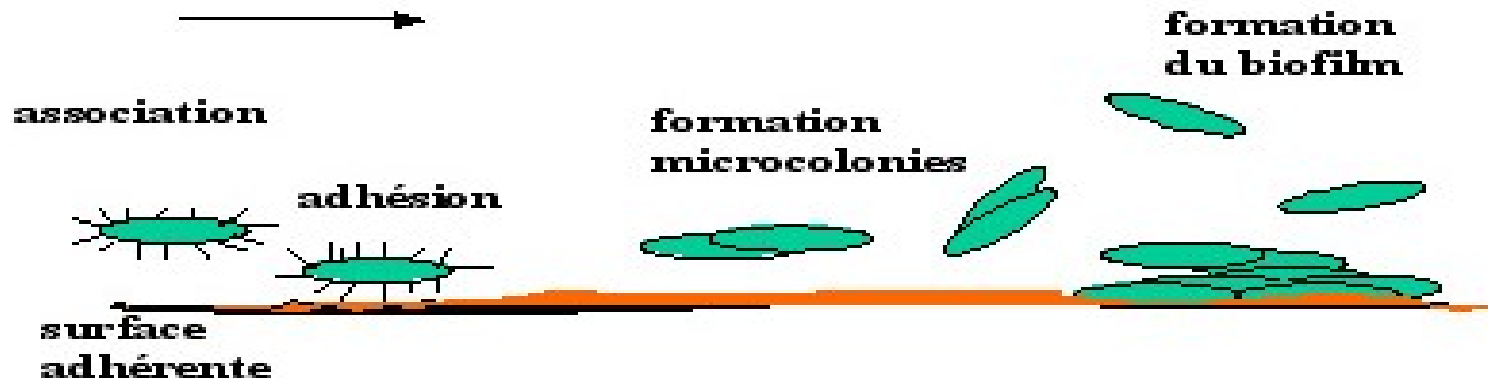


Schéma d'organisation d'un biofilm

<http://www.microbes-edu.org/etudiant/phisio-croissance.html>

Culture continue

Dans un milieu non renouvelé, la phase exponentielle de croissance ne peut durer que quelques heures. Or, il est possible de prolonger indéfiniment cette phase dans une culture en continue où le milieu de culture est constamment renouvelé et les produits du métabolisme sont en même temps éliminés.

Il est possible de maintenir les microorganismes indéfiniment en phase exponentielle de croissance.

Le principe:

La culture en continue où la culture microbienne reste sous un volume constant V_{ml} tout en recevant un débit (d) de milieu neuf, la concentration cellulaire varie en fonction du taux de croissance de l'espèce cultivée (μ) et du taux de dilution $D=d/V$.

La variation de la population microbienne en fonction du temps peut être exprimée comme suit:

$$dN/dt = (\mu - D) N$$

N: concentration cellulaire initiale; D: taux de dilution; μ : taux de croissance; t: temps.

Dans le cas où la valeur $\mu = \mu_{\max}$ et constante, on peut avoir trois situations:

- $\mu_{\max} < D$: l'effet de dilution est important, la population tend vers 0 et $dN/dt < 0$.

- $\mu_{\max} = D$: D est calculé pour que la population reste constante $dN/dt = 0$ (cas des **turbidostats**).

- $\mu_{\max} > D$: l'effet de dilution est moins important, $dN/dt > 0$ et la population tend à augmenter, elle peut être autorégulée (cas du **chémostat**).

Deux types de culture en continue sont utilisés:

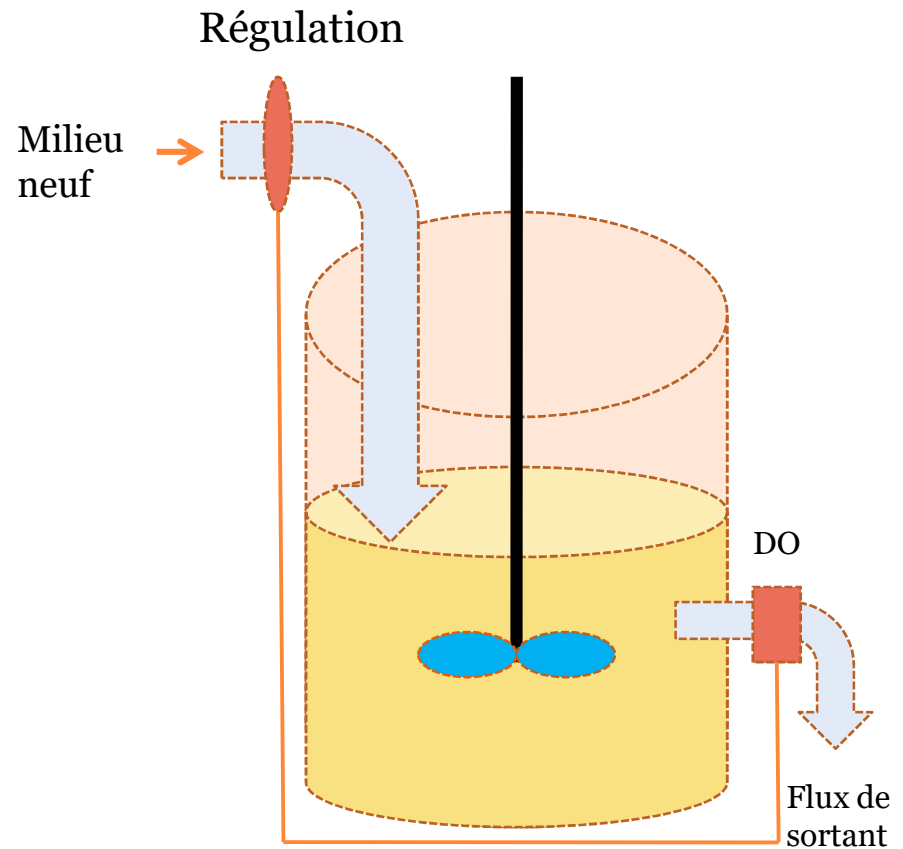
Le chémostat.

Le turbidostat.

Turbidostat



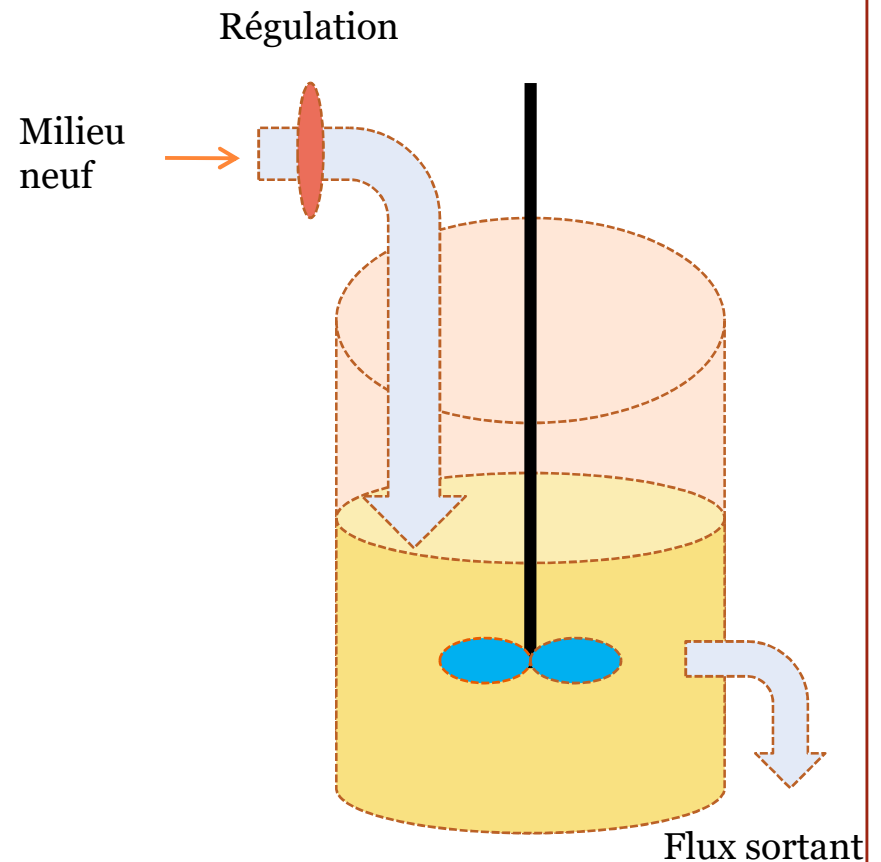
- Le turbidostat est un dispositif qui assure une culture en continue et il est composé d'une cellule photoélectrique .
- $\mu = \mu_{max}$.
- N est choisie en phase exponentielle.
- N est maintenue constant par régulation de D et donc par un contrôle turbidimétrique.
- Si N augmente, on aura une alimentation en milieu neuf qui dilue et ramène N à sa valeur initiale.
- Si N diminue, on aura arrêt de l'alimentation en milieu neuf jusqu'à ce que N reprend sa valeur initiale.



Chémostat



- Le chémostat est un dispositif qui assure une culture en continue.
- μ n'est jamais maximal : $\mu \neq \mu_{\max}$.
- La valeur de μ est liée à la concentration d'un facteur limitant dans le bioréacteur.
- La concentration du facteur limitant dépend de D .
- Si D augmente, μ augmente.
- Si D diminue, μ diminue. On peut donc régler la valeur de μ désirée par apport du milieu neuf à un taux constant (c'est le volume du milieu frais introduit qui chasse le volume de culture microbienne).
- N final dépend de la concentration du facteur limitant



Les avantages de la fermentation en continue:



- Eviter les temps de vidange, nettoyage, remplissage et stérilisation du fermenteur.
- Utiliser à plein rendement l'installation.
- Maintenir tous les paramètres constant, donc d'obtenir une production constante.

Références



•**A.Meyer, J. Deiana, A. Bernard (2004).** Cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés. 2^{ème} édition BIOSCIENCES ET TECHNIQUES, DOIN EDITEUR.

•**A.Meyer, J. Deiana, H. Leclerc (1984).** Cours de microbiologie générale. DOIN EDITEUR- PARIS.

•**L.M. Prescott, J.P. Harley, D. Klein (2003).** Microbiologie. 2^{ème} édition française. De boeck.

•**Polycope de microbiologie du pallier L2 SNV (FSB-USTHB).**

Merci pour votre attention