

CHAPITRE II:

FACTEURS IPHYSICO-CHIMIQUES NFLUENCANT LA CROISSANCE BACTERIENNE

3. Facteurs chimiques influençant la croissance bactérienne

Plusieurs facteurs chimiques sont indispensables à la croissance microbienne et doivent être présents en grande quantité; ce sont les macromolécules. Le sigle CHOAPS est un bon moyen mnémotechnique pour apprendre le nom de ces éléments : C pour carbone, H pour humidité (eau), O pour oxygène s'il y a lieu, A pour azote, P pour phosphore, S pour soufre.

3.1. Influence de l'oxygène sur la croissance

Etant donné que la vie humaine nécessite la présence d'oxygène moléculaire (O₂), il serait facile de supposer que toutes les formes de vie nécessitent cet oxygène. Néanmoins, de nombreux micro-organismes peuvent vivre sans, ou doivent vivre en absence d'oxygène.

L'oxygène est peu soluble dans l'eau et les activités de respiration des micro-organismes dans les habitats aquatiques ou humides (notamment dans le cas où la matière organique est présente en abondance) épuisent cet oxygène. Ainsi, les habitats microbiens *anoxiques* sont très répandus dans l'environnement, ou se développent de nombreux micro-organismes, notamment des procaryotes.

3.1.1. Classification des micro-organismes vis-à-vis de l'oxygène

Les besoins ou la tolérance vis-à-vis de l'oxygène varient selon le micro-organisme. Ils peuvent ainsi être classés dans plusieurs grands groupes selon leur relation à l'oxygène (Tab. 03 ; Fig. 04). Les aérobies sont capables de croissance à la pression partielle maximale en oxygène (l'air contient 21% d'O₂) et ils respirent l'oxygène au cours de leur métabolisme. De nombreux aérobies tolèrent même des concentrations en oxygène plus élevées que celles dues à la pression normale en oxygène (conditions hyperoxiques). Les microaérophiles, au contraire, sont des aérobies qui utilisent l'oxygène lorsqu'il est présent à des pressions partielles réduites (condition *micro-oxiques*). Ceci est dû au fait que leurs capacités de respiration sont limitées ou bien qu'ils

contiennent des molécules sensibles à l'oxygène telles que certaines enzymes. De nombreux aérobies sont **facultatifs** c'est-à-dire que, selon les conditions du milieu (nutriments notamment), ils pourront se développer en conditions *oxiques* ou *anoxiques*.

Tableau 03: Relation des microorganismes avec l'oxygène

Groupe	Relation à l'O ₂	Type de métabolisme	Exemple	Habitat
Aérobies				
Strictes	Nécessaire	Respiration aérobie	<i>Micrococcus luteus</i> (B)	Peau, poussière
Facultatifs	Non nécessaire mais croissance améliorée	Respiration aérobie ou anaérobie	<i>Escherichia coli</i> (B)	Gros intestin des mammifères
Microaérophiles	Nécessaire à concentration inférieure à l'O ₂ atmosphérique	Respiration aérobie	<i>Spirillum volutans</i> (B)	Lac (eau)
Anaérobies				
Aérotolérants	Non nécessaire et croissance non améliorée	Fermentation	<i>Streptococcus pyogenes</i> (B)	Tractus respiratoire supérieur
Stricts	Toxique, létale	Fermentation ou respiration anaérobie	<i>Methanobacterium formicium</i> (A)	Station d'épuration des eaux usées, sédiments anoxiques

B : Bacteria ; A : Archaea

Certains micro-organismes, les **anaérobies**, ne peuvent pas respirer l'oxygène. Il est possible de distinguer entre les **anaérobies aérotolérants**, qui tolèrent la présence d'oxygène et se développent en sa présence même s'ils ne peuvent pas l'utiliser, et les **anaérobies stricts**, qui sont inhibés ou tués en présence d'oxygène (Tab. 03). Les raisons pour lesquelles les anaérobies stricts sont ainsi détruits pourraient être qu'ils ne peuvent éliminer certains produits toxiques issus du métabolisme de l'oxygène.

L'**anaérobiose strict** ne se rencontre que dans trois groupes de micro-organismes : de nombreux procaryotes, quelques champignons et quelques protozoaires. Le groupe de bactéries anaérobies stricts le plus connu est celui constitué par le genre *Clostridium*, des bacilles anaérobies Gram positif formant des endospores, largement répandus dans les sols, les sédiments dulçaquicoles et les tractus intestinaux, et responsable de la détérioration des produits alimentaires en conserve. Parmi les autres micro-organismes anaérobies stricts, se trouvent les méthanogènes et de nombreuses autres *Archaea*, les bactéries sulfatoréductrices et les homoacétogènes, ainsi que de

nombreuses autres bactéries colonisant le tube digestif des animaux. Néanmoins, parmi les anaérobies stricts la sensibilité à l'oxygène varie énormément. Certaines espèces tolèrent des traces d'oxygène, voire une pression partielle maximale en oxygène, selon les conditions, alors que d'autres non.

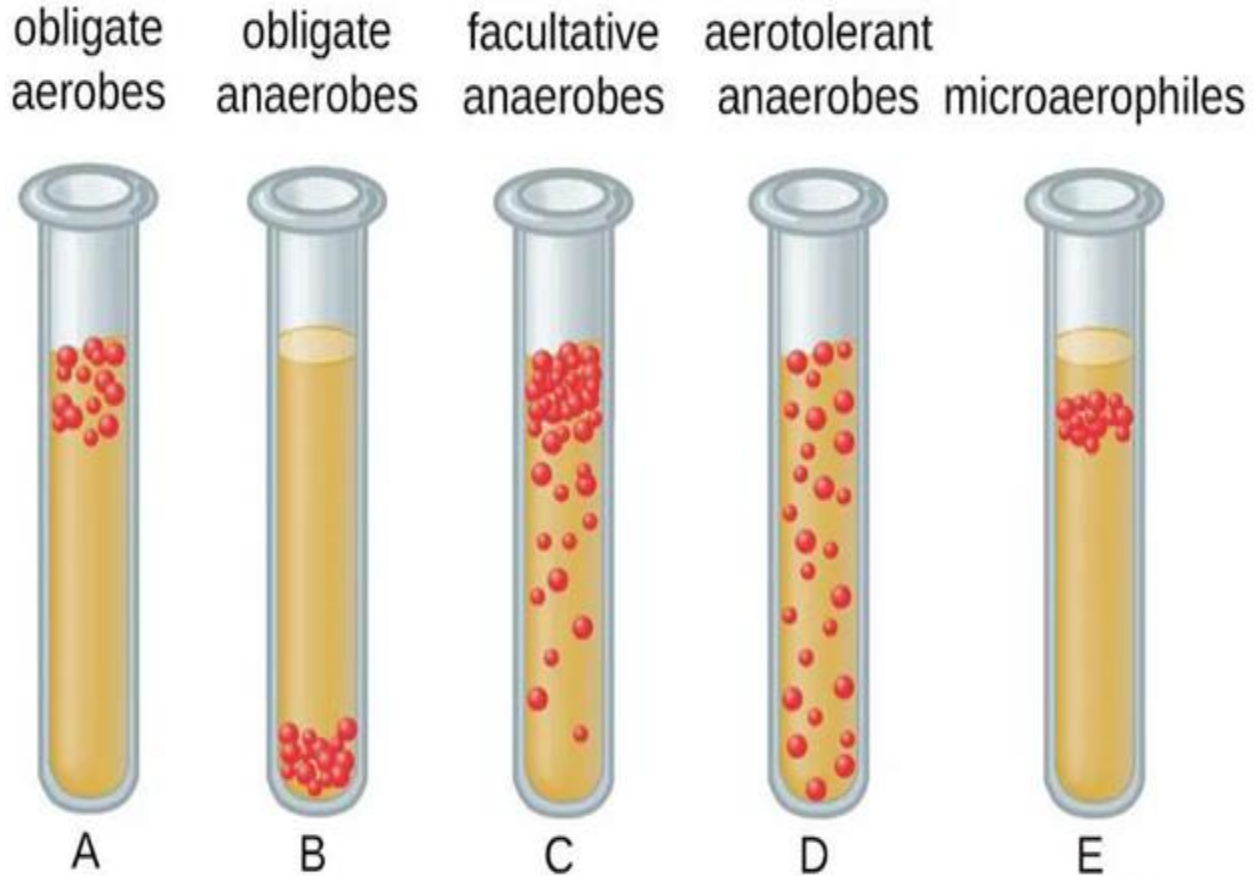


Figure 04: Croissance en fonction de la concentration d'oxygène

3.1.2. Formes toxiques de l'oxygène

L'oxygène est un oxydant puissant et le meilleur accepteur d'électrons lors d'une respiration. Néanmoins il peut constituer un poison pour certains micro-organismes, non en soi, mais par certains *dérivés* qui sont toxiques pour les micro-organismes en question.

3.1.2.1. Chimie de l'oxygène

L'état fondamental de l'oxygène correspond à l'**oxygène triplet** ($^3\text{O}_2$), mais d'autres configurations électroniques sont possibles. L'une des formes les plus toxiques de l'oxygène est

l'**oxygène singulet** ($^1\text{O}_2$) une forme de plus forte énergie où les couches électroniques extérieures sont très réactives et responsables de nombreuses réactions d'oxydation spontanées au sein d'une cellule. L'oxygène singulet est produit par réaction photochimique et biochimique ; notamment du fait de l'activité de peroxydases. Les organismes susceptibles d'être en présence d'oxygène singulet, tels que les micro-organismes de l'air et les organismes photosynthétiques contiennent souvent des pigments caroténoïdes qui interviennent pour transformer l'oxygène singulet en forme non toxique.

D'autres formes très toxiques de l'oxygène sont l'**anion superoxyde** (O_2^-), le **peroxyde d'hydrogène** (H_2O_2) et le **radical hydroxyle** ($\text{OH}\cdot$). Toutes ces formes sont des sous-produits de la réduction de l' O_2 en H_2O au cours de la respiration (Fig. 05). Les flavoprotéines, les quinones, les thiols et les protéines fer-soufre qui se trouvent dans pratiquement toutes les cellules peuvent également réduire l' O_2 en O_2^- . Ainsi, qu'elles soient capables ou non d'utiliser l'oxygène (Tab. 02), presque toutes les cellules peuvent être exposées à certaines de ces formes toxiques.

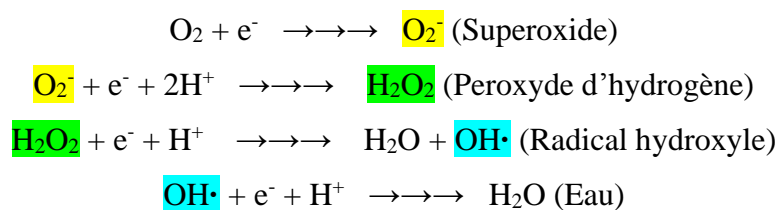


Figure 05: Réactions successives de réduction de l'oxygène en H_2O par addition d'électrons.

L'anion superoxyde est un oxydant puissant qui peut pratiquement oxyder n'importe quelle molécule organique dans une cellule, y compris les macromolécules. Les peroxydes tels que le H_2O_2 peuvent également causer des dégâts mais sont moins toxiques que les superoxydes ou le radical hydroxyle. Ce dernier est le plus réactif et peut oxyder rapidement n'importe quelle molécule organique. Néanmoins, le radical hydroxyle ne constitue qu'une forme éphémère dans la cellule, car sa source majeure provient des radiations ionisantes auxquelles les cellules sont rarement exposées. De petite quantité de radical hydroxyle peuvent être produites à partir de H_2O_2 (Fig. 05), mais le peroxyde pouvant être éliminé par l'activité de la catalase, cette source de radical hydroxyle est pratiquement éliminée. Des formes toxiques de l'oxygène peuvent être produites par les cellules du système immunitaire pour lutter contre une infection microbienne.

3.1.2.2. Enzymes destructrices des formes toxiques de l'oxygène

Etant donné la gamme de dérivés toxiques de l'oxygène, les organismes ont développés des enzymes capables de détruire ces composés (Fig. 06). La plus répandue de ces enzymes est la **catalase**, qui dégrade le peroxyde d'hydrogène. L'activité de cette enzyme est illustrée dans les figures 06a et 07. La peroxydase dégrade également le peroxyde d'hydrogène, mais son activité est différente (Fig. 06b) puisqu'elle nécessite la présence d'un réducteur, souvent le NADH, pour produire de l'H₂O. la superoxyde dismutase dégrade l'ion superoxyde (Fig. 06c) en combinant deux molécules de superoxyde pour former une molécule de peroxyde d'hydrogène et une molécule d'oxygène. Les deux enzymes superoxyde dismutase et catalase fonctionnent ensemble pour former de l'oxygène à partir de l'anion superoxyde (Fig. 06d).

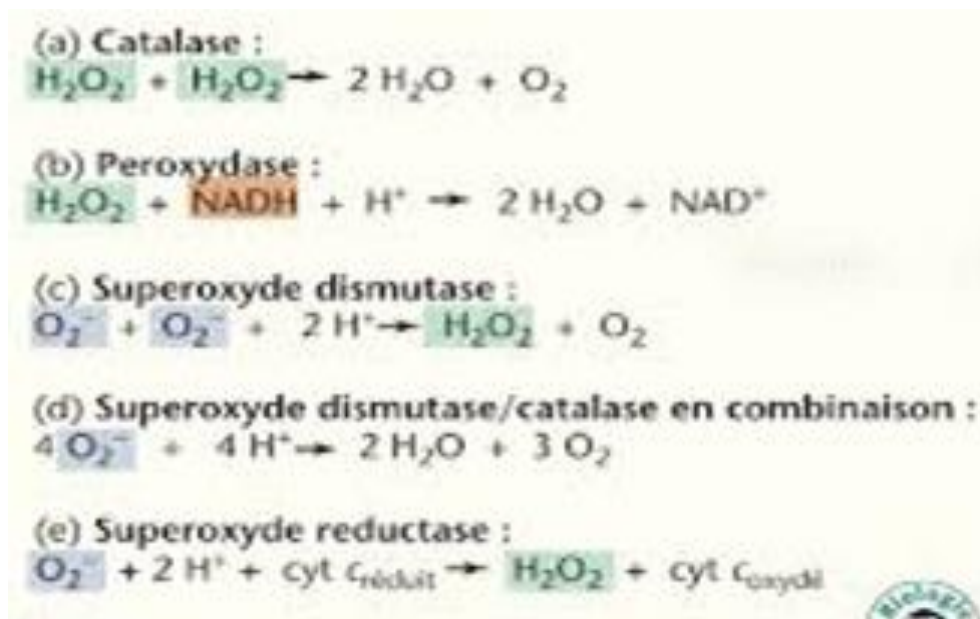


Figure 06: Enzymes responsables de la dégradation des composés toxiques de l'oxygène.



Figure 07 : test de la présence de la catalase dans une culture microbienne

Les aérobies et les anaérobies possèdent d'habitude à la fois la superoxyde dismutase et la catalase, bien que certains aérobies stricts ne possèdent pas cette dernière. La superoxyde dismutase est indispensable pour les cellules aérobies. Son absence chez les anaérobies a longtemps été considérée comme la raison de la toxicité de l'oxygène pour ces organismes. Certains anaérobies aérotolérants tels que les bactéries lactiques ne possèdent pas la superoxyde dismutase et utilisent des complexes protéines-manganèse (Mn^{2+}) pour effectuer la transformation de l'anion superoxyde en H_2O_2 et O_2 . Ce type de réaction correspond sans doute à une forme ancienne d'activité superoxyde dismutase. De fait, toutes les superoxydes dismutases connues contiennent un cofacteur métallique au niveau de leur site actif, souvent du Mn^{2+} , mais également du Fe^{2+} , ou la combinaison Ca^{2+} et Zn^{2+} .

Une autre voie d'élimination de l'anion superoxyde est présente chez certains procaryotes anaérobies stricts. Chez l'Archaea *Pyrococcus furiosus*, la superoxyde dismutase est absente mais une autre enzyme unique responsable de l'élimination de superoxyde est présente, la **superoxyde réductase**. Cette enzyme réduit le superoxyde en H_2O_2 sans production de l' O_2 (Fig. 06d), ce qui évite l'exposition à l'oxygène chez cet organisme. *P. furiosus* ne possède pas de catalase, une enzyme qui génère également de l' O_2 (Fig. 06a).

Chez *P. furiosus*, le H_2O_2 produit par la superoxyde réductase est éliminé par l'activité d'enzyme de type peroxydase, dont le produit final est l' H_2O (Fig. 06b).

De nombreux organismes hyperthermophiles anaérobies stricts tolèrent l'oxygène à des températures basses. Même s'il n'y a pas de croissance dans ces conditions, la superoxyde réductase semble les protéger de la mort. Cette tolérance à l'oxygène pourrait jouer un rôle important dans le transfert de ces organismes depuis une source hydrothermale profonde à une autre.

3.2. Influence du carbone sur la croissance

Le carbone est, avec l'eau, l'une des substances indispensables à la croissance bactérienne. Il constitue le squelette structural de la matière vivante ; tous les composés organiques présents dans une cellule vivante contiennent du carbone. En fait, la moitié de la biomasse sèche d'une cellule bactérienne typique est composée de carbone. On distingue les micro-organismes selon la nature de la source de carbone qu'ils utilisent. Les chimiohétérotrophes tirent la plus grande partie

du carbone dont ils ont besoin de leur source d'énergie chimique, soit de substances organiques telles que les protéines, les glucides et les lipides. Les chimioautotrophes et les photoautotrophes tirent le carbone dont ils ont besoin du dioxyde de carbone (CO₂).

3.3. Influence d'Azote, soufre et phosphate sur la croissance

Les microorganismes ont besoin d'éléments autres que le carbone pour synthétiser la matière cellulaire. Par exemple, la synthèse des protéines requiert des quantités considérables d'azote, de même que du soufre. La synthèse des acides nucléiques – ADN et ARN – nécessite également de l'azote et du phosphore, et il en est de même de la synthèse de l'ATP, molécule qui joue un rôle crucial dans l'entreposage et le transfert de l'énergie chimique au sein de la cellule. L'azote représente environ 14% de la biomasse sèche d'une cellule bactérienne, tandis que le soufre et le phosphore constituent à eux deux près de 4% de cette biomasse.

Les organismes utilisant l'azote surtout pour former le groupement amine des acides aminés des 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⁺), qui sont des composés déjà réduits, présents en règle générale dans la matière cellulaire organique. Enfin, il existe aussi des bactéries capables de tirer de l'azote des nitrates (composés qui libèrent des ions nitrate, NO₃⁻, en se dissolvant).

Des bactéries importantes, y compris de nombreuses cyanobactéries phototrophes, utilisent directement le diazote (N₂) atmosphérique. Ce processus s'appelle **fixation de l'azote**. Certains des organismes capables de fixer l'azote vivent à l'état libre, le plus souvent dans le sol, mais d'autres vivent en symbiose avec les parties souterraines de légumineuses, telles que le trèfle, le soja, la luzerne, les haricots et les pois. L'azote fixé en symbiose est utilisé à la fois par la plante et par la bactérie.

Le soufre sert à synthétiser les acides aminés renferment du soufre et des vitamines, telles que la thiamine et la biotine. L'ion sulfate (SO₄²⁻), le sulfure d'hydrogène et les acides aminés renferment du soufre comptent parmi les principales sources naturelles de soufre.

Le phosphore est essentiel à la synthèse des acides nucléiques et des phospholipides (ou phosphoglycérolipides) de la membrane cytoplasmique, et il intervient aussi dans les liaisons

phosphate de l'ATP. L'ion phosphate (PO_4^{3-}) est une source majeure de phosphore. Le potassium, le magnésium et le calcium comptent au nombre des autres éléments dont les microorganismes ont besoin, souvent en tant que cofacteurs des enzymes.

3.4. Influence des oligoéléments sur la croissance

Les microbes ont besoin de très petites quantités de divers autres minéraux tels que le fer, le cuivre, le molybdène et le zinc ; on les appelle **oligoéléments**. La majorité des oligoéléments sont essentiels au bon fonctionnement de certaines enzymes, le plus souvent en tant que cofacteurs. Bien qu'en laboratoire on ajoute parfois des oligoéléments au milieu de culture, on suppose habituellement qu'ils sont présents dans l'eau du robinet et d'autres constituants naturels des milieux de culture. Même si la plupart des eaux distillées contiennent des quantités appropriées d'oligoéléments, on exige parfois l'utilisation de l'eau du robinet de façon à garantir que ces oligoéléments soient présents dans le milieu de culture.

3.5. Facteurs organiques de croissance

Les composés organiques dont un organisme a besoin mais qu'il est incapable de synthétiser s'appellent **facteurs organiques de croissance** ; ils doivent être tirés directement du milieu. Les vitamines consistent un groupe de facteurs organiques de croissance pour les humains. La majorité des vitamines jouent le rôle de coenzyme ne peuvent remplir leur fonction. De nombreuses bactéries synthétisent leurs propres vitamines ; elles ne dépendent donc pas de sources extérieures. Par contre, d'autres bactéries ne possèdent pas les enzymes nécessaires à la synthèse de certaines vitamines, si bien que ces vitamines sont pour elles des facteurs organiques de croissance requis par quelques bactéries, citons les acides aminés, les purines et les pyrimidines.