

Introduction :

Les microbes aussi appelés **microorganismes**, sont des êtres vivants qui sont trop petits pour être visibles à l'œil nu. Le groupe comprend les **bactéries**, les **mycètes (levures et moisissures)**, les **protozoaires**, les **algues microscopiques** et les **virus**.

Avec la découverte des êtres microscopiques, il devient nécessaire de les classer parmi les êtres vivants (animaux, végétaux).

En 1968, Murray divise le monde vivant en deux règnes : celui des ***Eucaryotae*** et celui des ***Procaryotae*** (ou *Monera*).

En 1978, Carl Woese proposa un système de classification fondé sur l'**organisation cellulaire** des êtres vivants, il regroupa tous les organismes en trois domaines de la façon suivante :

Bactéries (*Eubacteria*), présence d'une paroi pourvue de peptidoglycane

Archéobactéries (*Archaeae*), paroi de structure spéciale différente de la paroi des eubactéries,

Eucaryotes : Protistes (protistes fongiformes, protozoaires et algues), **Mycètes** (levures, moisissures...), **Plantes** (Plantes à fleurs, fougères...), **Animaux** (éponges, insectes, vertébrés...)

Chapitre 2. La cellule bactérienne

2-1. Observation de la cellule bactérienne

Observation entre lame et lamelle, dite à l'état frais, de microorganismes en milieu liquide permet l'observation de la forme, taille des cellules ainsi que le mode de groupement et la mobilité. (**Illustration TP2**)

Observation de frottis séchés, fixés et colorés. Les colorations de Gram, de Ziehl Nielsen et autres font apparaître spécifiquement les cils, les spores... (**Illustration TP2**)

Pour observer des structures de l'ordre de 5nm à 10nm, on utilise la microscopie électronique. Les immunocytochimiques, permettent de localiser dans la cellule des molécules bactériennes.

2-2. La séparation des constituants cellulaires

Différentes techniques de séparations, après avoir **lyser** (casser) les différentes enveloppes cellulaires (membranes, paroi...) avec des techniques **chimiques**, **enzymatiques** ou **physiques** (détergents, lysozymes, pression osmotique, broyage, ultrasons...). On utilise la

centrifugation, ultracentrifugation (différentielles) sur gradient de densité (ex. gradient de saccharose) pour séparer les différents organites cellulaires.

2-3. La composition chimique d'une bactérie

Élément : carbone, azote, phosphore, soufre, cendres

Macromolécules : protéines, acides nucléiques (ADN), ARN, polysaccharides, lipides

Pool de métabolites : acides aminés, nucléotides libres, sucres, acides organiques, esters, oligopeptides, ATP, vitamines, coenzymes.

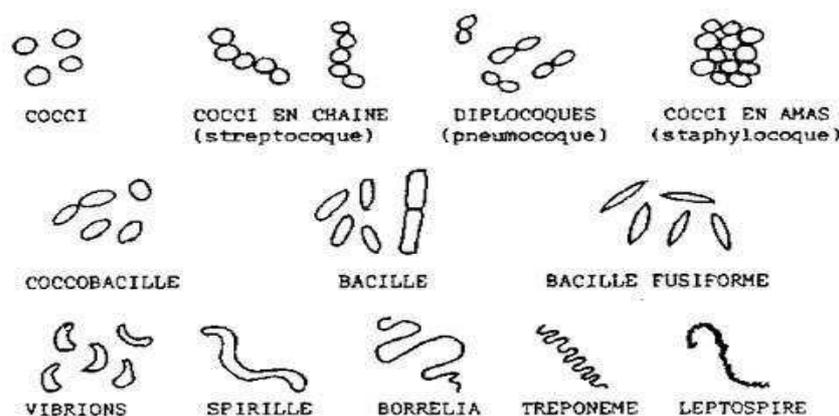
2-4. Taille, forme et groupement des cellules bactériennes

La plupart d'entre elles ont de 0.2 à 2.0 μm de diamètre et de 2 à 8 μm de long.

Les cellules bactériennes individuelles présentent **trois formes principales**, la forme **sphérique** des **cocci** (coccus au singulier : grain), la forme en **bâtonnet** des **bacilles** (=bague) et la forme en **spirale**.

Les **modes de groupements** des cocci groupés par paires sont appelés **diplocoques** ; ceux qui forment des **chainettes** sont appelés **streptocoques** ; ceux qui se divisent dans de nombreuses directions et forment des **grappes** sont appelés **staphylocoques**....

Les **diplobacilles** et les **streptobacilles** forment des chainettes, ceux ayant une apparence semblable à celle des cocci qu'on les appelle **coccobacilles**.



Les différentes formes et associations bactériennes

Structure et composition de la cellule bactérienne :

Éléments constants : La paroi, la membrane, le cytoplasme et l'appareil nucléaire représentent les **structures essentielles** de la cellule, qui sont **toujours présentes**.

Eléments inconstants : la capsule, enveloppe externe, les flagelles, les pili et fimbriae, les spores. Des qui structures peuvent éventuellement être présentes.

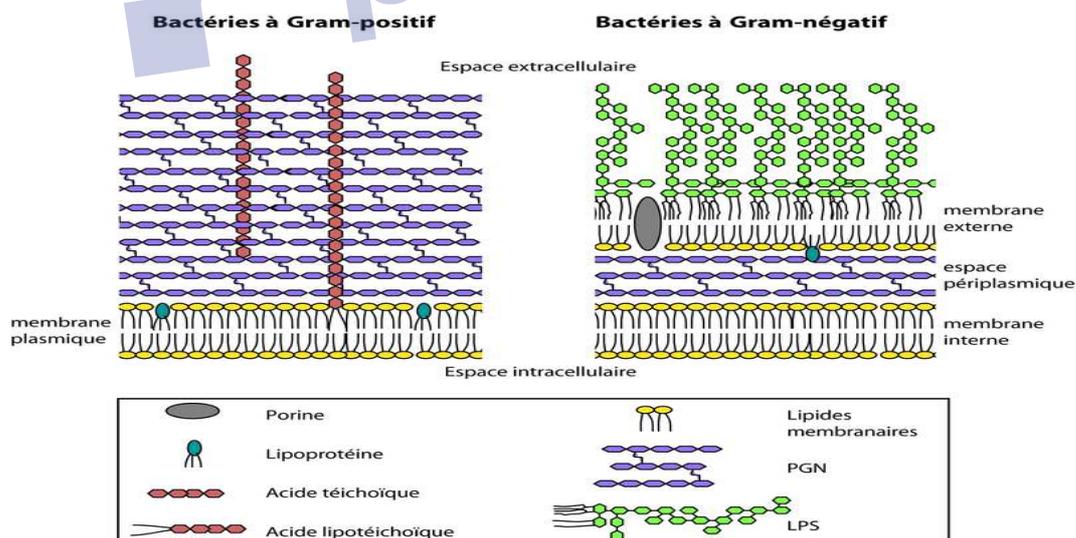
2- 5. La paroi cellulaire

Enveloppe cellulaire, la paroi est un véritable « **exosquelette** » qui confère à la cellule sa forme et sa rigidité. La paroi est notamment formée d'un polymère, le **peptidoglycane** (Fig.) (encore appelé *mucopéptide, muréine ou mucocomplexe*). La distinction entre bactérie à **Gram positif** et à **Gram négatif** repose sur une différence de composition chimique pariétale.

2-5-1. Composition chimique de la paroi

Tableau III : Composition chimique globale de la paroi chez les bactéries à Gram positif et à Gram négatif (C. Senez, Microbiologie générale. Doin, Paris)

	Bactéries à Gram +	Bactéries à Gram -
Osamines (NAG) et (NAM)	+++	+
Acides aminés	24-35%	50% env.
Nombre	4 à 10	16 à 17
Acide diaminopimélique	+++ (exclut la lysine)	+ (n'exclut pas la lysine)
Acides teichoïques	+++	-
Oses	20-60%	20-60%
Lipides	1-2.5%	10-22%



Composition de la paroi des bactéries à Gram Positif et des bactéries à Gram négatif

En plus des **lipoprotéines**, la **membrane externe** de la bactérie à **Gram négatif** est composée de **lipopolysaccharides (LPS)** et de **phospholipides**.

Les **LPS** sont à l'origine de **deux caractéristiques** importante de la bactérie à Gram négatif :

- La partie **glucidique** est composée de **sucres**, appelée **polysaccharide O (antigène O)**, qui jouent le rôle d'**antigènes**.
- La partie **lipidique** du LPS, appelée **lipide A**, porte aussi le nom d'**endotoxine (toxicité)**.

2-5-4. Fonctions de la paroi

- Assure le maintien de la **forme** de la bactérie ;
- Assure une **protection** contre la pression osmotique intracellulaire ;
- Joue également un rôle dans les **propriétés antigéniques** de la bactérie ;
- Permet la **fixation des bactériophages**.
- Participe à la **mobilité** des bactéries. Bien que les **flagelles** soient implantés dans la membrane cytoplasmique, ils ne peuvent fonctionner en absence de **peptidoglycane**.
- Confère à la bactérie sa **toxicité**. (bactéries à **Gram (-)**, le **LPS** et endotoxine (lipide A).
- Joue un rôle de **perméabilité**, elle laisse passer de petites molécules comme l'eau, les sels minéraux ou des métabolites simples.

2-6. La membrane plasmique (cytoplasmique)

Ou **membrane interne**, est une structure mince, à la fois souple et résistante, qui s'étend sous la paroi cellulaire et qui enveloppe et retient le cytoplasme de la cellule.

L'analyse chimique de la membrane révèle trois type de substances : des lipides, des protéines et des glucides. Avec une abondance de molécules lipidiques. Le membre plasmique contient également des enzymes de la chaîne respiratoire.

Chaque molécule de lipide est **amphipathique** ; formée d'une partie **hydrophobe** et une partie **hydrophile**. Ces deux couches moléculaires induisent une organisation en **double feuillet**. Une organisation en **mosaïque fluide** (Les molécules peuvent se déplacer latéralement en échangeant leurs places).

Deux catégories de **protéines** : les protéines **périphériques** (extrinsèques) et les protéines **intégrales** (intrinsèques) qui traversent complètement le double feuillet.

2-6-2. Fonctions de la membrane plasmique

- Joue le rôle de barrière semi-perméable (perméabilité sélective), elle permet le passage de molécules lipophiles et empêche le passage des molécules hydrophiles.
- Joue un rôle primordial dans les transferts de substances ; on distingue 2 grands types de transport : Le transport passif : il se fait dans le sens du gradient de concentration et ne nécessite

pas d'énergie. Le transport actif : il se fait en sens inverse du gradient de concentration des molécules, ce qui nécessite l'utilisation d'énergie.

- Elle représente le site de fixation des flagelles...

- Protéines membranaires importantes (enzymes, chaînes respiratoire, chimiotactisme...)

2-7. Le cytoplasme

Substance délimitée par la membrane cytoplasmique, épais, aqueux, semi transparent et élastique dans lequel nagent les différents constituants cellulaires.

2-8. Nucléotide, chromosome bactérien

La région nucléaire ou nucléotide, de la cellule bactérienne, contient un long filament simple, continu de forme circulaire, composé d'ADN bicaténaire et appelé chromosome bactérien, non entouré d'une enveloppe (membrane) nucléaire et ne contient pas d'histones.

2-9. Les plasmides

De petites molécules circulaires d'ADN bicaténaire appelées. Des éléments génétiques extra-chromosomiques, et leur réplication est indépendante de celle de l'ADN chromosomique. Contiennent des gènes accessoires (résistance aux antibiotiques...).

2.10. Le glycocalyx

Un polymère gélatineux et visqueux, situé à l'extérieure de la paroi cellulaire et composé de polysaccharides, de polypeptides ou des deux. Il est produit à l'intérieur de la cellule et excrété à sa surface. Si la substance est organisée et solidement fixé à la paroi, le glycocalyx porte le nom de **capsule**. Joue un rôle important dans la virulence de la bactérie, protection de la bactérie, adhésion...

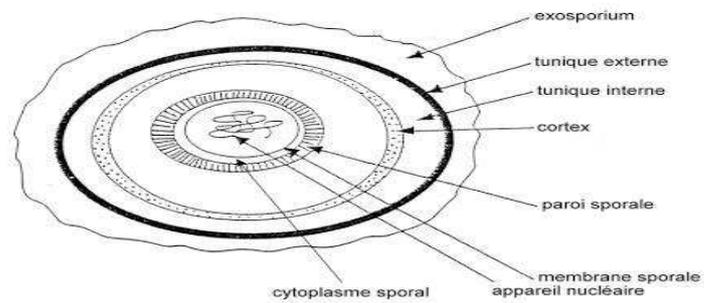
2-11. Les flagelles

Certaines cellules procaryotes ont des flagelles (=fouet). Il s'agit de minces et longs appendices filamenteux qui permettent aux bactéries de se déplacer.

2.12. La spore (endospore)

Certaines bactéries (notamment les bactéries à Gram positif tels que les genres *Bacillus* et *Clostridium*) ont le pouvoir de se transformer en petites unités ovales ou sphériques douées d'une **résistance** élevée lorsque les conditions du milieu deviennent **défavorables** (milieu de

culture épuisé en éléments nutritifs ; conditions physicochimiques extrêmes). On les appelle **spore** ou **endospores** (elles se forment à l'intérieure de la cellule).



Structure de la spore bactérienne

Sporulation ou **sporogénèse** : formation d'une endospore dans une cellule **végétative** (cellule mère dont les fonctions métaboliques sont actives).

Germination retour à l'état végétatif déclenché par le retour des conditions favorables.

Chapitre 3 : Nutrition bactérienne

Les microorganismes se multiplient à partir des aliments ou nutriments présents dans les milieux naturels ou les milieux de culture.

Selon la nature de ces besoins on peut définir des catégories de microorganismes dits **types trophiques** (*trophus* du grec : nourriture).

3-1-1. Source d'énergie

Les **phototrophes**, ou photosynthétiques, puisent leur énergie dans les rayonnements lumineux.

Les **chimiotrophes**, utilisent l'énergie de l'oxydation de produits chimiques organiques ou minéraux.

Photolithotrophes : source d'électron de nature minérale,

Photoorganotrophes qui nécessitent des composés organiques comme source d'électrons ;

Chimiolithotrophes donneur d'électrons est un corps minéral,

Chimioorganotrophe, donneur d'électrons de nature organique.

3-1-2. Source de carbone

On distingue les microorganismes selon la nature de la source de carbone qu'ils utilisent.

Les **autotrophes**, capables de se développer en milieu inorganique contenant du CO₂ comme seule source de carbone.

Les **hétérotrophes**, la source de carbone est de nature organique (protéines, glucides, lipides)

Les **photoautotrophes** sont photosynthétiques (cyanobactéries...).

Les **photohétérotrophes** sont photosynthétiques et puisent le carbone de composés organiques.

Les **chimioautotrophes**, n'ont besoin ni de matière organique, ni de lumière. Ils puisent leur énergie de substance inorganique et transforment le CO₂ en matière organique.

Les **chimiohétérotrophes** puisent leur énergie et leur carbone des substances organiques. C'est le cas de la plus-part des bactéries d'intérêt médical (pathogènes).

3-1-3. Source d'azote

Pour synthétiser leurs protéines, de nombreuses bactéries répondent à ce besoin en décomposant des substances protéiques et en réincorporant les acides aminés dans des protéines nouvelles et d'autres composés azotés. D'autres bactéries utilisent l'azote provenant d'ions ammonium (NH₄⁺)... Quelques bactéries sont capables de fixer l'azote atmosphérique tel les *Rhizobium*.

3-1-5. Les oligoéléments

Autres minéraux tels que le fer, le cuivre, le molybdène, le zinc... indispensables en quantités infimes.

3-1-6. Les facteurs de croissance

Composés organiques dont un organisme a besoin mais qu'il est incapable de synthétiser

Les **prototrophes**, ne nécessitent pas de facteurs de croissance. Les **auxotrophes** les exigent.

3-2. Les facteurs physiques

3-2-1. La température : selon la température optimale de développement, on distingue :

Les **mésophiles** (*méso* = moyen), préférant une température moyenne comprise entre 20 et 40°C (optimum 30-37°C) ;

Les **psychrophiles** (*psycho* = froid), dont la température optimale de croissance est située aux environs de 10°C, mais qui peuvent se développer à 0°C (voire en dessous pour les **cryophiles**) ;

les **psychrotrophes**, plus proches des mésophiles, ayant un optimum à 25°C mais pouvant s'adapter à 0°C ;

Les **thermophiles** (thermo = chaud) qui se multiplient préférentiellement entre 45 et 55°C ;

les thermophiles extrêmes (ou hyperthermophiles), ayant un optimum situé vers 70°C.

3-2-2. Le pH

La majorité des bactéries ont une croissance optimale dans un intervalle de pH neutre, entre 6,5 et 7,5.

Les **acidophiles**, qui tolèrent remarquablement bien l'acidité, ainsi, *Lactobacillus* tolère un pH de 6.

Les **basophiles** ou **alcalophiles**, certaines bactéries préfèrent des pH élevés, comme *Vibrio* qui se reproduit à un pH optimal de 9.

3-2-3. La pression

Les bactéries **barophiles** (du grec *baros*, poids, pesanteur), supportent de fortes pression (jusqu'à plus de 1000 bars pour certaines espèces).

3-2-4. La pression osmotique

Selon leur sensibilité à la pression osmotique, on distingue :

Les **non halophiles** : croissance à des concentrations en NaCl (chlorure de sodium) inférieures à 0,2 M (entérobactéries, *Pseudomonas*...);

Les **halophiles** : nécessitant des concentrations de 0,2 M/l pour les moins halophiles à 5,2 M/l pour les **halophiles extrêmes** (*Halococcus morrhuae*, *Halobacterium salinarium*);

Les **halotolérants**, comme *Staphylococcus* peut tolérer une concentration en sel de 7,5% (*Staphylococcus aureus*), certaines levures et moisissures et certains lactobacilles.

Les bactéries **osmophiles** se multiplient en présence de grandes concentrations de sucre.

3-2-5. L'oxygène

Les **aérobies stricts**, exigent l'oxygène libre pour leur développement.

Les **anaérobies stricts**, ne peuvent se multiplier qu'en l'absence d'oxygène libres, les molécules de dioxygène sont toxiques voire mortelles pour la majorité de ces bactéries.

Les **aéro-anaérobies** ou anaérobies facultatifs, capables de croître avec ou sans oxygène libre

Les **microaérophiles**, ne se reproduisent qu'en présence d'une faible tension d'oxygène.

Les **capnophiles** qui exigent la présence de concentration très élevées de CO₂ (10 à 30 fois supérieures à celle de l'air). Ces bactéries poussent à l'intérieur des hôtes (humain ou animaux). C'est le cas de *Helicobacter pylori*; *Neisseria gonorrhoea*.

Chapitre 4 : la croissance bactérienne

4-1. La division (multiplication) bactérienne

La croissance bactérienne est l'augmentation du nombre de bactéries, (non l'augmentation de la taille des cellules). Le mode de reproduction des bactéries est la division par **scissiparité**, par **bourgeoisement** par excroissance (bourgeon) ou par **fragmentation** (bactéries filamenteuses)

4-2. Techniques d'étude de la croissance bactérienne

4-2-1. La mesure directe de la croissance

4-2-1-1. Le dénombrement de bactéries après culture « Plate count ».

Une cellule bactérienne donne naissance en 24 heures (pour certaines bactéries) à une colonie. En dénombrant les colonies, on peut déduire le nombre de bactéries présentes initialement, exprimé en **unités formant colonies (UFC)**.

Il importe qu'un nombre limité de colonies se développent sur la gélose en boîte de Pétri, entre 25 et 250 à 300 colonies, pour obtenir ce nombre on dilue plusieurs fois l'inoculum initial au moyen d'un processus appelé **dilution en série**.

4-2-1-3. Le dénombrement des cellules microbiennes

Ou **numération**, le dénombrement des cellules microbiennes directement au microscope à l'aide de lame spéciales (*chambre de comptage de Petroff-hausser*) ou compteur de cellules électronique (*compteur de Coulter*).

4-2-1-4. La technique d'épifluorescence

Les bactéries sont colorées par un **fluorochrome** comme l'orangé d'acridine, puis examinées en lumière ultraviolette.

4-2-2. La mesure indirecte de la croissance

4-2-2-1. La détermination de la biomasse sèche

Consiste à récolter par centrifugation ou par filtration sur membrane ; après un lavage soigneux avec de l'eau physiologique stérile, le culot ou le filtrat desséché dans un dessiccateur puis peser. (Le poids exprimé en g/L).

4-2-2-2. La mesure de la croissance par turbidimétrie

Les bactéries se multiplient dans un milieu liquide et forment un trouble semblable à un nuage

On mesure l'état du trouble, ou turbidité, à l'aide d'un spectrophotomètre. Cette variation est indiquée en *pourcentage transmis* ou bien par une expression logarithmique appelée absorbance (A) ou densité optique (DO).

4-2-2-2. La mesure de la croissance par la mesure de l'activité métabolique

En mesurant l'activité métabolique de la bactérie (quantité d'un produit donné : acide ou le CO₂ ; la consommation d'un substrat ; variations physico-chimiques du milieu : du pH...).

4-3. Paramètres de la croissance (TD4)

4-3-1. Le temps de génération et la représentation logarithmique de la croissance

Le temps que met une cellule à se diviser s'appelle **temps de génération**, varie d'un microorganisme à l'autre (20 minutes pour *Escherichia coli*, 1000 minutes pour *Mycobacterium tuberculosis*).

Calcul du nombre de génération (phase exponentielle)

Soit N = nombre de cellule en division au temps (t) et N₀ le nombre de bactérie initial

Après 1 division : N₁ = 2¹ · N₀ / Après 2 divisions : N₂ = 2² · N₀ / Après n division : Nⁿ = 2ⁿ · N₀

On emploie généralement une échelle logarithmique :

Donc $\text{Log}N = \text{Log}2^n \cdot N_0 \Rightarrow \text{Log}N = n\text{Log}2 + \text{Log}N_0 \Rightarrow \text{Donc } n = (\text{Log}N - \text{Log}N_0) / \text{Log}2$

Le temps de génération $G = (t_n - t_0) / n$

Exp. Si une population bactérienne croit de 10³ à 10⁹ /mL en 10h.

$n = (\text{Log}10^9 - \text{Log}10^3) / \text{Log}2 = 6 / 0.3 = 20$ divisions

$G = 10 / 20 = 0.5\text{h} = 30 \text{ mn.}$

4-3-2. Les phases de croissance

4-3-2-1. La phase de latence

Phase d'adaptation aux conditions du milieu. Pas de division cellulaire. Taux de croissance égal à zéro.

4-3-2-2. La phase de croissance exponentielle

La reproduction cellulaire est la plus intense, taux de croissance maximal et le temps de génération constant et à la plus courte durée.

4-3-2-3. La phase stationnaire

Les conditions du milieu deviennent défavorables (nutriments épuisés, accumulation des toxines...). Le taux de croissance finit par ralentir jusqu'à ce que le nombre de bactéries qui meurent soit égal au nombre de nouvelles bactéries, et la population se stabilise.

4-3-2-4. La phase de déclin

Plus de division cellulaire et mort des bactéries ($\mu < \text{zéro}$). Existence possible de formes de résistance (spores) pour les souches qui sporulent.

4-4. Culture bactérienne

Les bactéries introduites dans un milieu de culture constituent l'inoculum. Les micro-organismes qui se développent ou se multiplient sur un milieu de culture constituent une culture.

4-4-1. Les milieux de culture

Une préparation nutritive qu'on prépare au laboratoire pour cultiver les micro-organismes.

Les milieux liquides dits **bouillon de culture**, ou milieux solides en ajoutant un agent de solidification tel que l'**agar-agar**, ou **agar**. Le milieu de culture s'appelle alors **gélose**.

Selon le type trophique des bactéries et leurs exigences, différents milieux de culture peuvent être utilisés :

Les milieux synthétiques

Milieux de culture dont la composition chimique, qualitative et quantitative, est connue.

Constitués de corps purs et utilisés pour les bactéries autotrophes et pour la réalisation de tests bien précis. Exemple : Milieu **urée – indole** (L-tryptophane (0,3 g), KH_2PO_4 (0,1 g), K_2HPO_4 (0,1 g), NaCl (0,5 g), urée (2 g), alcool à 95 (1 ml), rouge de phénol 1%, eau distillée (100 ml).

Les milieux complexes ou empiriques

Milieux riches très nutritifs de composition indéfinie. Employés pour la culture des chimiohétérotrophes. Constitués d'extrait de soja, de viande, de levure, digérés par des enzymes. Fournissent une source de carbone, d'azote, vitamines B. Exp : bouillon nutritif (Peptone (5g), extrait de bœuf (3g), NaCl (8g), Eau distillée (1000 ml)).

Les milieux semi-synthétiques

Milieux constitués d'un **mélange** de composés chimiques purs et de substances naturelles empiriques. Exemple milieu Chapman, qui est également sélectif pour les Staphylocoques. Peptone (10 g), Extrait de viande de bœuf (1 g) Chlorure de sodium (75 g), Mannitol (10 g), Rouge de phénol (0,025 g), Agar (15 g), Eau distillée (qsp 1000 ml). pH = 7,4.

Les milieux sélectifs

Ils inhibent la croissance de la majorité des micro-organismes et stimulent la croissance de bactéries qu'on cherche à isoler. On fait intervenir certains paramètres tel pH ou des **agents sélectifs** ou inhibiteurs tels le cristal violet, le vert brillant, les sels biliaries...

Les milieux différentiels

Contiennent un indicateur (colorant) qui permet de différencier deux types bactériens qui poussent sur le même milieu, mais ne dégradent pas tous les deux un substrat particulier. La gélose Hektoën, qui différencie la fermentation de 3 glucides (lactose, saccharose et salicine) ainsi que la production de sulfure d'hydrogène.

Les milieux enrichis

Contiennent, outre les composants de base, des composants indispensables aux bactéries, que celles-ci ne peuvent pas synthétiser. Ce sont des milieux utilisés pour l'obtention des bactéries *exigeantes* et auxotrophes. Par exemple : les milieux au sang frais.

Les milieux d'identification

Utilisés pour la mise en évidence de caractères biochimiques des bactéries dans l'identification différentielle.

Les milieux de conservation

Des milieux pauvres au sein desquels les bactéries survivent dans un état de vie ralentie.

Obtention et conservation des cultures pures :

Pour étudier et utiliser des micro-organismes on doit obtenir des souches pures (culture pure)
On peut utiliser pour cela deux techniques, par dilution en milieu liquide et par épuisement en milieu solide.

Conservation des souches pures

Les souches pures peuvent être conservées à température ambiante en tube **sur géloses inclinées**, par **lyophilisation** dans des ampoules scellées, ou par **congélation** en présence d'un cryoprotecteur tel le glycérol (40%).

4-5. Les agents antimicrobiens

Il est indispensable de contrôler le développement des microorganismes pour éviter leurs effets nuisibles sur l'homme et l'animal (bactéries pathogènes) et sur des produits d'activité humaine (altération des aliments...).

La stérilisation : l'opération qui a pour objet de tuer toute forme de vie microbienne contenue dans une préparation ou sur la surface d'un objet. Le matériel traité est dit stérile.

La désinfection : une mesure qui vise à détruire, éliminer ou inhiber des microorganismes potentiellement pathogènes et/ou désactiver des virus indésirables. Le résultat de la désinfection est temporaire. On utilise un produit chimique « désinfectant » sur des produits inertes et un antiseptique (produit non toxique et non irritant pour l'homme ou l'animal) sur des tissus vivants (en parle d'antisepsie).

La décontamination : vise à détruire ou à éliminer les microorganismes, ou à inhiber la croissance microbienne ; des microbes peuvent donc survivre. Une opération au résultat momentané.

Asepsie : un milieu septique (du grec : *septikos* : putréfaction) contient des microorganismes, il est aseptique dans le cas contraire. L'asepsie est l'ensemble des mesures propres à empêcher tout apport exogène de microorganismes.

- Selon l'effet de l'agent antimicrobien sur la croissance des micro-organismes, on distingue :
- Une action **bactériolytique** avec une lyse (la mort) des cellules. Les nombres de bactéries totales et viables diminuent brutalement.
- Une action **bactéricide**, le suffixe *-cide* signifie « tuer » ainsi un bactéricide tue les bactéries, un fongicide tue les champignons... le nombre de cellules viables diminue sans lyse cellulaire de façon exponentielle en fonction du temps.
- Une action **bactériostatique**, suffixe *-statique* qui signifie « propre à arrêter ». Produits qui inhibent ou freinent la croissance des microorganismes sans les tuer (sans détruire). Un agent bactériostatique empêche la multiplication des bactéries mais, si on le retire ou sa concentration diminue, la croissance bactérienne reprend.

4-5-2. Les agents antimicrobiens et leurs modes d'action

4-5-2-1. Les méthodes physiques de lutte contre les microbes

A. La température

Elle peut être utilisée pour la **conservation** des aliments soit par le **froid** (réfrigération, congélation) soit par la **chaleur** (la pasteurisation, stérilisation, appertisation).

Les destructions thermiques utilisent la **chaleur humide** ou la **chaleur sèche**.

- La chaleur humide : stérilisation

L'appertisation : une forme de stérilisation en 10 min qui tue les bactéries pathogènes végétatives, presque tous les virus, ainsi que les mycètes...

La stérilisation à l'autoclave : la stérilisation par chaleur humide doit se faire à une température supérieure au point d'ébullition de l'eau (100°C). Utilisation de **vapeur sous pression** dans un autoclave (à 121°C et la pression 1 bar pendant 15 et 20 min environ).

La tyndallisation : consiste à chauffer le milieu à 60, 70°C durant 30 minutes ou 1 heure, trois fois de suite avec un intervalle de 24 h. Les formes végétatives sont détruites. Les spores thermorésistantes, la dormance est levée par le choc thermique, peuvent germer entre chaque intervalle de temps et se transformer en formes végétatives qui sont ensuite éliminées par les traitements successifs.

La pasteurisation : un chauffage à températures pas très élevées (60-70°C) permet de détruire la flore pathogène (*Salmonella*, *Listeria*, *Escherichia*...) et ralentie la croissance des germes d'altération.

La pasteurisation rapide à haute température : à 72°C pendant 15s. Appliquée pendant que le lait coule continuellement entre les plaques chauffantes, puis le lait est brusquement refroidi à 10°C.

La pasteurisation à Ultra Haute Température (UHT) : appliquée au lait et au jus de fruit, à une température de 140°C pendant quelques secondes, puis on refroidit brutalement.

- La chaleur sèche : La chaleur sèche détruit les microorganismes par oxydation.

Le **flambage** direct (stériliser des anses de repiquage à la flamme du bec Bunsen).

Stérilisation par air chaud, dans un four (four Pasteur ou Poupinel) par dénaturation des protéines à 180°C (30 mn) - 170°C (1h) - 160°C (2h).

- Les basses températures :

Le recours au froid s'effectue soit en restant à température positive (+4°C), la **réfrigération**, soit en passant dans la zone négative, c'est la **congélation**.

B- Les radiations : une autre forme de stérilisation à froid.

Les **rayonnements ionisants** : rayons gamma, les rayons X et les faisceaux d'électrons. Provoquant des ruptures et/ ou changements chimiques dans la structure de l'ADN.

Les **rayonnements non ionisants** : ultraviolets à 270 nm. Formation de liaisons anormales entre des bases de thymine proches dans l'ADN (mutations).

C- les pressions

Les **ultrapressions** : peuvent détruire les micro-organismes, faire éclater les cellules « french press ».

La **pression osmotique** : de grandes concentrations de sel ou de sucre (milieu hypertonique autour des microorganismes, ressemble à la conservation par séchage ou dessiccation).

D- Elimination mécanique

La **filtration** : filtration sur membrane pour stériliser des solutions renfermant des substances thermolabiles, telles que les protéines (enzymes), des vaccins, des antibiotiques...

4-5-2-2. Les méthodes chimiques de lutte contre les microbes

Oxydants (eau oxygénée, l'eau de javel, l'alcool iodé) ; **alcool** (ethanol dilué à 70% (l'alcool diluée et plus efficace que l'alcool pur) ; **Métaux lourds et leurs sels** ; **phénol et aldéhydes** ; **les Savons** ; **les colorants** (antiseptiques à usage local) ; **stérilisation par les gaz** (désinfection des locaux (hôpitaux), ou objets en plastique) ...

4-5-2-3. Les agents chimio-thérapeutiques

Utilisation d'agents chimiques en thérapeutique (traitement de maladies infectieuses...). Ces substances doivent être douées de toxicité sélective (tuer le μg et inoffensives sur la cellule l'hôte) comme les antibiotiques et les sulfamides ...

Les antibiotiques comme la pénicilline produite par une moisissure du genre *Penicillium*, la streptomycine à partir *Streptomyces griseus*...

Un antibiotique possède une action sélective sur la cellule microbienne, une action sur la synthèse de la paroi, sur la membrane cytoplasmique, sur la synthèse des protéines, sur les acides nucléiques (ADN), par inhibition compétitive (analogues structuraux interfèrent avec les métabolites normaux de la cellule) ...

L'antibiogramme, une technique qui permet de tester sur milieu de culture, l'action de molécules antibiotiques sur une souche bactérienne donnée.