

## 1. Croissance microbienne

### 1.1. Temps de doublement et taux de croissance spécifique

Lorsqu'une cellule bactérienne est inoculée dans le milieu de culture, contenant tous les ingrédients essentiels à la croissance, la cellule absorbe les nutriments, synthétise de nouveaux constituants cellulaires, augmente en taille, réplique son matériel génétique et, éventuellement, synthétise une nouvelle paroi cellulaire et se divise en deux. Ainsi une cellule qui se divise en deux, se divisera à nouveau pour donner quatre cellules. Ce type de doublement est appelé *croissance exponentielle*, le temps entre les divisions cellulaires est appelé *temps de doublement* ou de *génération*.

Temps de doublement ( $t_d$ ) = temps nécessaire aux cellules d'une population pour doubler

La vitesse à laquelle une bactérie croît est appelée *taux de croissance spécifique* elle est calculée en utilisant l'équation suivante :

$$\text{Taux de croissance spécifique (u)} = 0,69/t_d$$

Dans cette formule, on peut voir que lorsque le taux de croissance spécifique augmente, le temps de doublement diminue. Le taux par lequel une bactérie croît et se divise dépend de la nature du microbe, des ingrédients du milieu de culture et des conditions de l'environnement.

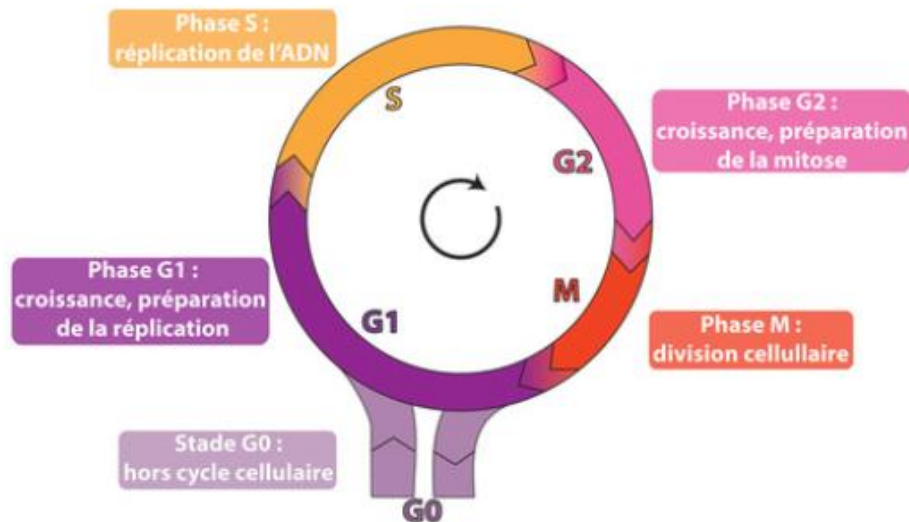
Par exemple, lorsque l'*E. coli* est placé dans un milieu très aéré à 37 °C, il est capable de se diviser toutes les 20 minutes, mais le taux de croissance diminue s'il faut synthétiser des précurseurs macromoléculaires essentiels comme des acides aminés et des bases. Au contraire, le *Mycobacterium tuberculosis* a un temps de doublement maximal d'environ 18 heures et il lui faut plus de temps que l'*E. coli*, par exemple, pour former des colonies sur l'agar.

### 1.2. Cycle cellulaire bactérien

La séquence d'événements allant de la formation d'une nouvelle cellule à la division cellulaire suivante est appelée cycle cellulaire. Dans ce cycle, un *E. coli* en croissance double en longueur puis se divise en deux cellules de taille égale, chaque cellule contenant au moins une copie de l'ADN bactérien. Par conséquent, pendant ce temps, une copie du chromosome doit être synthétisée et les deux chromosomes se séparent dans les deux cellules filles.

La réplication of ADN se fait durant la phase C (réplication chromosomique) et la ségrégation chromosomique se fait durant la phase G (de latence), de duré variable (Figure 1). La séparation des chromosomes est facilitée par l'attachement de l'ADN à la membrane au

niveau des deux sites adjacents. La croissance membranaire entre les sites déplace les chromosomes aux pôles des cellules. Finalement, un septum se crée entre les deux chromosomes et la cellule se divise en deux (phase D).



**Figure** : Etapes du cycle cellulaire chez les procaryotes

La division cellulaire et la réplication de l'ADN doivent être coordonnées. L'initiation de la réplication d'ADN au niveau de l'origine (*oriC*), courte séquence d'adénine et de thymine, dépend de la masse critique de la cellule (masse d'initiation) et nécessite des facteurs d'initiation protéiques. La séparation de l'ADN et la division sont cependant contrôlées par la longueur de la cellule qui doit atteindre une certaine longueur -seuil avant que les chromosomes se soient séparés et la division initiée.

### 1.3. Croissance rapide

Lorsque les conditions de croissance sont favorables, l'*E. coli* peut croître avec un temps de doublement d'environ 20 minutes. Cependant, le temps nécessaire à la synthèse d'une copie complète du chromosome de l'*E. coli* est de 40 minutes en des conditions optimales et ségrégation de l'ADN et la division prennent 20 minutes, en plus. Donc, le plus court cycle cellulaire et le temps de doublement de l'*E. coli* devraient être de 60 min. Ceci n'est cependant pas le cas. Pour que les cellules se divisent plus vite que toutes les 60 min, la réplication de l'ADN doit commencer pendant un cycle et se termine à un autre. Lorsque les cellules se divisent rapidement (temps de doublement < 60 min).

L'initiation de la réplication se fait normalement, créant deux fourches de réplication qui se déplacent de façon bidirectionnelle le long du chromosome jusqu'au point de terminaison. Cependant, les origines de ces nouveaux brins initient d'autres réplication avant que la réplication précédente de L'ADN ne soit finie (Figure 2). Par conséquent, lorsque la division cellulaire a lieu, l'ADN de la cellule fille s'est déjà répliqué. Plus le temps de croissance est rapide, plus il y a de fourches de réplication formées. L'ADN des cellules neuves peut présenter plusieurs fourches de réplication. La réplication répétée de l'ADN peut se faire en dehors de la division cellulaire, indiquant que le contrôle de ces deux processus n'est pas lié. Ceci s'oppose aux cellules eucaryotes où les processus sont directement connectés.

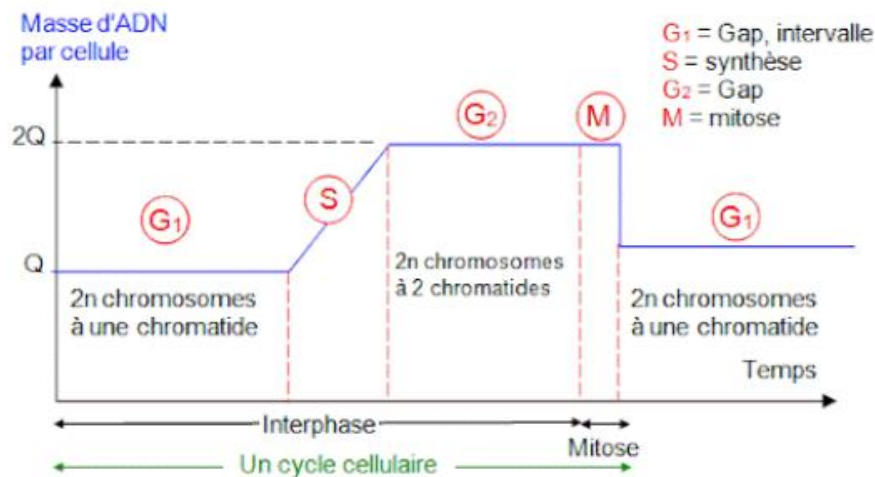
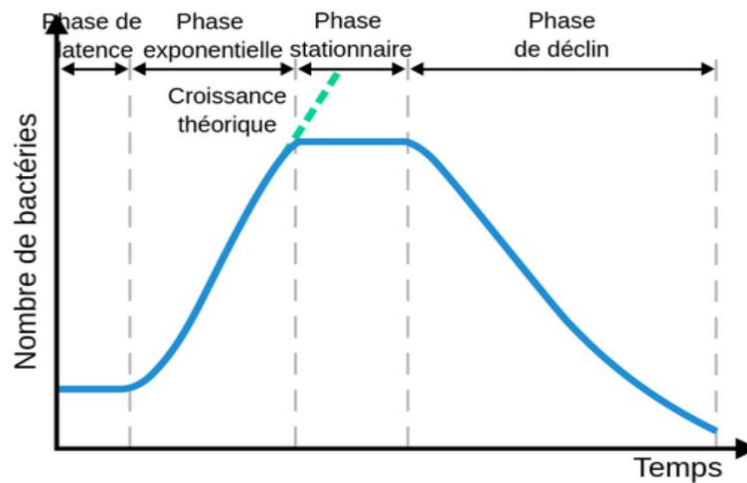


Figure 2 : Coordination entre la synthèse d'ADN et la division cellulaire.

#### I.4. Courbe de croissance bactérienne

La meilleure façon d'obtenir un grand nombre de microbes ou leurs produits naturels est de le cultiver dans un milieu liquide. Normalement, la technique utilisée est appelée *culture en batch* où les bactéries sont inoculées dans des flacons contenant milieu de culture approprié à une température et un degré d'aération corrects. La croissance des bactéries suit un modèle particulier appelé courbe de croissance bactérienne (Figure 3). Le nombre de bactéries vivantes est mesuré en fonction du temps et est reporté sur une courbe  $\log_{10}$  appelée *courbe semi-logarithmique*. Une échelle logarithmique est utilisée pour schématiser la croissance bactérienne en raison du nombre élevé de bactéries et pour montrer la nature exponentielle de la croissance. Si une échelle logarithmique était utilisée pour montrer l'augmentation du nombre de cellules, une courbe avec une pente croissante serait obtenue ; cette courbe se transforme en

une ligne droite sur une échelle logarithmique. Le temps de doublement des bactéries peut être lu directement sur le graphe. La courbe de croissance bactérienne révèle quatre phases de croissance.

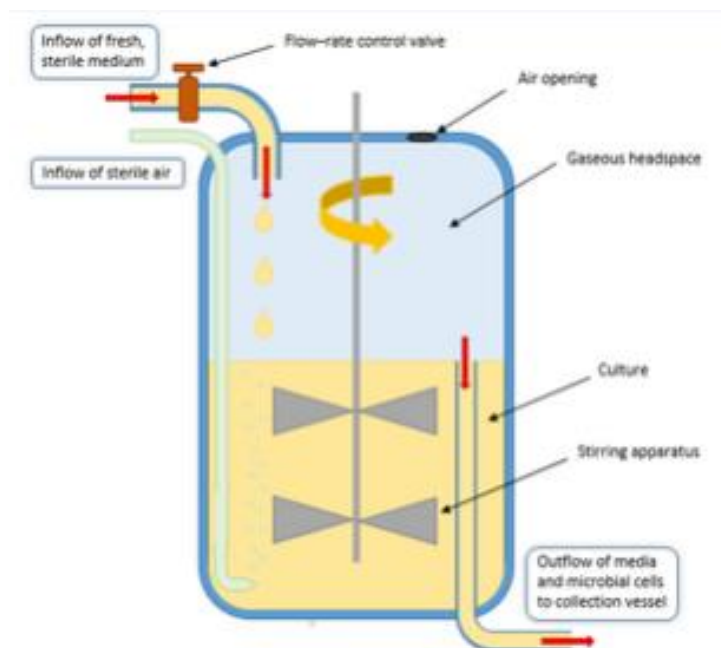


**Figure 3 :** Courbe typique de la croissance bactérienne

- ✚ **Phase de latence** : Lorsque les bactéries sont inoculées dans un milieu, il existe une période pendant laquelle aucune croissance ne se fait. Durant cette phase, les bactéries s'adaptent au nouvel environnement, synthétisent de nouvelles enzymes si besoin et augmentent la taille de la cellule pour se préparer à la division cellulaire. La durée de cette phase dépend de la nature de l'inoculum. S'il provient d'une culture fraîche dans le même milieu, la phase de latence sera courte, mais si l'inoculum est ancien ou le milieu changé (en particulier si on déplace les bactéries d'un milieu riche vers un milieu pauvre) la phase de latence sera longue.
- ✚ **Phase exponentielle (logarithmique)**: une fois la division bactérienne commencée, le nombre augmente à un taux constant, ce qui reflète le temps de doublement de la bactérie. Elle se caractérise par une ligne droite sur le graphe.
- ✚ **Phase stationnaire** : comme les bactéries augmentent en nombre, elles utilisent tous les nutriments disponibles et produisent des produits toxiques. Finalement un niveau où il n'y a pas d'augmentation du nombre des cellules est atteint et se caractérise par un plateau sur la courbe. Durant cette phase d'équilibre, les cellules continuent à fonctionner. Il existe une petite mort cellulaire contrebalancée par un taux faible de division cellulaire.
- ✚ **Phase de mortalité** après un certain temps, le taux de mortalité cellulaire devient plus important que la division cellulaire et le nombre de cellules vivantes chute. Les cellules se lysent et la culture devient moins trouble.

### I.5. Culture continue

Le problème posé par *la culture en batch* est que la croissance cellulaire s'arrête, provoquée par l'épuisement des nutriments ou par l'accumulation de produits toxiques. Si ces problèmes peuvent être évités en remplaçant le milieu utilisé par un neuf, la croissance bactérienne peut être maintenue indéfiniment. Il existe des systèmes de flux, comme le *chémostat*, où un milieu frais est constamment ajouté au flacon de culture et qui est maintenu à volume constant pour un système de surflux qui évacue l'excès de liquide (Figure 4); ainsi les bactéries sont maintenues à la phase exponentielle de leur croissance. Par conséquent, une fois que le système a atteint l'équilibre, le nombre de cellules est maintenu constant et un taux de croissance constant est atteint. Ce taux de croissance peut être modifié en altérant les conditions comme la composition du milieu et le flux. Un avantage majeur de ces systèmes est le maintien de conditions constantes pour les études physiologiques. Ceci est impossible avec les cultures en batch car la croissance des bactéries modifie les conditions environnementales, comme le pH et la concentration en nutriments du milieu.



**Figure 4 :** Schéma simplifié d'un système de culture continue.