LES FACTEURS DE CROISSANCE DES MICROORGANISMES

OU

LES « VITAMINES MICROBIENNES »

PAR

Gust ALTZINGER,
professeur au Lycée de garçons d'Esch-sur-Alzette

Comme le sujet l'indique, ces facteurs mentionnés interviennent dans la croissance des microorganismes. Or, la croissance d'après Gunsalus (1) peut être définie comme étant une augmentation de protoplasme. « Growth may be defined as an increase in protoplasm. » Cette définition embrasse des problèmes biochimiques spécifiques de la croissance microbienne dont nous nous sommes proposé d'étudier quelques aspects.

L'augmentation de protoplasme se faisant par synthèse, la notion de synthèse protoplasmique implique les problèmes physico-chimiques de la croissance: les facteurs physiques et chimiques, les sources d'énergie et de matières premières ainsi que les mécanismes des nombreuses réactions de synthèse.

Puisque la croissance microbienne est considérée comme la résultante d'un grand nombre de réactions chimiques, il importe de passer en revue la composition chimique du protoplasme. La cellule microbienne se compose d'eau, de protides, de glucides, de lipides, de matières minérales et en quantités très minimes de substances primordiales dont l'importance fera l'objet de ce travail.

L'intérêt accordé à la composition chimique de la cellule bactérienne souligne sa capacité réactionnelle qui se manifeste précisément dans l'édification de ces nombreux composés à partir du milieu nutritif, qui au laboratoire est un milieu de culture synthétique.

Un milieu de culture synthétique est un milieu qui ne contient que des substances chimiques dont la composition et la

constitution chimique sont connues. A partir de ces constituants simples, la cellule élaborera, selon les conditions, sa propre matière. Ce milieu renferme des composés qui par dégradation fournissent l'énergie nécessaire aux synthèses. Le glucose est communément utilisé à cette fin. On incorpore ensuite au milieu de culture des composés qui fournissent les éléments ou les groupements d'atomes nécessaires à la synthèse des constituants ultimes du protoplasme. Il s'agit de sources de carbone, d'azote et d'ions inorganiques. Les produits intermédiaires de la dégradation du glucide sont utilisés comme source de carbone. La majorité des microorganismes exigent de l'azote combiné pour synthétiser les nombreuses substances azotées, qui assument au point de vue physiologique un rôle de première importance. Des sels minéraux constituent la source d'ions inorganiques. La croissance microbienne dépend en outre d'un certain nombre d'autres conditions telles que la température, le pH, le degré d'aérobiose, la pression osmotique, les radiations, etc.

Le problème de la nutrition microbienne ne s'arrête pas à l'énumération des besoins nutritifs proprement dits. Il exige une discussion ultérieure, celle des facteurs de croissance. En effet, les besoins nutritifs sont seulement remplis, si le milieu de culture renferme tous les principes, permettant la synthèse ultime des constituants vitaux.

Lors des essais de croissance on constate un comportement différent des microorganismes. Un certain nombre se développent normalement dans un milieu synthétique, contenant du glucose, un sel azoté et quelques autres sels minéraux. D'autres, inoculés dans des milieux analogues, ne se développent pas.

Le fait que les uns sont capables de synthétiser leur propre protoplasme, c'est-à-dire d'édifier les molécules les plus variées à partir de constituants relativement simples, et ceci à une vitesse appréciable, suppose la mise en marche d'un grand nombre de réactions chimiques parfois très compliquées. Gale (2) énumère les réactions caractéristiques du métabolisme bactérien, qui sont des réactions de réduction, d'oxydation, de déshydratation, d'hydrolyse, de désamination, de décarboxylation, de phosphorylation et de déphosphorylation. La capacité réactionnelle de tels microorganismes est donc énorme.

D'après Hinshelwood (3), l'autosynthèse au sein des cellules présente quelque analogie avec la croissance des cristaux

et les réactions de condensation, puisqu'il y a formation de longues chaînes de protéines, de constituants d'acides nucléiques et de polysaccharides à partir de substances d'un poids moléculaire peu élevé.

Un examen des ouvrages consacrés à ce problème fait voir que le mécanisme de ces nombreuses réactions nécessaires à l'entretien et à la multiplication de la cellule est loin d'être élucidé, en outre les modes d'attaque et d'assimilation varient suivant les souches d'un même organisme, suivant leur état physiologique, suivant la composition chimique et les conditions physico-chimiques du milieu ambiant. Hinshelwood (3) compare les multiples réactions assurant les synthèses à un réseau compliqué, qui comprend dans son sein diverses voies: celles-ci seront empruntées, les unes ou les autres, selon les conditions de croissance. La complexité de ces réactions et les difficultés techniques à les suivre ont permis de procéder uniquement par étapes pour dévoiler ces nombreux mécanismes. La consultation de l'« Annual Review of Biochemistry » avec ses différents chapitres, comme « Metabolism of Proteins and Amino Acids, Carbohydrate Metabolism, Intermediary Metabolism of Phosphorus Compounds, Metabolism of the Lipids, Mineral Metabolism », donnera une idée de la complexité énorme dans le mécanisme des réactions métaboliques.

Cette activité chimique des microorganismes est due à l'action catalytique de composés déterminés qui sont les enzymes. L'enzymologie, qui est devenue un champ d'activité immense en chimie biologique, a donné naissance à une vaste littérature.

Gale (2) définit les enzymes comme suit: « Les enzymes sont des substances organiques produites par la cellule vivante. Elles catalysent des réactions spécifiques en augmentant la vitesse de réaction, sans altérer ni la nature ni les proportions des produits de réactions et sans ajouter de l'énergie au système réagissant. La vitesse de réaction est proportionnelle à la concentration de l'enzyme. » La définition des catalyseurs de la chimie minérale étant transposée en quelque sorte en chimie biologique, les enzymes sont donc des biocatalyseurs. La définition de Schlenk (4) est la même, elle fait ressortir le rôle quantitatif et qualitatif des protéines dans la structure des enzymes ainsi que leur masse moléculaire élevée.

A cause du nombre élevé des réactions métaboliques et de la spécificité des enzymes, le nombre d'enzymes de la cellule microbienne est considérable. On parle de la constitution enzymatique d'un microorganisme. En général on peut affirmer qu'un pourcentage très élevé des protéines cellulaires fait partie de la constitution enzymatique. Cette constitution et son activité dépendent de nouveau de la totalité des conditions physico-chimiques du milieu.

Il faut distinguer entre les enzymes de constitution que l'organisme possède toujours indépendamment de la composition chimique du milieu nutritif et les enzymes d'adaptation, qui peuvent apparaître en fonction du substrat présent dans le milieu de culture.

En ce qui concerne les microorganismes, qui sont capables de synthétiser leur protoplasme à partir de constituants relativement simples, il faut admettre qu'ils ne disposent pas seulement de toutes les enzymes nécessaires aux différentes activités métaboliques, mais qu'ils sont également en état de synthétiser toutes ces enzymes impliquées dans leur activité. « Growth of a cell never occurs without the reproduction of the enzyme » (3).

Parmi les microorganismes qui ne se développent pas, citons *Saccharomyces cerevisiae*. Son comportement est confirmé historiquement par les travaux mémorables de Pasteur, de Liebig et de Wildiers (5, 6) sur la structure de la levure de bière. Si celle-ci ne se développe pas dans un milieu déterminé, alors elle ne possède pas toutes les enzymes ou parties d'enzymes nécessaires aux différentes réactions chimiques. Seulement si on lui fournit des composés déterminés, soit en les incorporant d'avance au milieu de culture, soit en les introduisant avec l'inoculat, il y a croissance normale. Il faut donc un apport minime de substances à valeur énergétique nulle, mais à valeur fonctionnelle très élevée.

Puisque ces facteurs influencent la croissance, on les appelle facteurs de croissance. On les nomme aussi vitamines microbiennes (parce qu'elles sont pour les microorganismes l'équivalent des vitamines pour les animaux supérieurs) ou, d'après Hæhn (6), « Träger des Stoffwechsels höherer Ordnung ».

Lwoff (7, 8), parmi d'autres, s'est préoccupé particulièrement de ces facteurs en 1936. Il les a définis comme étant des

substances quelconques qu'un microorganisme ne peut pas synthétiser et en absence desquelles toute multiplication est impossible. Les différentes définitions qui se sont suivies au cours des recherches ont donné lieu à des discussions. La définition de Lwoff engloberait des ions inorganiques. Snell (7) les définit comme des substances organiques quelconques qui ne peuvent être synthétisées par l'organisme et qui doivent être fournies à l'état préformé.

Quel est donc le rôle de ces facteurs de croissance?

Ils jouent un rôle physiologique éminemment important. Ce sont pour la plupart ou bien des groupements prosthétiques agissant comme coenzyme ou bien ils participent à la formation du groupement prosthétique d'une enzyme déterminée, catalysant une réaction spécifique, « ils servent donc comme unité structurale dans la synthèse de certaines enzymes » (7), « jouent donc à ce titre un rôle fondamentale dans un ou plusieurs processus métaboliques indispensables » (8). D'après Karrer (9), les vitamines sont des bases d'édification des ferments. A cause de leur rôle catalytique, l'organisme microbien n'a besoin que de quantités très minimes.

Les microorganismes, n'ayant besoin d'aucun facteur de croissance dans un milieu indiqué, sont rangés dans la littérature anglo-saxonne parmi les « non-exacting microorganisms » (2), les autres, aux exigences nutritives spécifiques, sont classés parmi les « nutritionnally exacting microorganisms ».

Quelle est l'explication de cette différence de comportement?

D'après Lwoff (8), le besoin d'un facteur de croissance est dû à la perte du pouvoir d'en réaliser la synthèse. Il se manifeste donc par une perte de fonction, mais ceci dans les conditions particulières du milieu envisagé. Cette incapacité synthétique peut se rapporter au groupement prosthétique tout entier ou seulement à une de ses parties. Rappelons que la synthèse de n'importe quelle vitamine implique de nouveau toute une série d'étapes enzymatiques, dont nous n'avons que très peu de données. On peut ainsi distinguer deux groupes d'enzymes: ceux qui interviennent dans la synthèse de nouvelle matière cellulaire et dans les réactions énergétiques et ceux qui sont engagés dans la synthèse des systèmes enzymatiques eux-mêmes.

Certains microorganismes n'ont besoin que d'un seul facteur. Celui-ci est donc défini pour un organisme déterminé. D'autres microorganismes en nécessitent plusieurs.

Selon Polonovski (10), l'unité des phénomènes biologiques à l'étape cellulaire suscite des besoins fondamentaux, peu différents d'une espèce à l'autre. On peut même parler de l'uniformité des processus cellulaires fondamentaux. Si donc les deux groupes de microorganismes précités présentent un comportement différent dans des milieux nutritifs analogues, c'est que l'un d'eux a perdu le pouvoir de synthétiser une ou plusieurs enzymes ou parties d'enzymes: il serait condamné à mort, si on ne lui ajoutait pas le ou les coenzymes en question à l'état préformé.

Quels sont les principaux facteurs de croissance?

Dans l'énumération des principaux facteurs de croissance il n'y a pas toujours concordance de la part des auteurs. Celle de Snell (7) nous a paru la plus logique:

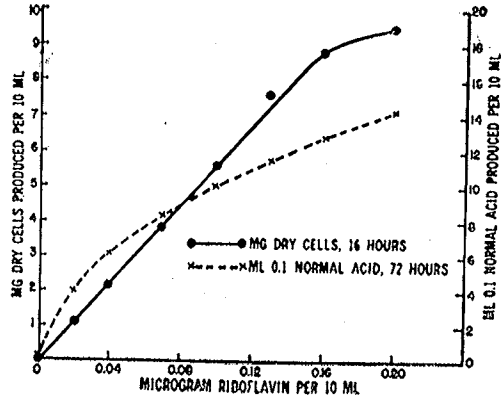
Acide para-aminobenzoïque,
Acide folique,
Biotine,
Hémine,
Acide nicotinique,
Acide pantothénique,
Riboflavine,
Thiamine,
Vitamine B_6,
Vitamine B_{12},
Vitamine K,
Choline.

A cette liste il ajoute encore 18 acides aminés.

Ce qui frappe dans ce tableau, c'est le fait que les facteurs de croissance indiqués sont loin de présenter la même structure. On y voit figurer surtout les représentants du groupe vitaminique B, vitamines d'effets très divers et de structure chimique complètement différente. La présence d'acides aminés nous montre que les facteurs de croissance ne sont pas forcément des constituants enzymatiques, mais des composés qu'un organisme ne peut pas synthétiser. Selon Fildes (8), ce sont des méta-

bolites essentiels, utilisés universellement dans l'édification de la matière vivante. Ce terme a été créé par lui en 1940.

L'addition des facteurs de croissance aux milieux synthétiques se manifeste nettement sur la courbe de croissance. On sait aujourd'hui que la vitesse de croissance dépend de la vitesse de synthèse d'un de ces facteurs et que la présence de ce facteur à l'état préformé dans le milieu de culture provoque un développement plus rapide qu'une synthèse du facteur considéré à partir des constituants du milieu. (Voir sur la figure l'action de la riboflavine sur la croissance de *Lactobacillus casei* [7].)



Growth and acid production of *Lactobacillus casei* as a function of riboflavin concentration. (From Snell, 1948 a.)

Signalons ici les dosages microbiologique des facteurs de croissance à l'aide de la courbe de croissance. C'est Lwoff (7) qui a recommandé pour la première fois l'emploi des micro-organismes pour le dosage des facteurs de croissance.

Dans cet ordre d'idées il faut distinguer entre les facteurs de croissance essentiels dont la présence est absolument indispensable et les facteurs de croissance stimulants dont la présence accélère beaucoup le taux de croissance d'un organisme. Un organisme sensible à un facteur de croissance stimulant peut le synthétiser, mais à une vitesse réduite.

Schopfer (11) s'est occupé particulièrement de la croissance de la levure de bière. Les exigences de *Saccharomyces cerevisae* en facteurs de croissance sont les suivantes: Thiamine, inositol, biotine, β-alanine, acide pantothénique, vitamine B_6. Tout manuel de chimie biologique présente des tableaux dans lesquels la

teneur élevée de la levure de bière en vitamines du groupe B est significative.

Les facteurs de croissance interviennent donc activement dans la synthèse des biocatalyseurs. Leur rôle dans l'activité cellulaire pendant la croissance est loin d'être négligeable.

*

BIBLIOGRAPHIE.

1. Gunsalus J.-C.: Growth of Bacteria in Bacterial Physiology by Werkman C. H. and Wilson P. W. 1951, Academic Press Inc., New York.

2. Gale E.-F.: The chemical activities of Bacteria. 1948, London, University Tutorial Press L. T. D., 2nd ed.

3. Hinshelwood C.-N.: Reaction Patterns in Bacterial Metabolism in First International Symposium on Chemical Microbiology: Microbial Growth and its Inhibition. WHO, 1952, 10, Genève, Palais des Nations.

4. Schlenk F.: Bacterial Enzymes and the Theory of Action in Bacterial Physiology. — Voir 1.

5. Simonart P.: Introduction à la Microbiologie Générale. Editions Desoer, Liège.

6. Hæhn H.: Biochemie der Gärungen. (Unter besonderer Berücksichtigung der Hefe.) 1952, Walter de Gruyter, Berlin.

6. Snell E.-E.: Bacterial Nutrition, Chemical Factors in Bacterial Physiology. — Voir 1.

8. Lwoff A.: Les facteurs de croissance dans l'Evolution physiologique, Etudes des pertes de fonction chez les microorganismes. 1944, Hermann, Paris.

9. Karrer P.: Chimia Suisse, janvier 1947, 1 S. 3-12.

10. Polonovski M.: Données récentes sur les Ptérines dans Exposés Annuels de Biochimie Médicale. 1950, 11, Masson, Paris.

11. Schopfer W.-H.: Plant and Vitamines, published 1943 by the Chronica Botanica Co, Waltham, Mass., U.S.A.