

PRECIS DE PHARMACIE
SECTION DE M.-M. JANOT

RÉCIS DE
DIBIOLOGIE

PAR

A. GERMAN

TOME I



MASSON ET C^{IE}

COLLECTION DE PRÉCIS DE PHARMACIE

publiée sous la direction de M.-M. JANOT

A.57/59-149 T.1 EX.1

PRÉCIS DE
MICROBIOLOGIE

par

S. LAMBIN

Professeur de Microbiologie
à la Faculté de Pharmacie
de Paris

ET

A. GERMAN

Professeur à la Faculté
de Pharmacie de Paris
Pharmacien des Hôpitaux

=====
TOME I

**TECHNIQUE MICROBIOLOGIQUE
MICROBIOLOGIE GÉNÉRALE**

=====
*Deuxième édition
entièrement refondue*

MASSON & C^{ie}, Éditeurs

Libraires de l'Académie de Médecine
120, boul. Saint-Germain, PARIS-VI^e

=====
1969
=====

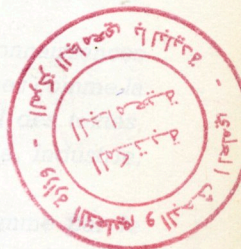


TABLE DES MATIÈRES

PREMIÈRE PARTIE

TECHNIQUE MICROBIOLOGIQUE

I. — Isolement et culture des bactéries

CHAPITRE PREMIER. — *La stérilisation* 3

Stérilisation par la chaleur (3); La chaleur sèche (3); Stérilisation par la chaleur humide (5); Théorie de la stérilisation par la chaleur (9); Contrôle de la température de stérilisation (11).

Stérilisation par filtration (12); *Les bougies* (12); *Les disques filtrants* (13); *Emploi des appareils filtrants* (16); Essai des filtres (16); Mesure de la porosité (17); Préparation du liquide à filtrer (18); Conduite de la filtration (18); Nettoyage des filtres (19); *Principaux dispositifs de filtration utilisés* (20); Les membranes filtrantes et les creusets en verre poreux (20); L'emploi des bougies (20); *Mode d'action des filtres bactériologiques* (23).

Stérilisation par les antiseptiques liquides (24).

Stérilisation par les antiseptiques gazeux (25); L'Ozone (25); L'oxyde d'éthylène (26).

Stérilisation par les radiations (29); Radiations électromagnétiques (29); Radiations corpusculaires (31).

Contrôle de stérilité des milieux de culture (33).

CHAPITRE II. — *Les milieux de culture* 35

La mesure du pH des milieux de culture (35); *Détermination du pH des milieux* (35); Méthodes colorimétriques (35); Méthode potentiométrique (38); *Règlage du pH des milieux* (39).

La mesure du potentiel d'oxydoréduction (40); Méthode potentiométrique (41); Méthode colorimétrique (43); Importance du potentiel d'oxydoréduction en microbiologie (44).

Préparation des milieux de culture (45); *Milieux naturels d'origine végétale* (45); Milieux naturels d'origine animale (47); Solutions de peptones (47); Bouillon peptoné salé (48); Milieux à l'extrait de viande (50); Digestions de viandes (50); Milieux solidifiés (52); Milieux spéciaux (53); *Milieux enrichis* (55); Milieux sucrés pour culture (56); Milieux sucrés pour étude des fermentations (57); Milieux albumineux (60); Milieux au sang (61); *Milieux semi-synthétiques* (62); Hydrolysats acide de caséine (62); Milieux synthétiques enrichis (64); *Milieux synthétiques* (65); Milieux simples (66); Milieux contenant des facteurs de croissance (67); *Milieux déshydratés* (68); *Milieux électifs* (69); *Milieux sélectifs* (69); Sels minéraux (69); Substances organiques (73).

Conservation des milieux nutritifs stériles (77); **Transvasement et répartition des milieux de culture** (78); *Milieux non stériles* (78); *Milieux stériles* (78).

CHAPITRE III. — *Les techniques de culture des bactéries*. 80

Instruments servant à l'ensemencement (80); Ensemencements (81).

CHAPITRE IV. — Isolement des bactéries aérobies. Obtention des cultures pures	83
<i>Méthodes des cultures monospERMES (83); Technique de Hansen (83); Technique de Burri à l'encre de Chine (83); Les micromanipulateurs (84); Méthodes consistant à partir d'une seule colonie (87); Méthode des dilutions en milieu liquide (87); Méthode de dissémination dans un milieu solide (88); Dissémination à la surface d'un milieu solide (88); Méthodes biologiques d'isolement des bactéries (90).</i>	
CHAPITRE V. — Techniques de culture des bactéries anaérobies	92
<i>Extraction de l'oxygène des milieux de culture (92); Protection des milieux contre l'action de l'oxygène de l'air (93); Abaissement du rH_2 par addition de substances réductrices (95); Produits chimiques (95); Addition de tissus animaux (97).</i>	
CHAPITRE VI. — Méthodes d'isolement des bactéries anaérobies	98
CHAPITRE VII. — Incubation. Température de culture des bactéries	100
CHAPITRE VIII. — Conservation des bactéries	101
<i>Mise à l'abri de l'air, de la lumière et de la dessiccation (101); Conservation des bactéries par dessiccation rapide (102); Dessiccation sous vide (102); Lyophilisation (103).</i>	

II. — Techniques générales d'étude des bactéries

CHAPITRE PREMIER. — Étude macroscopique des bactéries	111
Caractères des cultures en milieux liquides (111); Description (111); Rôle des conditions physiques (118).	
Caractères des cultures sur milieux solides (112); Caractères des colonies de bactéries aérobies sur gélose nutritive (113); Caractères des colonies des bactéries anaérobies en gélose de Veillon (114).	
CHAPITRE II. — Examen microscopique des bactéries	116
Matériel utilisé (116); <i>Microscopes optiques (photoniques) (116); Partie mécanique (116); Partie optique (117); Microscope à contraste de phase (121); Utilisation d'un éclairage de faible longueur d'onde: le rayonnement ultraviolet (124); Remplacement de la lumière visible (124); Microscopie en fluorescence (125); Ultramicroscope (126); Microscope à fond noir (126); Microscopie électronique (127).</i>	
Examen des bactéries sans coloration (133).	
Examen des bactéries après coloration (134); COLORATION VITALE (134); COLORATION DES BACTÉRIES TUÉES (135); <i>Préparation de l'étalement (135); Fixation (136); Les colorants naturels (137); Les colorants synthétiques (137); Colorants « neutres » (146); Colorations (147); Nature des colorations (147); Solutions colorantes (147); Coloration simple (149); Doubles colorations (149) [Méthode de Gram (149); Double coloration de Ziehl-Neelsen (155); Imprégnation par les fluorochromes appliquées aux bacilles acido-alcool-résistants (157)]; Coloration des spores (158); Coloration des capsules (160); Coloration des cils (162); Coloration des parois cellulaires (165); Coloration des granulations dites métachromatiques (165).</i>	
CHAPITRE III. — Étude de l'activité biochimique des bactéries	169
Pouvoir glucidolytique (169); <i>Caractérisation de l'attaque du sucre (169); Étude des « produits » de la fermentation du glucose (171); Réaction au rouge de méthyle (171); Caractérisation et dosages (172); [Culture préalable (172); Distillations (173); Production de gaz (179)].</i>	
Activité protéolytique (180); Action des bactéries sur le lait (183).	

Activité lipolytique (183); Recherche qualitative (184); Dosage de l'activité lipolytique (186).

Pouvoir réducteur (188); Colorants de rH₂ (189); Réduction des nitrates en nitrites (189); Recherche directe des nitrites (190); Production d'acide sulfhydrique (190).

Recherche de l'indole (benzopyrrole) (191); **Recherche de l'urée** (193); **Recherche des lécithinases** (195); **Recherche de la phosphatase acide** (196); **Recherche de la catalase** (196); **Recherche de la peroxydase** (197); **Recherche de désaminase d'acides-amino** (198); **Recherche de la décarboxylase de la lysine** (199); **Recherche de la désoxyribonucléase** (200); **Recherche de l'oxydase du cytochrome** (201); **Épreuve d'inhibition enzymatique au cyanure de potassium** (202); **Recherche du pouvoir hémolytique** (203); **Mesure de la respiration des bactéries** (204); Appareil de Warburg (204).

CHAPITRE IV. — **Étude du pouvoir pathogène expérimental des bactéries et des virus** 208

Choix des animaux (208); *Inoculations* (209); *Étude de la maladie chez l'animal* (211); *L'autopsie* (212).

III. — Techniques d'étude des virus

Méthodes physiques (215); **Méthodes de culture des virus** (220); *Culture dans l'œuf incubé* (220); *Inoculation* (221); *Voies d'inoculation* (222); *Culture des virus sur cultures cellulaires* (225); *Étude des différents facteurs jouant un rôle dans les cultures cellulaires* (226); *Milieux de culture* (227). [Solutions salines (227); Milieux nutritifs (228); Milieux organiques naturels (230); Antibiotiques (232)]; *Matériel utilisé pour les cultures cellulaires* (232); *Différents types de cultures* (233); *Les méthodes de cultures cellulaires utilisées en Virologie* (233); *Contrôle du caractère diploïde du caryotype des cellules en cultures continues* (237); *Obtention et entretien des souches et des lignées de cellules* (238); *Conservation des cellules de souche ou en lignées* (238); *Morphologie des cellules in vitro* (239); *Modifications cellulaires dues à la culture des virus* (240); *Action cytopathogène des virus* (241); *Formation des plages, dénombrement des virus* (242); *Altérations des cellules par contaminations* (243).

DEUXIÈME PARTIE

MICROBIOLOGIE GÉNÉRALE

Introduction 247

I. — Caractères généraux des bactéries

CHAPITRE PREMIER. — **Morphologie des bactéries** 251

Dimensions (251); *Forme des bactéries* (252); Les Eubactéries ou Bactéries vraies (252); Les Mycobactéries (256); Les Algo-bactéries (258); Les Protozoobactéries (259).

CHAPITRE II. — **Structure de la cellule bactérienne** 260

Éléments constants (260); **Enveloppes cellulaires** (260); LA PAROI BACTÉRIENNE (260); *L'isolement des parois bactériennes* (261); *Propriétés* (261); *Constitution chimique* (262); La paroi des bactéries gram-positives (262) [Le mucopeptide (262); Autres constituants (267)]; La paroi des bactéries gram-négatives (269); *Paroi des endospores* (271); *Biosynthèse du muco-*

peptide (271); *Fonctions de la paroi* (274); Rôle mécanique. Pouvoir protecteur (274); La suppression de la paroi. Ses conséquences (274); Rôle de la paroi dans la coloration de gram (277); Rôle physiologique de la paroi bactérienne (278); Rôle immunologique de la paroi bactérienne (278); Rôle pathogène (279); LA MEMBRANE CYTOPLASMIQUE (279); **Protoplasme. Cytoplasme et inclusions** (283); Le cytoplasme bactérien (284); Inclusions cytoplasmiques (285); **L'appareil nucléaire des bactéries** (287); Évolution de la question (287); Techniques d'études (288); État actuel de la question (290); Disposition de l'appareil nucléaire (290); Rôle du noyau (292).

Éléments inconstants (293); *Capsule* (293); Disposition (294); Constitution (295); La capsulogénèse ou formation de la capsule (296); Rôle de la capsule (297); *Zone muqueuse ou film muqueux* (297); *Cils ou flagelles* (298); *Spores* (301); *Microcystes et arthrospores* (307).

CHAPITRE IV. — *Constitution chimique des bactéries* 308

L'eau (308); **Les éléments minéraux** (309); **Les constituants organiques** (310); LES ÉLÉMENTS CONSTITUTIFS ORGANIQUES (310); *Protides bactériens* (311); *Acides aminés* (311); *Polypeptides* (311); *Protéines* (312); *Nucléoprotéines* (313); *Glucides bactériens* (317); *Sucres réducteurs* (317); *Les holosides* (318). [*Oligosaccharides bactériens* (318); *Polysaccharides* (318)]; *Lipides bactériens* (323); Nature des constituants lipidiques (323); Constituants lipidiques des *Mycobactéries* (324); SUBSTANCES FONCTIONNELLES ORGANIQUES (328); *L'équipement enzymatique des bactéries. Les enzymes bactériennes* (328); Localisation des enzymes bactériennes : *exoenzymes* et *endoenzymes* (329); Méthode d'étude de l'activité enzymatique des bactéries (330); Élaboration des enzymes bactériennes (331); *Inhibiteurs des enzymes bactériennes* (333); Les principales enzymes bactériennes (334); *Pigments* (339); *Vitamines* (345).

II. — *Classification des bactéries*

Bases de la classification des bactéries (348); **Que représente « l'espèce bactérienne »** (350).

Classification générale des bactéries (353); **L'embranchement des Schizomycètes** (353); SOUS-EMBRANCHEMENT DES EUBACTERIA (354); *Classe I: Eubacteria asporulées. Asporulales* (354); Ordre des Micrococcales (354); Ordre des Bactériales (354); Ordre des Spirillales (357); *Classe II: Eubacteria sporulées. Sporulales* (358); Ordre des Bacillales (358); Ordre des Clostridiales (359); Ordre des Plectridiales (359); Ordre des Sporovibrionales (360); SOUS-EMBRANCHEMENT DES MYCOBACTERIA (360); *Classe des Actinomycétales* (360); Ordre des Actinobactériales (360); Ordre des Mycobactériales (362); *Classe des Myxobactériales* (363); *Classe des Azotobactériales* (363); SOUS-EMBRANCHEMENT DES ALGOBACTERIA (363); *Classe I: Sidero-bactériales* (363); *Chlamydo-bactériales* (364); *Caulo-bactériales* (364); *Classe II: Thio-bactériales* (364); SOUS-EMBRANCHEMENT DES PROTOZOOBACTERIA (364).

III. — *Caractères généraux des Virus*

Structure des virus (367); **L'ACIDE NUCLÉIQUE** (367); *L'acide ribonucléique* (368); *L'acide désoxyribonucléique* (368); **LA CAPSIDE** (370); La capsidite hélicoïdale (370); La capsidite isométrique (371); Classement des capsides icosaédriques (373); Composition chimique de la capsidite (374); **Virus incomplets** : capsides vides (376); *Les capsides complexes* (377); **L'ENVELOPPE** (380); Unités morphologiques et antigènes viraux (381).

La reproduction des virus (382); *L'absorption sur la membrane cellulaire* (383); Absorption active (383); Absorption passive (385); Absorption du virus herpétique (386); Adsorption et pénétration du virus vaccinal (386); Adsorption spécifique et l'injection de l'acide nucléique (387); *La phase d'éclipse* (390); *La phase de synthèse des constituants du virus* (391); **Virus à ARN, non enveloppés** (392); **Virus à ARN, enveloppés** (394); **Virus à ADN à reproduction cytoplasmique** (395); **Virus à ADN à reproduction nucléaire** (395); **Bactériophages** (398); *Assemblage de ces constituants* (400); *Sortie du virus de la cellule* (401).

IV. — Notions de génétique bactérienne

Définition	403
CHAPITRE PREMIER. — L'appareil génétique des bactéries. Le chromosome bactérien	
Constitution chimique (405); Architecture (406); Assimilation à un chromosome (407); Synthèse et réplication (408); Fonctions de l'ADN nucléaire (410); La carte génétique d'une bactérie (410).	405
CHAPITRE II. — Variabilité des bactéries. Mutations	
Différents types de variations (419); <i>Variations phénotypiques</i> (419); Caractères généraux (420); Variations de la morphologie bactérienne (420); <i>Variations génotypiques</i> . <i>Mutations</i> (422); Caractères généraux (422); Diverses possibilités de variations génotypiques (424); L'adaptation (425).	419
Principales manifestations des mutations bactériennes (426); CARACTÈRES CONCERNÉS (426); ORIGINE DES MUTANTS (426); Mutants spontanés (426); Mutants induits par agents mutagènes (429); PRINCIPAUX TYPES DE MUTANTS (430); <i>Variations de l'aspect des colonies bactériennes</i> (430); <i>Les mutants biochimiques ou nutritionnels</i> . <i>Mutants auxotrophes</i> (432); <i>Les mutants résistants</i> (436); à l'irradiation par les rayons UV (436); à l'action lytique des bactériophages (437); aux antibiotiques et autres agents chimiothérapeutiques (437).	419
CHAPITRE III. — Multiplication. Reproduction. Transferts génétiques	
Scissiparité (441); Sporulation (444); <i>Formation de l'endospore</i> (445); <i>Sporogénèse</i> (447); Facteurs influençant la sporulation (447); Germination (448).	441
Processus de transfert génétique. Recombinaison (449); LA CONJUGAISON. LA SEXUALITÉ CHEZ LES BACTÉRIES (449); Définition (449); Découverte (450); Sexualité bactérienne (451); Diverses étapes du processus de conjugaison (455); LE PHÉNOMÈNE DE TRANSFORMATION (459); Définition (459); Découverte (459); Étendue du phénomène (461); Conditions nécessaires à la transformation et caractéristiques (463); Réalisation du phénomène de transformation (467); Divers stades de la transformation (465); Importance du phénomène (466); LA TRANSDUCTION (467); <i>Définition</i> (467); <i>Notion sur les bactériophages et sur les bactéries lysogènes</i> (467); Les bactériophages virulents. Le cycle lytique (469); Les bactériophages tempérés. La lysogénisation (470); <i>Le processus de transduction</i> (472); Découverte (473); Modalité (473).	441
CHAPITRE IV. — L'hérédité extrachromosomique. Les épisomes bactériens	
Définition (477); Découverte (477); Propriétés (477); Principaux épisomes connus (478); Les prophages. Lysogénisation (478); Le facteur fertilité (479); Les facteurs colicinogènes (480); Le transfert de la résistance multiple aux antibiotiques (RTF) (480).	477

V. — Les formes atypiques. Formes filtrantes. Bactéries sans paroi ou à paroi incomplète

Formes filtrantes des bactéries (485); **Bactéries sans paroi ou à paroi incomplète**. **Protoplastes**. **Sphéroplast**s. **Formes L** (486); *Protoplastes et sphéroplast*s (486); Définition (486); Mode d'obtention (486); Morphologie et structure (488); Propriétés (489); Croissance et division (490); *Formes L* (492); Définition (490); Conditions d'apparition (490); Obtention de la forme L (493); Aspect des colonies (493); Morphologie (494); Propriétés (495); *Les mycoplasmes ou P.P.L.O.* (495); Définition. Place dans la classification (495); Mycoplasmes et formes L (499); Rôle des mycoplasmes en pathologie vétérinaire (500); Espèces isolées (502).

VI — Physiologie générale des bactéries

CHAPITRE PREMIER. — Conditions compatibles avec la vie des bactéries et conditions nocives 503

Facteurs physiques et physicochimiques (503); Influence de la température (503); Influence de la pression (506); Influence des radiations (506); Influence de la concentration en ions hydrogène (507); Influence du potentiel d'oxydo-réduction des milieux de culture (508); *L'action des agents chimiques sur les bactéries* (511); *Facteurs biologiques* (511).

CHAPITRE II. — Nutrition des bactéries. Types trophiques 512

Éléments indispensables (512). Aliments (510); **Les sources d'énergie des bactéries** (515); **Pouvoir de synthèse. Différents types trophiques des bactéries** (515); **Bactéries autotrophes** (518); *Bactéries phototrophes ou photosynthétisantes* (519); *Bactéries sulfureuses pigmentées* (521); *Bactéries pourpres non sulfureuses* (523); *Bactéries autotrophes chimiolithotrophes* (524); *Bactéries réalisant l'oxydation biologique de l'azote minéral* (524); *Bactéries réalisant l'oxydation biologique du soufre et de ses composés minéraux* (527); *Bactéries réalisant l'oxydation biologique du fer. Bactéries ferrugineuses. Ferrobactéries* (529); **Bactéries mésotrophes** (530); **Bactéries hétérotrophes** (532); *Bactéries prototrophes* (533); *Nutrition des bactéries hétérotrophes* (536).

CHAPITRE III. — Facteurs de croissance des bactéries. 539

Le besoin en vitamines des bactéries (540); *Les monoacides, facteurs de croissance de certaines bactéries* (548); *Autres facteurs de croissance* (550); *Facteurs de croissance présents dans le sang* (551); *Intérêt des facteurs de croissance* (553).

CHAPITRE IV. — Étude quantitative de la croissance bactérienne. 557

Évolution d'une culture pure (557); *Techniques* (558); *Caractéristiques* (559); *Phases de croissance* (560); *Cultures synchrones* (564); *Le biophotomètre enregistreur* (564); Description de l'appareil (565); Utilisation de l'appareil (568); Possibilités d'étude offerte par le biophotomètre enregistreur (568).

CHAPITRE V. — Métabolisme des bactéries 573

Le contrôle génétique du métabolisme bactérien (573); **LA BIOSYNTÈSE DES ENZYMES ET SA RÉGULATION** (573); *La biosynthèse des enzymes* (573); *La régulation de la synthèse des enzymes* (579); L'induction et la répression enzymatique (579); Les unités de fonction (581); La théorie de la régulation (583); Systèmes inductibles et systèmes répressibles (585); *La régulation de l'activité des enzymes. La rétro-inhibition* (586).

Métabolisme des glucides. Respiration et fermentation (588); *La respiration bactérienne* (588); Enzymes réalisant l'oxydation des substrats (588); Systèmes d'oxydo-réduction présents chez les bactéries (589); Voies d'oxydation du substrat AH₂ en aérobose (591); *Le métabolisme des hexoses* (591); La voie glycolytique de dégradation du glucose en anaérobiose (592); La voie du ribulose-5-phosphate (595); La voie du 2-céto, 3-désoxy, 7-phosphoglucuronate (595); La voie de l'acide gluconique (596); Formation des polysaccharides (596); *Dégradation des polysaccharides des matières pectiques et de la cellulose* (596); Dégradation de l'amidon (596); L'attaque de l'inuline (597); L'attaque de la gélose (597); Dégradation des pectines (597); Dégradation de la cellulose (598); Bactéries méthanogènes (600); *Application du métabolisme des glucides* (601).

Dégradation des substances organiques azotées. Protéolyse. Ammonification (601); *Les bactéries dites protéolytiques* (602); *Les bactéries peptidolytiques* (603); *La scission des aminoacides* (604); Produits formés par les bactéries par décarboxylation des aminoacides (606); Produits formés par désamination (608); Décarboxylation et désamination combinées (609); Réactions de transamination (611); Racémisations (611); Les bactéries anaérobies sporulées du genre *Clostridium* (611); Réactions spécifiques (612); *Attaque de l'urée* (615); *Dégradation de l'acide hippurique* (615); Utilisation de l'ammoniacque par des bactéries (615).

Métabolisme de substances autres que glucides et protides(617); **L'oxydation des composés aromatiques** (619).

VII. — L'utilisation des bactéries dans l'industrie

Fermentations proprement dites (622); *Fermentation lactique* (622); Les véritables ferments lactiques ou bactéries lactiques (622); *La fermentation propionique* (625); *La fermentation butyrique et acétono-butylque* (626); *Fermentation butanol-isopropylique* (627); *La fermentation acétonéthylque* (627); *La production de 2, 3-butanédiol* (628).

Fermentations oxydatives (629); *Bactéries acétiques* (629); *Activité biochimique des bactéries acétiques* (631); *La fermentation acétique* (631); *La production d'acide gluconique* (632); *La fermentation du sorbitol en vue de l'obtention de sorbose nécessaire à la synthèse de la vitamine C* (632); *Autres utilisations des bactéries acétiques* (633).

Production industrielle de dextrans (634); **La production d'acides aminés par les micro-organismes** (636); *Lysine* (636); *Glutamine* (636); **L'élaboration de substances antibiotiques** (637); **La production d'enzymes** (638); **La synthèse micro-biologique des vitamines** (638); *La riboflavine ou vitamine B₂* (638); *La cyanocobalamine ou vitamine B₁₂* (639); **Transformation des composés stéroïdes** (639).

VIII. — L'activité des bactéries en vie libre dans la nature

Rôle des bactéries dans le cycle de l'azote (641); *Rôle des bactéries dans le cycle de carbone* (643); *Minéralisation du carbone organique* (643); *Rôle des bactéries dans le cycle du soufre* (645); *Rôle des bactéries dans le cycle du fer* (646); *Le cycle du phosphore* (647); *Relations entre bactéries et végétaux* (647).

Ouvrages à consulter 649

Index alphabétique des matières 653