

République Algérienne Démocratique et populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la recherche Scientifique
Université Dr Moulay Tahar



Faculté des sciences département de biologie

MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Option : microbiologie appliquée

THEME

**Influence de son audible de la lumière visible sur
la croissance bactérienne**

Présentées par : Lardjane Saadia

Encadreur : Mr Ammam .K

El Balghiti Mériama

Devant le jury composé de :

Dr Adli djallel Eddline

Dr Moulay .Aïcha

Soutenu le :

MCB université Saida

MCB INRF Saida

Année universitaire 2016/2017

Dédicace

Tout d'abord je béni mon dieu chaque jour de ma vie de m'avoir donné la chance d'étudier et réussir :

Je dédie ce modeste travail:

A mon ma mère qui grâce à lui je suis arrivé à franchir toutes les étapes les plus importantes de ma vie.

A la bougie qui a éclairé mon chemin depuis ma naissance, à celle don j'ai prononcé le premier mot, source de ma vie et de mon bonheur, à ma mère que Dieu la protège

A toute ma grande famille.

A ma grands sœur que j'aime énormément

Tous mes amis et tous mes collègues du travail

A tous ceux que je connais et j'ai oublié de mentionner

➤ *Toute ma famille **El Balghiti** .*

Dédicace

Tout d`abord je bénis mon dieu chaque jour de ma vie de m`avoir donné la chance d`étudier et réussir :

Je dédie ce modeste travail:

A mon ma mère qui grâce à lui je suis arrivé à franchir toutes les étapes les plus importantes de ma vie.

A la bougie qui a éclairé mon chemin depuis ma naissance, à celle don j'ai prononcé le premier mot, source de ma vie et de mon bonheur, à ma mère que Dieu la protège

A toute ma grande famille.

A ma grands sœur Khaldia que j'aime énormément

Tous mes amis et tous mes collègues du travail

A tous ceux que je connais et j'ai oublié de mentionner

➤ *Toute ma famille Lardjane.*

REMERCIEMENT

Tout d'abord, nous remercions Dieu le tout puissant qui nous a donné la foi, qui nous a guidés durant toute notre vie et qui nous a donné la volonté de continuer nos études.

Au début, il est très agréable d'exprimer nos reconnaissances à tous ceux qui nous ont aidés scientifiquement, matériellement et moralement à réaliser ce travail.

Nous exprimons aussi notre gratitude, la plus profonde à Monsieur Ammam Abdelkader qui a bien voulu nous confier ce sujet, et qui a assuré l'encadrement de ce travail. Nous lui reconnaissons son entière disponibilité, son aide inestimable et

Ses conseils sans lesquels ce travail n'aurait pu aboutir.

Tous particulièrement, nous adressons notre remerciement à Dr MOULLA, Aicha présidente de jury, les examinateurs Dr adli djallel EDDLME, d'avoir accepté de juger et inspiré le sujet.

Nous adressons notre remerciement aux responsables de laboratoire central de l'université d'Ain hjar

Nous remercions sincèrement notre professeur le responsable de la filière

Mr : Berrequeg . Mokhtar

MERCI...

Table de matière

Liste des abréviations

Listes des figures

Liste des tableaux

Synthèse de bibliographie

Introduction	01
Chapitre 1 : Généralité sur la multiplication bactérienne.....	02
1. La multiplication bactérienne	02
1.1 définition de la multiplication bactérienne.....	02
1.2 définitions des bactéries.....	02
1.3 La structure des bactéries.....	02
1.4 Différences entre bactéries à Gram positif et à Gram négatif.....	03
1.4.1 chez la bactérie a gram positif.....	03
1.4.2 chez la bactérie a gram négatif.....	03
1.5 description de la cinétique de croissance microbiennes	04/05
1.6. Les facteurs influence de la croissance bactérienne	04 /05
1.6.1 Facteurs microbiologiques.....	05
1.6.2 Facteurs environnementaux.....	05
1.6 Les souches bactériennes étudiées.....	06
1.6.1 Descriptions des souches.....	06
1.6.1.1 <i>E. coli</i>	06
1.6.1.2 <i>Pseudomonas aerogenosa</i>	07
1.6.1.3 <i>Staphylococcus aureus</i>	08
1.6.1.4 <i>Streptococcus pyogènes</i>	09
2. la lumière	10
2.1 Qu'est ce que la lumière ?.....	10
2.2 L'effet de la lumière.....	11

3. Le son.....	12
3.1 Qu'est ce que le son ?.....	12
3.2 Caractéristique du son.....	12/13
3.3 l'effet du son.....	14
Chapitre 2 : Méthodologie de la pratique	15
1. Matériel et méthodes	15
1.1 Lieu d'étude	15
1.2 Matériel utilisé	15
1.2.1 Matériel biologique	15
1.2.2 Matériel de laboratoire.....	16
1.2.3 Milieu de culture	16
1.2.3.1 Dissolution.....	17
1.2.3.2 Stérilisation	17
2. Méthodologie.....	19
2.1 Technique d'ensemencement.....	19
2.1.1 Etapes d'ensemencement.....	19/20/21/22
3. Etapes de la réalisation de la coloration.....	23
3.1 Analyser la coloration.....	24
4. Résultat	25
4.1 Résultats de la coloration de gram des colonies obtenue d'E.coli avec son et sans son..	26
4.1.1 Observation microscopique d'éclis ensemencé sans son.....	26/27
4.1.2 Observation microscopique d'E.coli ensemencé avec son.....	26/27
4.2 Tableaux présentent l'influence de la lumière sur la croissance bactérienne.....	28
4.2.1 L'effet de la lumière sur la souche <u>E.coli</u>	28
4.2.2 L'effet de la lumière sur la souche <u>Streptococcus.pyogenèse</u>	29
4.2.3 L'effet de la lumière sur la souche <u>Staphylococcus.aureus</u>	30

4.2.4	L'effet de la lumière sur la souche <u>Pseudomonas.fluorescent</u>	31
4.3	Tableaux présentent l'influence du son sur la croissance bactérienne.....	32
4.3.1	l'effet du son sur la souche E.coli.....	32
4.3.2	l'effet du son sur la souche <u>Streptococcus.pyogenèse</u>	33
4.3.3	l'effet du son sur la souche <u>Pseudomonas.aérogénosa</u>	34
4.3.4	l'effet du son su la souche <u>Staphylococcus.aureus</u>	35
5.	Discussion des résultats obtenue	36
	Référence bibliographie.....	37
	Annexes.....	38

Liste des abréviations :

s.aureus : *Staphylococcus aureus*

P.a : *Pseudomonas aerogenosa*

E. coli : *Escherichia coli*

St. : *Streptococcus pyogènes*

Ufc : unité formant colonie

Cv : cristal violet

AAF : aérobie-anaérobie facultatif

TSA : trypticase-caséine-soja

LDC : lysine décarboxylase

ODC : ornithine décarboxylase

GLU : glucuronidase

EPI : équipements de protection individuelle

FMAR : (flore mésophile aérobie revivifiable)

GNO : gélose nutritive ordinaire (GNO)

ATCC: (American type culture collection)

Liste des figures :

Figure 01 : représentation schématique montrant les différentes structure bactérienne.

Figure 02 : principaux groupes des bactéries utilisées dans cette étude.

Figure 03 : présente la différence sur la paroi des bactéries a gram + et a gram –.

Figure 04 : courbe de croissance.

Figure05 : photo de bactérie *E. coli*.

Figure 06 : photo bactérie *Pseudomonas aerogenosa*.

Figure 07 : photo de bactérie Staphylocoque.

Figure 08: photo de bactérie streptocoque.

Figure 09 : couler les boites de pétri par les milieux culture .

Figure 10 : Ecrire la date et identifiant de souche.

Figure 11 : déposer le point de l'anse la point initial.

Figure12 : tourner la boite.

Figure 13 : étape d'incubation avec son.

Figure 14 : étape d'incubation avec lumière.

Figure 15 : microscope optique utilisé.

Figure 16: photo exprime une boite pétrie ensemencé par *E. coli* incubé sans son.

Figure 17: photo exprime le changement observable dans la boite de pétri ensemencé par *E. coli* exposé au son pendant la durée d'incubation.

Figure 18 : observation microscopique d'*E. Coli* de forme bacille a G- .

Figure 19 : observation microscopique d'*E. Coli* de forme cocci a G- .

Liste des tableaux

Tableau 01 : résultat de coloration de gram

Tableau 02 : l'effet de la lumière sur la souche *E. coli*

Tableau 03 : l'effet de la lumière sur *Streptococcus.pyogenèse*

Tableau 04 : l'effet de la lumière sur *Staphylococcus.aureus*

Tableau 05:l'effet de la lumière sur *Pseudomonas.fluorescent*

Tableau 06 : l'effet du son sur *E. coli*

Tableau 07 : l'effet du son sur *Streptococcus.pyogenèse*

Tableau 08 : l'effet du son sur *Pseudomonas.aerogenosa*

Tableau 09 : l'effet du son sur *Staphylococcus.aureus*

Liste des annexes

Annexe 1 : milieux de culture

Annexe 02: Réactifs de la coloration de Gram

Résumé

Une bactérie est un être unicellulaire, procaryote de petite taille, de morphologie variable, se multiplie par fission binaire, le but de cette étude est de tester l'influence du son et de la lumière sur la multiplication des bactéries : *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, streptocoque, *Staphylococcus aureus* en conditions suivantes : présence de son audible pendant 24 heures période correspondante à la croissance, et la deuxième partie présence de la lumière (faisceau lumineux) visible. Après incubation on a fait la lecture des résultats et on a basé sur deux méthodes : méthode de dénombrement, et de coloration de gram. Dans la coloration de gram d'*E. coli* on a observé un changement de la forme et dans la 2ème méthode on effectue un comptage de nombre de colonies. Alors la plupart des bactéries étudiées sont sensibles aux phénomènes physiques (le son, la lumière).

Mots clés : *Escherichia coli* (*E. coli*), *Staphylococcus aureus*, (*S. aureus*), *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), *Streptococcus pyogenes*, son audible, lumière visible.

Abstract

The purpose of this study is to test the influence of sound and light on the multiplication of bacteria: *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus*, *Staphylococcus aureus* in the following condition: presence of audible sound for 24 hours corresponding to growth, and second part presence of light (visible light beam). After incubation, the results were read and based on two methods: enumeration method, and gram staining. In the gram staining of *E. coli* a change of form was observed and in the second method a number of colonies were counted. Then most of the bacteria studied are sensitive to physical phenomena (sound, light).

Key words:

Escherichia coli (*E. coli*), *Staphylococcus aureus*, (*S. aureus*), *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), *Streptococcus pyogenes*, its audible, visible light.

البكتيريا هي وحيدة الخلية، صغيرة التشكل متغير في بدايات النواة، والضرب من قبل fusion ثنائي، والهدف من هذه الدراسة هو اختبار تأثير

الصوت والضوء على تكاثر البكتيريا: كولاى، الزائفة الزنجارية، العقدية، المكورات العنقودية الذهبية الشروط التالية:
24 () مرئية. بعد ذلك حضانة قراءة النتائج واستند على طريقتين: طريقة

العد، وتلطبخ غرام. E تلوخ. لوحظ القولونية تغيير في شكل وطريقة ND2 يجري عددا عد المستعمرات. في حين أن معظم البكتيريا

المدرسة حساسة للظواهر المادية ().

: القولونية، الزائفة الزنجارية، العقدية، المكورات العنقودية، العقدية المقيحة ,

Introduction

Les bactéries sont des organismes unicellulaires microscopiques, se multiplie par fusion binaire, la bactérie grandit puis se divise en deux cellules filles. Augmentation du nombre de bactérie dans des conditions favorables de croissance (source de carbone, source énergie, source azote, et besoins en soufre, besoins inorganique et autres éléments mais s'il ya une condition défavorable (effet la température, oxygène, le PH, la pression osmotique, L'eau Libre),influe sur la multiplication bactérienne Ce travail est basé sur l'étude de la multiplication des bactérie en présence de 2 facteurs (limitant /favorisants) la croissance des bactéries a savoir le son et la lumière ; tout en essayant de répondre a la question suivante : ya- il une influence de son et la lumière sur la croissance bactrienne ? Note démarche méthodologique est la suivante : 1- ensemencement des souches bactérienne (Gr + et Gr -) en présence et en absence du son 2- ensemencement des souches bactérienne (Gr + et Gr -) en présence et en absence du lumière 3- dénombrement des colonies dans les différents ensemencements 4- comparer le nombre, la forme, la couleur, la taille, des colonies dans tous les ensemencements.

Est-que il ya une influence du son audible et de la lumière sur la croissance bactrienne ?

Note travail est divise en trois parties :

1-Ensemencement des souches dans leurs milieux sélectifs.

2-Comptage du nombre de colonies (dénombrement des colonies).

3-Comparaison du nombre des colonies obtenue de chaque souche (étuvé sans son ni Lumière ; étuvé avec son ; étuvé avec lumière) .

Chapitre 1 : Généralité sur la multiplication de bactérie.

1-La multiplication bactérienne

1.1 Définition la multiplication bactérienne

Chez les organismes pluricellulaires, la croissance se manifeste par l'augmentation de taille ou de masse.

Chez les microorganismes unicellulaires, elle se manifeste par l'augmentation du nombre (multiplication suite à des divisions binaires).

Lorsqu'une cellule bactérienne est placée dans un milieu de culture convenable, elle va assurer ses biosynthèses, augmente de taille puis se divise, par fission binaire, en deux cellules filles séparées par un septum de division formé par la paroi cellulaire.

1.2 Définition des bactéries :

Sont des microorganismes unicellulaires procaryotes .Elle à une taille de l'ordre du micromètre (micro m) comprise entre 200nm (nano bactéries) et 1mm (bactéries géantes).

On distingue trois formes de bactérie :

- Sphérique

- Cylindrique /en forme de bâtonnet

- Incurvée ou en spirale

1.3 Structure des bactéries

Chez toutes les espèces bactérienne (cf.figure1-F), il ya des éléments communs et constants (paroi bactériennes, membrane cytoplasmique, cytoplasme et génome) et élément facultatifs que nous retrouvons chez certains espèce (plasmide, capsule, flagelle et pili) Chacun de ces éléments a un rôle particulier dans la vie de la cellule

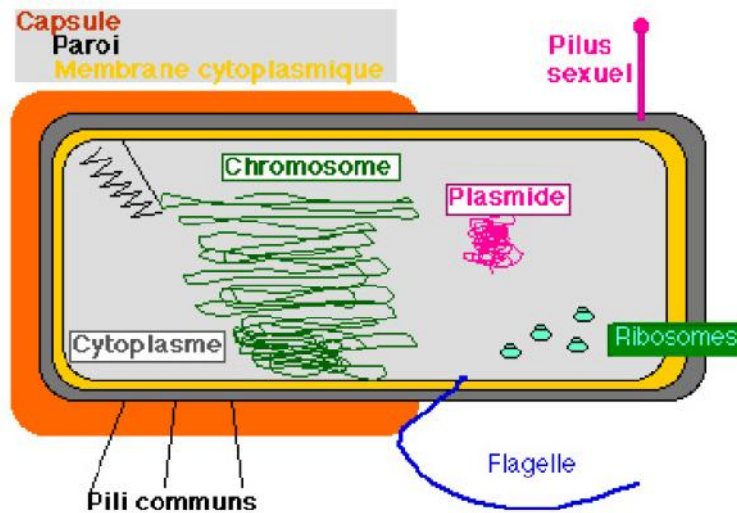


Figure 1 : Représentation schématique montrant les différentes structures bactériennes

1.4. Différences entre bactéries à Gram positif et à Gram négatif

1.4.1 Chez les bactéries à Gram positif.

Il y a de nombreuses couches de peptidoglycane qui représentent jusqu'à 90 % des constituants de la paroi bactérienne. Celle-ci contient aussi un feutrage (10 à 50 % du poids sec de la paroi) d'acides teichoïques (polymères du glycérol ou du ribitol phosphate) associés étroitement au peptidoglycane et faisant parfois saillie à la surface de la bactérie. Certains, les acides lipoteichoïques, sont placés transversalement.

Et s'enfoncent jusqu'à la membrane cytoplasmique. En général il n'y a pas ou peu de protéines dans la paroi des bactéries à Gram positif. Parmi les exceptions, notons la protéine A de *Staphylococcus aureus* (cf. chapitre « Staphylocoques » page 29).

1.4.2 Chez les bactéries à Gram négatif.

Il n'y a qu'une seule ou au plus deux couches de peptidoglycane qui ne représente que 5 à 20 % des constituants de la paroi bactérienne.

Mais 3 polymères situés en dehors du peptidoglycane viennent compléter la paroi : des lipoprotéines, une « membrane externe » qui contient du lipopolysaccharide.

Les lipoprotéines sont le lien entre le peptidoglycane et la « membrane externe » : le composant protéine est un polymère de 15 acides aminés qui forme une liaison peptidique avec le tétra peptide des chaînes latérales du peptidoglycane ; le composant lipide est relié à la « Membrane externe ».

La « membrane externe » est constituée d'une double couche de phospholipides dans laquelle tout ou partie des phospholipides de la couche la plus externe sont remplacés par des molécules de lipopolysaccharide.

Au sein de cette « membrane externe », qui est une mosaïque fluide, se trouvent associés au moins deux types de protéines spécifiques : certaines sont dites protéines de structure car elles consolident la membrane externe (exemple : OMP-A) ; d'autres, appelées « porines » permettent le passage des petites molécules hydrophiles et en particulier, sur le plan médical, des antibiotiques (β -lactamines, tétracyclines, quinolones...).

Sur le plan immunologique, le lipopolysaccharide constitue l'antigène O des bactéries à Gram négatif. Le LPS est un lipide complexe au quel est attaché un polysaccharide qui est responsable de la spécificité antigénique de l'antigène O. Sur le plan physiopathologique, le LPS, extrêmement toxique, représente l'endotoxine des bactéries à Gram négatif.

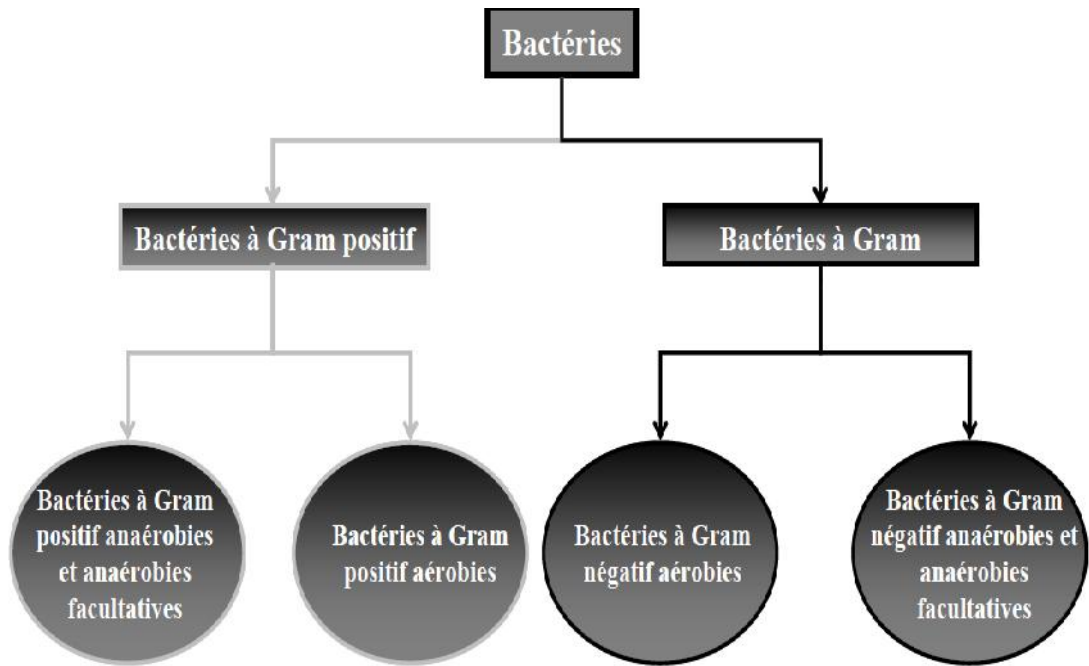


Figure 2: Principaux groupes bactériennes suivis dans cette étude.

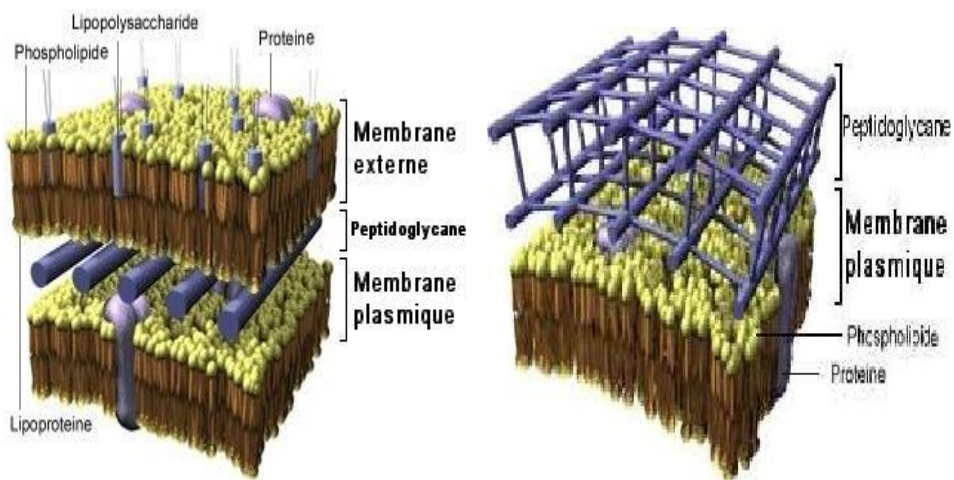


Figure 3 présente la différence sur la paroi des bactéries a gram + et celles a gram -

1.4 Description de la cinétique de croissance microbienne

Courbe de croissance bactérienne Lorsqu'un milieu nutritif estensemencé avec des bactéries, une courbe de croissance peut être établie en fonction du temps. Cette courbe comporte six phases (Figure 1) (Baudry et Brezellec, 2006):

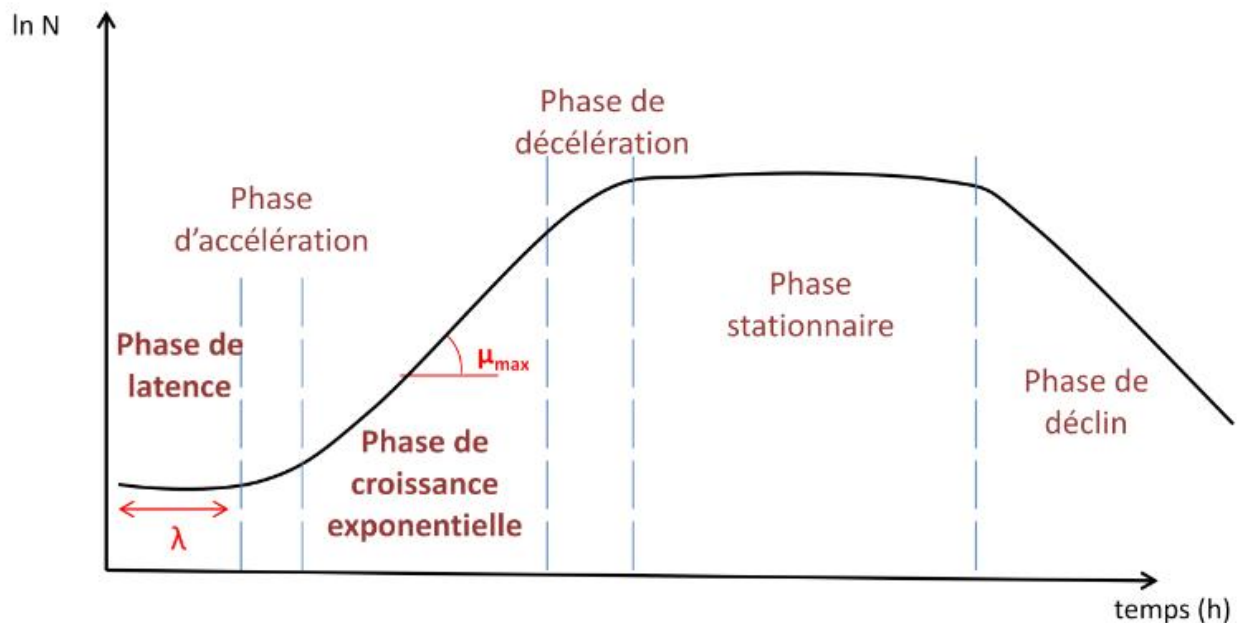


Figure 02: Courbe de croissance bactérienne en fonction du temps

- Phase de latence: Cette phase correspond à la durée d'adaptation des bactéries au milieu: durant cette période les bactéries ne se multiplient pas, elles préparent leur mécanique cellulaire en synthétisant des molécules spécifiques (enzymes, molécules de lutte contre le stress osmotique, etc.) afin de s'adapter au milieu. La durée de la phase de latence(λ) dépend de l'histoire des cellules et de la composition du milieu (Prescott et al. 2010).
- Phase d'accélération: Pendant cette phase, les premières bactéries commencent à se Diviser.
- Phase de croissance exponentielle: Pendant cette phase, les bactéries se multiplient à une vitesse de croissance maximale. Deux paramètres peuvent être calculés afin de caractériser le développement de la population : la vitesse spécifique de croissance maximale (μ_{max}) et le temps de génération (G) de la population (Leyral et Vierling, 2007).- μ_{max} correspond à l'accroissement maximal de la population bactérienne par unité

de temps. Il représente la pente de la courbe $X = \ln(N(t))$ en fonction du temps et peut varier en fonction de la nature du milieu, de la température, du pH, etc. ; -G correspond au temps écoulé entre deux divisions cellulaires (Δt).

- Phase de décélération: durant cette phase, la vitesse de croissance régresse notamment à cause de l'encombrement stérique, de l'épuisement des ressources nutritionnelles du milieu de culture et/ou de l'accumulation de déchets produits par les bactéries (**Prescott et al. 2010**).

- Phase stationnaire: pendant cette phase, le taux de croissance devient nul ($\mu = 0$). Les bactéries qui se multiplient remplacent celles qui meurent (**Leyral et Vierling, 2007**)

- Phase de déclin: Cette phase traduit la décroissance de la population bactérienne Consécutives à la lyse des cellules bactériennes: le taux de croissance devient négatif ($\mu < 0$).

1.6. Les facteurs influence de la croissance bactérienne :

1.6.1 Facteurs microbiologiques

Les hydrocarbures à faibles poids moléculaires sont considérés comme des composés

Toxiques pour les microorganismes à cause de leur grande solubilité et par conséquent leur Concentration très élevée dans les phases aqueuses (**COLIN, 2000**).

L'action toxique du polluant peut provoquer un ralentissement de l'activité de la Microflore du sol (**VOGEL et BALLERINI, 2001**).

Dans un habitat bien défini, il est reconnu que les différentes communautés Microbiennes autochtones ont eu la possibilité de développer des interactions :

➤ Positives : le concept de commensalisme implique l'action normale d'une population Qui modifie l'environnement de telle façon que ces modifications permettent le développement d'une espèce (**VOGEL et BALLERINI, 2001**).

➤ Négatives : parmi ces interactions, le phénomène dénommé amensalisme ou « antagonisme » qui implique la production par une espèce donnée de métabolites

Inhibiteurs pour d'autre population qui ne pourront ainsi venir coloniser l'habitat (**VOGEL et BALLERINI, 2001**).

1.6.2. Facteurs environnementaux

a. Influence de la température

La température est un paramètre pouvant influencer la biodégradation du pétrole en modifiant son état physique, sa composition chimique, l'activité physiologique des Microorganismes et par conséquent la vitesse de dégradation des hydrocarbures, ainsi que la Nature et la concentration des espèces microbiennes présentes (**LEAHY et COLWELL, 1990**).

Une diminution de la température est généralement accompagnée par une diminution

De la vitesse de biodégradation qui peut être expliquée par une décroissance de l'activité Enzymatique. Des températures plus élevées ont pour effet d'augmenter la vitesse de Biodégradation (**WALWORTH et al. 2001**).

Le maximum de l'activité métabolique des microorganismes est généralement observé à une température comprise entre 30 et 40 °C. Au delà de la température optimale décroissance et de biodégradation on assiste à une augmentation de la toxicité des hydrocarbures et une diminution de l'activité métabolique (**BOSSARD et BARTHA, 1984**). **RÖLING et al., (2003)** mentionnent une inhibition totale de la biodégradation au de là De 80-90°C malgré l'isolement de bactéries thermophiles.

b. Influence de l'oxygène.

L'étape initiale du catabolisme des hydrocarbures par les bactéries et les champignons Inclut l'oxydation de ces substrats par l'intermédiaire d'hydroxylases et d'oxygénases, pour Les quelles l'oxygène moléculaire est indispensable. Les conditions aérobies sont, nécessaires Pour cette voie d'oxydation microbienne des hydrocarbures dans l'environnement (**LEAHY et COLWELL, 1990**).Ella concentration en oxygène a été identifiée comme une variable limitante de la vitesse de la biodégradation du pétrole dans les sols, **MARIN et al. (1996)**, ont constaté une augmentation de la dégradation des hydrocarbures totaux de 10 % par la bactérie *Acinetobactercalcoaceticus*, après un apport supplémentaire d'oxygène par agitation.

Théoriquement, 3,5 g d'oxygène sont nécessaires pour l'oxydation complète de 1 g de pétrole (**SOLTANI, 2004**).

c. Influence des éléments nutritifs :

Le rejet des hydrocarbures dans les environnements qui contiennent des éléments nutritifs inorganiques en faibles concentrations, conduit généralement à des rapports carbone/azote et carbone/phosphore très élevés, défavorables pour la croissance microbienne (**LEAHY et COLWELL, 1990**).

Le pétrole lui-même contient de tels nutriments en petites quantités, mais ils sont toujours présents sous forme de composés hétérocycliques (exemple: dérivés de la pyridine et du pyrrole pour l'azote) ou organométalliques complexes; ils ne sont donc pas utilisables par les microorganismes. L'azote et le phosphore sont donc des facteurs limitant la biodégradation des hydrocarbures dans les sols (**BERTRAND et MILLE, 1989**).

d. Effet de la salinité :

Les fortes salinités constituent une barrière naturelle pour la biodégradation des hydrocarbures. Des chercheurs ont trouvé que la biodégradation des hydrocarbures est maximale pour une concentration en sel de 0,4 M et diminue lentement pour des valeurs supérieures et inférieures à celle-ci (**SOLTANI, 2004**). Partie 1 Etude bibliographique **17WARD et BROCK (1978)** ont montré que la vitesse de la biodégradation des hydrocarbures décroît lorsque la salinité passe de 3,3 à 28,4%, et ils ont attribué ces résultats à une réduction générale des vitesses métaboliques des microorganismes.

e. Effet du pH

Les sols peuvent avoir des valeurs de pH très variables, allant de 2,5 à 11,0. Des valeurs extrêmes de pH pourraient avoir une influence négative sur la capacité des microorganismes à dégrader les hydrocarbures. La croissance des bactéries hétérotrophes et des champignons étant favorisée par un pH proche de la neutralité (**LEAHY et COLWELL, 1990**).

DIBBLE et BARTHA (1979) et HAMBRICK et al. (1980) ont trouvé que la Dégradation des hydrocarbures est plus élevée dans des conditions légèrement basiques.

f. Effet de l'humidité :

L'humidité est un paramètre important dans le processus de la biodégradation car l'eau est un élément indispensable au développement des bactéries.

Les bactéries sont influencées par la concentration osmotique et la disponibilité en eau dans le sol, pour cela, **GABET (2004)** a signalé que pour une meilleure activité de biodégradation, l'humidité doit être de 25 à 90%. VI. Rem

1.5. Les souches étudiées

1.5.1. Description

1.5.1.1. *Escherichia coli*

Le genre *Escherichia* fait partie de la famille des Enterobacteriaceae, appartenant à la classe des -protéobactéries.

En plus de l'espèce *E. coli*, il existe au sein du genre *Escherichia* cinq autres espèces: *E. albertii*, *E. blattae*, *E. fergusonii*, *E. hermannii* et *E. vulneris*.

Chaque espèce présente des caractéristiques biochimiques spécifiques qui permettent de les différencier.

Une bactérie du genre *Escherichia* est un bacille à coloration de Gram négative, aérobic-anaérobic facultatif (AAF), Possédant une nitrate réductase et une catalase, dépourvue d'oxydase et non halophile.

E. coli est une bactérie immobile ou mobile avec une structure flagellaire péri triche et non-sporulée. Sa température optimale de croissance est de 37°C. Bactérie non exigeante, elle est capable de croître sur des milieux ordinaires tels que le milieu TSA (trypticase-caséine-soja).

E. coli est capable de fermenter le lactose et de produire de l'indole et possède différentes enzymes telles que la lysine décarboxylase (LDC),

l'ornithine décarboxylase (ODC) et la -glucuronidase (-Glu). La majorité des souches fermentent le sorbitol. La plupart des caractéristiques biochimiques sont partagées par, l'ensemble des *E. coli* en dehors du sérotype O157:H7 qui ne fermentent pas le sorbitol, à l'exception de certains mutants qui ont la capacité de fermenter ce sucre (King et al. 2014) Et qui sont dépourvus de l'Activité -Glu. Ces caractéristiques particulières sont utilisées pour sa recherche et son isolement dans l'Environnement et l'Alimentation (ISO16654:2001).

E. coli constitue une espèce bactérienne sous-dominante du microbiote aérobic-anaérobic facultatif intestinale de l'Homme et des animaux. Cette bactérie représente 80 à 90 % des coliformes thermo tolérants ou coliformes fécaux (capables de fermenter le lactose à 44,5°C) qui constituent un sous-groupe des coliformes totaux.

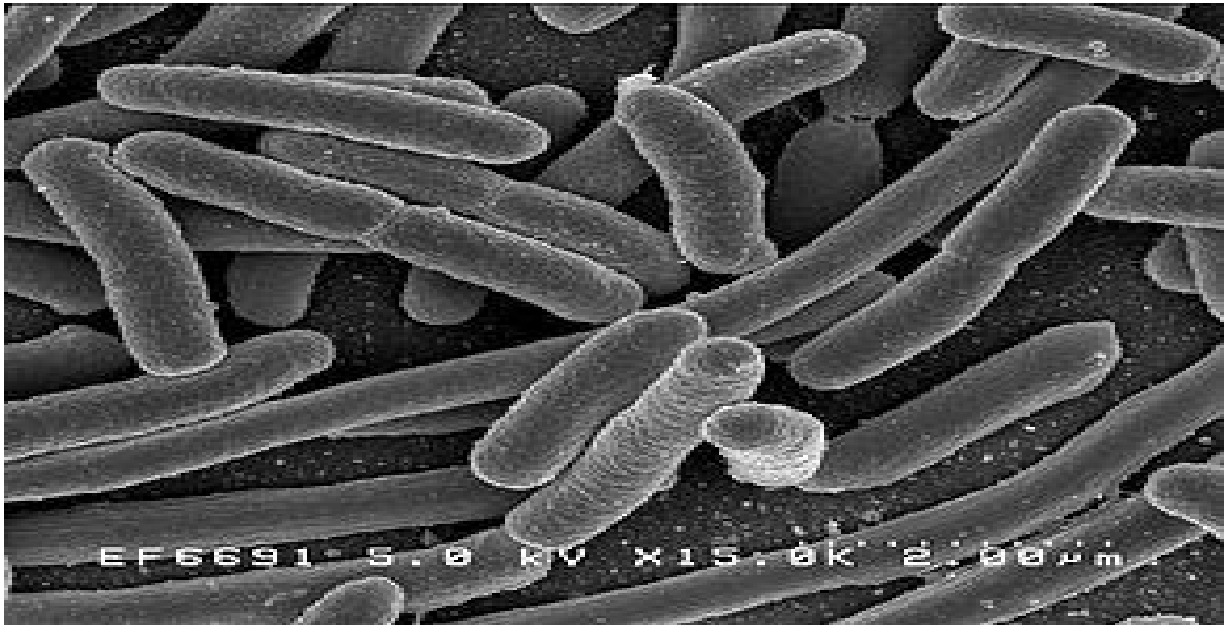


Figure05 : photo de bactérie *E. coli* *Escherichia coli* Grossissement $\times 15\,000$
https://fr.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli

1.5.1.2. *Pseudomonas.aerogenosa*

P.a est un bacille à Gram négatif ubiquitaire, présent notamment dans le sol et dans les milieux aquatiques, non sporulant de forme droite ou légèrement courbée.

Il mesure de 1 à 5 μm de long et de 0,5 à 1 μm de large (Figure 6). Bien que ce pathogène, ayant un métabolisme oxydatif, non fermentaire, aérobie stricte, plusieurs isolats ont montré une capacité à croître en milieu anaérobie.

P.a est une bactérie mobile grâce à la présence d'un Flagelle mono triche polaire.

Cette bactérie est catalase positive et oxydase positive.

Elle possède une versatilité nutritionnelle remarquable pouvant utiliser une variété de sucres simples et complexes, d'alcools et d'acides aminés comme seule source de carbone. P.a est une bactérie mésophile capable de se multiplier à l'intérieur d'un large spectre de température allant de 4 à 45°C.

La température optimale de croissance se situe entre 30 et 37°C. La morphologie de P.a, de même que pour tout le genre *Pseudomonas*, est facilement distinctive grâce à la production de la pyocyanine, un pigment bleu-vert diffusible dans le milieu extra cellulaire, d'où le nom de bacille pyocyanique.

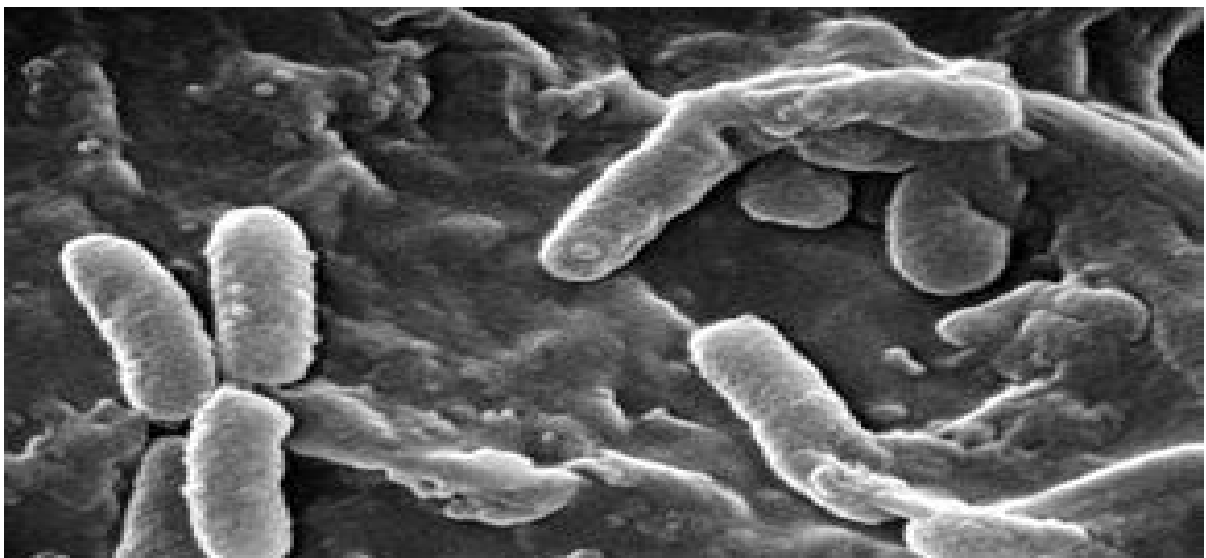


figure06 : *Pseudomonas aeruginosa* au microscope électronique à balayage

https://fr.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas_aeruginosa

1.5.1.3 Staphylocoque

Les staphylocoques a appartiennent à la famille des Micrococcaceae et au genre *Staphylococcus*.

Ce sont des coques, immobiles et non sporulés, réunis en amas, aéro-anaérobies facultatifs, Gram positifs, catalase positifs, oxydase négatifs (**De Buyser ,1996**).

La classification du genre *Staphylococcus* ne cesse d'évoluer. Ainsi, un grand nombre d'espèces a pu être identifié. Des sous espèces existent également.

Baird-Parker en 1974 a proposé une classification en trois espèces:

Staphylococcus aureus, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus epidermidis*. *Staphylococcus aureus* se distingue des deux autres espèces par la production d'une enzyme, la coagulase, dont l'association avec le «coagulase Reacting factor» transforme le fibrinogène du plasma en fibrine.

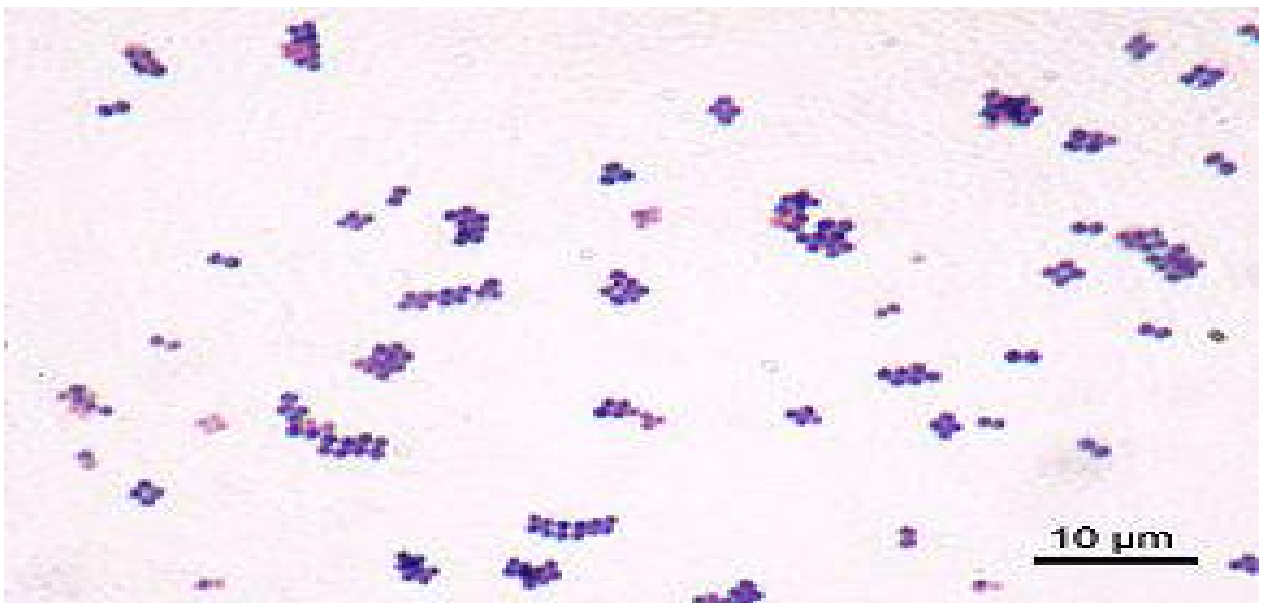


Figure 07 : Photographie au microscope optique de bactérie *Staphylococcus aureus*
bactéries *Staphylococcus aureus*

https://fr.wikipedia.org/wiki/Staphylocoque_doré

1.5.1.4- streptocoque

Les streptocoques regroupent un vaste ensemble de microorganismes, à Gram positif sous forme de coque, qui se retrouve dans un large éventail d'hôtes.

La taxonomie des streptocoques a rencontré de nombreux changements au cours des 20 dernières années, ce qui a causé de considérables confusions dans la nomenclature des espèces du genre *Streptococcus*.

Parmi les streptocoques, on distingue des espèces pathogènes et des espèces commensales.

Les espèces pathogènes retrouvées dans ce genre bactérien sont *Streptococcus pyogenes*, *Agalactiae* et *S.pneumoniae*.

Ces trois espèces sont responsables d'infections.

Au sein de l'hôte, les streptocoques commensaux colonisent souvent la surface des muqueuses de la bouche, des narines et du pharynx, mais habitent aussi sur la peau. Dans certaines conditions, ces bactéries commensales peuvent devenir des pathogènes opportunistes et peuvent ainsi être responsables d'infections, notamment de septicémies ou d'endocardites.

Ce chapitre fait un rappel historique sur la découverte des streptocoques et est surtout consacré à la clarification de la taxonomie des espèces appartenant au genre *Streptococcus* ainsi qu'à la description de leurs niches écologiques et des infections qui leurs sont liées.

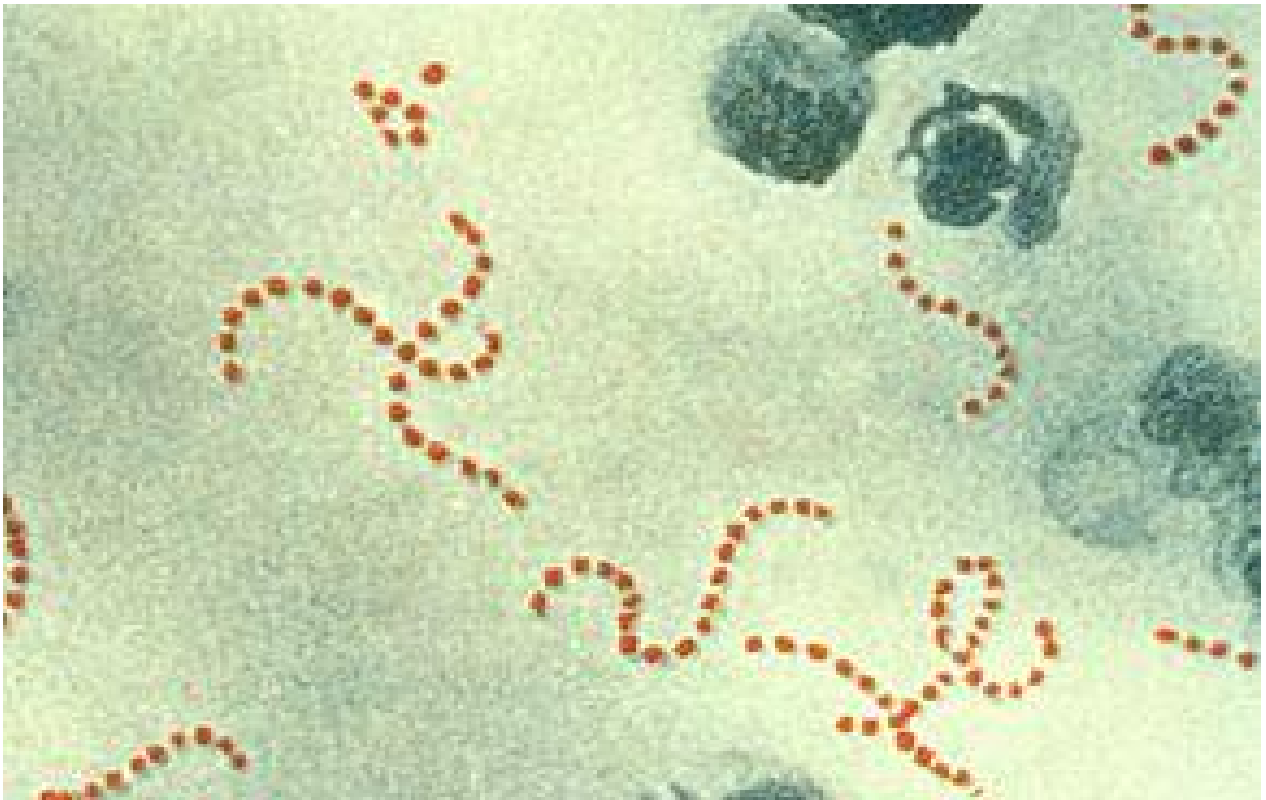


Figure 08 : photographie au microscope de bactérie Streptococcus pyogènes

<https://fr.wikipedia.org/wiki/Streptocoque>

2- La lumière

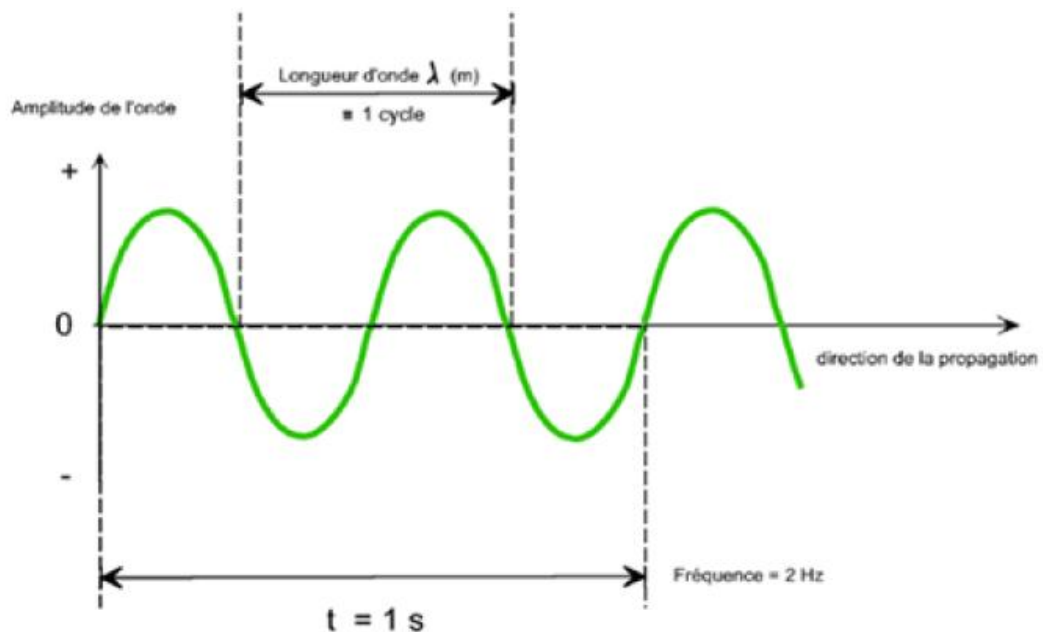
2.1 Qu'est-ce que la lumière?

La lumière est une forme d'énergie, tout comme l'électricité ou la chaleur.

Elle est composée de minuscules particules que l'on appelle photons et se déplace sous forme d'onde.

La lumière est en fait générée par les vibrations des électrons dans les atomes. Il s'agit donc d'un mélange d'ondes électriques et magnétiques : on dit que la lumière est une onde électromagnétique.

Il existe plusieurs formes de lumière. Celle que nous connaissons est la lumière visible. Il existe cependant plusieurs autres formes d'ondes lumineuses : les infrarouges, les ultraviolets, les rayons X, etc. Ce qui différencie ces types de lumière est la longueur d'onde ou encore la quantité d'énergie qu'elles transportent.



Longueur d'onde, fréquence et amplitude.
 Source: www.bbemg.ulg.ac.be/Images/frequence.gif

2.2. L'effet de la lumière

L'effet photo ablatif consiste à induire la rupture d'un certain nombre de liaisons Moléculaires. Cet effet est particulièrement utilisé en ophtalmologie, pour modifier la Courbure de la cornée afin de corriger des myopies, des astigmatismes légers à modérés, ainsi que des petites hypermétropies.

L'effet photochimique est utilisé dans le traitement des cancers. On injecte dans L'organisme un produit chimique qui se fixe sélectivement sur les cellules cancéreuses. La lumière du laser, absorbée par ce produit chimique, active sa capacité à détruire les cellules sur lesquelles il s'est fixé. Cette technique très prometteuse, appelée thérapie photo dynamique, est utilisée en urologie, en neurochirurgie et en dermatologie.

L'effet électromécanique est généralement obtenu avec des lasers délivrant des impulsions instant, la puissance du laser atteint des valeurs extrêmes, de plusieurs dizaines de millions de watts et même davantage. Il se crée alors à la surface du tissu visé un plasma d'électrons qui induit une onde de choc. Cette onde de choc, très localisée, est particulièrement destructrice : elle peut par exemple réduire en poussière les pigments d'un tatouage. Cette technique est donc utilisée en dermatologie, mais aussi en ophtalmologie.

Effets de la lumière avec tout son organisme et ses fonctions vitales jusque dans les moindres détails, non seulement en s'abandonnant passivement à l'action de la lumière, mais en orientant ses organes vers celle-ci par ses propres mouvements : la tige possède un héliotropisme positif, la racine un héliotropisme négatif. Il serait plus exact de dire que la racine s'oriente vers la terre en raison de ses affinités pour l'éther de vie qui y est actif.

Texte tiré de « La médecine à l'image de l'homme » de Husemann et Wolf.

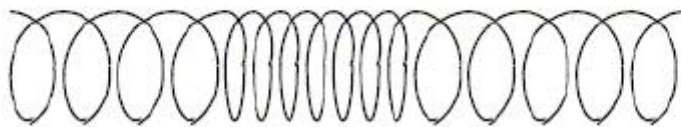
3. Le son

3.1. Qu'est-ce que le son ?

Le son est un ensemble d'ondes sonores.

Une onde sonore est une suite de variations de la pression, dans un axe longitudinal, qui se propage dans un milieu élastique (gaz, liquide, solide), dans toutes les directions à partir du point d'émission. Selon la densité du milieu dans lequel le son se propage, celui-ci aura des caractéristiques physiques (vitesse, fréquence...) différentes.

Si on devait donner une comparaison, l'air c'est un peu comme un ressort, ou un accordéon. Lorsqu'on provoque une vibration, il s'allonge et se contracte, mais chaque point finit toujours par revenir à sa place.



Zone de
compression

3.2. Les caractéristiques du son

Chaque son que tu entends est différent caractéristiques.

Chaque son à sa propre carte d'identité.

A) La fréquence

La fréquence du son, indique le nombre d'oscillations (suites de compressions, décompressions) complètes que l'onde effectue en une seconde.

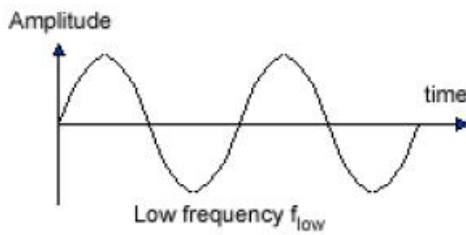
Elle s'exprime en Hertz(Hz), ce qui correspond à un nombre par seconde, on l'écrit seconde-1 ou s-1.

En musique, la fréquence est plutôt désignée par le nom de hauteur. Ainsi, plus la fréquence d'un son est élevée, plus celui-ci est aigu.

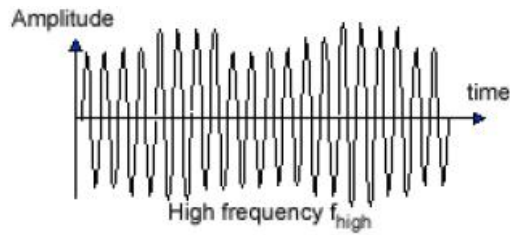
On parle de sons graves pour une fréquence inférieure à :

20 Hz (20 oscillations par seconde), de sons moyens pour **des** fréquences comprises entre

500et3000Hz



Basse fréquence : ici, 2 « vagues » par unité de temps.



Haute fréquence : ici, 20 « vagues » par unité de temps.

B) Période

C'est le temps qu'il faut à l'onde pour qu'elle fasse une oscillation complète. C'est exactement l'inverse de la fréquence, puisqu'elle se mesure en secondes !

C) La longueur d'onde

Exprimée en mètre, elle correspond à la longueur d'une oscillation complète, c'est-à-dire, la distance la plus courte qui sépare deux points de la courbe dans une position identique. Plus simplement, c'est la distance que l'on observe entre deux crêtes.

D) La vitesse

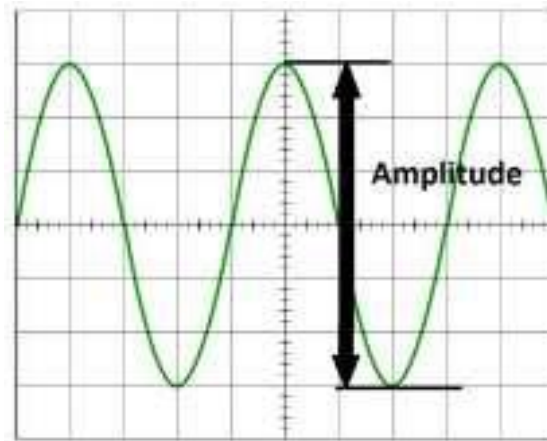
Elle dépend de la longueur d'onde et de sa fréquence.

Elle dépend également du milieu de propagation de l'onde sonore. Elle est d'autant plus grande que le milieu est dense.

E) L'intensité du son, ou niveau sonore.

L'intensité, ou volume du son s'évalue en fonction de l'amplitude (ou hauteur) de l'onde sonore.

L'intensité sonore se mesure en décibels. C'est en quelque sorte une mesure de variation de pression.



Amplitude d'une onde sonore

F) Le timbre

Lorsqu'on joue la même note sur des instruments différents, on ne produit pas le même son. Les multiples entiers des fréquences correspondant aux notes sont appelées les harmoniques.

L'effet du son

2.2 L'effet extra-auditifs

Autres troubles engendrés : effet de masque (signaux d'alerte) **gêne** (communication verbale) troubles de la vigilance (diminution de l'attention et de la concentration) **stress**, troubles cardio-vasculaires (hypertension, palpitations,..) troubles de l'équilibre psychique (fatigue, nervosité, instabilité d'humeur, agressivi

Chapitre II :

1. Méthodologie :

On a réalisé ce travail pour voir s'il existe une influence du son et de la lumière sur la croissance bactérienne.

On a pris 05 souches bactérienne (Escherichia coli / Streptococcus / Staphylococcus aureus/ Pseudomonas aeruginosa/Pseudomonas fluorescens l'expérience est faite par la méthode suivante :

L'ensemencement des souches dans leur quatre milieux spécifiques (Hektoen, Chapman, King A, King B. dans leur milieux ordinaire GN (on dépose la même quantité de bactérie pour l'ensemencement) puis les incubées dans l'étuve à 37 ° pendant 24 h avec exposition au son audible et refaire la même expérience pour la lumière et incubation à 37° pendant 24 h.

Après incubation ; la lecture des résultats selon en tenant compte des paramètres suivants :

-l'aspect ; la couleur ; la forme des colonies et on fait une comparaison des résultats obtenus par rapport la croissance de ses souches dans l'état normal (avec une incubation sans son ni lumière).

1- Matériel et méthode

1.1. Lieu d'étude:

Cette étude est réalisée au niveau de laboratoire de biologie à l'Université Dr Moulay Taher Saida

1.1.2. Matériel :

1.1.2.1. Matériel biologique

Pour le déroulement de notre travail, nous avons testé cette expérience avec quatre souches bactériennes différentes. des souche de référence ATCC (American type culture collection).

- 1- Escherichia coli (E. coli), CNR (centre nationaux de référence).
- 2-Pseudomonas aeruginosa, PAO1 (ortholog prediction complete Genome).
- 3- Staphylococcus aureus, CNR (centre national de référence des Staphylococcus).
- 4- streptococcus, CNR-GBS 2012(centre national de référence Streptococcus agalactiae
- 5- Pseudomonas fluorescens, SBW25, Complete Génome.

Ces souches ont été choisies à cause de leur croissance rapide (de 24heurs) à 37 c°

1.1.2.2 matériels utilisés:

- Anse de platine
- Boittes de pétri
- Tube à essais
- La lame et lamelles
- Etuve
- Bec bunsen
- Pissette
- plaque chauffante
- Balance - Pesage
- Turbulent cylindriques
- Pince en bois
- Spatule
- l'erlenmeyer
- flacon en verre transparent
- verre a montre

1.1.2.3 Milieux de culture

Le choix des milieux de culture préparé est basé sur le choix des bactéries qu'on veut les testées dans cette expérience donc on a préparée 5 milieux se sont :

Milieu Hektoen pour caractéristique Escherichia coli

Milieu GN pour caractéristique les streptocoques.

Milieu Chapman pour caractéristique les Staphylococcus.

Et milieu King A pour caractéristique les Pseudomonas aerogenosa.

Et milieu KingB pour caractéristique les Pseudomonas fluorescens.

Etapas de préparation des milieux de culture :

1.1.2.3.1. Dissolution :

1 - Peser la quantité appropriée de milieu.

2 - Ajouter progressivement le volume d'eau nécessaire (qsp) à la reconstitution (indiqué sur l'étiquette et la fiche technique).

3 - Agiter lentement et régulièrement pour solubiliser les composants et répartir la gélose de façon homogène.

4 - Porter à ébullition (sans les surchauffer) les milieux

5 - Répartir le volume de milieu requis en flacons ou en tubes selon l'utilisation.



Etape 01 : dissolution

1.1.2.3.2 Stérilisation

1 -D'une manière générale, les milieux de culture répartis en flacons ou en tubes sont stérilisés par autoclavage à $121\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ pendant 15 minutes.



Etape02 : stérilisation

Selon le choix de nos souches on a préparée les 5 milieux suivants :

1-Gélose nutritive

2-Gélose de Chapman

3-*Hektoen*

4- King A

5- King B

Arrangement d'espace de travail sur la payasse :

- Nettoyer la paillasse avec le désinfectant afin de minimiser les risques de contamination extérieur lors de la manipulation.
- Allumer le bec Bunsen afin de stériliser l'air alentour et détruire ainsi les organismes pouvant altérer les résultats. Toute la manipulation doit se faire dans un rayon de 20/25 cm autour de la flamme.

2. La méthodologie :

Notre démarche méthodologie consiste à mettre la même concentration bactérienne de chaque souche déjà cités dans la mêmes condition d'incubation sauf présence de son à la bible pendant 24heur période correspondant a la croissance.

La deuxième partie consiste à mettre la même concentration bactérienne dans les mêmes conditions d'incubation sauf que présence de la lumière visible.

2.1 Techniques d'ensemencement :

Ensemencement consiste en l'introduction de microbes dans un milieu de culture dans une boit de pétri.

Cette méthode est utilisée pour la plupart des prélèvements car elle va permettre d'obtenir des colonies.

Ensemencer en surface quatre suspensions bactériennes Sur quatre milieux de culture :

- ❖ Gélose Nutritif (*Streptococcus*).
- ❖ Shapman (*Staphylococcus aureus*).
- ❖ Hektoen en (*E. coli*).
- ❖ KingA (*Pseudomonas aeruginosa*). King B (*Pseudomonas fluorescens*).

2-1-1 Les étapes d'ensemencement :

1-Couler les milieux de culture dans les boîtes de pétri



Figure 09 : couler les milieux de culture dans les boîtes de pétri

2-Ecrire son numéro de poste, la date et l'identifiant de la souche sur le couvercle de la boîte.

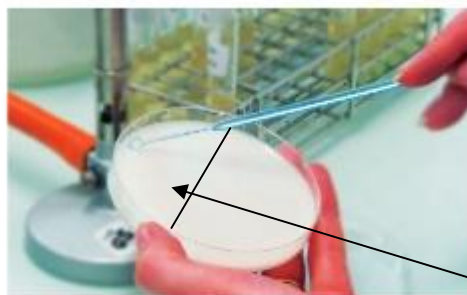


Figure 10 : la date et identifiant de souche.

2-Sur le fond de la boîte :

-Prélève la suspension bactérienne à l'aide d'une anse stérile (on prélève la même quantité de chaque souche)

-Ouvrir la boîte et déposer la pointe de l'anse du point initial (partie1).



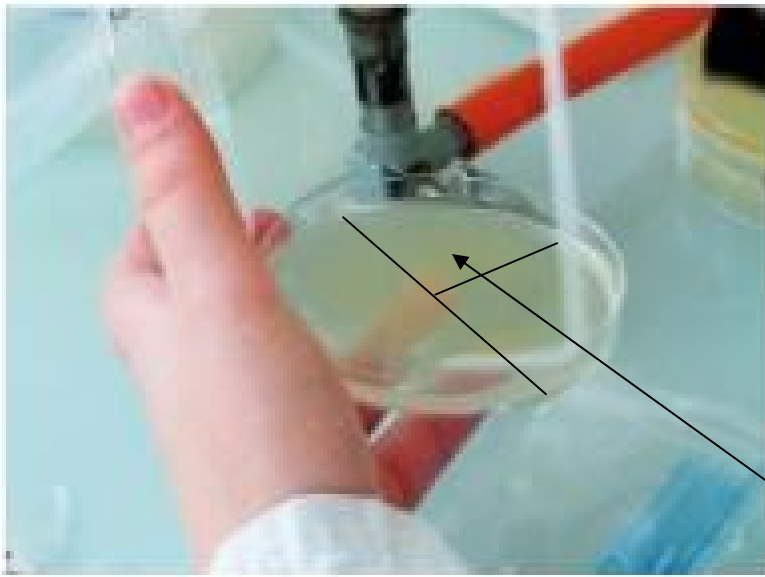
Parite 01

Figure 11 : déposer le point de l'anse la point initial.

Faire des stries serrées sans rayer la gélose sur la partie 1.

-(Eventuellement, stérilise l'anse si la suspension est trop dense)

-Tourne la boîte d'un quart de tour et faire des stries serrées sur la partie 2.



Partie 02

Figure12 : tourner la boîte.

8-Tourne la boîte d'un quart de tour et faire des stries larges
Sur la partie 3.

9-Stérilise l'anse. Referme la boîte et la dépose dans l'étuve, couvercle vers le bas
Notre expérience est faite par la méthode d'ensemencement ci-dessus suivant les
étapes ci-dessous :

-Couler 6 boîtes de pétri de chaque milieu de culture (G.N, Hektoen, King A, KingB,
chapman) ; laissez refroidir.

-Ensemencer les boites de pétri : GN par les *streptococcus.pyogenèse* ; Hektoen par *E. coli* ; KingA A par *pseudomonas.aérogénosae* ; King B par *pseudomonas.fluorescent* et chapman par les *staphylococcus.aureus*

-Prendre 2 boites de pétri de chaque milieu et les étuvé ensemble dans 3 différentes étuves dans la 1^{ère} un étuvage simple sans son ni lumière, dans la 2^{ème} un étuvage a l'exposition au son d'un jouet qui ne cesse pas d'émettre le son pendant 24 h a 37°C.



Figure 13 une photo qui montre l'étape d'incubation avec son

Et dans la 3^{ème} un étuvage à l'exposition d'un appareil qui émet de la lumière blanche visible a l'œil nu pendant 24h a 37° c.



Figure 14 une photo qui montre l'étape d'incubation avec lumière.

Après incubation on effectue une observation de nombre et forme de colonies

1-1/réalisant des colorations de gram.

2-1/ réalisant de comptage des colonies

3. Etapes de la réalisation de la coloration

Voici succinctement les différentes étapes de cette coloration :

1. Coloration par le violet de gentiane ou cristal violet. Laissez agir à 1 minute, puis rincez à l'eau
2. 2. Mordançage au Lugol_(solution d'iode iodo-iodurée): étalez le Lugol et laissez agir le même temps que le violet de gentiane ; rincez à l'eau déminéralisée.
3. Décoloration (rapide) à l'alcool (+acétone) est l'étape la plus importante de la coloration : versez goutte à goutte l'alcool ou un mélange alcool-acétone sur la lame inclinée obliquement, et surveillez la décoloration qui doit être rapide. Le filet doit être clair à la fin de la décoloration.

Rincez abondamment avec de l'eau déminéralisée pour stopper la décoloration. Attention, l'utilisation abusive de l'alcool aura pour conséquence de rendre toutes les bactéries gram négatif.

4. Recoloration à la safranine ou à la fuchsine.

Mettez de l'eau distillée sur la lame et quelques gouttes de fuchsine.

À 1 minute. Lavez doucement à l'eau déminéralisée.

Séchez la lame sur une platine chauffante à 50°C.

5. Observez avec une goutte d'huile à immersion objectif 100 (grossissement $\times 1000$).



Figure 15 microscopes optiques utilisés

3.1. Analyser la coloration :

Distinguez les bactéries à Gram positif des bactéries à Gram négatif.

Examinez la lame au microscope optique.

Les bactéries à Gram positif apparaissent violettes, le cristal violet étant piégé au sein de leurs parois cellulaires épaisses, alors que les bactéries à Gram négatif apparaissent roses ou rouges, le cristal violet étant passé à travers leurs fines parois cellulaires et le recolorant rose les ayant pénétrées.

4-Résultats:

Etude de son comme facteur influençant la multiplication souche1 / E.COLI

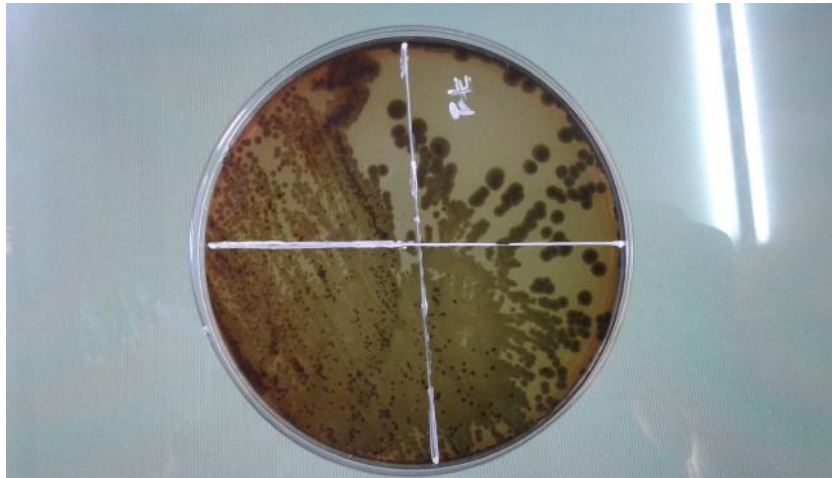
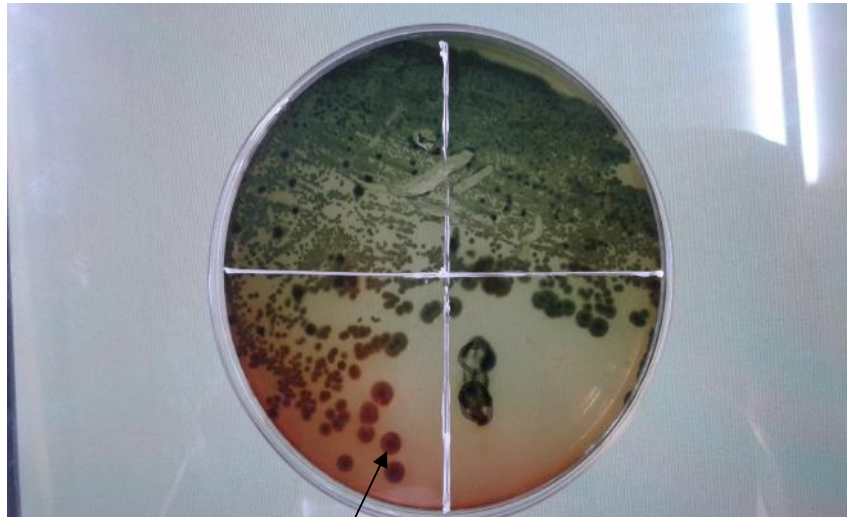


Figure 16: photo exprime une boîte de bactérie E. coli incubé sans son.



Colonie en rouge (changement de couleur)

Figure 17: photo exprime le changement de couleur dans une boîte de bactérie E. coli incubé avec son.

4.1 Résultats de la coloration de gram des colonies obtenue d'E. Coli avec son et sans son :

Après la réalisation de la coloration de gram d'E. coli on a observé un changement de la forme de cette bactérie de la forme connue auparavant bacille (figure13) à leur nouvelle forme cocci (figure14) après étuvage de 24h à 37° à l'exposition du son audible.

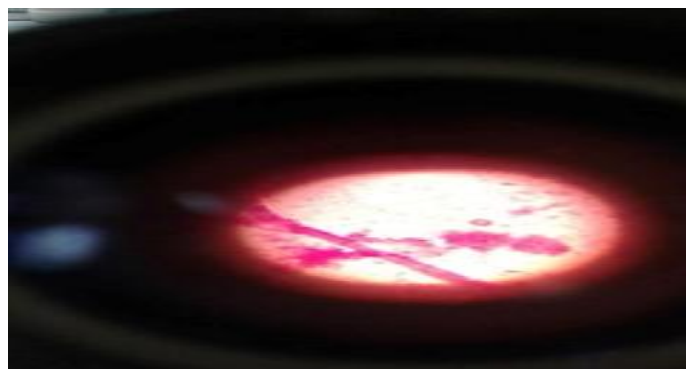


Figure18: observation microscopique d'E. Coli de forme bacille a G-

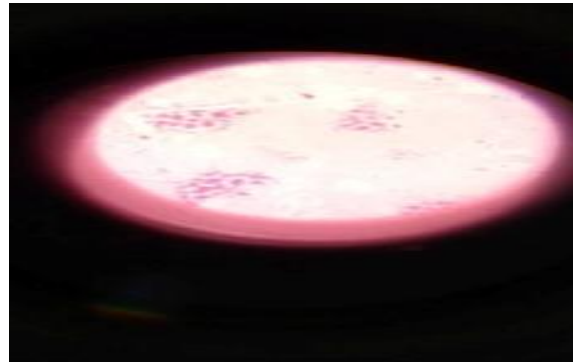


Figure19 : observation microscopique E. coli de forme cocci a G-

Tableau 01 : résultat de coloration de gram

SOUCHE :	Sans son	Avec son
E.coli		
Forme de colonies	Bacille	Cocci
Nombres	974	547
Couleur de colonies	Vertes	Rouges
Milieu	Hektoen	Hektoen

4.2. Tableaux présentent l'influence de la lumière sur la croissance bactérienne

Tableau 02 : l'effet de la lumière sur la souche *E.coli*

	Sans lumière	Avec lumière
<i>E coli</i>		
<i>Forme</i>	Sphérique de petite taille	Sphérique avec une taille plus petite.
<i>Nombre</i>	974/529	588/148
<i>Couleur</i>	Vertes	Rouges et verts
<i>Milieu</i>	Hektoen	Hektoen avec virage de couleur vers l'orange



La lumière a un effet sur la croissance d'*E.coli* cet effet est observable par le changement de couleur des colonies vers le rouge ainsi l'Hektoen, aussi le diamètre de ces colonies est devenu plus petit et concernant le nombre de colonies d'une part et d'une autre la lumière a ralenti la croissance d'*E.coli*.

Tableau 03 : l'effet de la lumière sur *Streptococcus.pyogenèse* I

<i>Streptococcus.pyogenèse</i>	Sans lumière	Avec lumière
Forme	Sphérique	Sphérique
Nombre	338/212	520/519
Couleur	Blanchâtre	Blanchâtre
Milieu	Gélose nutritif	Gélose nutritif



La lumière a influencer sur croissance des *streptococcus.pyogenèse*, ceci est observé dans la différence de nombre de colonies dénombrées dans les boites : boites étuvé avec lumière 520 / 519 colonies par apport aux boites étuvé sans lumière 338/212 colonies. Donc dans ce cas la lumière accélère la multiplication des S.p.

Tableau 04 : l'effet de la lumière sur *Staphylococcus.aureus*.

<i>Staphylococcus.a ureus</i>	Sans lumière	Avec lumière
		
Forme	Sphérique	Sphérique
Nombre	358/352	42/16
Couleur	Jaune	Jaune
Milieu	Chapman	Chapman

La lumière à ralentir la croissance des *Staphylococcus.aureus* de 358/352 colonies avec étuvage sans lumière a 42/16 colonies avec lumière.

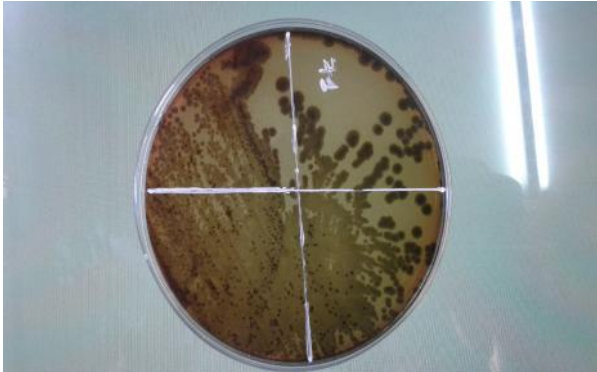

Tableau 05: l'effet de la lumière sur *Pseudomonas.fluorescent*

<i>Pseudomonas. fluorescente</i>	Sans lumière	Avec lumière
		
Forme	Sphérique	Sphérique
Nombre	406/398	202/198
Couleur	Jaune	Jaune
Milieu	King B	King B

La lumière a influencer sur croissance des *Pseudomonas.fluorescent*, ceci est observé dans la différence de nombre de colonies dénombrées dans les boites : boites étuvé avec lumière 202/198 colonies par apport aux boites étuvé sans lumière 406/398 colonies. Donc dans ce cas la lumière ralentir la multiplication des P.a.

4.3. Tableaux présentent l'influence du son sur la croissance bactérienne

Tableau 06 : l'effet du son sur *E.coli*

	Sans son	Avec son
<i>E.coli</i>		
Forme	Sphérique de petite taille lisse	Sphérique de petite taille lisse
Nombre	974/529	547/383
Couleur	Vertes	Rouges
Milieu	Hektoen	Hektoen

Le son à un effet sur la croissance d'E.coli cet effet est observable par le changement de couleur des colonies vers le rouge ainsi l'Hektoen, aussi le diamètre de ces colonies est devenue plus grand et concernant le nombre de colonies d'une part et d'une autre le son à ralentir la croissance d'E.coli.

Tableau 07 : l'effet du son sur *Streptococcus.pyogenèse*

<i>Streptococcus.pyogenèse</i>	Sans son	Avec son
		
Forme	Sphérique de petite taille et lisse	Sphérique de petite taille et lisse
Nombre	338/212	104/92
Couleur des colonies	Blanchâtres	Blanchâtres
Milieu	G.N	G.N

Le son à influencer sur croissance des *streptococcus.pyogenèse*, ceci est observé dans la différence de nombre de colonies dénombrées dans les boites : boites étuvé avec son 104/92 colonies par apport aux boites étuvé sans son 338/212 colonies. Donc dans ce cas le son ralentir la multiplication des S.p.

Tableau 08 : l'effet du son sur *Pseudomonas.aérogénosae*

<i>Pseudomonas.aerogenosa</i>	Sans son	Avec son
		
Forme	Sphérique et lisse	Sphérique et lisse
Nombre	406/398	320/168
Couleur des colonies	Jaune	Jaune
Milieu	King B	King B

Le son a influencer sur croissance des *Pseudomonas.aerogenosa*, ceci est observé dans la différence de nombre de colonies dénombrées dans les boites : boites étuvé avec son 320/168 colonies par apport aux boites étuvé sans son 406/398 colonies. Donc dans ce cas le son a ralenti la multiplication des P.a.

Tableau 09 : l'effet du son sur *Staphylococcus.aureus*

<i>Staphylococcus.aureus</i>	Sans son	Avec son
Forme	Sphériques de petite taille et lisse	Sphérique de grande taille et lisse
Nombre	358/352	12/06
Couleur des colonies	Jaunes	Rouges
Milieu	Chapman avec virage de couleur vers le jaune	Chapman avec sa couleur rouge sans changement

Le son à ralentir la croissance des *Staphylococcus.aureus* de 358/352 colonies avec étuvage sans son a 12/06 colonies avec son.

5. DISCUSSION :

Influence des conditions de culture préalables et de la présence du gène *rpoS* pour la survie de *Salmonella typhimurium* en eau de mer exposée à la lumière solaire S. Zaafrane, K.Maatouk, J.M. Gauthier et A. Bakhrouf

Résumé : L'effet de la lumière solaire sur la survie de deux souches isogènes de *Salmonella typhimurium* possédant respectivement un gène *rpoS* fonctionnel (*rpoS*⁺) et non fonctionnel (*rpoS*⁻), a été étudié en microcosmes d'eau de mer stérile à la température de 20 °C. La survie des deux bactéries a été marquée par une décroissance rapide du nombre des unités formant colonies avec une meilleure survie aux basses salinités. Les bactéries transférées dans l'eau de mer en phase stationnaire étaient plus résistantes à la phototoxicité que celles utilisées en phase exponentielle. La préculture en bouillon à haute osmolarité a augmenté la résistance des deux souches à cette lumière. Par contre, l'incubation en milieu minimal M9 ou la préadaptation en milieu oxydant (0,2 mmol/L H₂O₂) n'a pas conféré une protection supplémentaire aux bactéries irradiées. Une incubation préalable des deux souches pendant 24 h dans l'eau de mer à l'obscurité a amélioré la résistance de la souche *rpoS*⁺ à la lumière, mais est restée sans effet sur celle du mutant *rpoS*⁻. Enfin, des clones des deux souches, isolées de l'eau d'un microcosme exposé à la lumière pendant 90 min, ont présenté une augmentation très importante de leur résistance lors d'une irradiation solaire ultérieure.

Discussion

L'ensemble des résultats obtenus au cours de ce travail montre que la lumière solaire naturelle exerce un effet néfaste sur la survie de *S. typhimurium* en eau de mer, marqué par une décroissance rapide du nombre des cellules cultivables. D'une manière générale, l'effet létal de cette lumière sur les bactéries entériques présentes dans les eaux naturelles a été reconnu très tôt (Chamberlin et Mitchell 1978). Il a été confirmé dans le cas particulier d'*E. coli* par les travaux plus récents de Salomon et Pommepuy (1990), Pommepuy et al. (1991), Gourmelon et al. (1997). Cet effet a été attribué à la production des espèces réactives de l'oxygène comme l'oxygène singulet, le peroxyde d'hydrogène, l'anion superoxyde et le radical

hydroxyle (Hassan et Fridovich 1979; Foote et al. 1984; Foote 1976) qui dénaturent la structure et les composés cellulaires et bloquent ainsi certains mécanismes de résistance bactérienne. Les bactéries transférées dans l'eau de mer au cours de la phase exponentielle sont plus sensibles à l'effet toxique de la lumière solaire que celles transférées lors de la phase stationnaire. La résistance à la phototoxicité lors de la phase stationnaire est dépendante du gène *rpoS*. La sensibilité des cellules en phase exponentielle parait le fait du faible taux d'expression du gène *rpoS* d'une part et à la sensibilité des bactéries durant cette étape (Lange et Hengge-Aronis 1991; Siegele et Kolter 1992; Munro et al. 1995; Brown et Elliot 1996). L'effet protecteur du gène *rpoS* dans la résistance à la lumière solaire découle, au moins en partie, de l'induction d'une catalase HPI (Lowen et al. 1985) induite lors de la phase stationnaire et possédant la propriété de réduire la concentration intracellulaire en H₂O₂ (Ivanova et al. 1994; Ichise et al. 1999), et de l'induction de nombreux gènes,

Reçu le 24 janvier 2003. Révision acceptée le 26 janvier 2004. Accepté le 26 janvier 2004. Publié sur le site Web des Presses scientifiques du CNRC le 11 juin 2004. S. Zaafrane, K. Maatouk, J.M. Gauthier et A. Bakhrouf. Laboratoire de Bactériologie Institut National des Sciences et Technologies de la Mer, B.P. 59 5000 Monastir, Tunisie. 1 Auteur correspondant (courriel : Sami.Zaafrane@instm.rnrt.tn).

Conclusion :

Le son audible et la lumière visible ont un effet limitant sur la croissance de certaines bactéries et favorisant sur autres:

La lumière visible a favorisé la croissance des *Streptococcus pyogenes* et limité la croissance des (*Escherichia coli* / *Staphylococcus aureus* / *Pseudomonas fluorescent*).

Le son audible a limité la croissance de toutes bactéries utilisés dans l'expérience (*Escherichia coli* / *Staphylococcus aureus* / *Pseudomonas aerogenosa* / *Streptococcus pyogenes*).

Référence bibliographique

A /

AKNAL Guy, patrice, benoit, souche et caractère enterotoxi nogene des staphylocoques en élevage ovin laitier, 1974, pp 08

B/

BALIERE, charlotte, les Escherichia coli potentiellement pathogènes Dans l'environnement littoral cas des STE et des EPEO, 2016, pp 23

BOSSARD I. et BARTHA R., (1984).The fat of petroleum in soil ecosystems. In: Atlas, R.M. (Ed.), *Petroleum Microbiology*. Macmillan, New York, pp. 440-445.

BANAT M., MAKKAR R. S. et CAMEOTRA S. S., (2000).Potential commercial applications of microbial surfactants, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 53 : 495-508.

BERTRAND J. C. et MILLE G., (1989). Devenir de la matière organique exogène. Un modèle: les hydrocarbures. In: Bianchi, M., Marty, D., Bertrand, J.C., Caumette, P. et Gauthier, M.J. (Eds.), *Microorganismes dans les écosystèmes océaniques*. Masson (Paris), Chapitre 13, pp. 343-385.

Baudry C & Brezellec H (2006). Croissance d'une population bactérienne en milieu non renouvelé. In: Kluwer-wolters. *Microbiologie immunologie : exercices d'application*. France. p 27-29.

C/

COLIN F., (2000). Pollution localisée des sols et des sous-sols par les hydrocarbures et par les solvants chlorés, *Académie des sciences, rapport n° 44, Editions Tec&Doc*, 417 p.

D/

DIBBLE J.T. et BARTHA R., (1979).Effect of environmental parameters on the biodegradation of oil sludge. *Applied and Environmental Microbiology*, 37 : 729-739.

Donachie, W.D. (1968). Relationship between cell size and time of initiation of DNA Replication. *Nature* 219.

G/

GABET S., (2004). Remobilisation d'Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) présents dans les sols contaminés à l'aide d'un tensioactif d'origine biologique.

Thèse de doctorat de l'université de Limoges, spécialité Chimie et Microbiologie de l'Eau, p. 177.

H/

HAMBRICK G.A., DELAUNE R.D. et PATRICK W.H.JR., (1980). Effect of estuarine sediment pH and oxidation-reduction potential on microbial hydrocarbon degradation. *Applied Environmental Microbiology*, 40 : 365-369.

K /

King, L. A., E. Loukiadis, P. Mariani-Kurkdjian, S. Haeghebaert, F-X. Weill, **C. Baliere**, S. Ganet, M. Gouali, V. Vaillant, N. Pihier, H. Callon, R. Novo, O. Gaillot, D. Thevenot-Sergentet, E. Bingen, P. Chaud, and H. de Valk, 2014, Foodborne transmission of sorbitol fermenting *Escherichia coli* O157:[H7] via ground beef: an outbreak in northern France, 2011, *Clin Microbiol Infect* 20, O1136-1144.

L/

Leyral G & Vierling E (2007). Croissance des populations bactériennes. In: Quatrième, é. *Microbiologie et toxicologie des aliments : Hygiène et sécurité alimentaires*. Bordeaux. p 48-50.

LEAHY, J. G. et COLWELL R. R., (1990). Microbial Degradation of hydrocarbons in the Environment. *Microbiol. Rev.*, 54: 305-315.

M/

M. Kamal ET MESK, NI, Etude épidémiologique des infection a *Pseudomonas aeruginosa*, 1978, pp04

MARTEL R. et GELINAS (1996). Surfactant solutions developed for NAPL recovery in contaminated aquifers. *Ground water*. 34 (1) : 143-154.

P /

Prescott, Harley, Klein, Wiley, Sherwood & Woolverton (2010). La croissance. In: Boeck, D. *Microbiologie*. p 123-127.

R/

RENOUF Vincent, description et caractérisation de la diversité microbienne durant, 2006, Ecole doctorale : science des procédés, pp39

S/

SOLTANI M., (2004). Distribution lipidique et voies métaboliques chez quatre bactéries Gram négatives hydrocarbonoclastes. Variation en fonction de la source de carbone. *Thèse de doctorat de l'université Paris 6, spécialité chimie analytique*, p.284.

Soronfe AWA DOUMBIA, développement de filament nano composites a base de polylactide (pLA)-Application aux textiles antibactériens, 2012, obtenir le grade de Doctorat, pp20 /21

T/

TERROUCHE AHMED, biodégradation du meken Réacteur batch : influence de la présence d'acétone et de la condition Di culture initiales, magister, université mentouri – Constantine 2009, pp 19 /20/21

V/

VIPULANANDAN C. et REN X., (2000).Enhanced solubility and biodegradation of naphthalene with biosurfactant. *Journal of Environmental Engineering*, 126 (7) : 629-634.

W/

WARD D.M. et BROCK T.D., (1978).Hydrocarbonbiodegradation in hypersalineenvironments. *Applied and EnvironmentalMicrobiology*, 35 : 353-359.

WALWORTH J., BRADDOCK J. et WOOLARDC., (2001), Nutrient and temperature interactions in bioremediation of cryic soils. *Cold regions science &technology*. 32 : 85-91.

Formation des personnes-ressources en science et technologie, 2005-plante- arum de montreal.tous droits réservés

Ala Faculté des Études supérieures (université Laval, identification, des staphylocoques, streptocoque et entérocoques par des méthodes génotypiques, 2010, pp 29

Pierre et, MARIE CURIE, bactériologie NIVEAU DCEM1, université pierre et marie curie, 2002,2003

Annexe 1 : milieux de culture

- ✓ **Gélose de Chapman milieu sélectif** pour caractéristique de *Staphylococcus aureus*.

-Composition :

- Mélanges d'acides aminés, facteurs de croissance:

Peptones, extrait de viande

- Glucides et dérivés: /

- Autres molécules carbonées: mannitol

- Indicateur S2-: /

- Inhibiteurs: Na Cl à 75g/L

- Divers: /

- Indicateurs de pH: rouge de phénol

- Ions minéraux: Na Cl

- Agar: oui

- Eau: oui

Préparation : 111g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave : 15 minutes à 120°C.

-Usage :

- Isolement de *Staphylococcus aureus*

.

- Numération des staphylocoques.

-Lecture :

- Si *Staphylococcus aureus*: colonie jaunes avec halo clair. Mannitol +

Les autres colonies sont Mannitol -.Contamination possible par *Enterococcus* et certains *Bacillus*

✓ milieux King A pour caractéristique de Pseudomonas.

-Composition King A:

Mélanges d'acides aminés, facteurs de croissance: peptone

- Glucide et dérivés: glycérol
- Autres molécules carbonées:/
- Indicateurs S2-:/
- Inhibiteurs:/
- Divers:/
- Indicateurs de pH:/
- Ions minéraux: MgCl₂ (chlorure de magnésium), K₂SO₄
(Sulfate de potassium)
- Agar: oui
- Eau: oui

Préparation : 41,4g par 990 litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave : 15 minutes à 120°C.

-Usage :

Identifiant des Pseudomonas par la présence de pyocyanine ou de pyoverdine.

-Lecture :

- Aspect après 24h minimum à 30°C: oKing A: culture colorée en bleu
-vert (pyocyanine+) et parfois en brun-rose (pyoverdine +)

✓ Hektoen–milieu sélectif pour caractéristique E. coli

-Composition :

- Mélanges d'acides aminés, facteurs de croissance: Peptones, extraits de levure
- Glucide et dérivés: salicine, lactose, saccharose
- Autres molécules carbonées:/

- Indicateurs S²⁻: citrate de fer
- Inhibiteurs: sels biliaires
- Divers/
- Indicateurs de pH: Bleu de bromothymol, fuschine acide
- Ions minéraux: Thiosulfate de sodium, Na Cl
- Agar: oui
- Eau : oui

Préparation : 76,67g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave : 15 minutes à 120°C.

-Usage :

- Isolement des entérobactéries pathogènes: principalement pour vérifier la présence de Shigella et Salmonella.

✓ **Gélose nutritive** ou ***gélose nutritive ordinaire (GNO)*** ou encore ***gélose ordinaire*** est un milieu d'isolement non-sélectif.

Composition

- extrait de viande : 1,0g/L
- extrait de levure : 2,5g/L
- peptone : 5,0g/L
- chlorure de sodium : 5,0 g/L
- Agar : 15,0 g/L
- pH : 7,0
- **Préparation**
- 28 g par litre (stérilisation à l'autoclave)

Usage

Milieu d'isolement courant surtout utilisé pour la recherche de FMAR (flore mésophile aérobie revivable)

Annexe 02: Réactifs de la coloration de Gram

Violet de gentiane:

Phénol..... 2.0 g
Violet de gentiane..... 1.0 g
Éthanol à 90°..... 10 ml
Eau distillée..... 100 ml

Lugol:

Iodure de potassium..... 2.0 g
Iode métal
Iode..... 1.0 g
Eau distillée 300 ml
Alcool (éthanol)
Fuschine de ziehl:
Fuchine basique..... 1.0g
Phénol..... 5.0 g
Éthanol à 90°.....10 ml
Eau distillée