

Cours d'Eléments de microbiologie



Master I. Chimie de l'eau et de l'environnement

Dr. HAMOUMA Ouezna

Département de chimie

Faculté des Sciences Exactes

CHAPITRE I :
Introduction à la Microbiologie
Environnementale

I. Introduction à la Microbiologie

- La microbiologie est la science qui étudie les micro-organismes tels que :

Les bactéries, les champignons, les virus, les protozoaires, les micro-algues et leurs interactions avec l'environnement.

- Rôle général : Longtemps associés aux maladies infectieuses.

- Ces êtres microscopiques jouent un rôle essentiel dans les équilibres naturels :

recyclage de la matière organique, transformation des éléments chimiques, maintien des cycles biogéochimiques.

- En chimie de l'environnement et de l'eau, la microbiologie permet de comprendre les processus biologiques impliqués dans la dégradation des polluants et le traitement des eaux.

II. Historique de la microbiologie

XVII^e siècle : Naissance de la microbiologie :

Antonie van Leeuwenhoek (1632–1723) observe pour la première fois des micro-organismes (bactéries, protozoaires, levures) grâce à un microscope qu'il a lui-même perfectionné.

→ Il est considéré comme le père de la microbiologie.

XIX^e siècle : Émergence de la microbiologie scientifique :

- Louis Pasteur (1822–1895) démontre que les micro-organismes sont responsables de la fermentation, de la putréfaction (décomposition de la matière organique par les bactéries), et développe la pasteurisation.
- Robert Koch (1843–1910) identifie les agents responsables de maladies infectieuses (tuberculose, choléra, anthrax) → La bases de la microbiologie médicale.

Fin XIX^e – début XX^e siècle :

- Développement de la culture microbienne, des milieux de culture, et des techniques de coloration (Gram).
- Découverte des virus (Iwanowski, 1892) et premiers pas de la virologie.

XX^e siècle : Avancées majeures :

- Mise en évidence du rôle des micro-organismes dans les cycles biogéochimiques (carbone, azote, soufre).
- Découverte de la pénicilline (classe d'antibiotiques découverte par Fleming, 1928) et essor de la microbiologie médicale et industrielle.
- Développement de la microbiologie environnementale et des procédés biologiques de traitement des eaux.

XXI^e siècle : Microbiologie moderne :

- Intégration des outils de la biologie moléculaire et de la génomique environnementale (la science qui étudie l'information génétique (ADN) d'échantillons prélevés dans l'environnement).
- Étude du microbiome des milieux naturels et anthropisés.
- Utilisation des micro-organismes dans la bioremédiation, la biosurveillance et les technologies durables.

III. Objectifs du cours

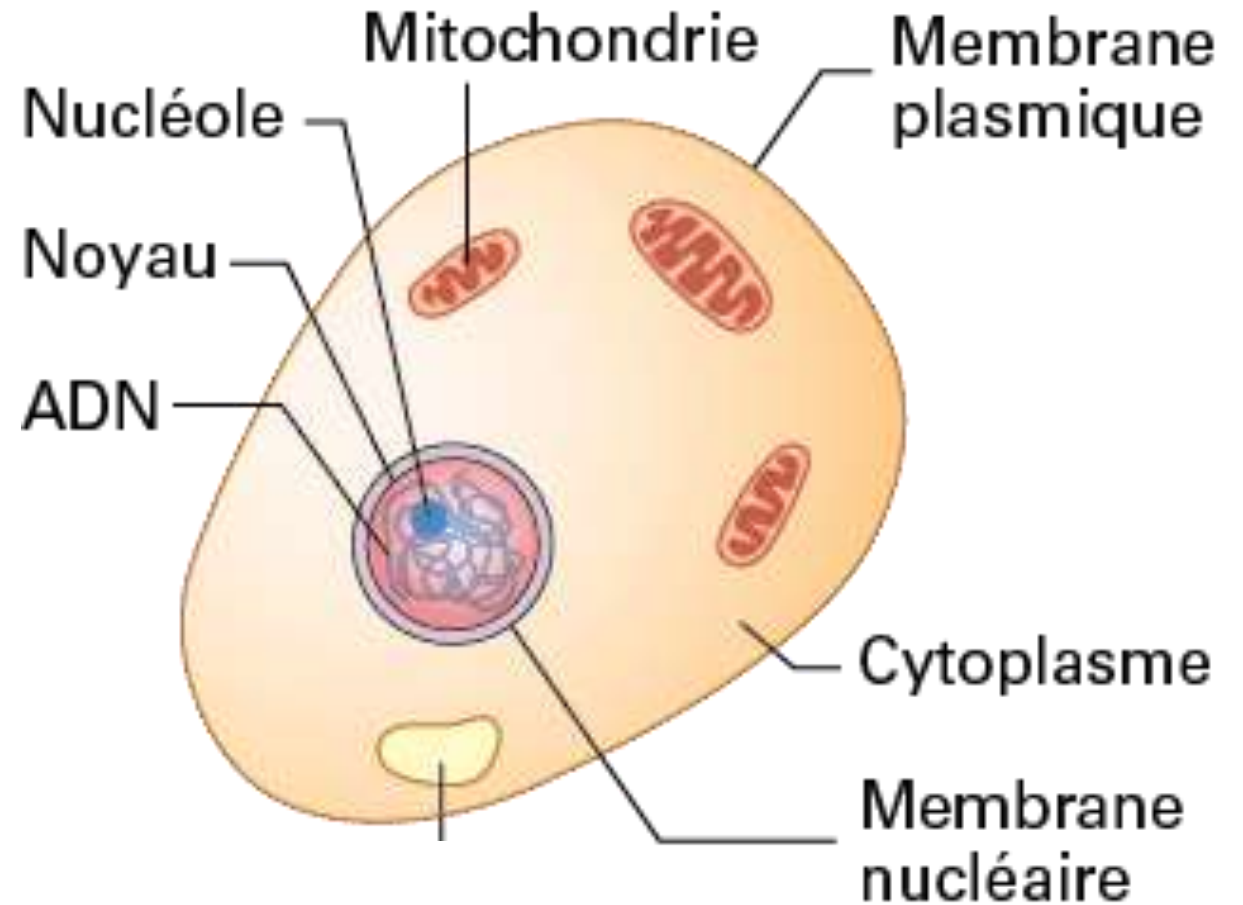
Ce cours vise trois grands objectifs :

- **Comprendre le rôle des micro-organismes dans les cycles biogéochimiques**, leur impact sur la santé humaine et sur les équilibres environnementaux.
- **Maîtriser les principales techniques d'analyse microbiologique** permettant l'identification, le dénombrement et la caractérisation des micro-organismes présents dans les eaux et les sols contaminés.
- **Étudier les mécanismes de biodégradation des polluants**, notamment des **hydrocarbures et des métaux lourds**, afin de comprendre comment les micro-organismes peuvent être exploités dans les procédés de **bioremédiation (dégrader ou neutraliser des polluants)** et d'épuration des milieux.

Définition d'une cellule

La **cellule** est l'unité biologique structurelle et fonctionnelle fondamentale de tous les êtres vivants connus. C'est la plus petite unité vivante capable de se reproduire de façon autonome.

Une cellule est constituée d'un noyau et d'un cytoplasme et est entourée par la membrane cellulaire qui régule les transferts vers l'intérieur et l'extérieur. Le noyau contient les chromosomes, le matériel génétique de la cellule, ainsi que le nucléole, qui produit les ribosomes.



IV. Classification des microorganismes

Les virus

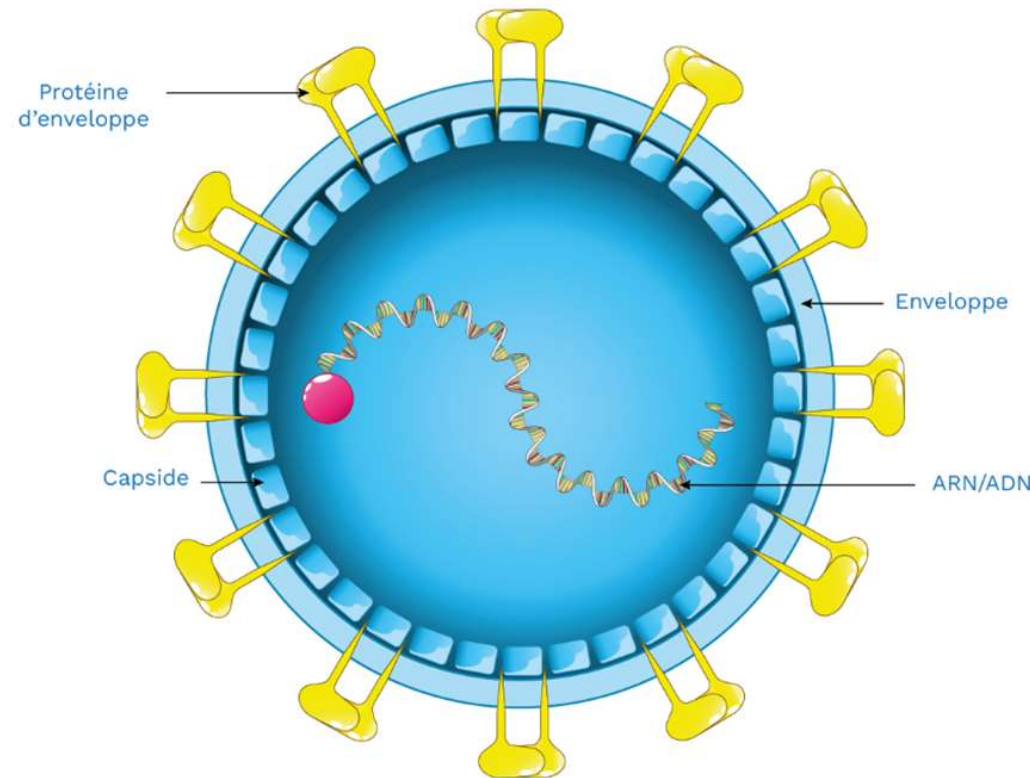
Les eucaryotes

Les procaryotes

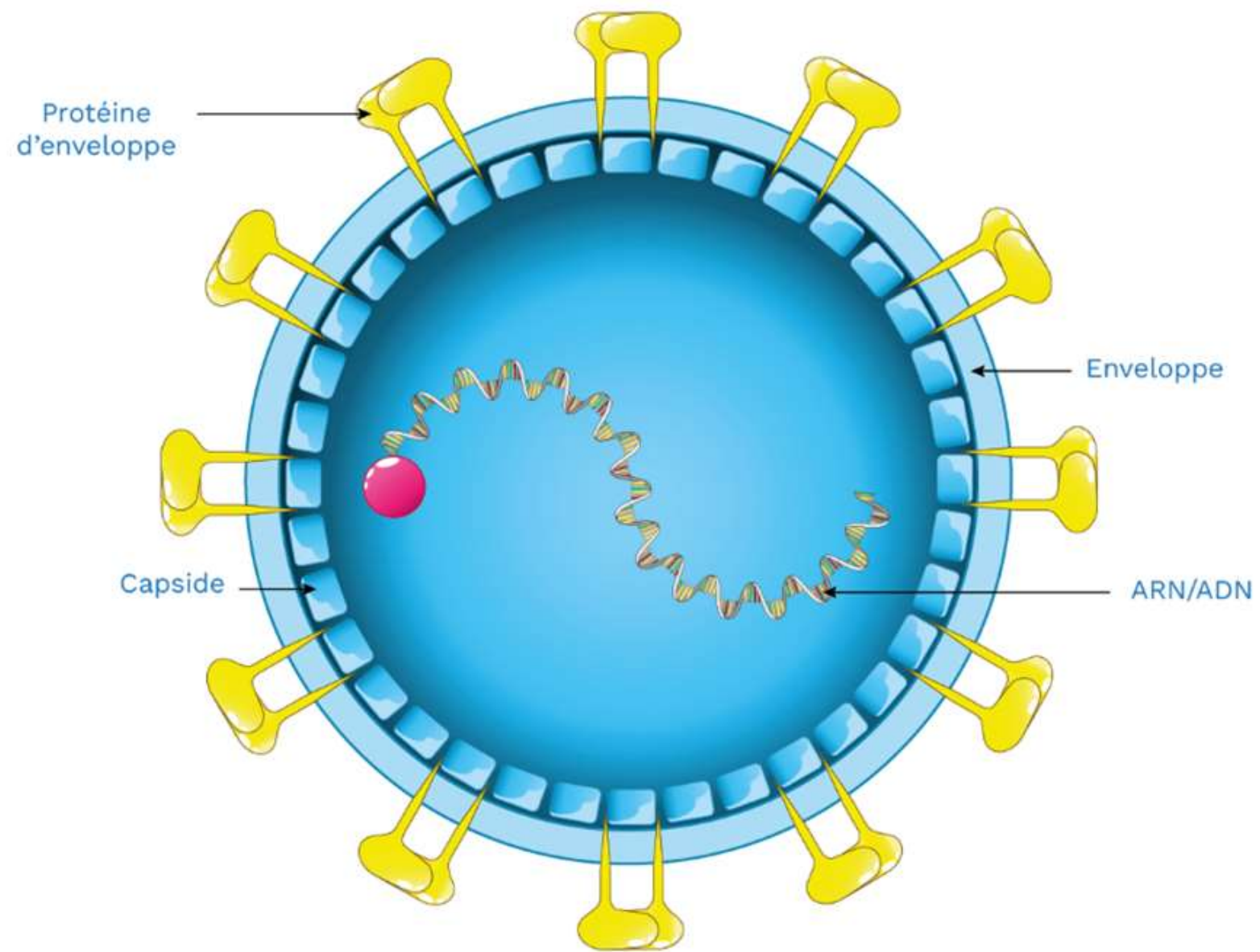
IV.1. Les virus

Caractéristiques

Les virus sont des entités infectieuses beaucoup plus petites que les bactéries. Ils sont constitués d'un acide nucléique (ADN ou ARN) enveloppé dans une **capside** protéique. Les virus sont incapables de se multiplier seuls et doivent infecter une cellule hôte pour se reproduire.

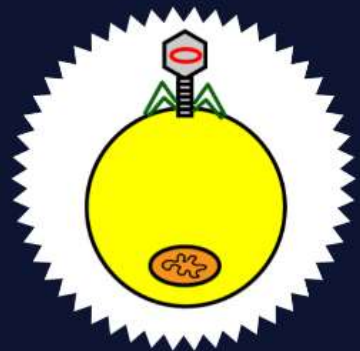


Structure d'un virus.



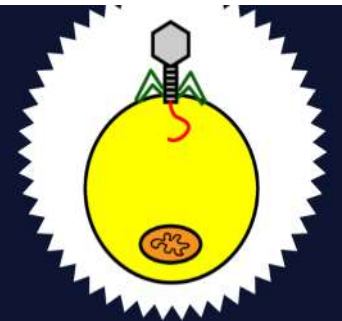
Cycle de vie

Le cycle de vie d'un virus comprend plusieurs étapes : absorption, pénétration, réplication, assemblage et libération de nouvelles particules virales.



1 FIXATION

Le virus se fixe à la paroi cellulaire de l'hôte. La fixation est parfois appelée « absorption ».



2 PÉNÉTRATION

L'acide nucléique, ou l'information génétique du virus, traverse la membrane cellulaire et entre dans la cellule hôte.



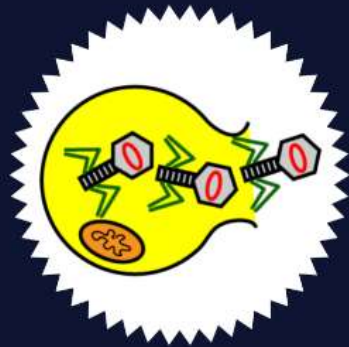
3 RÉPLICATION

Une fois à l'intérieur de la cellule hôte, le virus force cette dernière à produire la structure nécessaire à sa réplication.



4 ASSEMBLAGE

La structure du virus produite par la cellule forme de nouveaux virus.



5 LIBÉRATION

Les virus assemblés sont libérés de la cellule. Ils peuvent maintenant infecter d'autres cellules et répéter le processus.

IV.2. Les procaryotes

Ils sont des **organismes unicellulaires** dont la cellule **ne possède pas de noyau** ni d'organites membranaires.

Leur matériel génétique (ADN) est libre dans le cytoplasme.

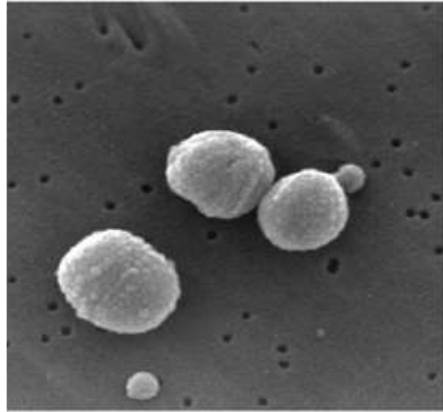
Ce groupe comprend principalement :

- Les **bactéries**
- Les **archées (ou archéobactéries)**

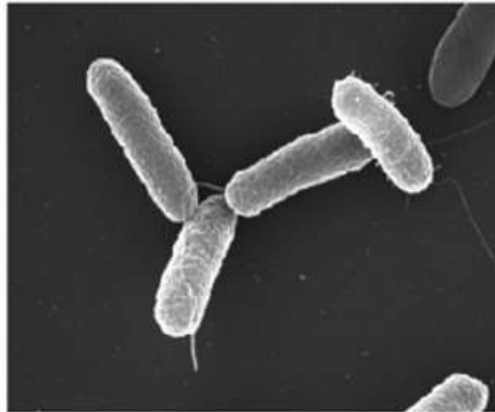
a) Les bactéries

- **Caractéristiques**

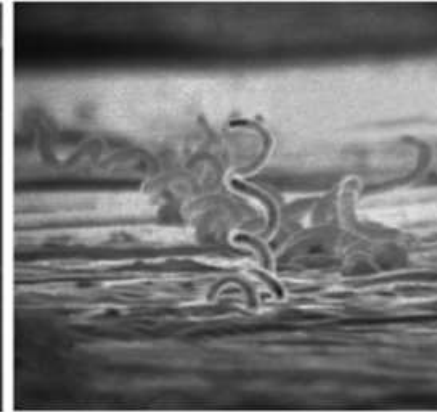
Les bactéries sont des organismes unicellulaires **procaryotes** (sans noyau). Elles sont très diverses en termes de forme (Leur forme peut être sphérique (coques), en bâtonnet (bacilles), en spirale (spirille), ou encore filamenteuse), de taille et de métabolisme. Certaines bactéries sont bénéfiques pour l'environnement, tandis que d'autres peuvent être pathogènes.



Sphère (coques)



Bâtonnet (bacilles)



Spirale (spirille)

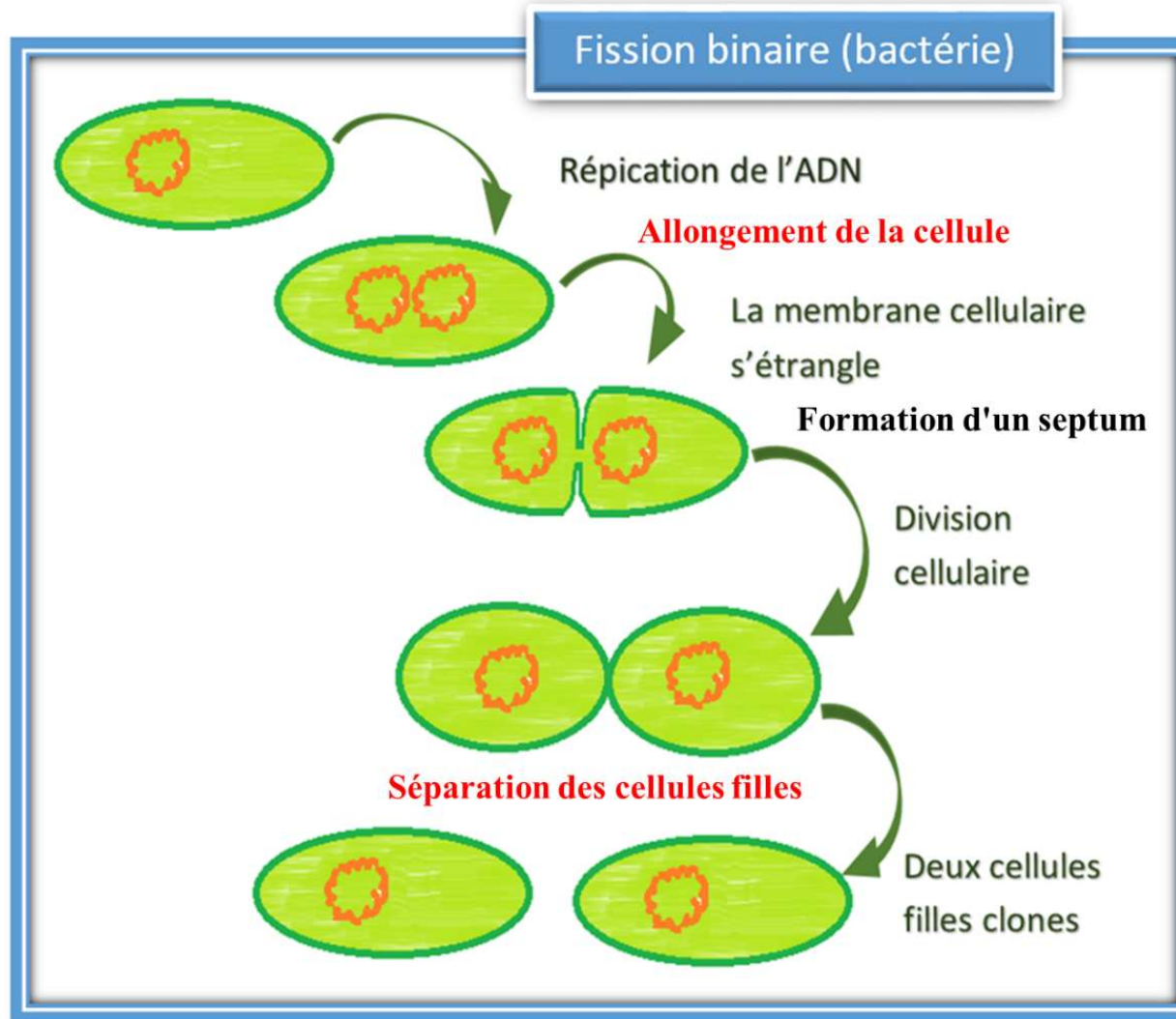
Images microscopiques des bactéries sous différentes formes.

Cycle de vie d'une bactérie

Le cycle de vie des bactéries est court et leur adaptation à différents environnements est remarquable. Les bactéries se reproduisent par **fission binaire**, un processus de division cellulaire simple. Elles peuvent se développer rapidement dans des conditions favorables, doublant leur population en quelques minutes.

Certaines bactéries sont hétérotrophes (se nourrissent de matière organique), tandis que d'autres sont autotrophes (produisent leur propre matière organique).

La reproduction des bactéries se fait principalement par **fission binaire**. C'est un processus simple où une cellule se divise en deux cellules filles identiques. Voici les étapes principales :



1. Allongement de la cellule :

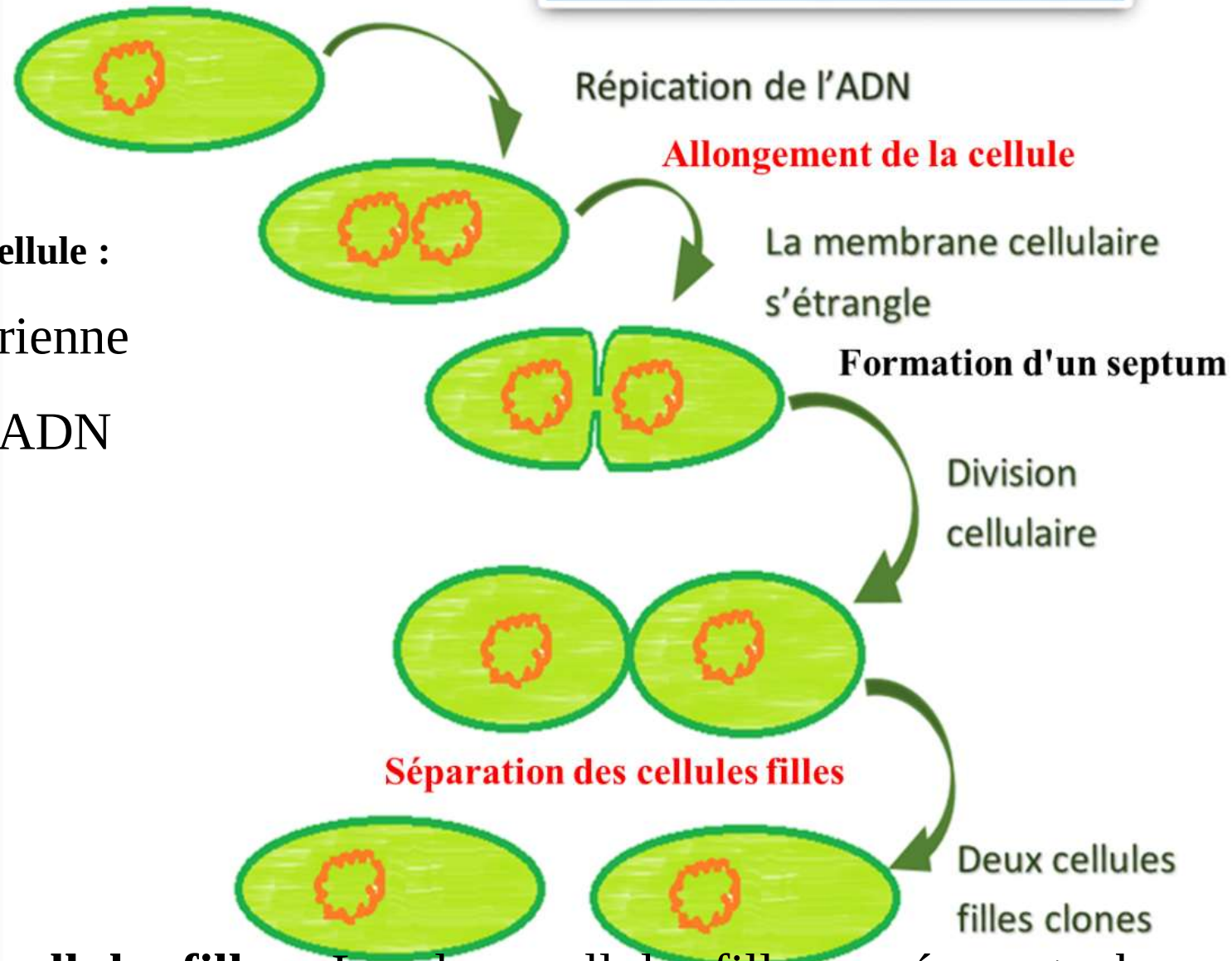
La cellule bactérienne s'allonge et son ADN se réplique.

2. Une paroi transversale se forme au milieu de la cellule

3. Séparation des cellules filles : Les deux cellules filles se séparent, chacune contenant une copie de l'ADN parental.

Fission binaire (bactérie)

1. Allongement de la cellule :
La cellule bactérienne s'allonge et son ADN se réplique.



2. Une paroi transversale se forme au milieu de la cellule

3. Séparation des cellules filles : Les deux cellules filles se séparent, chacune contenant une copie de l'ADN parental.

b) Les archées

- **Caractéristiques**

*Les archées sont des micro-organismes procaryotes distincts des bactéries et des eucaryotes. Longtemps considérées comme de simples bactéries extrémophiles, elles se distinguent aujourd'hui par des caractéristiques moléculaires, biochimiques et génétiques uniques,

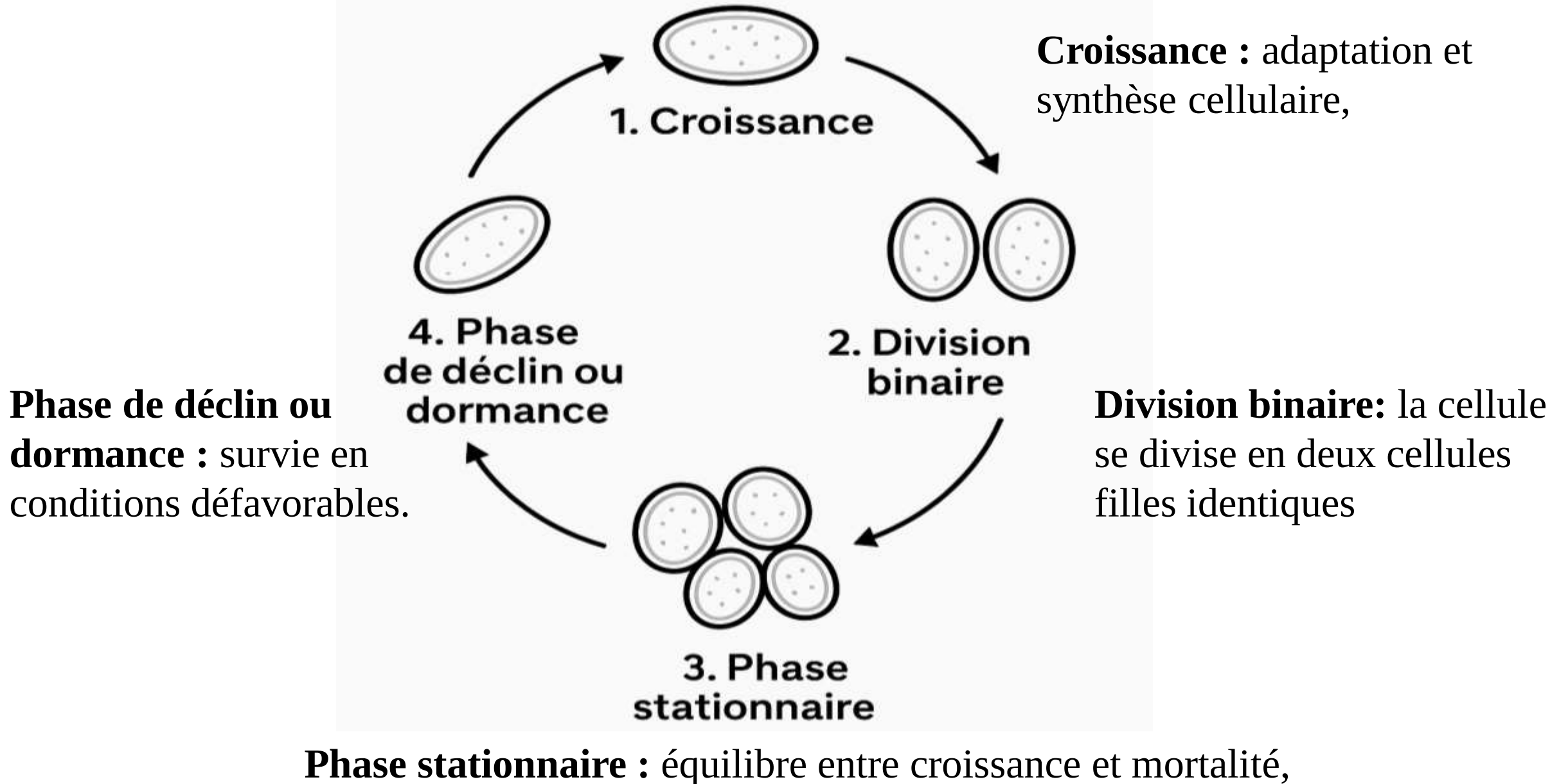
*Découvertes dans les années 1970 grâce aux travaux de Carl Woese, ou elles ont profondément modifié la classification du vivant et la compréhension de l'évolution cellulaire.

*Leur cycle de vie est simple et similaire à celui des bactéries



Images microscopiques des archées

Cycle de vie des archées



Les archées jouent un rôle écologique majeur dans les cycles du carbone, de l'azote et du soufre, notamment par la production de méthane (archées méthanogènes).

Elles sont aussi utilisées en biotechnologie grâce à leurs enzymes thermostables, utiles en PCR et dans les procédés industriels.

	Bactéries	Archées
Domaine	Bacteria	Archaea
Paroi	Peptidoglycane	Pseudopeptidoglycane ou protéines
Lipides	Liaisons ester	Liaisons éther
Enzymes et gènes	Spécifiques	Proches des eucaryotes
Habitat	Commun	Extrême

IV.3. Les eucaryotes

Les **eucaryotes** sont des **organismes unicellulaires ou pluricellulaires** dont les cellules possèdent un **vrai noyau** délimité par une **membrane nucléaire** et des **organites membranaires** (mitochondries, chloroplastes, appareil de Golgi, etc.).

Leur organisation cellulaire est **plus complexe** que celle des procaryotes.

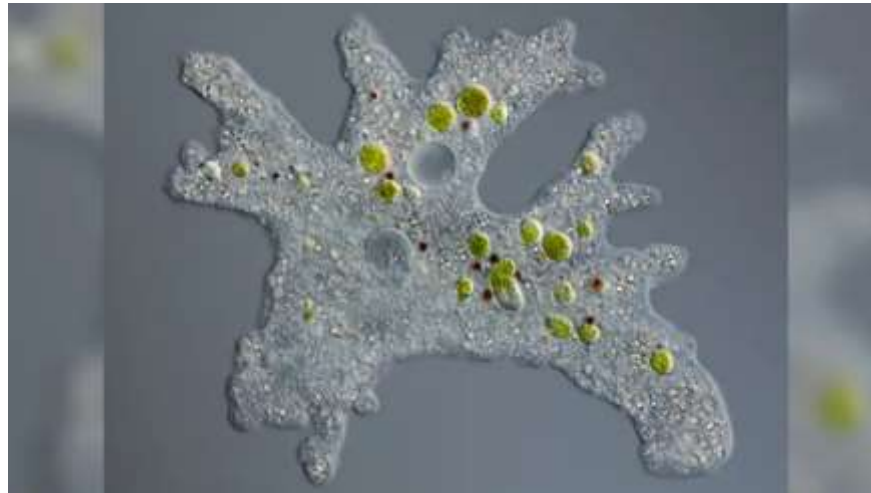
Les micro-organismes eucaryotes comprennent :

- Les **champignons microscopiques** (moisissures, levures)
- Les **protozoaires**
- Les **algues unicellulaire**

a) Les protozoaires

Caractéristiques

Les protozoaires sont des organismes unicellulaires eucaryotes (avec noyau). Ils sont très divers en termes de forme, de taille et de mode de vie. Certains protozoaires sont bénéfiques pour l'environnement, tandis que d'autres peuvent être pathogènes.



Images microscopiques des protozoaires.

Cycle de vie

Le cycle de vie des protozoaires dans l'eau est d'une diversité fascinante, allant de la simplicité à la complexité, et jouant un rôle crucial dans les écosystèmes aquatiques, on trouve :

Les cycles simples

Certains protozoaires, comme les amibes (parasite qui germe dans l'intestin), se reproduisent par simple division cellulaire (fission binaire), transmettant directement leur matériel génétique à leur descendance.

Les cycles complexes

On trouve des protozoaires qui présentent des cycles complexes, comme le Plasmodium (responsable du paludisme), impliquant plusieurs hôtes (moustique et humain) et différentes formes de reproduction (sexuée et asexuée).

Remarque:

*La reproduction sexuée est la formation d'un nouvel être vivant à partir d'une cellule reproductrice mâle et d'une cellule reproductrice femelle. En revanche, la reproduction asexuée consiste en une reproduction sans fécondation par un seul être vivant.

*Un organisme hôte en biologie est un organisme qui héberge un parasite ou un virus ... etc.

Types de protozoaires

Parasites : Certains protozoaires sont parasites et peuvent causer des maladies chez les animaux aquatiques ou même chez l'homme.

Organismes libres : De nombreux protozoaires vivent librement dans l'eau, se nourrissant de bactéries ou d'autres micro-organismes. Ils jouent un rôle essentiel dans la chaîne alimentaire aquatique.

b) Les champignon et levures

- **Caractéristiques**

***Les champignons** sont des organismes eucaryotes, hétérotrophes. Ils se présentent sous des formes très variées, allant des levures unicellulaires aux champignons pluricellulaires que nous connaissons.

***Les levures** sont des champignons unicellulaires généralement de forme ovale ou sphérique. Elles sont très répandues dans la nature, notamment sur les fruits, dans le sol et sur la peau des animaux. Elles sont largement répandues dans l'eau, où elles peuvent être présentes naturellement ou résulter des contaminations (eaux usées, rejets industriels, etc.).

(a)



(b)



(a) Images des champignons et des levures dans l'eau, (b) Images microscopiques des levures.

Remarque: Les champignons et les levures jouent un rôle crucial dans la décomposition de la matière organique dans les écosystèmes aquatiques. Ils contribuent au cycle des nutriments et au maintien de la qualité de l'eau. Certaines espèces de champignons et de levures servent de nourriture à d'autres organismes aquatiques, comme les protozoaires ou les petits crustacés.

- **Cycle de vie des champignons**

* Les champignons sont des organismes eucaryotes hétérotrophes qui se reproduisent par spores. Leur cycle de vie peut comporter une phase asexuée et une phase sexuée, souvent alternées selon les conditions du milieu.

* Une spore est une cellule unique générée par un organisme parent et capable de se développer en un organisme descendance dans des conditions favorables, ce processus est appelé **sporogénèse**.

La sporogenèse est le processus biologique par lequel les champignons forment des spores, elle se fait en trois étapes essentielles:

- 1- la reproduction (asexuée ou sexuée),
- 2- la dissémination (diffusion) dans le milieu,
- 3- la résistance à des conditions défavorables (sécheresse, chaleur, manque de nutriments, etc.).

NB:

La reproduction asexuée: est la phase la plus courante, permettant une multiplication rapide en conditions favorables.

La reproduction sexuée: Elle survient souvent lorsque les conditions deviennent défavorables (manque de nutriments, stress, etc.).

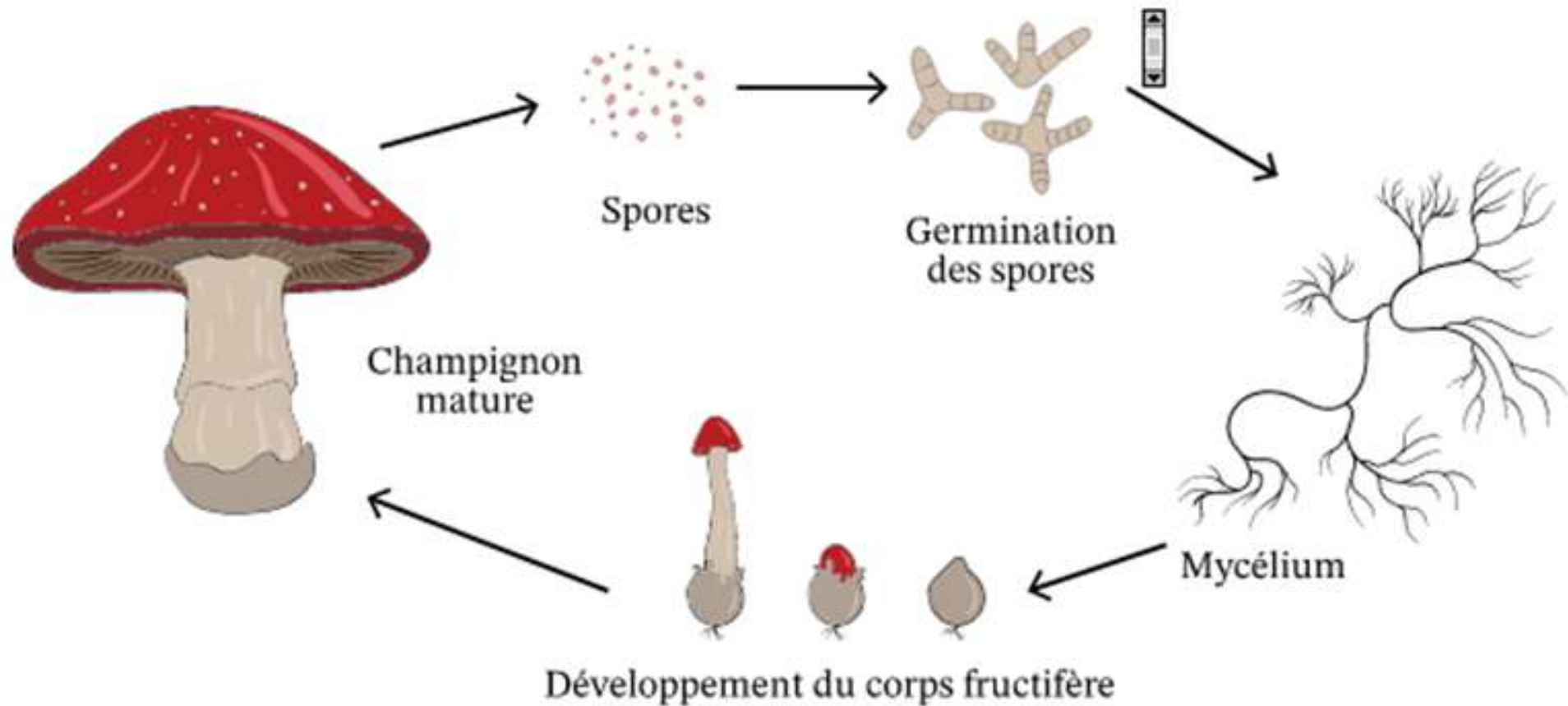


Schéma de la libération par les champignons matures de spores, qui germent. Ces nouveaux champignons poussent puis se reproduiront par sporogenèse, continuant ce cycle de vie.

- **Cycle de vie des levures**

Les levures se reproduisent principalement de manière asexuée par **bourgeonnement**. Dans certaines conditions, elles peuvent également se reproduire sexuellement en formant des spores.

Le bourgeonnement est un type de reproduction asexuée dans certains organismes unicellulaires et multicellulaires, dans lequel un nouvel organisme se développe à partir d'un petit prolongement ou d'un bourgeon qui se développe jusqu'à maturité alors qu'il est toujours attaché à l'organisme parent.

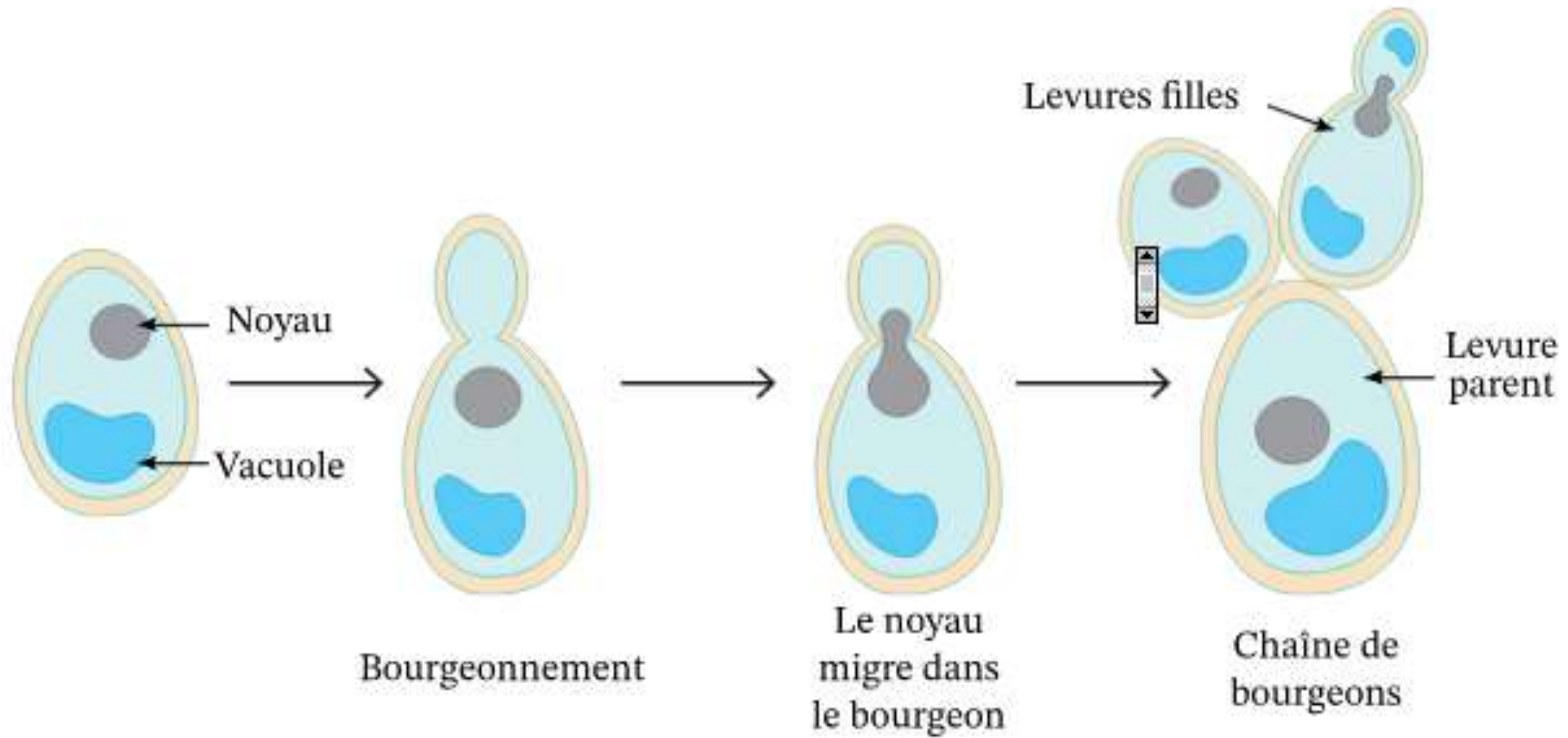


Schéma du processus de bourgeonnement chez la levure, qui donne de nouvelles cellules filles.

Différence entre Le bourgeonnement et la fission binaire

Le bourgeonnement et la fission binaire sont deux types de reproduction asexuée chez les organismes unicellulaires. Les deux processus ont plusieurs similitudes. Cependant, la principale différence est que, dans la fission binaire, une cellule parentale se divise en deux cellules filles immatures qui se séparent l'une de l'autre et atteignent la maturité en tant qu'individus distincts, tandis que dans le bourgeonnement, une cellule fille immature sort d'une cellule mère mature et se développe jusqu'à maturité alors qu'elle est toujours attachée.

c) Les algues

Les algues sont des micro-organismes eucaryotes autotrophes capables de photosynthèse. Elles utilisent la lumière du soleil, le dioxyde de carbone (CO_2) et l'eau (H_2O) pour produire de la matière organique (glucides) et libérer de l'oxygène (O_2).

Elles peuvent être :

- unicellulaires (microalgues),
- pluricellulaires (algues vertes ou brunes).

Rôle dans les milieux aquatiques

- Elles forment la base de la chaîne alimentaire dans les écosystèmes aquatiques,
- Elles participent à la production d'oxygène et au cycle du carbone,
- En excès, certaines peuvent provoquer des fleurs d'eau (prolifération d'algues nuisibles).

- **Cycle de vie des algues**

Le cycle de vie varie selon les espèces, ils dépendent de chaque famille, de variété d'algues et du type de constitution d'ADN, mais il suit en général un cycle alternant une **phase haploïde** (chromosomes unitaires) et une **phase diploïde** (chromosomes en paire).

Il existe cependant toujours un cycle de reproduction qui se compose de 2 générations distinctes :

1) Phase haploïde (n)

L'algue produit des **gamètes** (cellules sexuelles) haploïdes.

Ces gamètes peuvent être mobiles ou immobiles.

2) Fécondation

Fusion de deux gamètes → formation d'un **zygote** (œuf fécondé).

3) Phase diploïde (2n)

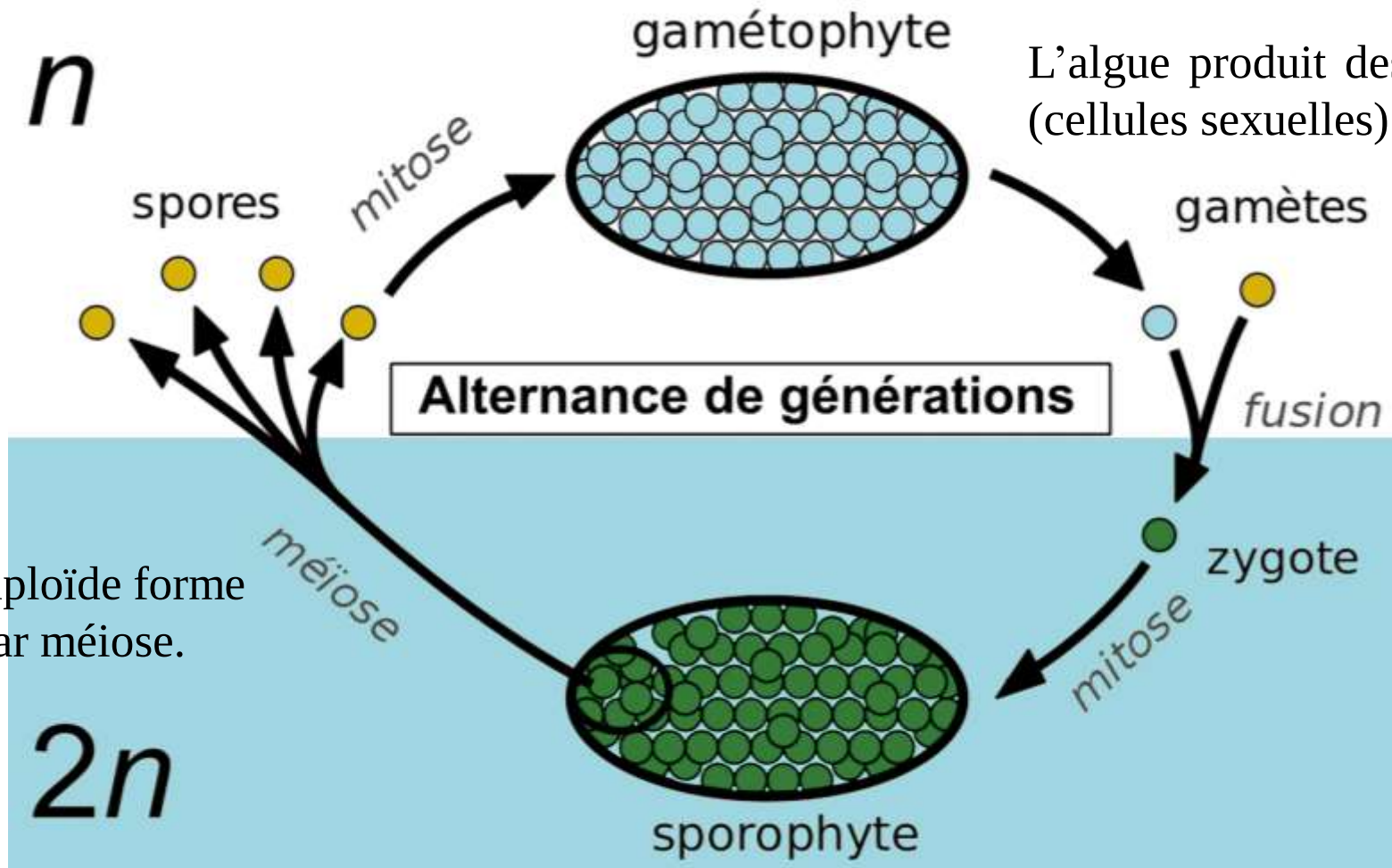
Le zygote se développe en une **algue diploïde** qui forme des **spores** par méiose.

Ces **spores** germent et redonnent une algue haploïde.

Ce cycle est appelé **alternance de générations** : une génération haploïde (gamétophyte) alterne avec une génération diploïde (sporophyte).

Ces spores haploïdes
germent et redonnent
une algue haploïde.

1) Phase haploïde (n)



2) Fécondation

- Fusion de deux gamètes
- Formation d'un zygote diploïde

Une algue diploïde forme
des spores par méiose.

3) Phase diploïde ($2n$)

V. Les facteurs influençant la croissance des micro-organismes

La croissance des micro-organismes est influencée par une multitude de facteurs. Ces facteurs interagissent entre eux et peuvent favoriser ou inhiber le développement de certaines espèces.

Les facteurs Physico-Chimiques

La température

Le pH

La concentration en O₂ dissous

La salinité

La pression

Facteurs Biologiques

La Compétition

Disponibilité en nutriments

La prédation

**La présence de substances
inhibitrices**

Facteurs Environnementaux

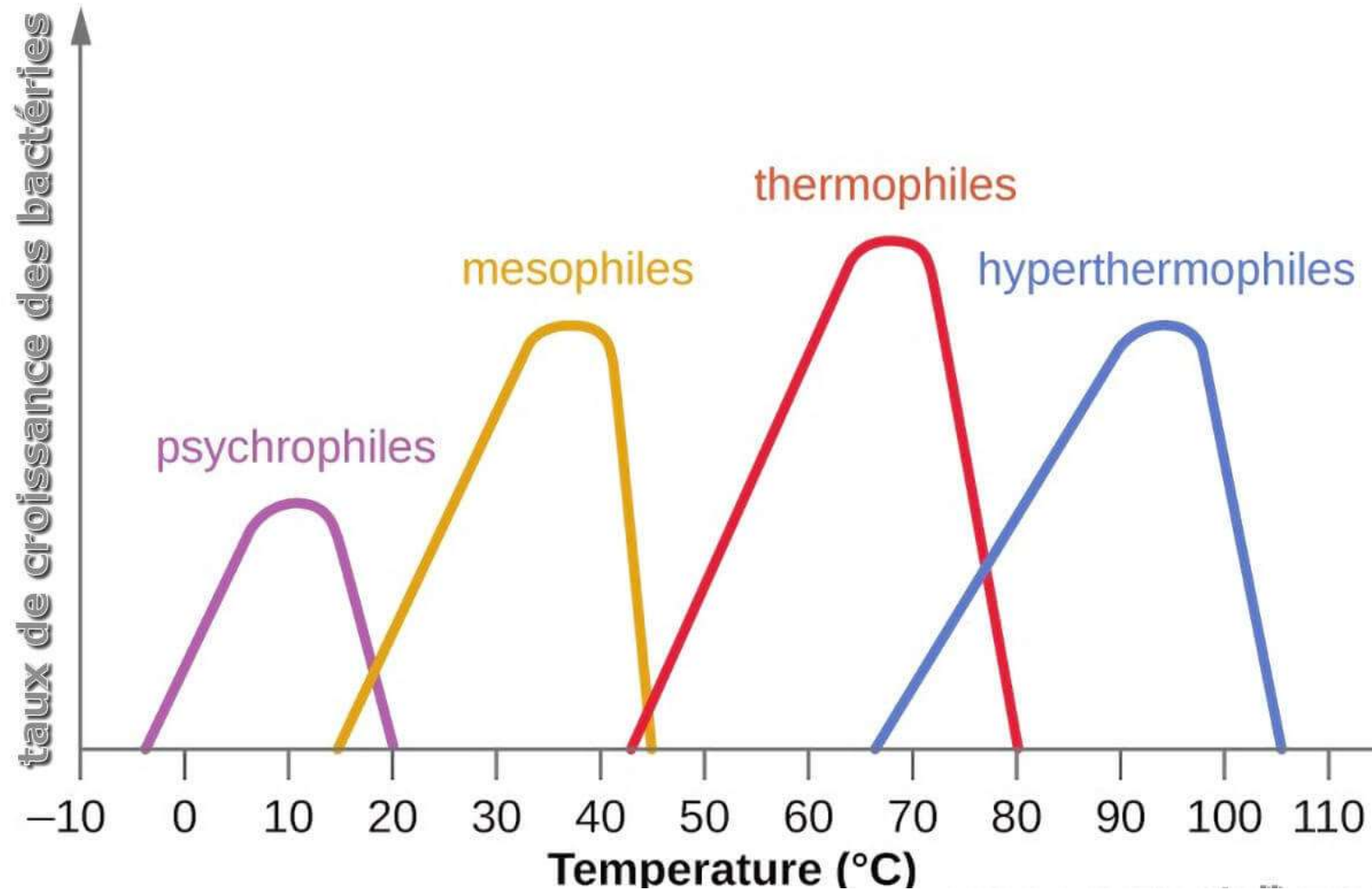
Rayonnement UV

La turbulence

Les facteurs Physico-Chimiques

1. La température

Chaque espèce microbienne possède une température optimale de croissance, On trouve :



Effet de la température sur la croissance microbienne.

- **Les psychrophiles**

Les psychrophiles sont des micro-organismes qui prospèrent dans des environnements à **basses températures**, généralement entre **-20 °C et +20 °C**. Ils jouent un rôle crucial dans les écosystèmes froids, tels que les glaciers, les eaux polaires et les sols gelés. Les psychrophiles ont une **température optimale de croissance basse**, généralement autour de **15 °C** ou moins, ils comprennent une grande variété de micro-organismes, tels que les bactéries, les archées, les champignons et les algues.

Exemples:

* ***Arthrobacter*** est un genre représenté par des bactéries qui interviennent dans la biodégradation des hydrocarbures, la cellulose. Ils peuvent même dégrader certains herbicides et pesticides.

* ***Pseudomonas*** est un genre représenté par des bactéries qui interviennent dans la dégradation du glucose, par respiration aérobie ou inerte vis-à-vis du glucose

- **Les mésophiles**

Ils sont des micro-organismes qui préfèrent **les températures modérées** pour leur croissance. Ils sont très répandus dans l'environnement et jouent un rôle important dans divers processus biologiques. Les mésophiles se développent le mieux dans une plage de température comprise entre **20°C et 45°C**, avec une **température optimale** généralement autour de **37°C**, ils comprennent une grande diversité de micro-organismes, tels que des bactéries, des champignons, des levures et des protozoaires.

Exemples:

la plupart des bactéries responsables des intoxications alimentaires sont des mésophiles comme : **salmonelles**

Le rhizobium est un genre de bactéries aérobie du sol, qui fixent l'azote atmosphérique.

- **Les thermophiles**

Les thermophiles sont des micro-organismes qui se développent de manière optimale dans des environnements à **températures élevées**, généralement entre **45 °C et 80 °C**. Ils sont adaptés à des conditions extrêmes et jouent un rôle crucial dans les écosystèmes chauds. Les thermophiles ont une température optimale de croissance élevée, située dans la plage mentionnée ci-dessus, ils comprennent une grande variété de micro-organismes, tels que des bactéries, des archées, des champignons et des algues.

Exemples:

Les Bacillus sont des bactéries qui se trouvent habituellement dans l'environnement : terre, eaux, végétaux...etc. Elles sont responsables de multiples dégradations de produits alimentaires (sûrissement et caillage du lait, etc.). Certains d'entre eux ont des rôles utiles comme producteurs d'antibiotiques.

- **Les hyperthermophiles**

Les hyperthermophiles sont des micro-organismes **extrêmophiles** qui prospèrent dans des environnements à **températures exceptionnellement élevées**, généralement **supérieures à 80 °C**. Ils représentent un groupe fascinant d'organismes vivants, capables de survivre et de se développer dans des conditions considérées comme hostiles à la plupart des formes de vie. Les hyperthermophiles ont une **température optimale** de croissance qui dépasse les **80 °C**, et certains peuvent même se développer à des températures supérieures à **100 °C**. La plupart des hyperthermophiles appartiennent au domaine des archées, bien que certaines bactéries hyperthermophiles existent également.

Exemple:

Les *Aquifex* sont des archées autotrophes. *Aquifex* signifie « qui fait de l'eau » en latin et évoque le fait que sa méthode de respiration crée de l'eau. Étant hyperthermophile, *ils* croît souvent près de volcans sous-marins ou de sources chaudes.

2. Le pH

Le pH de l'eau influe sur la disponibilité des nutriments et l'activité enzymatique des micro-organismes. La plupart des bactéries préfèrent un pH neutre, mais certaines bactéries supportent des pH un peu acides (exemple de lactobacilles dans un yaourt).

Les pH très acides ou très basiques sont nuisibles au développement des micro-organismes.

3. La concentration en oxygène dissous

Les micro-organismes aérobies ont besoin d'oxygène pour respirer (comme les bactéries *Pseudomonas* qui dégrade le glucose en présence d'oxygène), tandis que les anaérobies peuvent vivre en l'absence d'oxygène (comme la bactérie *Clostridium botulinum* responsable du botulisme (maladie paralytique)).

Certaines espèces sont facultatives, c'est-à-dire qu'elles peuvent se développer avec ou sans oxygène.

4. La salinité

La concentration en sels dissous affecte la pression osmotique à l'intérieur des cellules microbiennes. On trouve **les halophiles** qui est un organisme qui a besoin de fortes concentrations en sel dans son milieu pour vivre. Les micro-organismes halophiles sont des **extrémophiles** appartenant aux domaines des archées ou des bactéries, on trouve également des plantes sauvages des régions maritimes (les halophytes) et un grand nombre d'algues sont également halophiles. Tandis que les autres espèces peuvent être inhibées par une salinité élevée.

5. La pression

La pression hydrostatique peut influencer la croissance des micro-organismes, en particulier dans les milieux profonds.

Facteurs Biologiques

1. Disponibilité en nutriments

Les micro-organismes ont principalement besoin d'une source de carbone, d'azote et de phosphore.

Les micro-organismes **autotrophes** produisent leur carbone à partir du CO₂ atmosphérique. Ils vivent dans les milieux naturels.

Les micro-organismes **hétérotrophes** ne peuvent pas fabriquer leur carbone. Ils ont besoin de le récupérer à partir de **constituants alimentaires énergétiques** (glucides, lipides, protides).

2. La Compétition

La compétition pour les nutriments et l'espace entre différentes espèces microbiennes peut limiter la croissance de certaines populations.

3. Prédation

Les protozoaires et les petits métazoaires peuvent se nourrir de bactéries et d'autres micro-organismes, régulant ainsi leurs populations.

4. Présence de substances inhibitrices

Certaines substances naturelles ou synthétiques peuvent inhiber la croissance des micro-organismes, comme les antibiotiques ou les désinfectants.

Les Facteurs Environnementaux

1. Le rayonnement UV

Le rayonnement ultraviolet peut endommager l'ADN des micro-organismes et les tuer.

2. La turbulence de l'eau

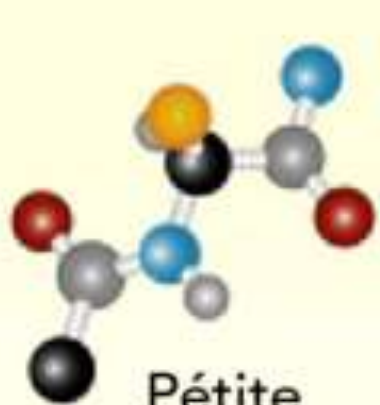
La turbulence de l'eau peut disperser les micro-organismes et favoriser leur mélange avec d'autres populations.

En conclusion, la croissance des micro-organismes est un processus complexe influencé par de nombreux facteurs. Comprendre ces facteurs est essentiel pour prédire la dynamique des populations microbiennes dans les milieux aquatiques et dans l'environnement.

CHAPITRE II :

Bactériologie Appliquée

Tailles relatives des cellules et de leurs composants



Pétite
molécule



Virus



Bactérie



Cellule
animale



Cellule
végétale

centi = 10^{-2} m

milli = 10^{-3} m

micro = 10^{-5} m

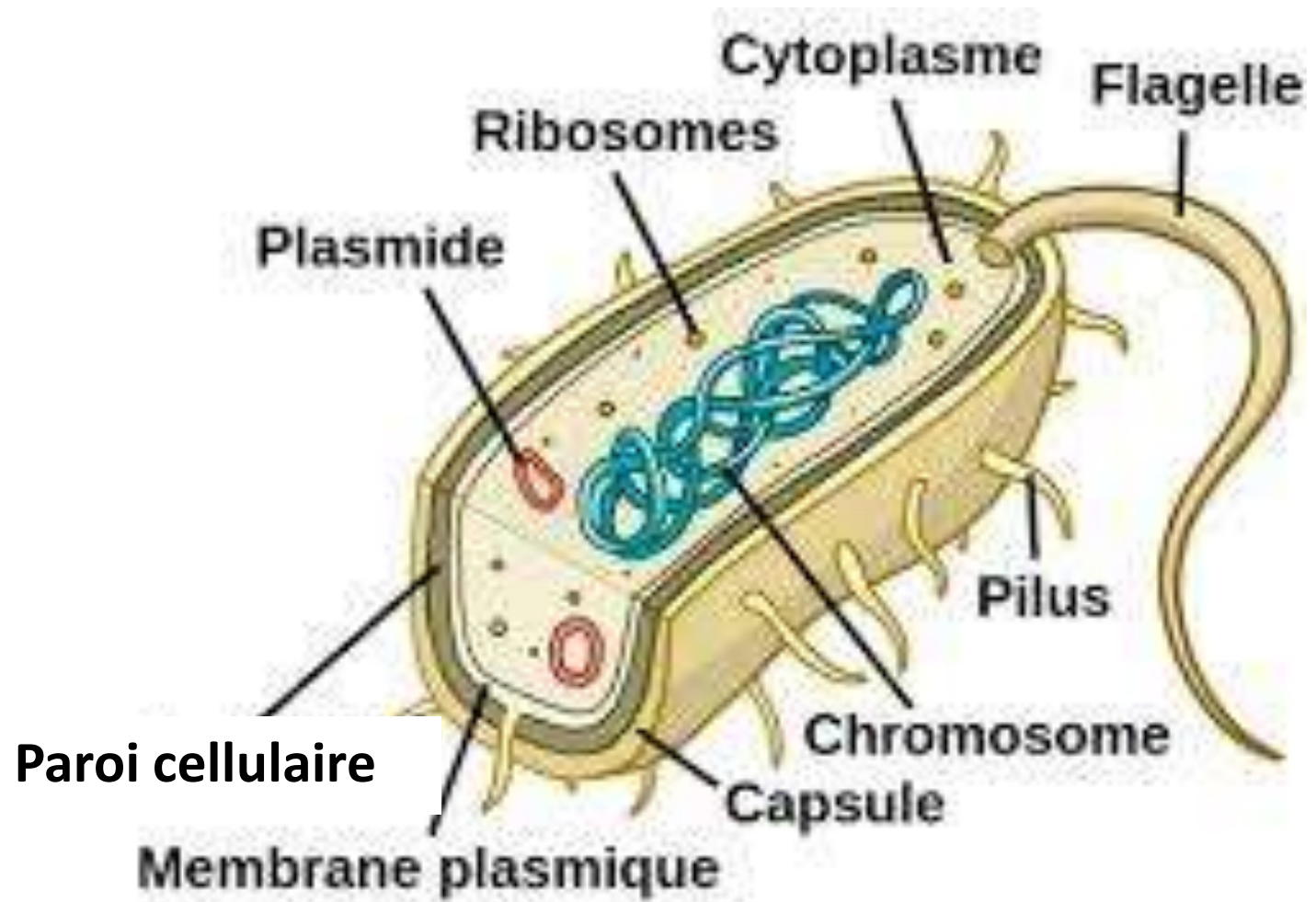
nano = 10^{-9} m

1 nanometre 10 nanometres 100 nanometres 1 micrometre 10 micrometres 100 micrometres 1 millimetre 1 centimetre

Microscope électronique

I. Structure Bactérienne

Une cellule bactérienne typique possède une structure de base comprenant une membrane plasmique, un cytoplasme (contenant les ribosomes et le nucléoïde avec l'ADN) et une paroi cellulaire. Certaines bactéries ont des structures facultatives comme une capsule extérieure, des flagelles pour le déplacement, des pili pour l'adhésion et des plasmides (petits ADN circulaires).



Structure de la cellule bactérienne.

I.1. Structures internes et obligatoires

I.1.1. Cytoplasme

Est une substance gélatineuse où se déroulent les réactions métaboliques. Contenant l'eau, les ions et des molécules (comme l'ARN messager et l'ARN ribosomal).

I.1.2. Nucléoïde

Présente la zone du cytoplasme où se trouve l'unique molécule d'ADN circulaire de la bactérie, le chromosome bactérien. Elle n'est pas entourée d'une membrane.

I.1.3. Ribosomes

Elles sont des petites structures qui synthétisent les protéines à partir de l'ARN messager. On les trouve dans le cytoplasme.

I.1.4. Membrane plasmique

Est une fine couche de lipides et de protéines qui entoure le cytoplasme. Elle contrôle l'entrée et la sortie des substances dans la cellule, elle est le siège de la respiration cellulaire.

I.1.5. Paroi cellulaire

Une structure extérieure rigide située à l'extérieur de la membrane plasmique elle est essentielle à la survie de la plupart des bactéries.

- Elle se compose principalement de peptidoglycane.
- Elle sert de base à la distinction entre les bactéries Gram positives (paroi plus épaisse) et Gram négatives (paroi plus fine avec une membrane externe).

I.2. Structures interne et facultatives

I.2.1. Capsule

Est une couche visqueuse externe qui peut entourer certaines bactéries. Elle sert de protection supplémentaire et est souvent un facteur de virulence.

I.2.2. Flagelles

Présente de longues extensions filamenteuses qui permettent le mouvement de la bactérie.

I.2.3. Pili (ou fimbriae)

Ils sont plus courts et plus nombreux que les flagelles, ils aident la bactérie à s'attacher aux surfaces ou à d'autres cellules.

I.2.4. Plasmides

Petits morceaux d'ADN circulaire indépendants du chromosome principal. Ils contiennent souvent des gènes utiles, comme ceux qui confèrent la résistance aux antibiotiques.

II. Classification des bactéries

La classification moderne des bactéries repose sur trois critères :

Morphologiques

Observent la forme et
l'agencement des cellules.

Métaboliques

Examinent leurs
besoins en oxygène,
leur biochimie et leur
source d'énergie

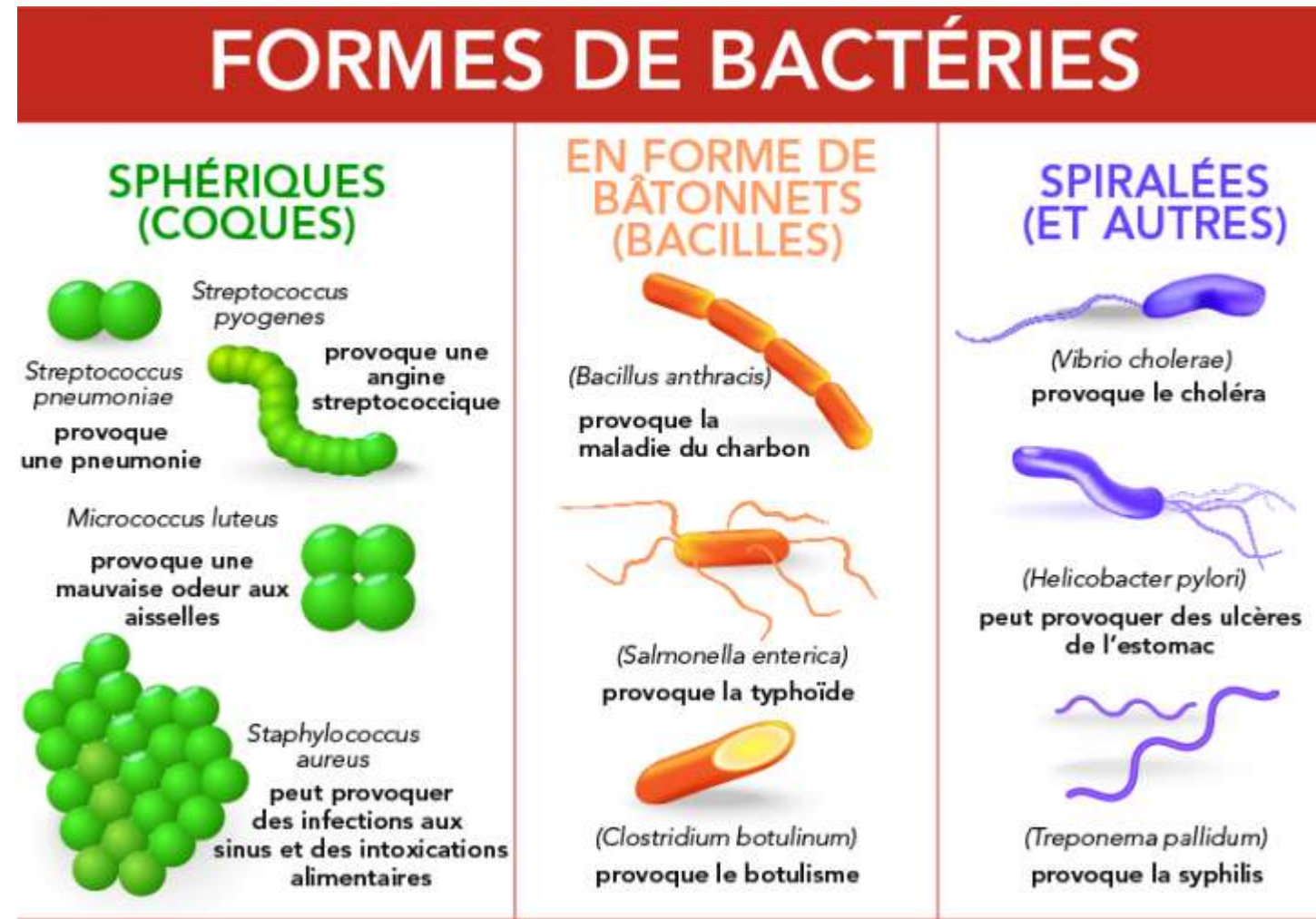
Génétiques

Se base sur l'analyse
de l'ADN et de
l'ARN

II.1. Critères morphologiques

La morphologie bactérienne se réfère principalement à :

- **Forme cellulaire** : Les bactéries peuvent être sphériques (**coques**), en forme de bâtonnets (**bacilles**) ou spiralées.
- **Organisation** : La façon dont les cellules s'organisent, comme en chaînes ou en amas, est également un critère de classification.
- **Autres caractéristiques** : La présence de flagelles (pour la mobilité), ou la structure de la paroi cellulaire (comme la réaction à la coloration de Gram: (violet pour Gram positif, rose pour Gram négatif)).



II.2. Critères métaboliques

- **Besoins en oxygène** : Les bactéries sont classées selon leur relation à l'oxygène, qu'elles soient **anaérobies** (sans oxygène) ou **aérobies** (avec oxygène).
- **Métabolisme** : L'étude de leurs voies métaboliques et de leurs réactions biochimiques aide à les identifier et les classer.
- **Source d'énergie** : Les bactéries peuvent être classées selon la source de leur énergie : d'autres organismes (**hétérotrophes**) ou des réactions chimiques/lumière (**autotrophes**).

****Rappel sur la composition d’ADN et d’ARN***

Les nucléotides de l'ADN et de l'ARN sont constitués de trois parties : une base azotée, un sucre (désoxyribose pour l'ADN, ribose pour l'ARN) et un groupe phosphate. La différence principale réside dans leurs bases azotés (acides aminés) : l'ADN utilise l'adénine (A), la guanine (G), la cytosine (C) et la thymine (T), tandis que l'ARN remplace la thymine par l'uracile (U).

****Caractéristiques d’ADN et d’ARN***

Élément	ADN (Acide Désoxyribonucléique)	ARN (Acide Ribonucléique)
Sucre	Désoxyribose	Ribose
Bases azotées	A, G, C et T	A, G, C et U
Structure	double brin en hélice	simple brin
Localisation (brain)	Noyau cellulaire (principalement)	Cytoplasme, noyau, ribosomes

II.3.Critères génétiques

- **Séquençage de l'ARNr** : Ce critère est devenu essentiel car l'ARNr (ARN ribosomal) est un composant fondamental des ribosomes de toutes les bactéries. Sa séquence d'ADN est relativement conservée mais contient suffisamment de variations pour établir des relations évolutives entre les espèces.
- **Comparaison de l'ADN/ARN** : La différence du séquençage de l'ADN et de l'ARN (lecture de l'information génétique), permet d'affiner d'avantage la classification du monde bactérien.

III. Nutrition et Croissance Bactérienne

Les bactéries contiennent une large variété de molécules et de macromolécules. Les molécules simples sont absorbées de leur milieu ou synthétisées à partir de leurs précurseurs, les macromolécules sont synthétisées aux seins des cellules bactériennes.

Les nutriments absorbés par les bactéries sont indispensables à la croissance, et assurent trois fonctions vitales :

- Biosynthèse : Construction du matériel cellulaire.
- Production d'énergie : Carburant pour le métabolisme (ATP).
- Activités vitales : Transport de substrats, mobilité, etc.

III.1. Nutrition bactérienne:

*La nutrition des bactéries est essentielle à leur croissance, nécessitant des sources d'énergie, de carbone et d'azote, ainsi que des sels minéraux, elles sont considérés comme éléments majeurs et essentiels, sont utilisés par les bactéries en concentration élevée ($> 10^{-4}$).

*Les bactéries peuvent être **prototrophes**, ayant besoin uniquement des nutriments de base, ou **auxotrophes**, nécessitant des nutriments de croissance spécifiques, comme des vitamines ou des acides aminés qu'elles ne peuvent pas synthétiser elles-mêmes.

III.2. États Physiologiques de bactérie

L'état de la bactérie dépend des conditions nutritives et de plusieurs paramètres (physico-chimiques, biologiques et environnementales) :

- **État végétatif** : Conditions favorables. Assure la biosynthèse et la croissance active (multiplication).
- **État de repos** : Conditions défavorables. Maintien d'un métabolisme de base (minimum vital).
- **Mort** : Conditions minimales non assurées

III.3. Croissance et reproduction de bactérie

*Les bactéries croissent et se reproduisent par **fission binaire**.

*Des facteurs comme l'eau, la température, le pH et l'oxygène, disponibilité de nutriments,....etc, influencent également leur croissance et leur développement.

IV. Rôle des microorganismes dans les cycles biogéochimiques

Les micro-organismes jouent un rôle essentiel dans les cycles biogéochimiques en transformant la matière et l'énergie.

Ils agissent comme principaux décomposeurs de la matière organique (Les bactéries et les champignons décomposent la matière organique morte (plantes et animaux) en éléments plus simples), libérant des nutriments essentiels pour d'autres organismes (comme l'azote et le phosphore dans le sol).

IV.1. Cycle du carbone

Le cycle biogéochimique primaire est le cycle du carbone, la quantité de carbone dans les réservoirs de la Terre doit être maintenue en équilibre avec la quantité recyclée. Le carbone peut être présent sous formes:

Réduites tels que le méthane (CH_4),

De matière organique (carbone organique),

Oxydées tel que le monoxyde de carbone (CO), le dioxyde de carbone (CO_2),

De calcaire (CaCO_3).

Rôle dans le stockage et le relargage du carbone

1. Photosynthèse : Les microorganismes, comme les algues et les bactéries, effectuent la photosynthèse en utilisant la lumière solaire pour transformer le dioxyde de carbone (CO₂) de l'atmosphère en molécules organiques (sucres, etc.), ainsi que pour produire de l'oxygène.



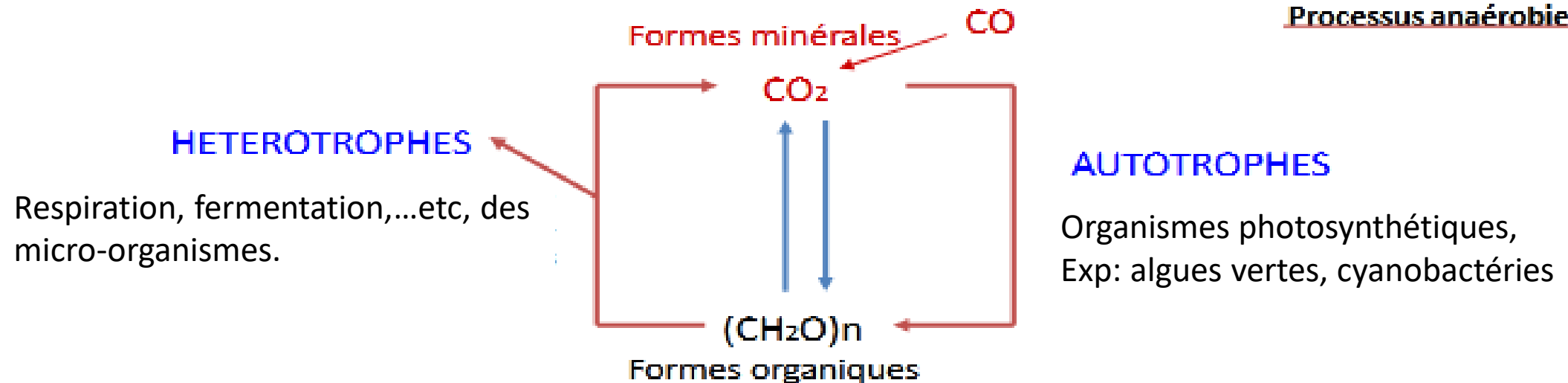
2. Respiration : Ce processus libère le carbone sous forme de CO₂ dans l'atmosphère.

3. Décomposition : Les microorganismes décomposeurs (champignons et bactéries) dégradent la matière organique complexe des organismes morts, libérant ainsi le carbone stocké et le rendant disponible à nouveau dans l'environnement.

Le cycle du carbone : forme simplifiée

Processus aérobie

Processus anaérobie



IV.2. Cycle de l'azote

L'azote est essentiel à la croissance des plantes car est un composant clé des protéines et des acides nucléiques. Les cycles biogéochimiques de l'azote permettent la transformation de l'azote atmosphérique inerte en formes assimilables par les plantes (nitrates, ammoniac) grâce à des processus biologiques (fixation par des bactéries symbiotiques) et chimiques.

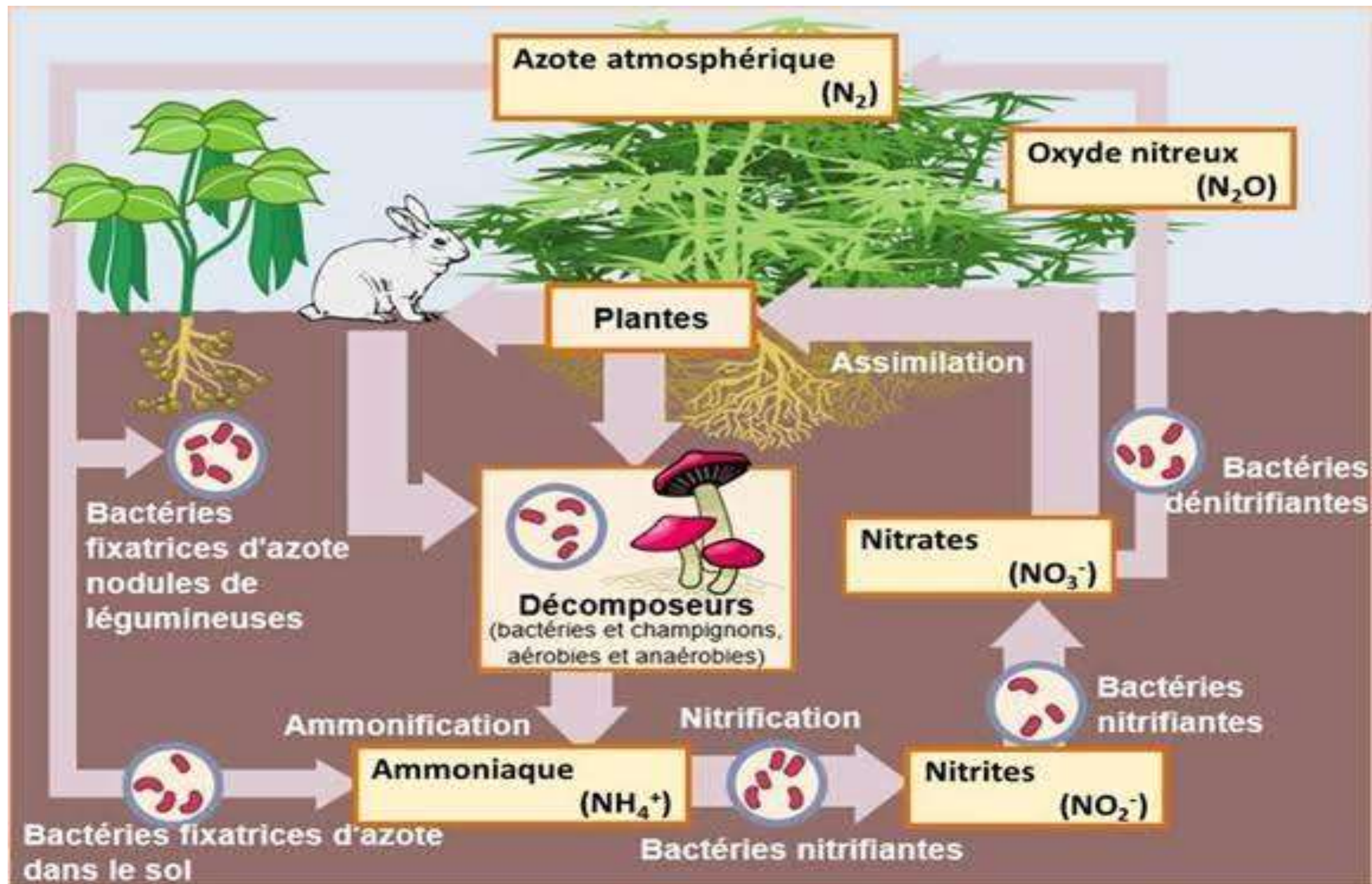
Rôle indispensable pour la transformation de l'azote

Fixation de l'azote : Des bactéries spécialisées convertissent l'azote gazeux (N_2), abondant dans l'atmosphère mais inutilisable par la plupart des plantes, en ammoniac (NH_3). La plupart de cet ammoniac est transformé en ammonium (NH_4^+) dans un sol humide.

Ammonification : D'autres microorganismes transforment la matière organique azotée en ammoniac.

Nitrification : Des bactéries transforment l'ammoniac en nitrites (NO_2^-) puis en nitrates (NO_3^-), la forme d'azote la plus facilement assimilée par les plantes.

Dénitrification : Ce processus inverse renvoie les nitrates sous forme d'azote gazeux (N_2) dans l'atmosphère, complétant ainsi le cycle.



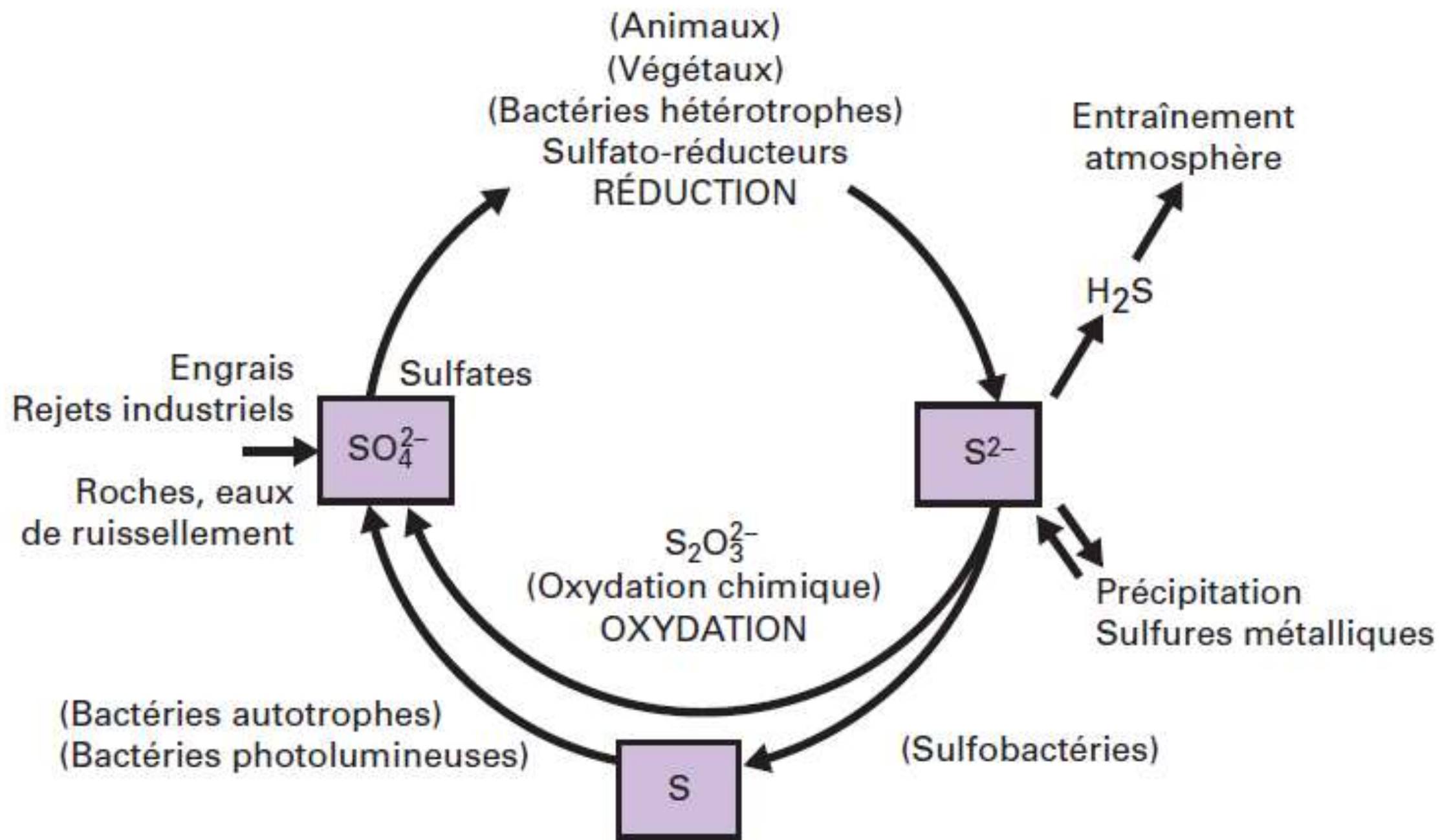
IV.2. Cycle du soufre

Le soufre est essentiel à la vie en tant que composant d'acides aminés et de protéines, participe à la régulation du climat par la formation de nuages, et joue un rôle crucial en agriculture comme nutriment pour les plantes. Sa compréhension est aussi fondamentale pour l'étude des écosystèmes.

Rôle indispensable pour la transformation de l'azote

Processus essentiels : Les microorganismes transforment le soufre entre ses diverses formes, notamment en passant des sulfures aux sulfates, un processus vital pour la santé des écosystèmes.

Formes oxydées et réduites : Ils sont capables de convertir des composés soufrés entre leurs états d'oxydation élevés et bas, ce qui permet au soufre d'être utilisé par d'autres organismes et d'être recyclé dans l'environnement

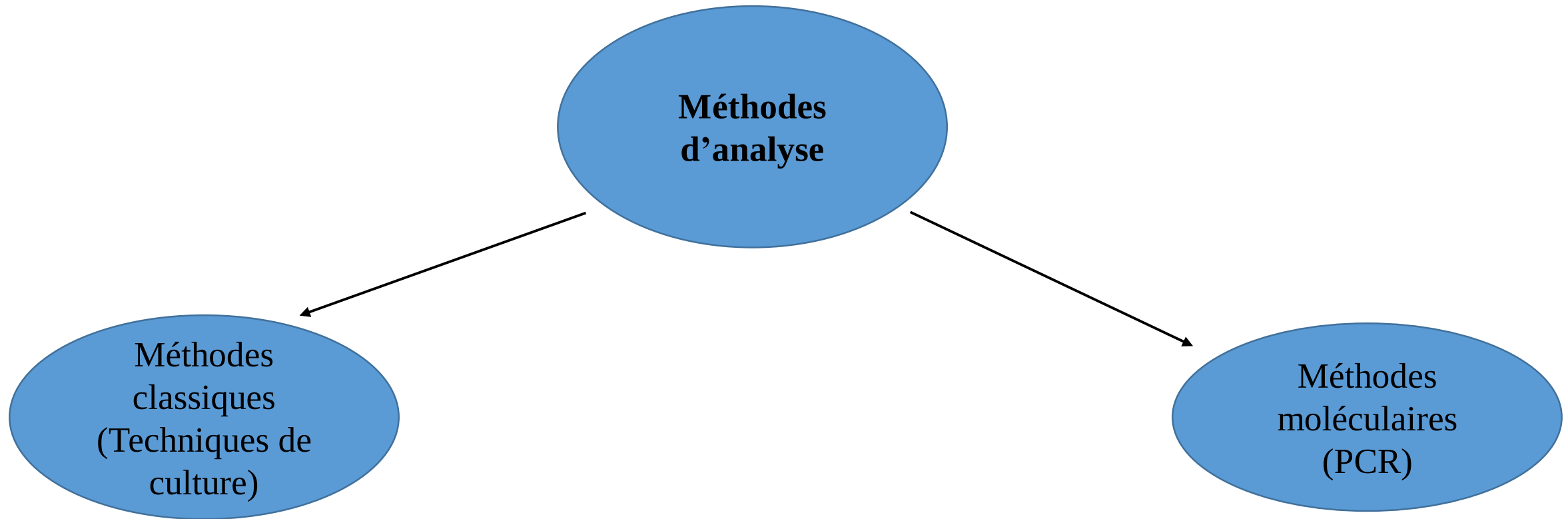


CHAPITRE III :

Microbiologie de l'Eau et des Sols

IV. Méthodes d'analyse microbiologique

L'analyse microbiologique de l'eau est un élément essentiel de la surveillance de la qualité de l'eau. Elle permet de détecter et de quantifier les micro-organismes présents dans l'eau, qu'ils soient bénéfiques ou pathogènes.



L'ensemencement en plaque

Filtration sur membrane

Méthodes classiques (Techniques de culture)

Les méthodes d'analyse microbiologique classiques sont des techniques éprouvées et largement utilisées pour détecter, identifier et quantifier les micro-organismes dans divers échantillons. Elles reposent sur des principes fondamentaux de **culture**.

- **Un milieu de culture**

Un milieu de culture est une préparation liquide ou solide qui fournit les nutriments nécessaires à la croissance des micro-organismes (bactéries, champignons, etc.), afin de permettre leur étude.

*En principe, les cellules trouvent dans ce milieu les composants indispensables pour leur multiplication en grand nombre, rapidement, mais aussi parfois des éléments qui permettront de privilégier un genre bactérien ou une famille.

*Il se compose d'une base d'eau, de minéraux, de source de carbone et d'agar-agar (produit gélifiant) pour les milieux solide (gélose), Il existe aussi des bouillons de culture qui possèdent la même fonction, mais ces milieux ne contiennent pas d'agar-agar, ils sont donc totalement liquides.

Il existe une grande variété de milieux, classés en fonction de leur composition et de leur utilisation :

Milieux non sélectifs

Permettent la croissance d'une large gamme de micro-organismes (ex : gélose nutritive).

Milieux sélectifs

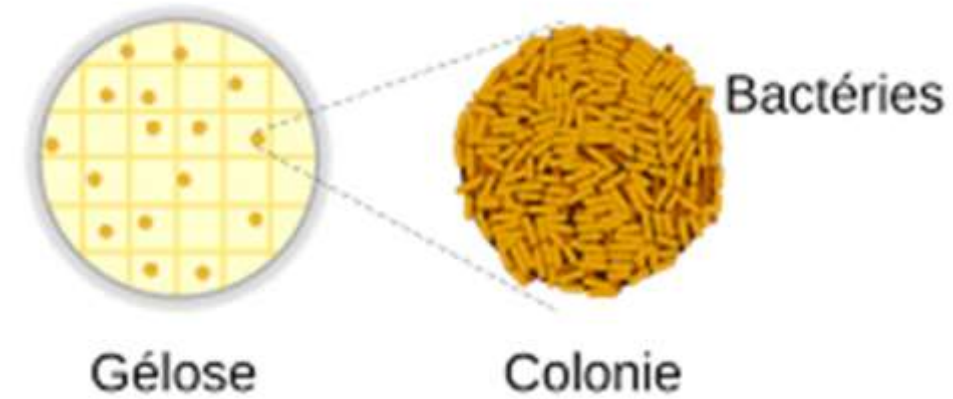
Contiennent des substances qui inhibent la croissance de certains micro-organismes, favorisant la croissance des cibles (ex : gélose EMB(Eosin methylene blue) pour les coliformes).

Milieux différentiels

Contiennent des indicateurs colorés qui permettent de distinguer différents types de micro-organismes en fonction de leurs caractéristiques métaboliques (ex : gélose MacConkey pour les bactéries fermentant le lactose).

- **Les colonies**

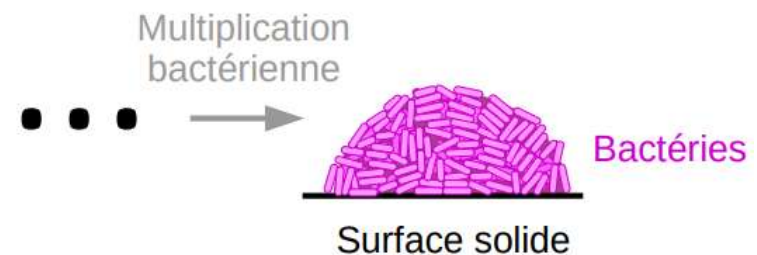
Les colonies microbiennes sont des regroupements visibles de micro-organismes (bactéries, levures, champignons) qui se développent sur un milieu de culture solide, comme la gélose, à partir d'une seule cellule microbienne. Chaque colonie représente donc une population de cellules identiques, issues de la multiplication d'un seul organisme.



Une seule bactérie
(Invisible à l'œil nu)

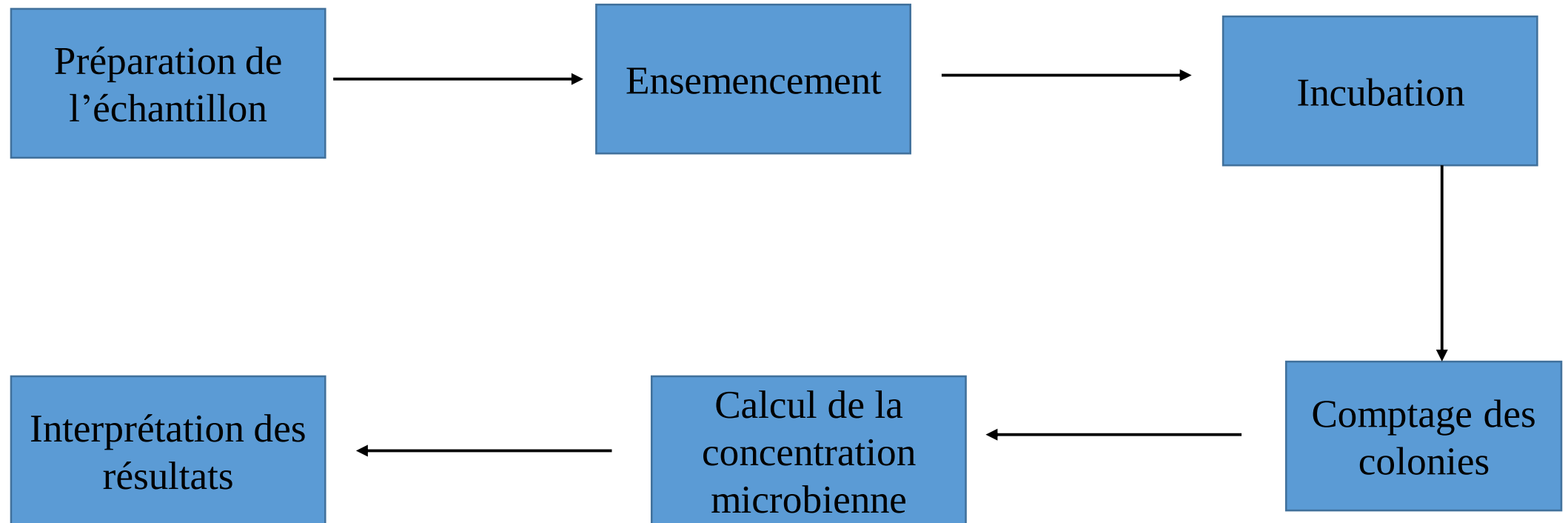


Une colonie
(Visible à l'œil nu)



1) Ensemencement en plaque

L'ensemencement en plaque est une méthode utilisée pour déterminer la concentration de micro-organismes présents dans un échantillon sur les milieux de culture , elle se fait en 6 étapes :



- *Préparation de l'échantillon*

L'échantillon d'eau est prélevé de manière aseptique pour éviter toute contamination.

Des dilutions en série sont souvent effectuées pour obtenir un nombre de colonies comptable (généralement entre 30 et 300 colonies par boîte).

- *Ensemencement*

Une quantité précise de l'échantillon ou de la dilution est déposée sur un milieu de culture solide (gélose) ou liquide (bouillon). Plusieurs techniques d'ensemencement sont possibles :

Ensemencement en surface

L'échantillon est étalé à la surface de la gélose à l'aide d'un étaleur stérile.

Ensemencement en profondeur

L'échantillon est mélangé à la gélose fondue avant qu'elle ne se solidifie.

- *Incubation*

Les boîtes de Pétriensemencées sont incubées à une température et une durée optimales pour la croissance des micro-organismes cibles. Les conditions d'incubation (température, atmosphère et humidité) varient en fonction du type de micro-organismes recherchés.

- *Comptage des colonies*

Après l'incubation, les **colonies** qui se sont développées sur **la gélose** ou la **turbidité** dans **le bouillon** sont comptées, le dénombrement se fait selon la nature du milieu de culture, on trouve :

Type de dénombrement

1) Dénombrement par comptage visuel (méthode directe)

Après incubation, si les micro-organismes forment des colonies visibles dans le milieu solide (par exemple, dans le cas de la méthode de "culture en plaque"), on peut effectuer un comptage direct des colonies.

Le nombre de colonies formées peut ensuite être utilisé pour calculer la concentration cellulaire dans l'échantillon d'origine.

2) Dénombrement par méthode de turbidité (méthode indirecte)

Si les micro-organismes ne forment pas de colonies distinctes, une autre méthode consiste à mesurer la turbidité du milieu liquide. La turbidité est liée à la densité cellulaire (plus il y a de cellules, plus le milieu est trouble).

La mesure de la turbidité se fait généralement avec un spectrophotomètre, qui mesure l'absorbance de la lumière par le milieu. Cela permet de donner une estimation indirecte de la concentration de micro-organismes dans le milieu liquide.

- *Calcul de la concentration microbienne*

Si une méthode de dilution a été utilisée, on doit multiplier le nombre de micro-organismes comptabilisés par le facteur de dilution pour obtenir la concentration totale dans l'échantillon initial.

Dans le cas de la mesure de la turbidité, on peut établir une courbe de calibration pour corréler les valeurs d'absorbance avec le nombre de micro-organismes par unité de volume.

La formule pour calculer la concentration de micro-organismes dans l'échantillon initial est la suivante :

$$\text{Concentration} = \frac{\text{Nombre de colonies}}{\text{Volume inoculé}} \times \text{Facteur de dilution}$$

- *Interprétation des résultats*

Enfin, l'interprétation des résultats dépend du type de micro-organisme recherché, du milieu utilisé, et des méthodes statistiques appliquées (par exemple, le calcul de la concentration microbienne en unités formant colonie par millilitre, UFC/mL).



Une boîte de Pétri avec des micro-organismes isolés d'une eau profonde.

Remarque

- ✓ L'asepsie est essentielle pour éviter la contamination des cultures.
- ✓ Les dilutions en série sont essentielles pour obtenir un nombre de colonies comptable.
- ✓ Le choix du milieu de culture et des conditions d'incubation dépend du type de micro-organismes recherchés.
- ✓ La numération sur gélose ne détecte que les micro-organismes cultivables dans les conditions utilisées.

Les avantages et les inconvénients de l'ensemencement en plaque sont illustrés sur le tableau suivant :

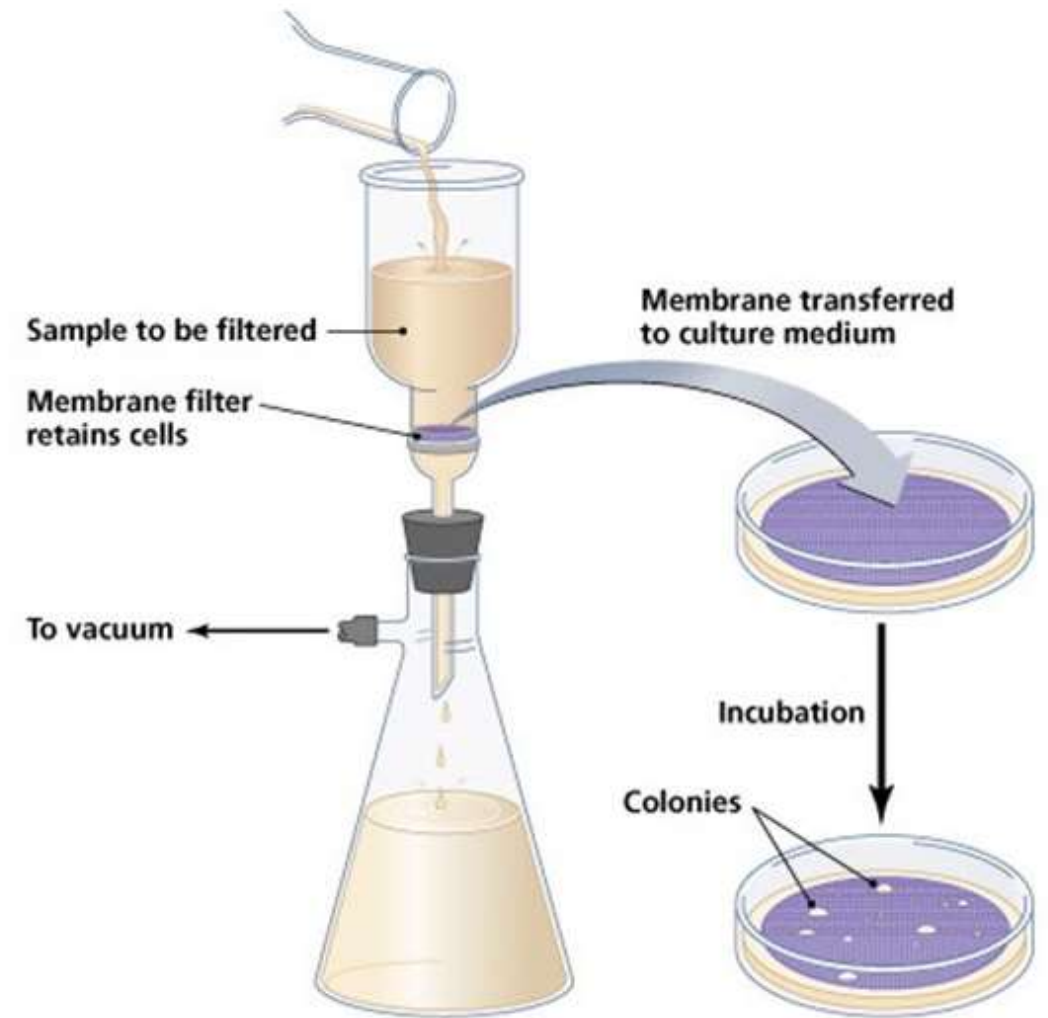
Avantages	Limites
-Méthode de référence pour la quantification des bactéries viables. -Permet l'identification de certains micro-organismes en fonction de leurs caractéristiques de croissance. -Relativement peu coûteuse.	-Temps d'incubation long (24-48 heures ou plus). -Ne détecte que les micro-organismes cultivables dans les conditions utilisées. -Peut sous-estimer le nombre de micro-organismes présents.

2) Filtration sur membrane

La filtration sur membrane est souvent utilisée pour quantifier les micro-organismes présents dans un échantillon liquide.

L'échantillon est filtré à travers une membrane dont les pores sont suffisamment petits (l'ordre de μm) pour retenir les micro-organismes.

La membrane est ensuite placée sur un milieu de culture, ce qui permet de compter le nombre de colonies microbiennes et de déterminer la concentration de micro-organismes dans l'échantillon.



Principe de la détection bactérienne par filtration sur membrane.

Les étapes à suivre pour analyser un échantillon par la filtration sur membrane sont détaillés ci-dessous:

- *Préparation du matériel*

On utilise un dispositif de filtration composé d'un support de membrane et d'une membrane filtrante stérile.

- *Filtration de l'échantillon*

On verse un volume précis d'eau à analyser dans le dispositif, et on applique une pression ou une aspiration pour faire passer l'eau à travers la membrane.

- *Transfert sur un milieu de culture*

La membrane, qui a retenu les micro-organismes, est ensuite délicatement placée sur un milieu de culture solide, dans une boîte de Pétri.

- *Incubation*

On place la boîte de Pétri dans une étuve, à une température et pendant une durée appropriée, pour permettre aux micro-organismes de se développer et de former des colonies visibles.

- *Comptage des colonies*

Après incubation, les colonies formées sur la membrane sont comptées et utilisées pour calculer la concentration de micro-organismes dans l'échantillon liquide.

- *Calcul de la concentration*

La concentration est calculée de manière similaire à la méthode d'ensemencement en plaque :

$$\text{Concentration (UFC/mL)} = \frac{\text{Nombre de colonies}}{\text{Volume inoculé}} \times \text{Facteur de dilution}$$

La filtration sur membrane est une technique précieuse pour l'analyse microbiologique de l'eau, permettant de détecter et de quantifier les micro-organismes, elle présente des avantages ainsi que des limites :

Avantages	Limites
- Permet d'analyser de grands volumes d'eau. -Déetecte les micro-organismes même en faible concentration. -Simple et efficace.	-Ne détecte que les micro-organismes retenus par la membrane et capables de se développer sur le milieu de culture utilisé. -Peut-être inhibée par la présence de particules en suspension dans l'eau qui obstruent la membrane. -Temps d'incubation nécessaire pour la croissance des colonies est long.

3) PCR (Réaction en chaîne par polymérase)

La technologie de réaction en chaîne par polymérase (PCR) est un outil fondamental en biologie moléculaire pour amplifier rapidement les séquences d'ADN. La technique PCR est basée sur le principe de la réplication enzymatique des acides nucléiques et constitue l'une des principales méthodes d'analyse de l'ADN. Il a été développé en 1983 par le biochimiste américain Kary Mullis pour lequel il a également reçu le prix Nobel de chimie en 1993 avec Michael Smith.

- *Composants nécessaires*

Pour réaliser une PCR, vous avez besoin de :

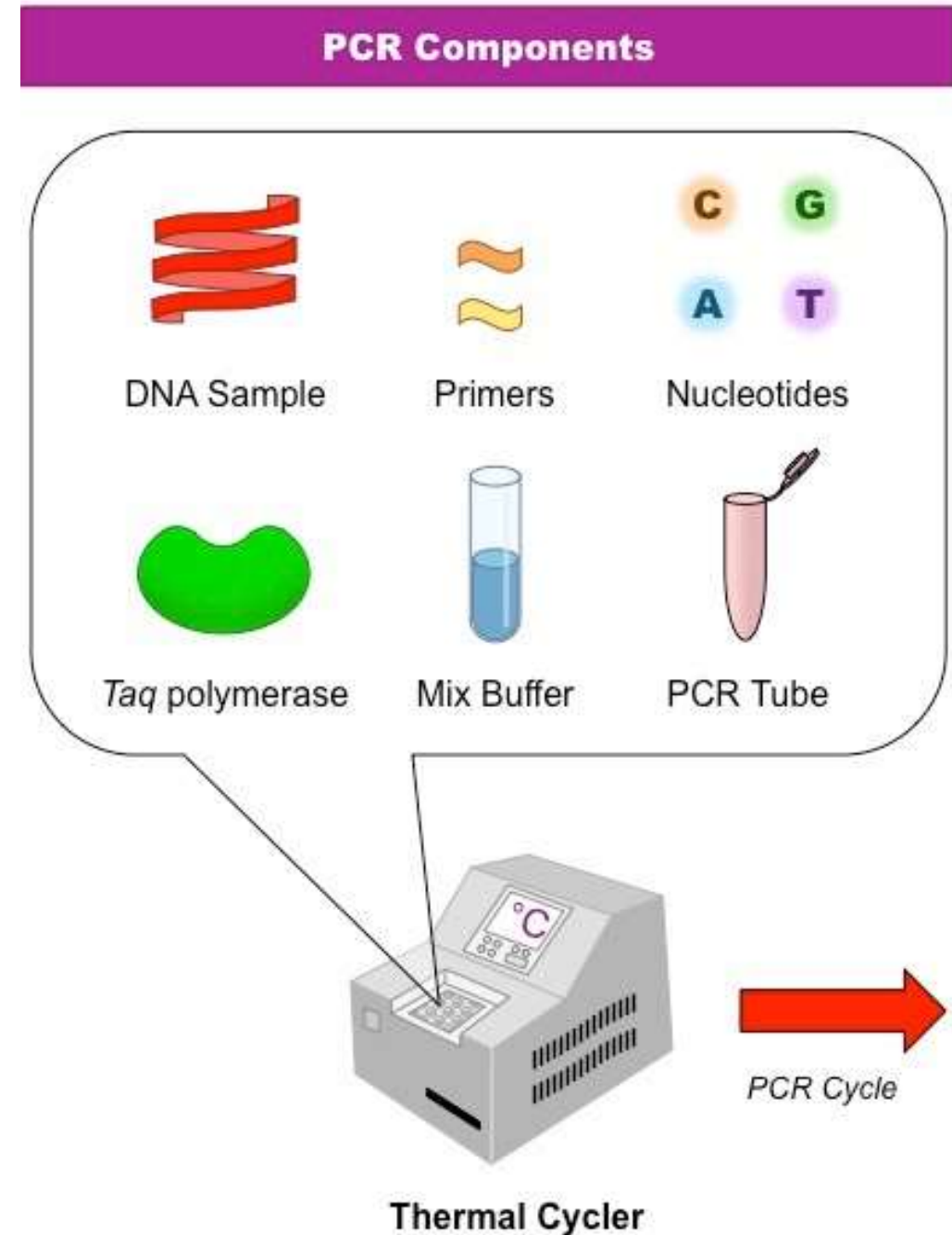
*ADN matrice : L'échantillon d'ADN contenant la séquence cible.

*Amorces : Deux courtes séquences d'ADN complémentaires aux extrémités de la séquence cible.

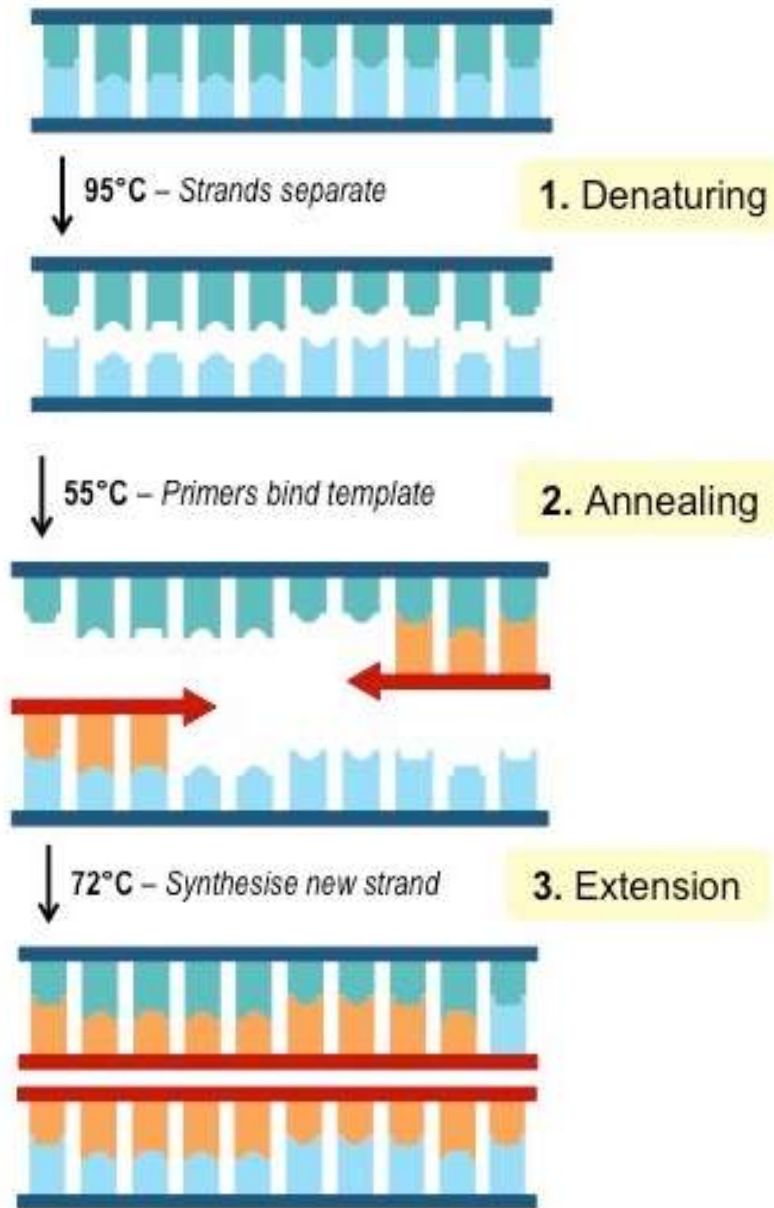
*Taq polymérase : Une enzyme thermostable qui synthétise l'ADN.

*Nucléotides (A, T, G, C): Les briques de construction de l'ADN.

*Tampon (buffer): Une solution qui maintient le pH et les conditions ioniques optimales pour la réaction.



- *Principes de base* : La PCR repose sur trois étapes principales, répétées en cycles successifs :



1) Dénaturation : L'ADN double brin est chauffé à une température élevée (94-98 °C) pour séparer les deux brins.

2) Hybridation (ou annelage) : La température est abaissée (50-65 °C) pour permettre à des amorces (courtes séquences d'ADN complémentaires à la séquence cible) de s'hybrider aux brins d'ADN.

3) Élongation : Une enzyme (la Taq polymérase) synthétise de nouveaux brins d'ADN complémentaires à partir des amorces, en utilisant les brins d'ADN originaux comme matrice.

Ces trois étapes sont répétées 25 à 40 fois, ce qui permet d'obtenir une amplification exponentielle de la séquence d'ADN cible.

- *Applications en microbiologie et traitement de l'eau*

La PCR est un outil puissant pour :

- *Détection de pathogènes : Identifier rapidement les bactéries, virus ou protozoaires pathogènes dans l'eau.
- *Quantification de micro-organismes : Déterminer la concentration de micro-organismes dans l'eau (PCR quantitative ou qPCR).
- *Surveillance de la qualité de l'eau : Détecter les indicateurs de contamination fécale ou d'autres polluants microbiologiques.
- *Étude de la biodiversité microbienne : Identifier les communautés microbiennes présentes dans les écosystèmes aquatiques.
- *Évaluation de l'efficacité des traitements : Mesurer la réduction de la concentration de micro-organismes après désinfection ou filtration.

• *Avantages et inconvénients*

Avantages	Limites
- Sensibilité élevée : Détecte de très faibles quantités d'ADN. -Spécificité élevée: Identifie uniquement la séquence d'ADN cible. -Rapidité : Obtient des résultats en quelques heures. -Polyvalence : Applicable à une grande variété de micro-organismes.	- Nécessite un équipement spécialisé: Thermocycleur, électrophorèse sur gel, etc. -Risque de contamination : Des précautions strictes sont nécessaires pour éviter la contamination de l'ADN. -Ne distingue pas les cellules viables des cellules mortes : Détecte l'ADN, qu'il provienne de cellules vivantes ou mortes.

Type de PCR

PCR quantitative (qPCR)

La PCR quantitative permet de suivre l'amplification de l'ADN en temps réel, grâce à l'utilisation de **sondes fluorescentes** qui émettent un signal lumineux proportionnel à la quantité d'ADN amplifié. Cette méthode permet une quantification précise de la quantité d'ADN cible dès les premiers cycles de PCR.

PCR qualitative

La **PCR qualitative** est une version de la PCR qui permet de détecter la présence ou l'absence d'un **micro-organisme** ou d'un **gène spécifique** dans un échantillon sans nécessairement quantifier la quantité d'ADN cible. Elle repose sur les mêmes principes que la PCR classique, mais au lieu de mesurer l'intensité du signal pour déterminer la quantité d'ADN, l'objectif principal est simplement de savoir si la séquence cible est présente ou non.

