

Université Mohamed El Bachir el Ibrahimi -BBA-

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et de la Terre et de L'univers

Département : Biologie & Agronomie

MODULE : Microbiologie Générale

Spécialités : 2ème année Sciences Agronomiques & 2ème année Ecologie et Environnement

Université Mohamed El Bachir el Ibrahimi -BBA-  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et de la Terre et de L'univers  
Département: Biologie & Agronomie

# COURS DE MICROBIOLOGIE GÉNÉRALE

Préparé par :  
Mr: SADRATI.N

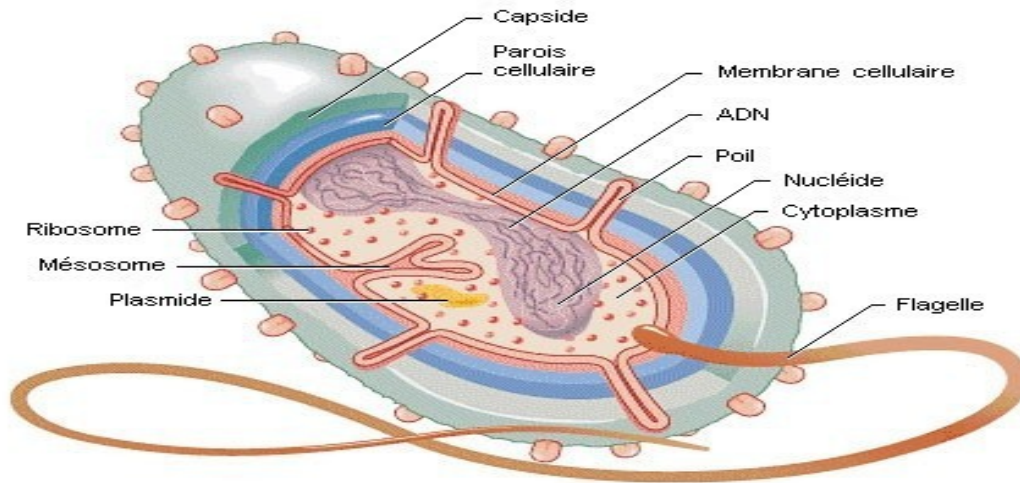
*Année universitaire :2019/2020*

## CHAPITRE II : MORPHOLOGIE ET STRUCTURE DE LA CELLULE BACTERIENNE

### II.2. Structure et anatomie de la cellule bactérienne

#### II.2.1. Les éléments essentiels (constants)

Les principales structures sont la **paroi cellulaire** et les **membranes**, le **cytoplasme** avec les **inclusions** et le **nucléïde** correspondant au noyau d'eucaryote.



### Morphologie bactérienne

#### A. La paroi bactérienne

Malgré la forte pression osmotique (5 à 20 atmosphères) qui règne à l'intérieur du cytoplasme bactérien, la bactérie n'éclate pas grâce à l'existence d'une structure rigide, appelée paroi, de nature polymérique. Les polymères et leur mode de liaison varient selon les espèces bactériennes. Toutefois, une substance de base, spécifique des bactéries est partout présente appelée **peptidoglycane**.

#### ❖ Structure du peptidoglycane

Le peptidoglycane est un polymère complexe formé de 3 éléments différents :

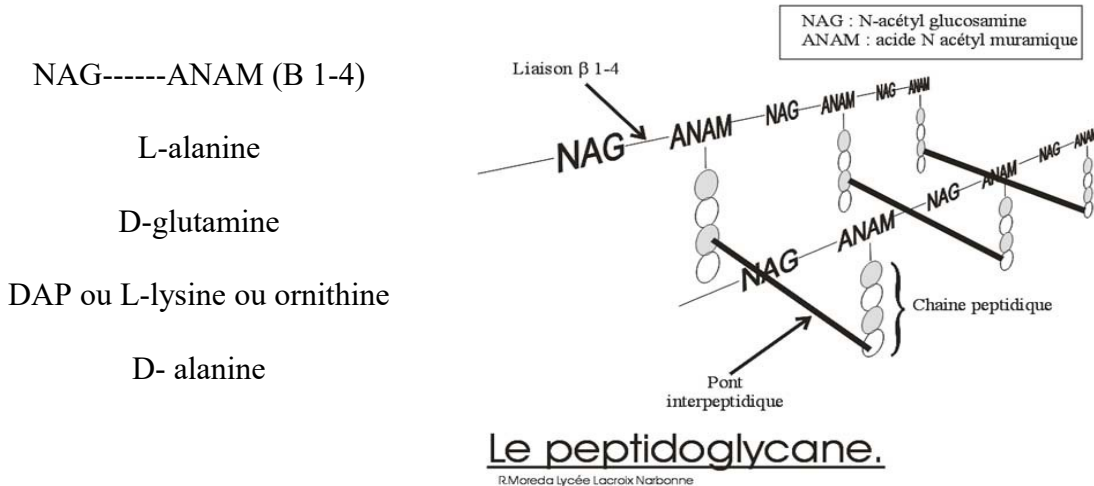
1. Une épine dorsale faite d'une alternance de molécules de **N-acétylglucosamine (NAG)** et d'acide **N-acétylmuramique (ANAM)**;
2. Un ensemble de chaînes latérales peptidiques identiques, composées de 4 acides aminés et attachées à l'acide N-acétylmuramique;
3. Un ensemble de « ponts interpeptidiques » identiques.

L'épine dorsale est la même pour toutes les espèces bactériennes tandis que les chaînes latérales de térapeptides et les ponts interpeptidiques varient d'une espèce à une autre. La plupart des chaînes latérales comportent la L-alanine en position 1 (attachée à l'acide N acétylmuramique), le D-glutamate

en position 2, l'acide diamino-pimélique (DAP), la lysine ou un autre acide aminé en position 3, et la D-alanine en position 4.

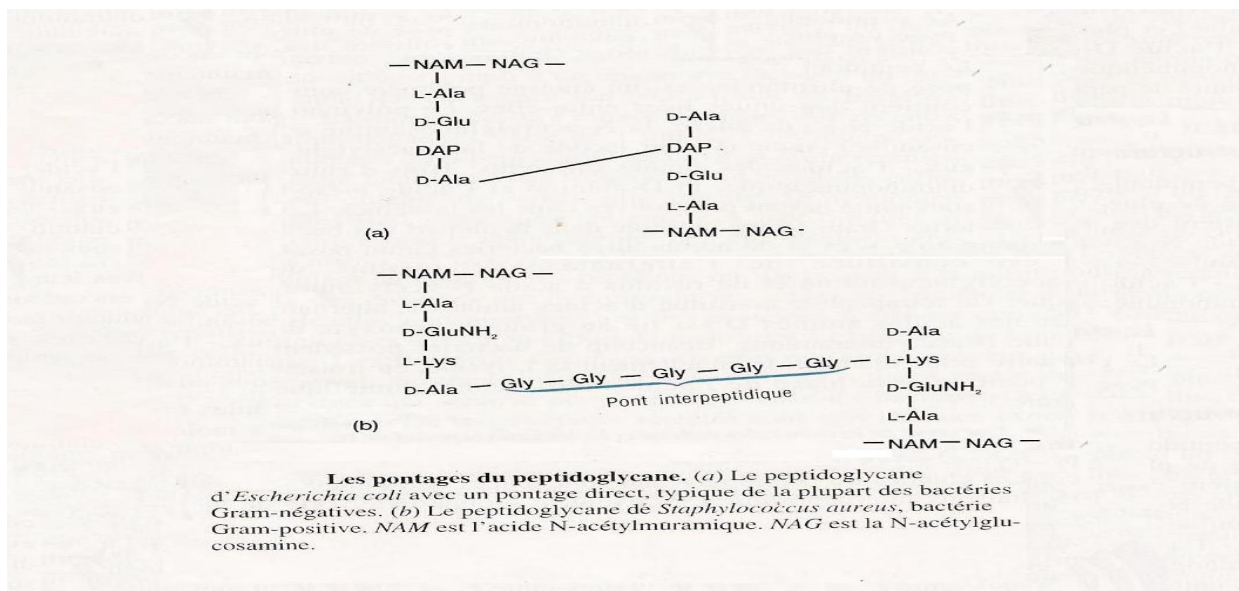
Les deux osamines sont des constituants fixés du peptidoglycane, cependant, il y'a des variations dans les acides aminés et la nature de leur liaisons. On trouve par exemple le DAP chez les actinomycètes et *E. coli* ; la lysine chez *Staphylococcus aureus*.

Le pontage est toujours entre la D-alanine d'un tétrapeptide et la L-lysine ou le DAP d'un tétrapeptide voisin.



**Structure de l'élément de base du peptidoglycane**

**Peptidoglycane est donc le résultat de la polymérisation de cette unité de base**



## ❖ Distinction entre les bactéries à Gram<sup>+</sup> et à Gram<sup>-</sup>

Pour savoir si une bactérie est à Gram<sup>+</sup> ou à Gram<sup>-</sup> il faut faire ce qu'on appelle la coloration de Gram.

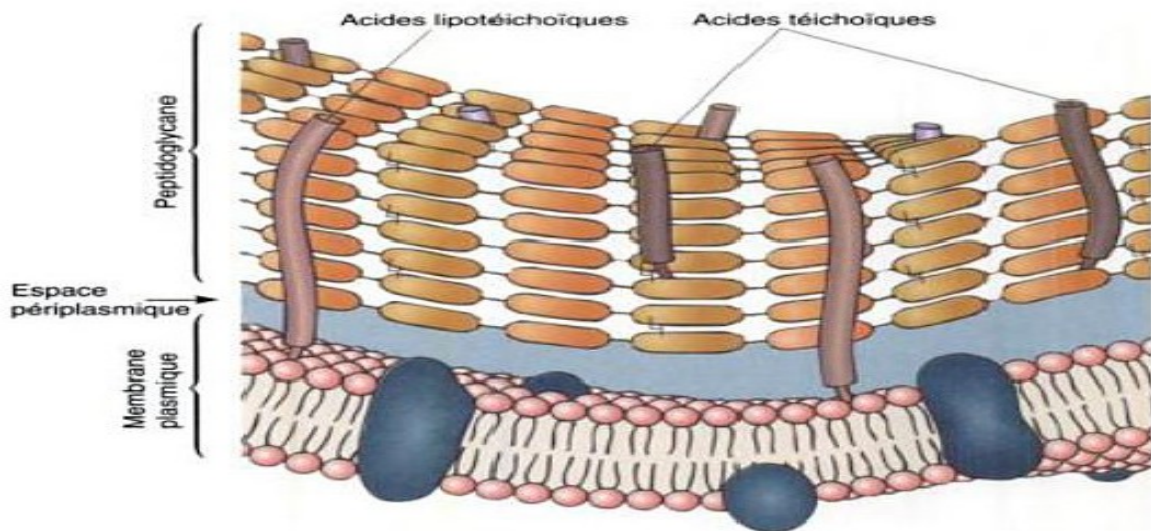
La coloration de Gram (coloration par le violet de gentiane, suivie d'une décoloration à l'alcool puis d'une recoloration à la fuschine) permet de distinguer deux types de bactéries :

- Celles qui **gardent** la coloration par le **violet** de gentiane et qui apparaissent bleues ou violettes au microscope, elles sont dites à **Gram positif**.
- Celles qui **perdent** la coloration par le violet de gentiane et qui apparaissent **roses** car elles n'ont gardé que le dernier colorant (fuschine), elles sont dites à **Gram négatif**.

L'étude en microscopie électronique de la paroi bactérienne permet de voir le support de cette différence tinctoriale.

### - Les parois des bactéries à Gram positif

La paroi cellulaire homogène et épaisse des bactéries à Gram positif est constituée principalement de peptidoglycane qui contient souvent un pont interpeptidique. Ces parois cellulaires contiennent aussi une grande quantité **d'acides teichoïques**. Polymères de glycérol ou de ribitol reliés par des groupes phosphate. Des acides aminés tels que la D-alanine ou des sucres comme le glucose sont attachés au glycérol ou au ribitol. Les acides teichoïques sont connectés soit au peptidoglycane lui-même soit aux lipides de la membrane plasmique : dans ce cas, ils s'appellent des acides **lipoteichoïques**. Les fonctions de ces molécules sont encore inconnues, mais elles doivent être importantes pour maintenir la structure de la paroi. Il n'y a pas d'acides teichoïques chez les bactéries à Gram négatif.



**Ultrastructure de la paroi d'une bactérie à Gram positif.**

## **- Les parois des bactéries à Gram négatif**

Les parois des bactéries à Gram négatif sont beaucoup plus compliquées que celles des bactéries à Gram positif, elles sont formées d'une **couche fine de peptidoglycane** (10% du poids de la paroi) **entouré d'une membrane externe épaisse** de 7 à 8 nm.

**La membrane externe** est formée de :

-**Lipoprotéines de Braun** : Une petite lipoprotéine attachée par liaison covalente au peptidoglycane sous-jacent et enfouie dans la membrane externe par son extrémité hydrophobe.

-**Lipopolysaccharides** : Grandes molécules complexes contenant à la fois des lipides et des glucides. Elles sont formées de trois parties :

-Le **lipide A** contient deux dérivés de glucosamine, chacun avec trois acides gras et des phosphates ou des pyrophosphates attachés. Il est enfoui dans la membrane externe tandis que le reste de la molécule de LPS est projeté vers l'extérieur.

C'est un constituant majeur de la membrane externe, donc le LPS aide à la stabilisation de la structure membranaire.

Le lipide A est souvent toxique, le LPS peut donc agir comme une endotoxine et provoquer certains des symptômes qui apparaissent lors d'infections à bactéries à Gram négatif.

-Le **polysaccharide central** est lié au lipide A. Sa composition en sucres est variable selon les espèces.

-**La chaîne latérale O** ou **antigène O** est une chaîne polysaccharide courte s'étendant au-delà du polysaccharide central. Elle est constituée de quelques sucres particuliers et sa composition varie selon les souches bactériennes.

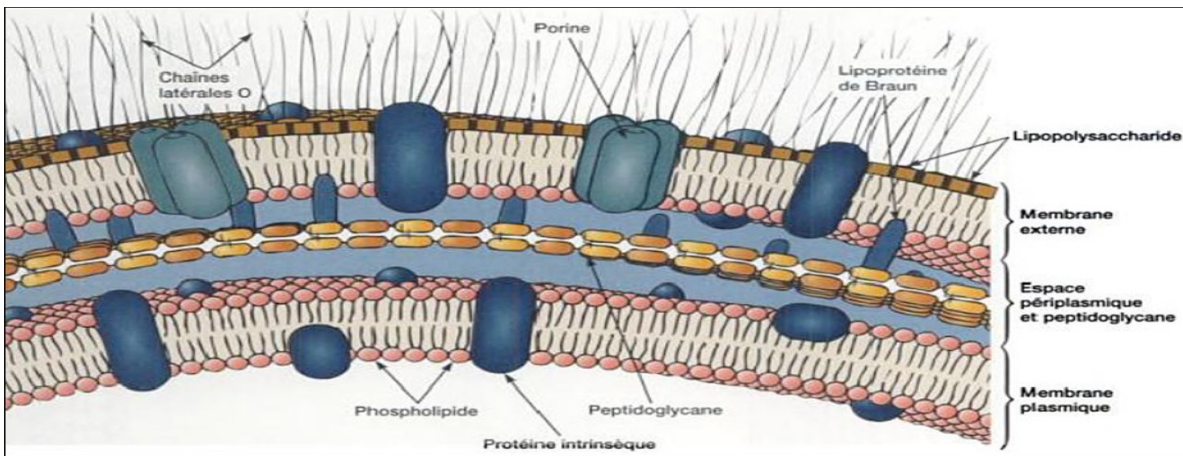
Bien que les chaînes latérales O soient facilement reconnues par les anticorps de l'hôte, les bactéries à Gram négatif peuvent contrecarrer les défenses de l'hôte en changeant rapidement la nature de leurs chaînes latérales O pour échapper à la détection.

-Une des fonctions les plus importantes de la membrane externe est de servir de barrière de protection. Elle empêche ou diminue l'entrée des sels biliaires, des antibiotiques et autres substances toxiques qui pourraient tuer ou endommager la bactérie.

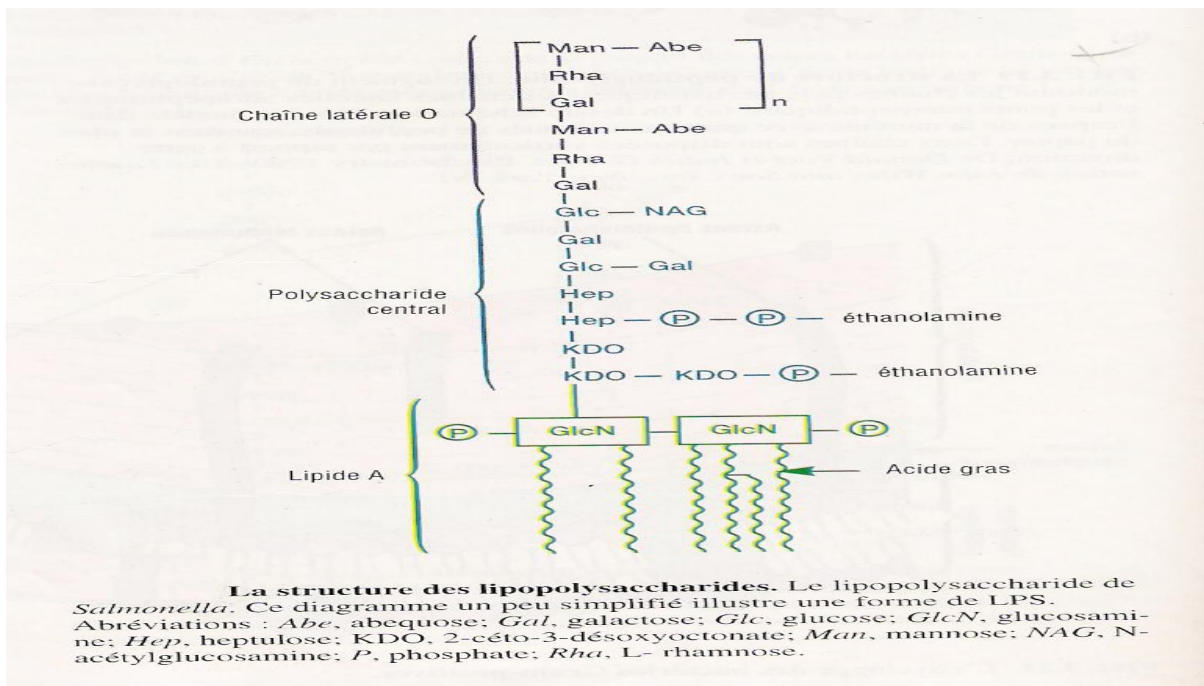
-Elle permet le passage de petites molécules comme le glucose et d'autres monosaccharides. Ceci est dû à la présence de protéines spéciales, **les porines** (trois molécules de porines s'assemblent et traversent la membrane externe en formant des canaux étroits).

-Des molécules plus grosses telles que la vitamine B12 doivent être transportées au travers de la membrane externe par des transporteurs spécifiques

-La membrane externe empêche aussi la perte des constituants comme les enzymes périplasmiques.



### Ultrastructure de la paroi d'une bactérie à Gram négatif



### Structure des Lipopolysaccharides

#### ❖ Rôles de la paroi cellulaire

- La paroi assure le maintien de la forme de la bactérie.
- Elle assure une protection contre la pression osmotique intracellulaire (car la forte concentration en métabolites à l'intérieur de la cellule induit l'entrée de l'eau).
- Elle joue un rôle déterminant dans la coloration de Gram. Chez les bactéries à Gram positif, la paroi bloque l'extraction du violet de gentiane et de l'iodure par l'alcool alors qu'elle ne bloque pas cette extraction chez les bactéries à Gram négatif.

- Elle joue un rôle déterminant dans la spécificité antigénique des bactéries (**antigène O** et **antigène flagellaire H** chez les bactéries à Gram négatif, les **acides teichoïques** ou leurs **sous unités osidiques** constituent les principaux antigènes chez les bactéries à Gram positif).
- Elle est le support de l'action de certains enzymes exogènes (lysozyme) ou endogènes (autolysines) et de certains antibiotiques, notamment les bêta-lactamines (pénicillines) qui inhibent la synthèse du peptidoglycane.
- Permet la fixation des bactériophages. Ils reconnaissent des récepteurs localisés au niveau des **acides teichoïques** des Gram (+) ou les **protéines** de la membrane externe des Gram (-).
- Participe à la mobilité. En effet, les flagelles sont implantés dans la membrane cytoplasmique mais ne peuvent pas fonctionner en absence de peptidoglycane.
- La perméabilité, la paroi laisse passer des petites molécules comme l'eau, les sels minéraux ou des métabolites simples. Par contre elle est plus ou moins perméable à certains solvants.

En effet de très nettes différences au niveau des principaux constituants chimiques entre bactéries à Gram positif et à Gram négatif s'observent et sont résumés dans le tableau ci-dessous :

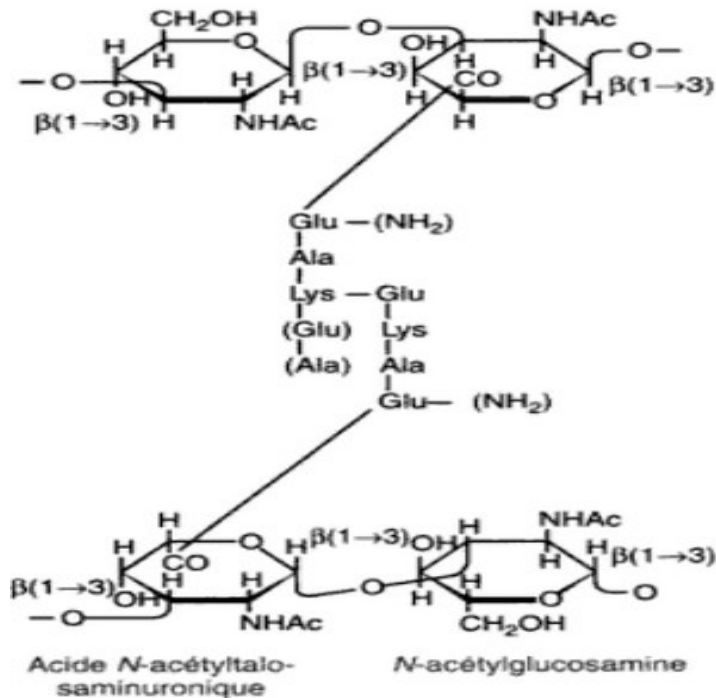
<b>Paroi des bactéries à Gram (+)</b>	<b>Paroi des bactéries à Gram (-)</b>
<b>Osamines : N-acétyl glucosamine (NAG) et Acide N-acétyl muramique (ANAM)</b>	
*Paroi épaisse et monocouche 15-80 nm * Peptidoglycane représente 80 à 90% de la paroi	*Paroi mince et multicouche 6-15 nm * Peptidoglycane présent en petite quantité, 10% de la paroi
* Acides teichoïques et lipoteichoïques (polymères de polyribitol phosphate ou polyglycérol phosphate)	*Pas d'acides teichoïques ni lipoteichoïques
* Peu de lipides (1 à 2 %)	* Lipides en grande quantité (10 à 20 % dans la membrane externe)

#### ❖ **Autres types de parois bactériennes particulières**

Certains groupes bactériens possèdent des parois très différentes de celles des Eubactéries. C'est le cas notamment des **Archeobactéries** et des **Mycobactéries**.

Chez les **Archaeobacteries**, la paroi a une structure et une composition très différentes des Eubactéries. Mais elles peuvent être colorées par la méthode de Gram et apparaissent soit Gram+, soit Gram- en fonction de la structure de leur paroi :

- Les bactéries à Gram + ont une paroi avec une couche épaisse et homogène de peptidoglycane mais différent de celui des Eubactéries, on parle de **pseudopeptidoglycane (pseudomuréine)**, qui a de l'acide N-acétyl D-talosaminuronique au lieu du NAM et des liaisons osidiques  $\beta$  1-3 à la place des  $\beta$  1-4. Les tetrapeptides associées comprennent l'alanine (L et D), l'acide glutamique et la lysine.



### Structure du pseudopeptidoglycane (pseudomuréine)

- Les bactéries à Gram - n'ont pas de membrane externe ni de peptidoglycane, mais elles possèdent une couche superficielle de sous-unités protéiques ou lipoprotéiques.

**Les mycobactéries** sont des bacilles légèrement incurvés, se multipliant très lentement. Leur paroi est très riche en lipides et contient des cires : acides gras en C60 (acides **mycoliques**), qui empêchent de « prendre » la coloration de Gram.

Ces bactéries sont dites : BAAR : bacilles acido-alcoolo-résistants. On les appelle aussi « bactéries sans paroi ». Exemple : *Mycobacterium tuberculosis*.

## B. La membrane plasmique

### ❖ Structure

La membrane cytoplasmique des bactéries a une épaisseur d'environ 7  $\mu\text{m}$  et sépare la paroi du cytoplasme.

Elle forme un feuillet continu. Elle est constituée d'une bicouche fluide de **phospholipides** dans laquelle sont incorporés des **protéines** globulaires. Les glucides (glucose et glucosamine) sont associés aux protéines de surfaces (**glycoprotéines**) ou aux phospholipides (**glycolipides**). Cette structure est dynamique et conforme au modèle de la mosaïque fluide.

### ❖ Composition chimique

- Les lipides : (30 à 40 %)



Ce sont des molécules amphiphiles, composées d'une :

- Partie hydrophile.
- Partie hydrophobe.

A cause de leurs propriétés, ils s'organisent spontanément en bicouche avec deux surfaces hydrophiles externes séparées par une zone centrale hydrophobe. Les lipides de la membrane plasmique sont essentiellement des phospholipides de type phosphatidyl-éthanolamine (PE) chez les bactéries à Gram - et phosphatidyl-glycérol (PG) chez les bactéries à Gram +.

#### - Les protéines : (60 à 70 %)

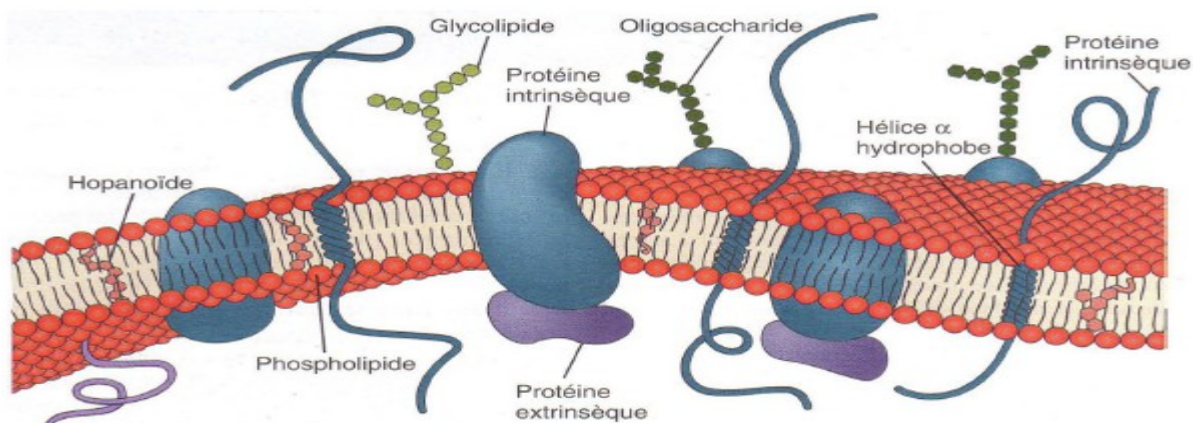
On distingue deux classes de protéines :

##### ✓ **Intrinsèques**

Ce sont des protéines transmembranaires. Elles sont globalement hydrophobes et s'associent en un complexe stable avec les phospholipides. En effet, les régions les plus hydrophobes de la protéine sont au niveau de la couche hydrophobe lipidique, alors que la partie hydrophile est au contact de l'espace péri-plasmique ou du cytoplasme.

##### ✓ **Extrinsèques**

Riche en acide aminés hydrophiles et peuvent être soit péri-plasmique, soit cytoplasmique à proximité de la membrane.



**La structure de la membrane plasmique.** Ce dessin montre le modèle de la membrane en mosaïque fluide où les protéines de structure flottent dans une double couche lipidique. Les protéines extrinsèques ou périphériques sont faiblement liées à la surface membranaire. Les extrémités hydrophiles des phospholipides sont représentées par de petites boules et les chaînes d'acides gras hydrophobes par un trait ondulé. D'autres lipides tels que les hopanoïdes peuvent être présents. Pour la clarté du schéma, les phospholipides sont proportionnellement plus grands que dans une membrane réelle.

### Ultrastructure de la membrane plasmique

## ❖ Fonction de la membrane plasmique

La membrane plasmique isole la bactérie du milieu extérieur tout en permettant les échanges avec celui-ci, elle a donc une perméabilité sélective. Ainsi, elle joue un rôle de barrière mais aussi de transport :

### - Rôle de barrière

Elle s'oppose à la fuite, vers l'extérieur, des constituants libres dans la cellule. Elle s'oppose à l'entrée, vers l'intérieur, des constituants indésirables. Elle permet aussi l'entrée de molécules et de déchets.

### - Rôle de transport :

La bactérie puise dans le milieu extérieur, des substances nutritives et y rejette des produits devenus inutiles, ce qui permet de maintenir les conditions nécessaires à la vie de la cellule. Les protéines jouent un rôle essentiel dans cette fonction.

Les mécanismes de transports sont nombreux mais on distingue deux mécanismes principaux :

#### 1. Passif :

Il ne nécessite pas de l'énergie et s'effectue dans le sens du gradient de concentration du composé.

##### ✓ Diffusion simple

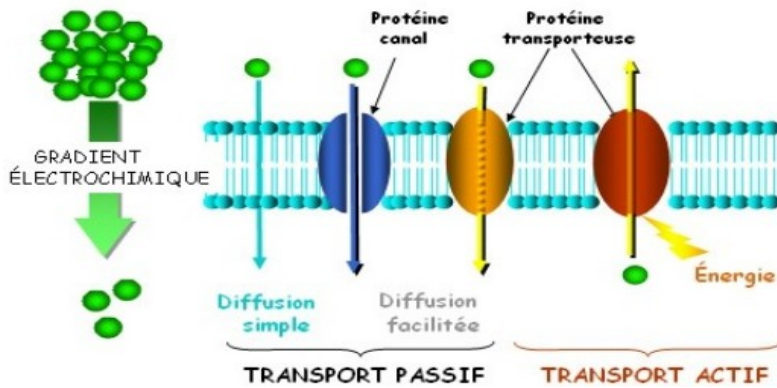
Concerne les substances liposolubles et de petites tailles. Ces substances traversent la membrane sans l'aide d'aucune protéine.

##### ✓ Diffusion facilitée

Concerne les molécules de taille relativement importante et se fait à travers une protéine membranaire (facilateur).

#### 2. Actif :

Nécessite de l'énergie et s'effectue dans le sens inverse du gradient de concentration du composé. Pour cela, la présence d'une perméase est nécessaire. Les perméases correspondent à des ensembles de protéines situées dans la membrane cytoplasmique dans l'espace péri plasmique. Ces protéines ont une activité enzymatique. Elles reconnaissent des substrats spécifiques et les transportent. L'énergie nécessaire, vient de l'hydrolyse de la molécule d'ATP (transport actif primaire) ou du gradient d'ion à travers la membrane, couplé avec le transport du composé.



## Les différents types de transport à travers la membrane plasmique

### ❖ Autres fonctions

La membrane possède des enzymes jouant les rôles supplémentaires suivants :

- Enzymes responsables de la biosynthèse et de l'excrétion dans l'espace périplasmique de molécules nécessaires à la synthèse de la paroi
- Enzymes de la chaîne respiratoire permettant la synthèse d'ATP (phosphorylation oxydative) et celles de la photosynthèse.
- Excrétion d'enzymes hydrolytiques, qui dégradent les polymères en sous-unités suffisamment petites pour pouvoir traverser la membrane cytoplasmique et être importés dans la bactérie.

### C. Le cytoplasme (L'hyaloplasme ou le cytosol) : Caractérisé par

<b>Liquide</b>	Cytoplasme homogène, fluide, clair, transparent.
<b>pH</b>	7 - 7,2
<b>Pression osmotique</b>	Elevée
<b>Composition chimique</b>	Eau, minéraux, acides aminés, nucléotides, lipides, protéines, ARN, composés métaboliques, ribosomes et granulations de réserves (glycogène, cyanophycine, phosphate, carboxysomes,)

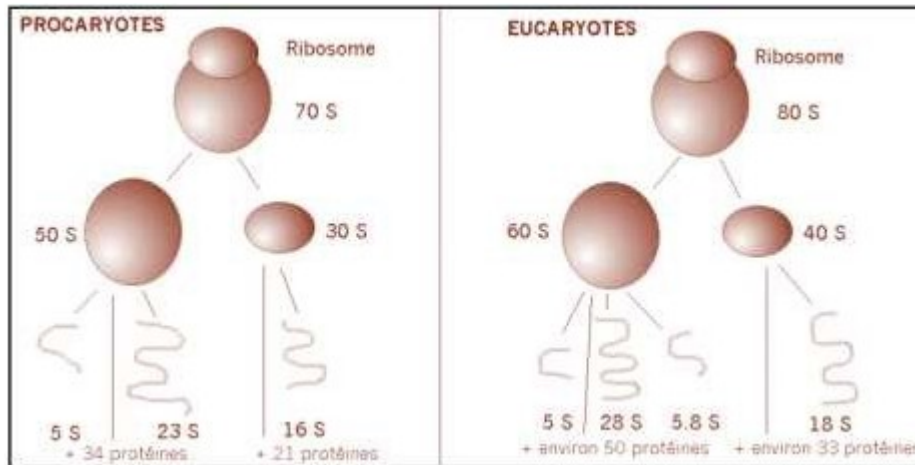
L'ensemble des constituants cytoplasmiques sont placés dans un gel colloïdal, qui contient 80 % d'eau et des substances organiques et minérales, à une pression interne considérable (5 à 20 atmosphères).

### D. Les Ribosomes

Ce sont des particules sphériques, de 20 nm de diamètre, présents en très grand nombre dans le cytoplasme bactérien, environ 15000 par bactérie, représentent 40 % du poids sec de la bactérie et 90 % de l'ensemble de l'ARN.

Les ribosomes sont répartis dans tout le cytoplasme mais ne sont pas accrochés aux chromosomes bactériens.

Ils sont constitués de protéines ribosomales et d'ARN (ARNr16S, ARNr23S et ARNr5S). Ils sont classiquement divisés en 2 sous-unités : la sous-unité 30S contient de l'ARNr16S plus 21 protéines, et la sous-unité 50S est constituée d'ARNr23S et d'ARNr5S plus 34 protéines.



### Structure des ribosomes et leurs sous-unités

#### E. L'espace périplasmique

Contient des enzymes qui participent à la nutrition (hydrolases) et des protéines qui sont impliquées dans le transport de molécules à l'intérieur de la cellule.

Les bactéries à Gram (+) excrètent plutôt les enzymes hors de la cellule. Ce sont alors des « exoenzymes ». Celles des bactéries à Gram (-) sont retenues entre les membranes interne et externe.

#### F. L'appareil nucléaire des bactéries (Chromosome)

Les bactéries possèdent un appareil nucléaire constitué d'acide desoxyribonucléique (ADN) qui est le support de l'information génétique.

L'ADN chromosomique est généralement constitué d'une double hélice d'ADN circulaire sans enveloppe nucléaire et sans nucléole. Cette double hélice est pelotonnée, surenroulée dans le cytoplasme grâce à l'action des topoisomérases. Déplié, le chromosome bactérien a près de **1 mm**  $\approx$  **5.10<sup>6</sup>** paires de bases de long (**1000 fois** la longueur de la bactérie) et 3 à 5 nanomètres de large. Cependant, quelques bactéries ont 2 ou même 3 chromosomes et autres rares bactéries ont un chromosome linéaire.

L'analyse chimique de l'appareil nucléaire indique qu'il est composé de 80 % d'ADN (le chromosome), de 10 % d'acide ribonucléique ou ARN (rôle de structuration) et de 10 % de protéines. Ces dernières sont représentées en particulier par les ADN polymérases qui copient les doubles brins d'ADN, les topoisomérases, surtout les ADN gyrases, qui les déroulent pour permettre l'action des polymérases, et des ARN polymérases qui assurent la synthèse des divers ARN.

## II.2.2. Les éléments facultatifs (non constants)

### A. L'ADN extra-chromosomique

A côté du chromosome, support de l'hérédité, la bactérie peut contenir des éléments génétiques (ADN) de petite taille (0,5 à 5 % du chromosome bactérien), extra chromosomiques, circulaire en double brin et très enroulée. Ces éléments, appelés **plasmides**, ne sont pas indispensables à la vie de la bactérie dans les conditions habituelles de croissance. Ils se répliquent indépendamment et en général plus rapidement que le chromosome bactérien.

#### ❖ Le facteur sexuel ou facteur F

Le facteur sexuel ou facteur F assure le transfert de fragments de chromosome bactérien par conjugaison (appariement de deux bactéries).

- C'est un transfert unidirectionnel de matériel génétique d'une bactérie à une autre
- Ce transfert a lieu après un contact physique entre les deux bactéries.
- La bactérie donneuse est dite mâle et la bactérie réceptrice est dite femelle
- La bactérie donatrice possède un morceau d'ADN particulier appelé facteur F (fertilité), elle est génétiquement F (+).
- La bactérie réceptrice ne contient pas de facteur F, elle est dite F

#### ❖ Les plasmides de résistance aux antibiotiques (ou facteurs R)

Ils portent des gènes qui confèrent aux bactéries la résistance à divers antibiotiques. Au contraire de la résistance conférée par une mutation chromosomique, la résistance conférée par un plasmide peut concerner des antibiotiques appartenant à plusieurs familles si le plasmide porte plusieurs gènes de résistance. La résistance codée par les gènes plasmidiques est souvent liée à la production d'enzymes qui inactivent les antibiotiques. Par exemple des plasmides de résistance très fréquents chez les staphylocoques portent un gène qui code pour la production d'une pénicillinase qui inactive la pénicilline G et les pénicillines du groupe A (ampicilline) ce qui rend la bactérie résistante à ces pénicillines.

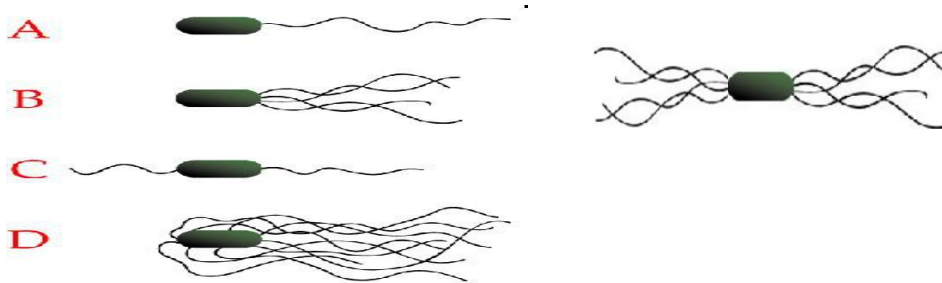
#### ❖ Les autres plasmides

Certains plasmides sont responsables de la virulence (ex. : production de toxines), de la résistance aux antiseptiques, du métabolisme de certains composés (lactose, lysine, etc...), et de la dégradation de substances, par exemple le toluène, l'octane et l'acide salicylique.

## B. Les flagelles et la mobilité

La plupart des bactéries mobiles se déplacent grâce à des **flagelles**, appendices locomoteurs qui s'étendent à l'extérieur de la membrane plasmique et de la paroi cellulaire. Ce sont des structures minces, d'environ 20 nm de diamètre et 15 à 20 µm de long.

Les espèces bactériennes se distinguent souvent par le mode de distribution des flagelles. Les bactéries **monotriches (A)** ont un seul flagelle, s'il est situé à une extrémité, il est dit **polaire**. Les bactéries **amphitriches (C)** ont à chaque extrémité, un seul flagelle. Au contraire, les bactéries **lophotriches (B)** ont une touffe de flagelles à l'une ou aux deux extrémités. Les flagelles sont distribués sur toute la surface des bactéries **péritriches (D)**. La distribution des flagelles est très utile à l'identification des bactéries.



Les différents types de flagelles

### ❖ L'ultrastructure flagellaire

La microscopie électronique à transmission a permis de montrer que le flagelle bactérien se compose de trois parties :

1) **Le filament** : C'est la partie la plus longue et la plus évidente, il s'étend depuis la surface cellulaire. C'est un cylindre creux constitué d'une seule protéine appelée la flagelline dont la masse moléculaire varie de 30 000 à 60 000.

2) **Le corps basal** : Est enfoui dans la cellule il a une structure plus complexe. Chez la plupart des **bactéries à Gram négatif**, le corps a quatre anneaux attachés à un axe central. Les anneaux extérieurs L et P s'associent respectivement avec les lipopolysaccharides et le peptidoglycane. L'anneau M interne s'attache à la membrane plasmique. **Les bactéries à Gram positif** ont seulement deux anneaux dans le corps basal, un anneau interne connecté à la membrane plasmique et l'autre probablement attaché au peptidoglycane.

3) **Le crochet** : Segment court et courbé, il lie le filament au corps basal. Il est plus large que le filament et fait de différentes sous-unités protéiques.



### ❖ Les pili communs

Les pili communs, sont des structures protéiques filamenteuses, rigide, très courtes (2 à 3  $\mu\text{m}$ ) de long, disposés régulièrement et en grand nombre autour de la bactérie (100 à 200). Ils sont constitués par la polymérisation d'une même sous-unité polypeptidique, **la piline**.

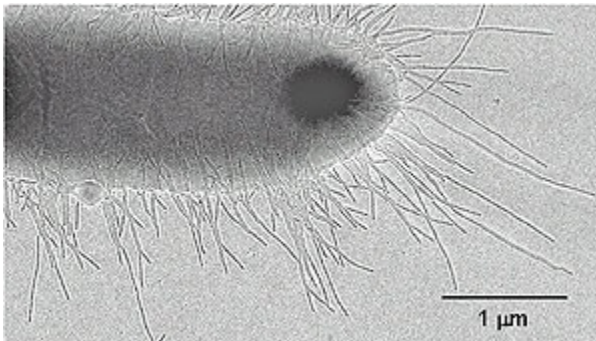
Les pili permettent l'attachement aux membranes des cellules, ce qui conditionne leur pouvoir pathogène (ex. fixation de *Escherichia coli* sur la muqueuse vésicale, du gonocoque sur la muqueuse de l'urètre, du vibron du choléra sur les entérocytes...).

Les structures génétiques codant pour les complexes pili-adhésine sont des opérons en situation plasmidique ou chromosomique.

### ❖ Pili sexuels (Pili F)

Peu nombreux (1 à 4), un peu plus longs, composés aussi de pilines, codés par des plasmides conjugatifs (plasmide F) et sont synthétisés seulement par les bactéries mâles. Les bactéries capables de produire les pili sexuels sont des bactéries mâles (bactérie donneuse) à l'opposé des bactéries femelles (bactérie receveuse).

Ils interviennent dans la conjugaison bactérienne, dans la reconnaissance mâle/femelle. Des bactériophages spécifiques peuvent s'adsorber à l'extrémité de certains pili sexuel et injecter leur génome viral dans le canal du pilus.



**Pili communs chez *Escherichia coli***



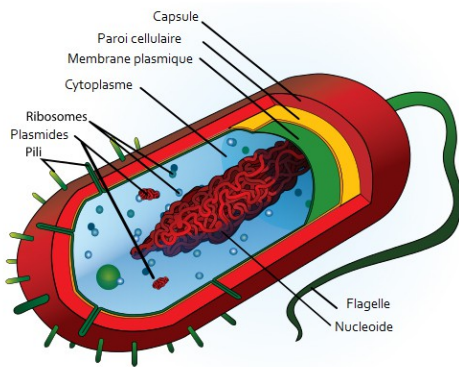
**Bactéries en conjugaison, liées par un pilus sexuel**

## D. Capsule

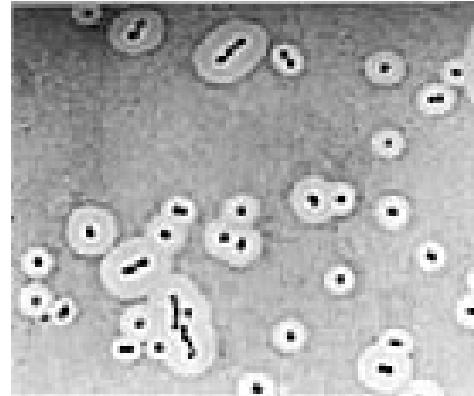
La **capsule** est une couche épaisse de sucres, retrouvée chez quelques espèces seulement. Ces sucres sont sécrétés à l'extérieur de la paroi cellulaire et forment un maillage épais autour de la cellule. Ils peuvent la protéger des conditions environnementales, des virus (bactériophages) et du système immunitaire (phagocytose). Cette structure est principalement retrouvée chez les bactéries pathogènes. La capsule peut être observée par une coloration négative à l'encre de chine ou à la nigrosine, des colorants sombres capables de marquer l'environnement de la bactérie mais pas la capsule ni la cellule.



La nature des constituants de la capsule polysaccharidique détermine la spécificité antigénique d'une souche bactérienne.



**Cellule bactérienne avec capsule bactérienne**



**Streptocoques avec capsule (coloration à l'encre de Chine)**

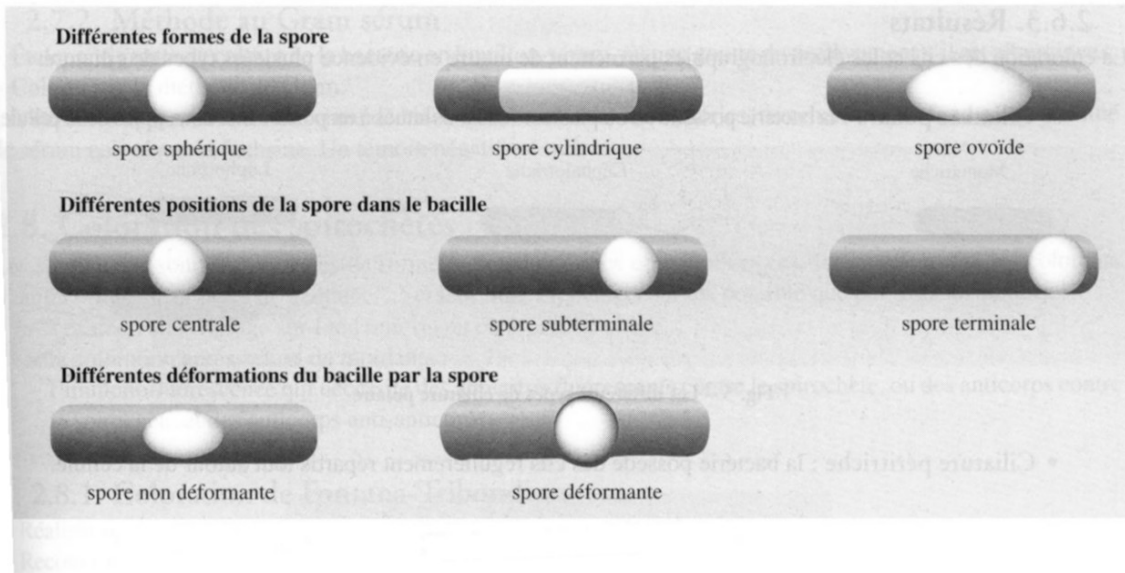
## E. La spore

Certaines bactéries, entre autres d'intérêt médical (genre *Clostridium* et *Bacillus*) ont la propriété de se différencier en formes de survie appelées spores lorsque les conditions deviennent défavorables, comme par exemple l'épuisement des éléments nutritifs.

Les endospores sont des structures résistantes aux conditions sévères de l'environnement comme la chaleur, les radiations ultraviolettes, les désinfectants chimiques et la dessiccation.

### ❖ Morphologie et structure

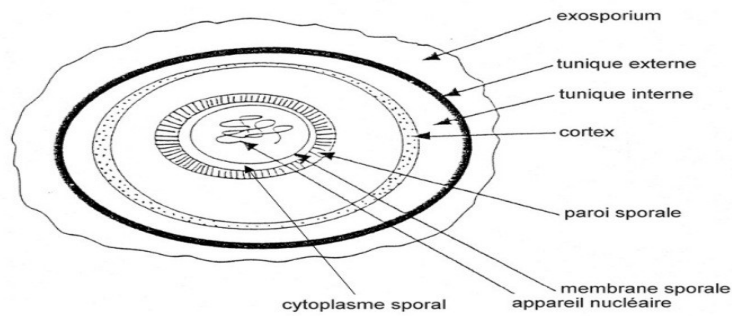
Les spores sont de petites unités ovales, cylindrique ou sphériques. Elles peuvent déformer ou non le corps bactérien. Leur position dans la cellule est variable : centrale, terminale ou subterminale. La spore peut être libre et elle est appelée **exospore** si elle reste à l'extérieur elle est dite **endospore**.



### Différents types de spores selon la forme, la position et la déformation de la cellule.

L'examen au microscope électronique montre que la spore est formée :

- ✓ **Exosporium** : Enveloppe mince et délicate. Elle est composée de protéines, d'osamine et de polysaccharides neutres. Elle contient une multitude d'enzymes nécessaires à la germination et/ou à l'interaction avec les cellules de l'hôte tels que les macrophages.
- ✓ **Tunique** : Située sous l'exosporium. Elle est composée de quelques couches protéiques et peut être assez épaisse, et selon l'espèce elle est constituée de protéines **ressemblant à la kératine** chez *Bacillus cereus* ou **au collagène** chez *Bacillus subtilis*. Elle est imperméable et responsable de la résistance des spores aux produits chimiques.
- ✓ **Le cortex**: Occupe plus de la moitié du volume de la spore, il est localisé sous la tunique et constitué de peptidoglycane.
- ✓ **La paroi de la spore** : Se trouve dans le cortex et entoure le protoplaste pauvre en eau, et qui possède toutes les structures cellulaires telles que les ribosomes, le nucléoïde et les enzymes inertes.



## L'ultrastructure de la spore bactérienne

### ❖ Propriétés de la spore

La spore possède de nouvelles propriétés par rapport à la cellule végétative :

#### ✓ Thermo résistance

La spore résiste en général à des températures de 70-80°C pendant 10 minutes, parfois plus. Cette propriété est due à la présence de l'acide dipicolinique et à la déshydratation de la spore. (Les protéines et les acides nucléiques à l'état déshydratés sont très résistants à la dénaturation thermique). Cette propriété entraîne des problèmes importants dans les hôpitaux, les salles de chirurgie et les industries alimentaires (*Clostridium tetani* (tétanos); *C. botulinum* (botulisme)).

#### ✓ Résistance aux agents physiques et chimiques

La spore résiste aux rayons UV, X, ultrasons, antiseptiques, désinfectants, antibiotiques. Cela pose également des problèmes dans les hôpitaux.

#### ✓ Résistance à la dessiccation et au vieillissement

Ces phénomènes semblent dus à la faible teneur en eau et au métabolisme ralenti : on parle d'état de dormance.

### ❖ Phénomènes de sporulation bactérienne

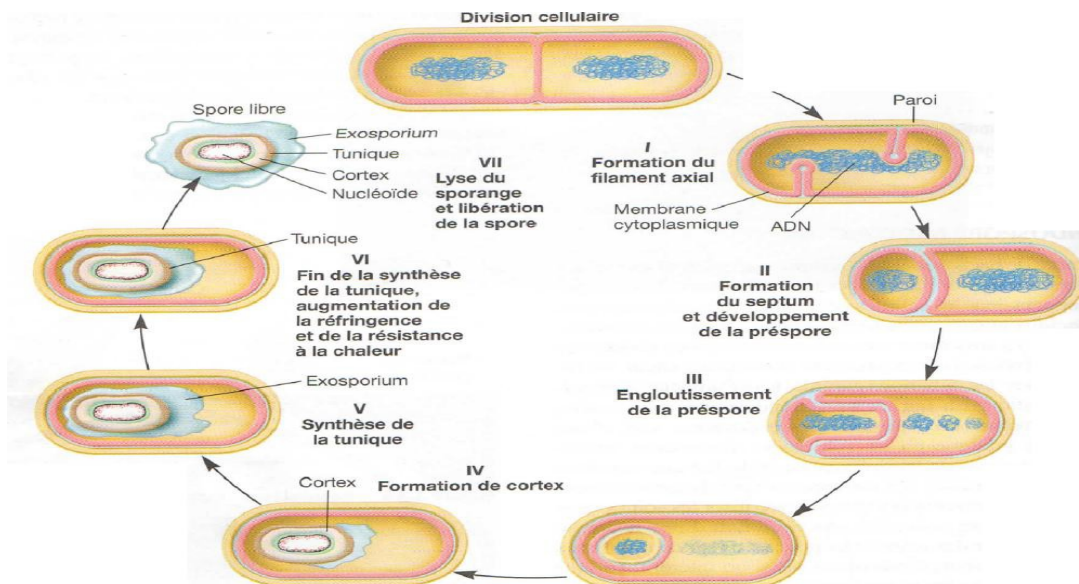
Il représente le passage de la forme végétative à la forme sporulée et inversement :



Comme il a été dit avant, la sporulation nécessite des conditions défavorables, contrairement à la germination, où la spore doit se trouver dans des conditions favorables : eau, nutriments, pH, force ionique, température convenable, pas d'agents antimicrobiens.

La sporulation dure environ 7 à 10 heures, elle se déroule en 7 étapes :

1. Conversion du matériel nucléaire en un filament chromatique axial.
2. Invagination de la membrane cellulaire et formation du septum, ce qui isole une partie de l'ADN à l'origine de la pré-spore.
3. La membrane de la grosse cellule englobe la petite cellule qui est finalement endocytée. La petite cellule est appelée **préspore**, elle est entourée d'une double membrane.
4. Formation du cortex, accumulation du complexe acide - calcium.
5. Les protéines de la tunique sont formées autour du cortex.
6. L'endospore arrive à maturité
7. Lorsque la spore arrive à maturité, des enzymes lytiques détruisent le sporange et libèrent la spore.



**Le cycle sporale**

## ❖ Germination

Afin que la spore **germe**, elle doit se trouver dans des **conditions favorables** : Eau, nutriments, pH, force ionique, température convenable, aucun d'agent antimicrobien.

La germination : C'est la transformation de la spore en cellule végétative. Ce processus comprend 3 étapes : L'activation, la germination et la croissance

### 1. **Activation**

Pour pouvoir germer, la spore doit être activée par un agent capable de léser les multiples enveloppes sporales. Cet agent peut être de nature :

- **Mécanique** : Choc, phénomène d'abrasion...
- **Physique** : Chaleur
- **Chimique** : Acidité, lysozyme.

### 2. **Initiation** :

L'initiation n'intervient qu'en condition favorables :

- Forte teneur en eau
- Milieu riche contenant des métabolites effecteurs (adénine, adénosine, magnésium)

Ces éléments pénètrent à travers les enveloppes endommagées et déclenchent un processus autolytique avec dégradation du peptidoglycane du cortex et libération de l'acide dipicolinique. Alors la spore se gonfle d'eau et perd ses caractéristiques.

### 3. **Emergence** :

Après sa réhydratation, la spore donne une nouvelle cellule végétative qui entre en phase active de biosynthèse : la synthèse de l'ADN reprend, la cellule double son volume, elle devient à nouveau capable de se multiplier.

### III : Nutrition et croissance bactérienne

#### III.1. Besoins nutritifs des bactéries

Les bactéries sont des organismes vivants qui ont besoin d'un ensemble de substances nécessaires à leur énergie et à leurs synthèses cellulaires, qu'elles trouvent dans l'environnement (Milieu) et dans des conditions physico-chimiques bien précises

Les besoins nutritifs des bactéries sont de deux types, les **besoins élémentaires** et les **besoins spécifiques = facteurs de croissance**.

##### A. Besoins élémentaires

Ce sont des besoins communs à toutes les bactéries.

##### 1) Source d'énergie

❖ **L'énergie nécessaire** à la biosynthèse des constituants bactériens et pour divers activités (mouvements, transferts actifs de composés...) elle peut être :

- De nature **lumineuse**, et les bactéries sont dites **phototrophes**
- De nature **minérale** ou **organique** (Oxydation d'un composé chimique), et les bactéries sont dites **chimiotrophes**. Ces dernières sont divisées en deux groupes, **les chimiolithotrophes** si elles tirent leur énergie d'un élément **minéral**, et **les chimioorganotrophes** si leur source d'énergie est un élément **organique**.

La plupart des bactéries d'intérêt médical sont des bactéries chimioorganotrophes.

##### 2) Source de carbone

❖ Le carbone est un élément essentiel de la cellule bactérienne, pouvant constituer jusqu'à 50 % de la cellule. Selon la source de carbone on distingue :

- Les bactéries dites **autotrophes**, qui sont capables de se développer en milieu minérale et peuvent utilisés le dioxyde **de carbone (CO<sub>2</sub>)** de l'air comme seule source de carbone. Elles réalisent des synthèses de composés organiques à partir du CO<sub>2</sub>.
- Par contre les bactéries **hétérotrophes**, exigent la présence de **composés organiques** divers pour utiliser leur carbone comme l'alcool, les sucres...

Selon les sources d'énergie, les donneurs d'électrons et les sources de carbone, les microorganismes peuvent être regroupés selon les types trophiques suivants :

Source d'énergie	Source du pouvoir réducteur (Source d'électrons)	Source de carbone	Type trophique
Lumière <i>Photo-</i>	Composé organique	Organique <i>-hétérotrophe</i>	Photoorganohétérotrophe
	<i>-organo-</i>	Minérale (CO <sub>2</sub> ) <i>-autotrophe</i>	Photoorganoautotrophe
	Inorganique	Organique <i>-hétérotrophe</i>	Photolithohétérotrophe
	<i>-litho-</i>	Minérale (CO <sub>2</sub> ) <i>-autotrophe</i>	Photolithoautotrophe
Composé chimique organique ou non <i>Chimio-</i>	Composé organique	Organique <i>-hétérotrophe</i>	Chimioorganohétérotrophe
	<i>-organo-</i>	Minérale (CO <sub>2</sub> ) <i>-autotrophe</i>	Chimioorganoautotrophe
	Inorganique	Organique <i>-hétérotrophe</i>	Chimiolithohétérotrophe
	<i>-litho-</i>	Minérale (CO <sub>2</sub> ) <i>-autotrophe</i>	Chimiolithoautotrophe

### 3) Source d'azote

Il participe à la constitution des acides aminés, des peptides, des protéines, des bases azotées, des acides nucléiques, des coenzymes.

Quelques bactéries sont capables de fixer l'azote atmosphérique, comme les *Rhizobium* des bactéries symbiotiques des légumineuses. Cependant, pour la majorité des bactéries la source d'azote est constituée par d'autres composés **inorganiques** (ammoniac, sels d'ammonium, nitrites, nitrates ou N<sub>2</sub>) ou par des sources **organiques** (groupements amines des composés organiques comme les protéines et les acides aminés).

### 4) Eléments minéraux (phosphore et soufre)

- ❖ Les bactéries ont besoin d'une **source de soufre** qui se retrouve dans les protéines, précisément au niveau des groupements thiols (-SH) des AA soufrés (méthionine et cystéine), et il est incorporé sous forme de sulfate ou de composés **soufrés organiques**.
- ❖ Elles ont besoin également d'une **source de phosphore** constituant des acides nucléiques, des coenzymes, de l'ATP, il est incorporé sous la forme de **phosphate inorganique**.

## Autres éléments minéraux

### ➤ Macro-éléments

D'autres **éléments minéraux** sont nécessaires à la vie bactérienne comme le potassium (**K**), le magnésium (**Mg**), le chlore (**Cl**) et le sodium (**Na**) qui jouent un rôle dans le maintien de l'équilibre physicochimique de la bactérie. La présence de ces ions dans le milieu extracellulaire limite les échanges d'eau, et sont nécessaire en quantités importantes.

### ➤ Micro-éléments (oligo-éléments)

Divers **oligo-éléments** comme le manganèse (**Mn**), le zinc (**Zn**), le molybdène (**Mo**), le Nickel (**Ni**), le cobalt (**Co**) et le cuivre (**Cu**) sont nécessaires en très faibles quantités et jouent le rôle de cofacteurs ou d'activateurs enzymatiques.

## B. Besoins spécifiques = Facteurs de croissance

En présence d'une source d'énergie, d'une source de carbone, d'une source d'azote et d'éléments minéraux, de nombreuses bactéries sont capables de croître et elles sont qualifiées de **prototrophes**. Les bactéries **auxotrophes** nécessitent, en plus, un ou plusieurs **facteurs de croissance** indispensables à leur croissance et qu'elles sont incapables de synthétiser, Ces derniers doivent être fournis par l'environnement afin d'assurer la survie et la reproduction de l'organisme. Beaucoup de ces substances sont des **vitamines** qui ont le rôle de coenzyme ou de précurseurs de coenzyme, des **acides aminés** et des **bases puriques** et **pyrimidiques** nécessaires à la synthèse des **protéines** et les **acides nucléiques** respectivement. Les besoins en facteurs de croissance varient d'une bactérie à l'autre.

## III.2. Croissance et division bactérienne

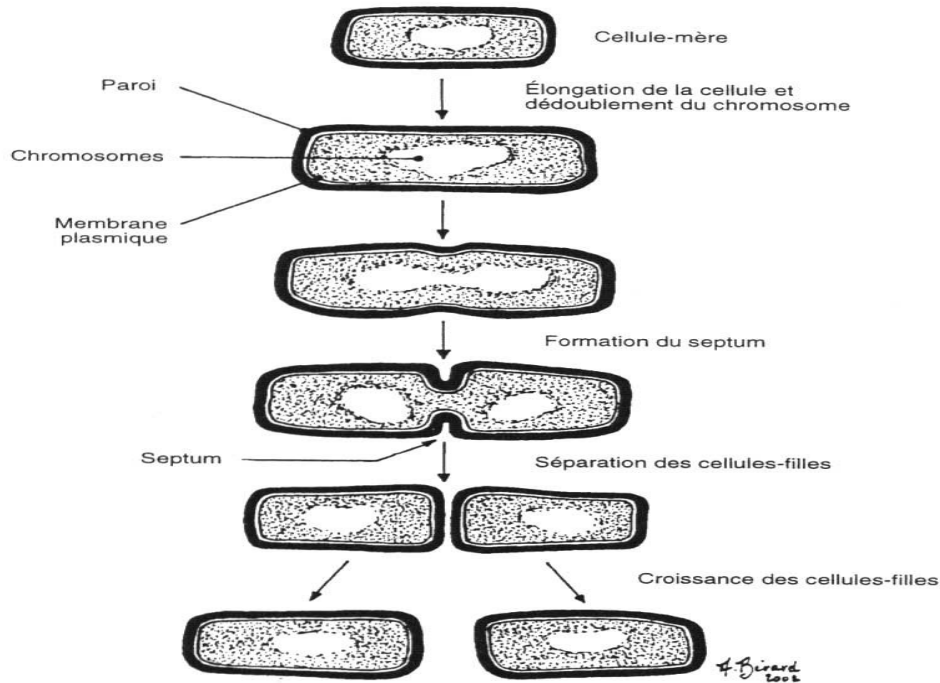
Chez les organismes **pluricellulaires**, la croissance se manifeste par l'**augmentation de taille** ou de **masse**, par contre chez les **microorganismes unicellulaires**, elle se manifeste par l'**augmentation du nombre** (multiplication suite à des **divisions binaires** ou **scissiparité**). Donc la croissance bactérienne correspond à l'accroissement du **nombre de bactéries**.

Lorsqu'une cellule bactérienne est placée dans un milieu de culture convenable, elle va engendrer **deux** bactéries filles identiques qui pourront à leur tour se diviser par scissiparité.

Les principales caractéristiques de ce mode de reproduction sont :

- ✓ Allongement et augmentation de la taille de la bactérie
- ✓ Duplication des constituants
- ✓ Formation d'une paroi transversale (septum)
- ✓ Séparation de la cellule mère en deux cellules filles identiques





### Schéma représentant les différentes étapes de la division bactérienne

Cet accroissement s'accompagne par :

- Une diminution de la quantité de matières nutritives disponibles
- Une augmentation des déchets et des produits toxiques dans le milieu
- Modification de certains paramètres du milieu (le pH, le potentiel d'oxydo-réduction, la conductivité, la pression osmotique).

### III.3. Constantes et expression de la croissance

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

#### ➤ Le temps de génération

On mesure l'accroissement d'une population bactérienne à partir du calcul du **temps de génération (G)**, correspondant au temps nécessaire au doublement d'une population (**ou une division cellulaire, ou le temps d'intervalle entre deux divisions successives**). Il dépend de l'espèce bactérienne et des conditions du milieu extérieur (favorables ou défavorables).

$$G = t/n$$

Temps de génération de quelques espèces bactériennes.

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

➤ **Taux de croissance ( $\mu$ )**

Le **Taux de croissance ( $\mu$ )** désigne le nombre de divisions par unité de temps (**heure**). Par Exemple, *E.coli* se divise 3 fois en une heure, son taux de croissance est de 3.

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

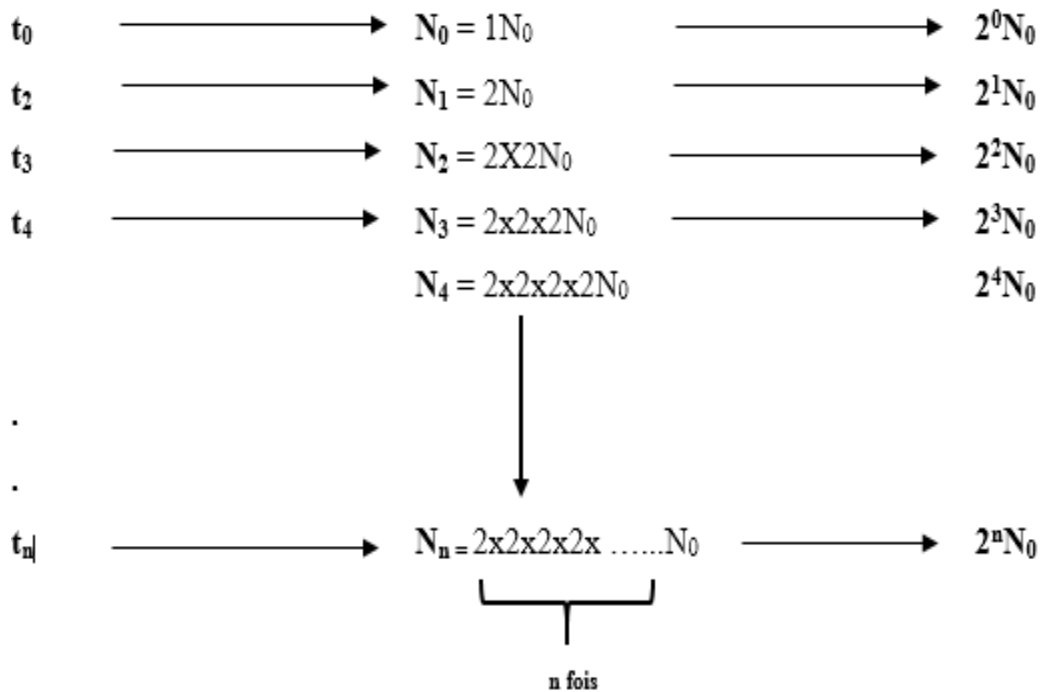
**III.4. Expression mathématique de la croissance**

**1) Aspects théoriques de la croissance**

Théoriquement, une bactérie, placée dans un milieu convenable peut se multiplier indéfiniment, par fission binaire. La croissance se fait selon une progression géométrique : 1, 2, 4, 8, etc... ou  $2^0, 2^1, 2^2, 2^3, \dots, 2^n$  (où n = nombre de générations). Il s'agit d'une croissance exponentielle.

Si on part d'une population initiale  $N_0$ , au bout de **n** divisions, on aura un nombre théorique de bactéries :

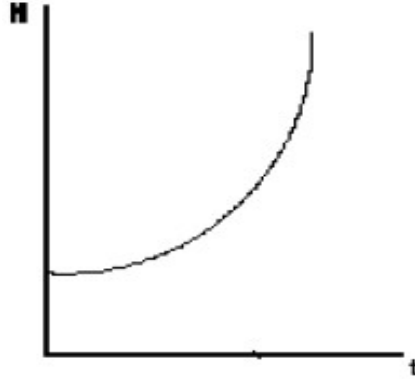
$$N = 2^n N_0.$$



(n= nombre divisions et  $N_0$ =nombre de bactérie à  $t_0$ )

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

Il s'agit d'une fonction exponentielle  $N = f(t)$ .



Pour la simplifier (linéarisation), on va lui faire subir une transformation logarithmique :

$$N = 2^{\mu t} N_0 \text{ (4) : } \log N = \log 2^{\mu t} N_0 \Rightarrow \log N = \mu t \log 2 + \log N_0$$

Équation d'une droite :  $(Y = aX + b)$

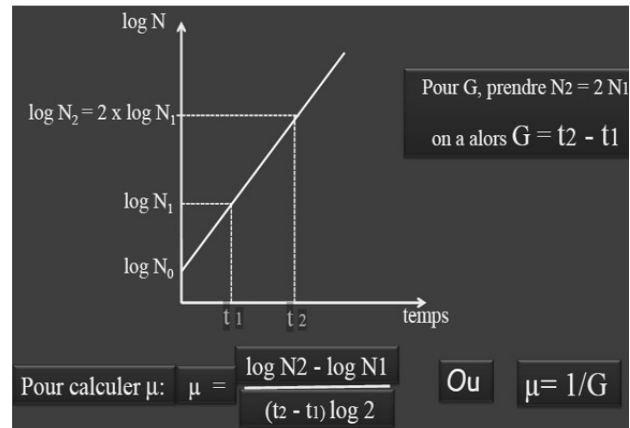
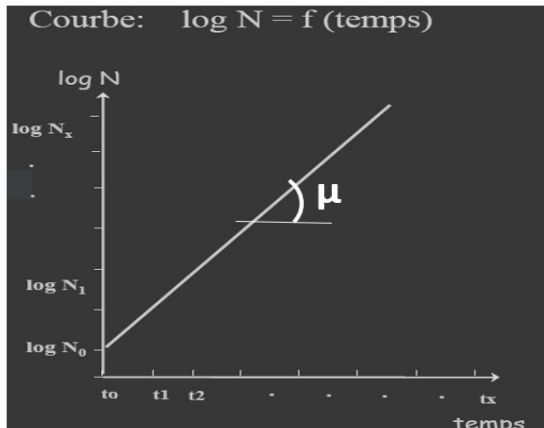
Pente de la droite :  $a = \mu \log 2 \Rightarrow \mu = a / \log 2$ .

$$a = \frac{\log N - \log N_0}{t - t_0} \quad \Rightarrow \mu = \frac{\log N - \log N_0}{(t - t_0) \log 2}$$

$$N_n = 2^n N_0 \Rightarrow N_1 = 2^1 N_0, \quad \log N_1 = \log 2^1 N_0, \quad \Rightarrow \log N_1 = \log 2 + \log N_0$$

$$\mu = \frac{\log N_1 - \log N_0}{t_1 - t_0} \quad \Rightarrow \mu = \frac{\log 2 + \log N_0 - \log N_0}{(t_1 - t_0) \log 2}$$

$$\Rightarrow \mu = \frac{1}{(t_1 - t_0)} \Rightarrow \mu = \frac{1}{G}$$

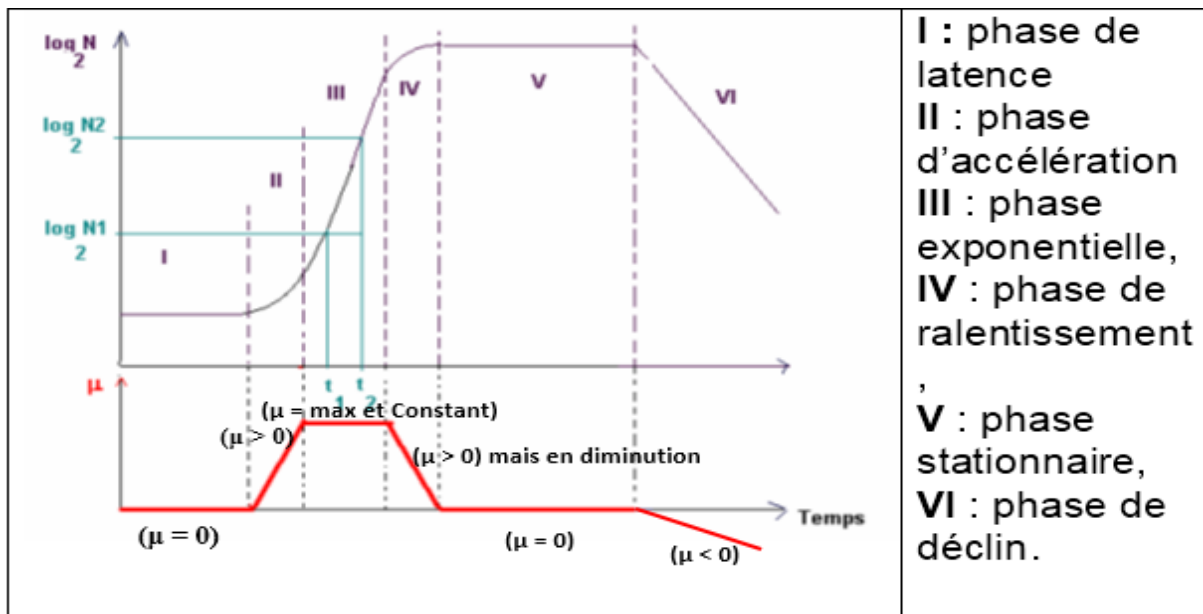


### Représentation logarithmique

## 2) Dynamique de la croissance bactérienne

### 2.a) Différentes phases de croissance en milieu non renouvelé

La croissance bactérienne est un phénomène dynamique qui comporte 6 phases.



### Variation de N et $\mu$ pendant les phases de croissance

**I : Phase de latence ou (phase d'adaptation) :  $\mu = 0$ .**

Les bactéries introduites dans le milieu de culture n'augmentent pas immédiatement de nombre (pas de division cellulaire et  $\mu = 0$ ), une phase de latence avant le début de la division est nécessaire

pour l'**adaptation des bactéries au milieu** (si le milieu est de nature chimique différente du premier à partir duquel les bactéries ont été prélevées) afin qu'elles puissent synthétiser de nouvelles enzymes pour l'utilisation des nouveaux substrats. Il y a aussi le **facteur de l'âge** des bactéries introduites dans le milieu de culture (plus les cellules sont jeunes plus elles s'adaptent rapidement contrairement aux bactéries âgées en phase stationnaire ou de déclin l'inoculum contient de nombreuses cellules mortes, il leur faut un certain temps de réparation).

## **II : Phase d'accélération**

Pendant laquelle la vitesse de croissance augmente.  **$\mu$  augmente.**

## **III : Phase exponentielle de croissance** (où s'appliquent les précédentes équations mathématiques).

Cette phase est linéaire logarithmiquement où la croissance est maximale et constante ( **$\mu$  est maximum et constant**).

## **IV : Phase de ralentissement :**

Les bactéries continuent à se diviser mais à un rythme moins important entraînant en parallèle une diminution de  **$\mu$  ( $\mu > 0$  en diminution)**.

## **V : Phase stationnaire :**

On est parvenu à un plateau,  **$\mu = 0$** . Les bactéries ne se divisent plus.

La croissance de la population finit par s'arrêter et la courbe de croissance devient horizontale. Le nombre de cellules viables reste constant, ceci est le résultat de l'équilibre entre division et mort cellulaire, ceci est dû à :

- ✓ L'épuisement d'un ou plusieurs substrats nutritifs
- ✓ Accumulation inhibitrice de métabolites toxiques : acides organiques, toxines...
- ✓ Modification de l'équilibre ionique tel que le pH

## **VI : Phase de mortalité ou de déclin :**

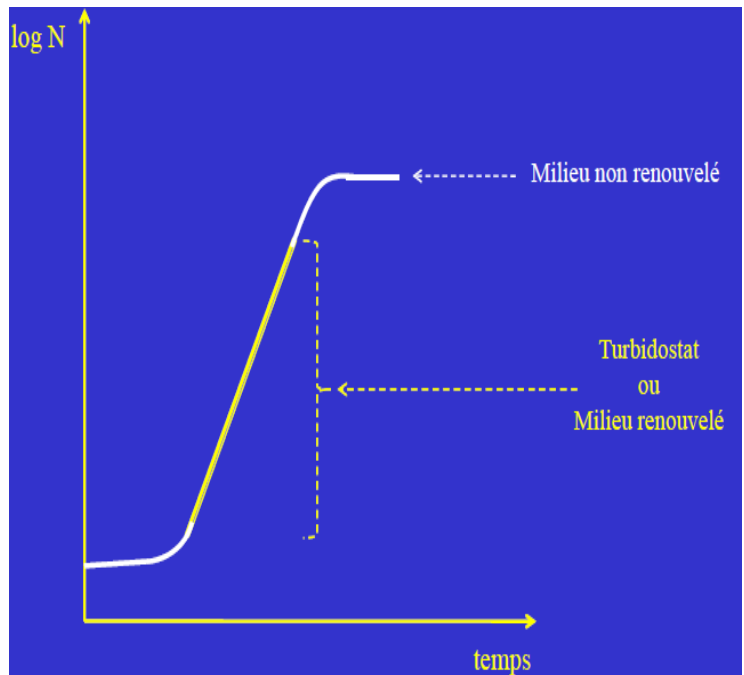
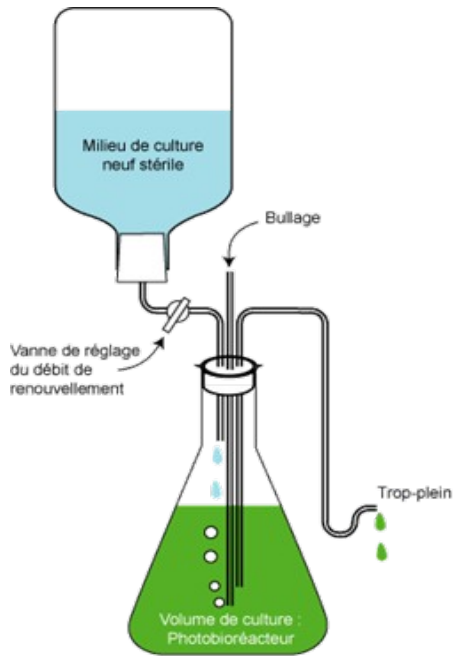
La carence en nutriments et l'accumulation de déchets toxiques conduisent à la diminution du nombre de cellules viables. Elles vont lyser et libérer les contenu intracellulaire (elles meurent),  **$\mu < 0$** .

### **2.b) Cas particuliers de croissance**

#### ❖ **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

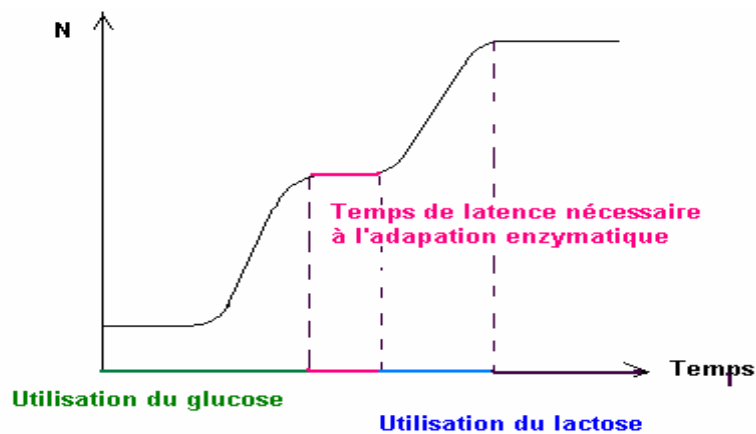
en éliminant les produits résultant du métabolisme cellulaire. C'est le principe des fermenteurs industriels.  $\mu$ : Taux de croissance maximal et  $N$ : Population constante



**Croissance continue**

❖ **Cas de la diauxie**

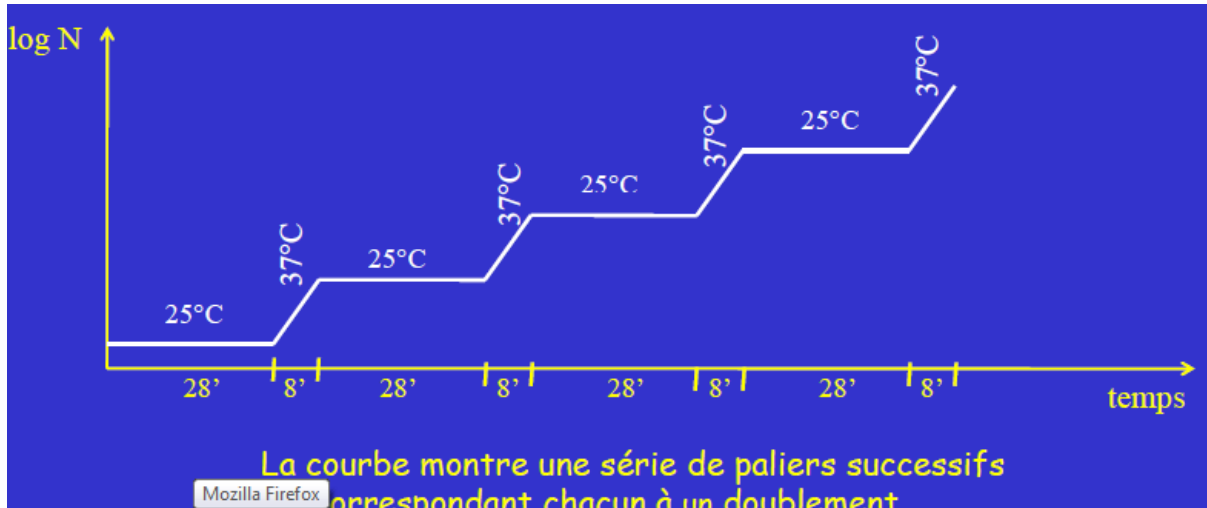
Croissance dans un milieu synthétique en présence de 2 substrats carbonés. Lorsque des bactéries sont cultivées en présence de glucose et de lactose, elles commencent par l'utilisation du glucose jusqu'à son épuisement. On observe ensuite un temps de latence, durant lequel les bactéries vont synthétiser les enzymes nécessaires à l'utilisation du lactose, avant la reprise de la multiplication bactérienne.



**Courbe de croissance diphasique (diauxie).**

## ❖ 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



**Courbe de croissance synchrone**

### 2.c) Facteurs influençant la croissance bactérienne

La croissance des bactéries est influencée par différentes conditions physico-chimiques du milieu. Les facteurs qui influencent le plus cette croissance sont l'humidité, la température, l'oxygène et le pH.

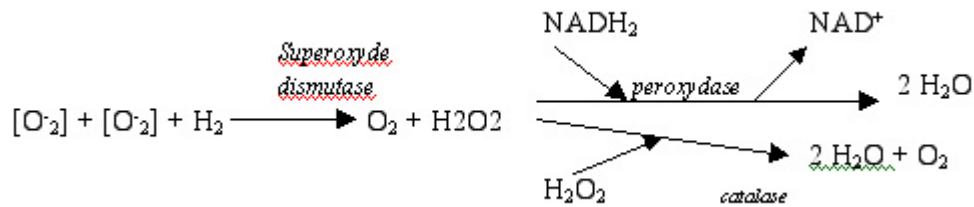
- Effet de l'oxygène

Les bactéries possèdent des modes respiratoires variés : certaines nécessitent de l'oxygène pour leur croissance alors que, pour d'autres, l'oxygène peut être délétère. Il existe 4 classes de bactéries en fonction de leurs rapports avec l'oxygène :

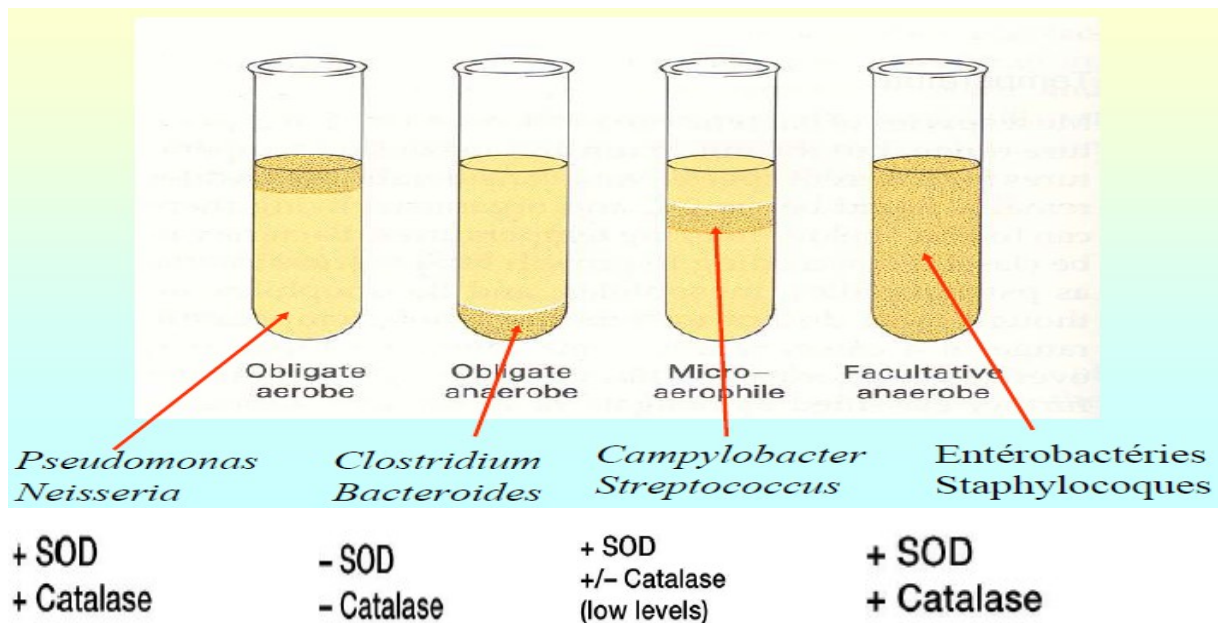
- **Bactéries aérobies strictes (*Pseudomonas*)** : Elles ne se développent qu'en présence d'air. Leur source principale d'énergie est la respiration. L'oxygène moléculaire (O<sub>2</sub>) est l'ultime accepteur d'électron.
- **Bactéries micro-aérophiles (*Campylobacter*)** : Se développent mieux ou exclusivement lorsque la teneur en oxygène moléculaire est réduite.
- **Bactéries aéro-anaérobies facultatives** (C'est le cas de la majorité des bactéries rencontrées en pathologie médicale comme les **entérobactéries, les staphylocoques**) : Se développent avec ou sans air, leur croissance n'est pas affectée par la concentration en oxygène moléculaire. L'énergie provient de l'oxydation des substrats et de la voie fermentaire.

- **Bactéries anaérobies strictes** (c'est le cas des bactéries intestinales comme *Clostridium*) : Ne se développent qu'en absence totale ou presque d'oxygène qui est le plus souvent toxique. La totalité de l'énergie est produite par fermentation.

La toxicité de l'oxygène s'explique par la production de radicaux superoxydes (superoxyde  $O_2^-$ , Le peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$ ) que les bactéries anaérobies ne peuvent pas détruire (absence de superoxyde dismutase) et/ou par l'absence d'une activité enzymatique à type de catalases et de peroxydases.



### Mode d'action de la superoxyde dismutase, de la catalase et de la peroxydase



### Représentation schématique des différents modes de respiratoires dans le monde bactérien.

- Effet de la température

Cinq catégories de bactéries sont différenciées sur la base de leur fourchette de températures de croissance :



- **Bactéries mésophiles (*Escherichia coli*):** Dont la croissance est possible de 10 à 45°C mais ayant une température optimale de croissance comprise entre 30 et 37°C et parmi lesquelles se trouvent la plupart des bactéries d'intérêt médical.

- **Bactéries thermophiles (*Thermus aquaticus*):** Températures de croissance comprises entre 45 et 70°C.

- **Bactéries hyperthermophiles :** Peuvent croître à des températures supérieures à 80°C.

- **Bactéries psychrophiles :** Température proche du 0°C avec un optimum de 10 à 15°C.

- **Bactéries psychrotrophes (*Pseudomonas*):** Se développant à des températures de -5 à 35°C (optimum proche de celui des bactéries mésophiles : 20-25°C).

- **Effet du pH (concentration en ion hydrogène [H<sup>+</sup>])**

Il existe 3 catégories de bactéries :

- **Bactéries neutrophiles (*Escherichia coli*):** Certaines bactéries se développent à des pH compris entre 5.5 et 8.5 avec un optimum voisin de 7. La plupart des bactéries médicalement importantes sont ainsi.

- **Bactéries alcalophiles (*Pseudomonas*):** Se développeront préférentiellement à un pH alcalin (>8).

- **Bactéries acidophiles (*Lactobacillus*):** leur croissance est optimale à un pH acide (<6).

- **Effet de la pression osmotique**

Les bactéries ont une bonne tolérance aux variations de pression osmotique :

Quand on parle de sel on à :

- **Bactéries halophiles (*Vibrio*):** Elles nécessitent du chlorure de sodium (NaCl) pour leur croissance  $0.2 < [NaCl] < 5.2$  M.

- **Bactéries halotolérantes (*Enterococcus faecalis*):** Capable de s'adapter à de très fortes concentrations en sel (il n'est pas indispensable) en synthétisant des solutés à très forte concentration comme le glycérol, de cette manière, et grâce à ce glycérol, la concentration en molécules intracellulaire égalise la concentration extracellulaire. Au final, dans ces conditions d'équilibre, l'eau ne s'échappe plus des cellules.

- **Bactéries non halophiles (*Pseudomonas*):** Croissance en milieu de concentration en NaCl inférieure à 0,2 M.

- **Effet de l'eau libre (Activity of Water) (AW)**

L'eau joue deux rôles : C'est le solvant des molécules organiques et inorganiques, il intervient dans les réactions enzymatiques comme réactif (réaction d'hydrolyse).

On définit l'Aw : Activity of Water pour quantifier l'eau biologiquement disponible pour les bactéries.  $0 < Aw < 1$  elle est inversement proportionnelle à la pression osmotique d'un composé, ainsi elle est affectée par la présence plus ou moins importante de sels ou de sucres dissous dans l'eau

Les microorganismes se développent préférentiellement sur des milieux à forte AW, donc riches en eau libre.

#### L'Aw optimale :

- Pour la plupart des bactéries est situé entre 0,91 et 0,99
- Pour la plupart des levures est situé aux alentours de 0,88
- Pour la plupart des moisissures est situé aux alentours de 0,80

Il existe aussi des bactéries pouvant résister à des Aw faibles :

- **Microorganismes halophiles** : Microorganismes exigeant des concentrations élevées en NaCl pour leur croissance (ex : les bactéries du genre *Staphylococcus* et certains *Vibrio*) **(0,80-0,75)**.
- **Microorganismes xérophiles** : Microorganismes se développant mieux dans des milieux ayant une faible Aw **(0,75-0,65)**.
- **Microorganismes osmophiles** : Microorganismes se multipliant de préférence dans ou à la surface d'un milieu ayant une pression osmotique élevée **(0,65-0,60)**.

La majorité des produits frais ont une Aw élevée, ce sont des aliments favorables au développement bactérien (les bactéries envahissent ces aliments préférentiellement aux autres microorganismes car se multiplient plus vite). Par contre les aliments secs sont favorables au développement des moisissures et levures.

L'abaissement de l'Aw d'un aliment conduit à un développement bactérien moindre, et donc à une meilleure conservation.