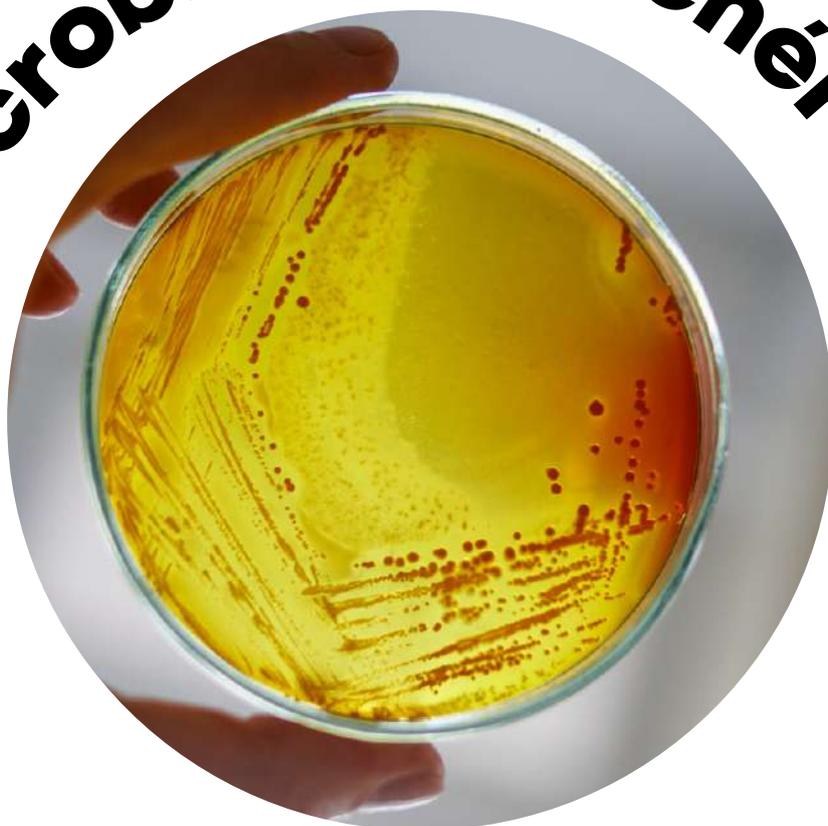


Microbiologie Générale



SCIENCES DE LA
VIE



Shop



- Cahiers de Biologie + Lexique
- Accessoires de Biologie



Etudier



Visiter [Biologie Maroc](http://www.biologie-maroc.com) pour étudier et passer des QUIZ et QCM en ligne et Télécharger TD, TP et Examens résolus.



Emploi



- CV • Lettres de motivation • Demandes...
- Offres d'emploi
- Offres de stage & PFE

MONDE MICROBIEN

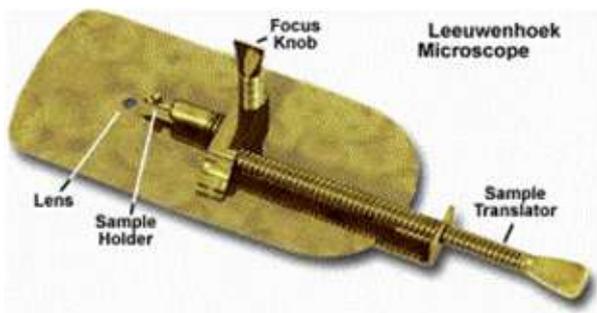
I. Introduction

Les bactéries peuplent la Terre depuis plusieurs milliards d'années et il a fallu que l'Homme invente le microscope pour pouvoir les observer. En effet, en 1673, **Antony Van Leeuwenhoek** (1632-1723), en utilisant un microscope rudimentaire qu'il a fabriqué lui-même, a découvert les micro-organismes.



Antony Van Leeuwenhoek (1632-1723)

Il a été le premier à décrire ce nouveau monde qu'on a appelé «Monde des animalcules».



Microscope de Van Leeuwenhoek

Ce n'est que deux siècles plus tard que le rôle des bactéries dans les processus de fermentation et dans la transmission des maladies a été découvert et que leur étude a commencé. Les scientifiques les plus illustres de cette époque étaient **Louis Pasteur et Robert Koch**.

II. Place des microorganismes dans le monde vivant

La découverte des nouvelles formes microscopiques vivantes (algues, champignons, levures, protozoaires, bactéries) rendait difficile leur classement dans le règne animal ou végétal, connus à l'époque. En effet, tout ce qui était mobile était rapproché des animaux et tout ce qui était immobile et photosynthétique (vert) était rapproché des végétaux (Tableau 1).

Tableau 1 : Rapprochement de certains micro-organismes des règnes animal et végétal.

Végétaux <i>(Immobilés et photosynthétiques)</i>	Groupes contestés	Animaux <i>(Mobiles et non photosynthétiques)</i>
Algues (photosynthétiques) : - Formes immobilés Champignons : - Vrais champignons	- <i>Flagellés photosynthétiques</i> - <i>Myxomycètes</i>	Petits métazoaires : - Rotifères - Certains nématodes - Certains arthropodes Protozoaires : - Flagellés non photosynthétiques - Ciliés - Amibes

Cependant, des microorganismes ayant à la fois des caractéristiques animales et végétales ont posé des problèmes (Tableau 1).

Exemples :

- les **myxomycètes** étaient considérées comme **champignons** par les **botanistes** et comme **protozoaires** par les **zoologistes**.
- les euglènes étaient considérées comme **algues** par les **botanistes** et comme **protozoaires** par les **zoologistes**.

Ces problèmes ont partiellement été résolus, en 1866, par **Haeckel** (zoologiste allemand, disciple de Darwin) qui a proposé la création d'un 3^{ème} règne (en plus des règnes animal et végétal), celui des **Protistes**, pour regrouper les algues, les protozoaires, les champignons et les bactéries.

La différence majeure entre les protistes, d'une part, et les animaux et les végétaux, d'autre part, réside au niveau de l'organisation biologique (Tableau 2). Les protistes sont des organismes simples, possédant souvent des cellules pas ou très peu différenciées, du même type et indépendantes. Les animaux et les végétaux, quant à eux, sont des organismes complexes, ayant des cellules bien différenciées qui s'organisent en tissus pour former des organes.

Tableau 2 : Classification de Haeckel (1866)

Propriétés	Végétaux	Animaux
Multicellulaires, différenciation cellulaire en tissus et organes	Plantes vasculaires et Bryophytes	Vertébrés et Invertébrés

Protistes	
Unicellulaires, cœnocytiques ou multicellulaires ; avec très peu ou pas de différenciation cellulaire	<ul style="list-style-type: none"> - Algues - Protozoaires - Champignons - Bactéries

En raison de leur petite taille (en général, 0,1 à 2 µm de diamètre et 0,5 à 5 µm de long), la structure interne des bactéries n'a été élucidée qu'après l'invention du microscope électronique. Ceci a permis de montrer que les bactéries (et les cyanophycées) diffèrent de toutes les cellules animales et végétales. En effet, ces dernières (cellules animales et végétales) possèdent un vrai noyau, entouré d'une membrane nucléaire. Leur cytoplasme est formé d'un hyaloplasme où baignent des organites cellulaires variés ; elles sont dites « **Eucaryotes** ». Quant aux bactéries (et les cyanophycées), elles ne possèdent pas de vrai noyau, mais un appareil nucléaire diffus (un seul chromosome) non entouré d'une membrane nucléaire. Elles sont dites « **Procaryotes** » (Tableaux 4 et 5).



Staphylocoques

[groupés en amas (grappes) observés au microscope électronique]

Remarque : Il existe une troisième forme cellulaire, proche des bactéries par la petite taille, le cytoplasme et l'appareil nucléaire diffus, mais différente par la composition chimique de la paroi et de la membrane, entre autres. Il s'agit des **archéobactéries**.

III. Classification biologique contemporaine

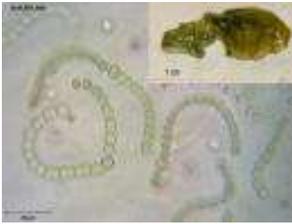
Tableau 3 : Classification biologique contemporaine

<i>Eucaryotes</i>	<i>Procaryotes</i>	<i>Organismes non cellulaires</i>
<ul style="list-style-type: none"> - Plantes vasculaires et Bryophytes - Animaux (métazoaires) - Protistes supérieurs : <ul style="list-style-type: none"> + Algues (sauf cyanophycées = cyanobactéries) + Protozoaires + Champignons 	<ul style="list-style-type: none"> - Protistes inférieurs : <ul style="list-style-type: none"> + Bactéries + Cyanobactéries 	<p>Virus</p>

IV. Classification des protistes procaryotes (selon Stanier)

1- Cyanophycées :

Elles sont uni ou pluricellulaires, photosynthétiques.



Nostoc commune

2- Myxobactéries :

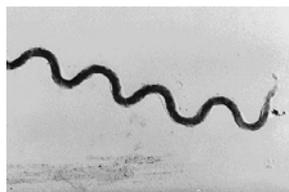
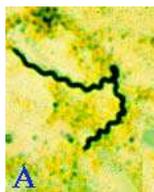
Elles sont toujours unicellulaires et non photosynthétiques ; elles se déplacent par glissement.



3- Spirochètes :

Elles possèdent une structure **hélicoïdale** ; on distingue deux familles :

- *Spirochetaceae* : ex. : *Critispira*, parasite du tube digestif des Mollusques.
- *Treponemaceae* : ex. : *Treponema pallidum* , agent de la syphilis.



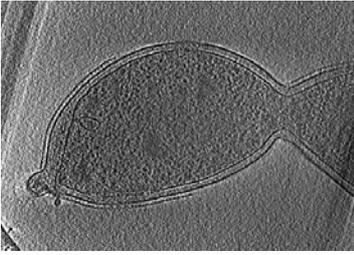
4- Eubactéries :

- Eubactéries **photosynthétiques**.



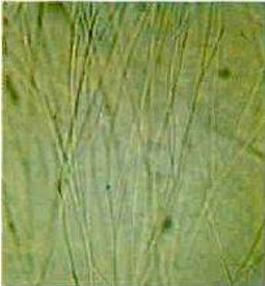
- Eubactéries **non photosynthétiques** : groupe le plus important en bactériologie.

- Eubactéries **pédonculées**.



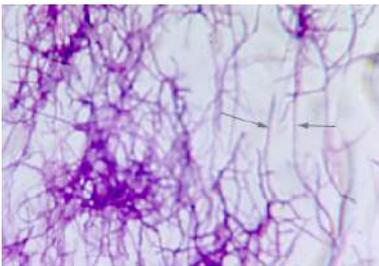
Caulobacter

- Eubactéries **filamenteuses**.



Sphaerotilus

- Eubactéries **mycéliennes** (Actinomycètes).

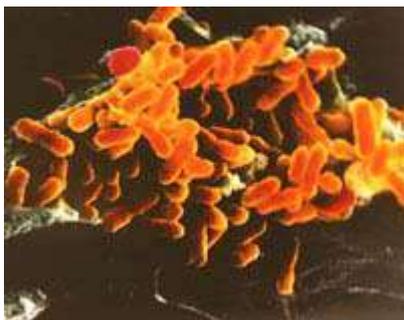


Exemples :

- + *Mycobacterium tuberculosis* : agent de la tuberculose.
- + *Mycobacterium leprae* : agent de la lèpre.
- + *Streptomyces griseus* : producteur d'un antibiotique, la streptomycine.

5- Autres groupes :

- **Rickettsies** : parasites intracellulaires obligatoires (ex.: l'agent du typhus)

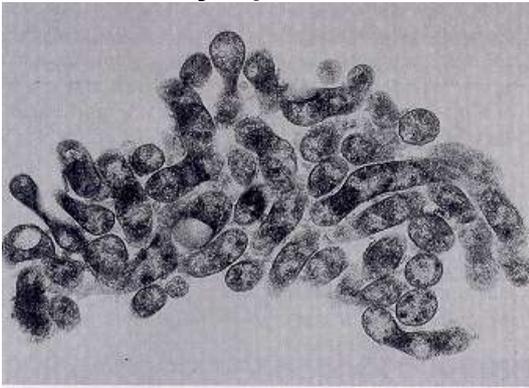


- **Chlamydiés** : parasites intracellulaires obligatoires n'infectant que les vertébrés (ex: agents de maladies vénériennes et de conjonctivites)



Inclusion de *Chlamydia* à l'intérieur d'un lymphocyte sanguin (voir flèche)

- **Mycoplasmes** : bactéries dépourvues de paroi.



V. Comparaison cellule eucaryote – cellule procaryote

1. Génome

Tableau 4 : comparaison des génomes des eucaryotes et des procaryotes

	Cellule eucaryote	Cellule procaryote
* Structure de l'appareil nucléaire : - membrane nucléaire - nombre de chromosomes	Présente N > 1	Absente 1
* Sites de l'information génétique :	- Noyau - Chloroplastes - Mitochondries	- Chromosome - Plasmides
* Division :	Mitose	Amitose (réplication et séparation de la double hélice)
* Introns (*) :	Présents	Absents

(*) les **introns** sont des séquences d'ADN présentes au niveau du gène mais qui n'ont pas de séquences correspondantes sur l'ARN messager mature ; elles sont dites non codantes. Les séquences codantes sont appelées **exons**.

2. Systèmes membranaires et éléments cytoplasmiques

Tableau 5 : comparaison des systèmes membranaires et éléments cytoplasmiques des eucaryotes et des procaryotes

	Cellule eucaryote	Cellule procaryote
- Réticulum endoplasmique	+	-
- Appareil de Golgi	+	-
- Mitochondries	+	-
- Chloroplastes	chez les végétaux	-
- Lysosomes	+	-
- Micro-filaments et microtubules	+	-
- Ribosomes	80 S	70 S
- Stéroïds dans la membrane	+	_(*)
- Endo-exocytose	+	-
- Respiration	membrane mitochondriale	membrane cytoplasmique

(*) Présence en faible quantité chez les cyanophycées et chez les mycoplasmes cultivés en présence de sérum.

3. Composition chimique de la paroi

a. Eucaryotes

* Chez les *plantes supérieures*, les composants essentiels rencontrés sont :

- Cellulose
- Hémicellulose
- Pectine
- Lignine

* Chez les *algues* :

- Cellulose
- Mannanes
- Xylanes

* Chez les *champignons* :

- Chitine

b. Procaryotes

* Chez les *bactéries*, le constituant majeur de la paroi, particulièrement les bactéries Gram positives, est :

- **la muréine** encore appelée *mucopeptide* ou *peptidoglycane*.

4. Toxicité sélective

Les différences entre les cellules eucaryotes et les cellules procaryotes font que certains agents chimiques (antibiotiques par exemple) ont un effet toxique différent selon qu'il s'agisse d'une cellule eucaryote ou procaryote. Ceci est dû au fait que ces agents ont des cibles spécifiques, lesquelles peuvent exister chez un type de cellule mais pas chez l'autre. Les β -lactamines (groupe des pénicillines et céphalosporines), par exemple, ont pour cible la muréine ; elles seront par conséquent toxiques pour les bactéries mais pas pour les eucaryotes (Tableau 6)

Tableau 6 : Toxicité sélective

Cible	Agent (exemples)	Toxicité pour	
		Procaryotes	Eucaryotes
* Paroi (biosynthèse de la muréine)	- β -lactamines	+	-
* Assemblage des systèmes microtubulaires	- Colchicine	-	+
* Stéroïls de la membrane	- Mycostatine	+	-
* Réplication de l'ADN	- Acide nalidixique	+	-
* Transcription	- Rifamycine	-	+
* Traduction		+	-
- Ribosome 80 s	- Cycloheximide		
- Ribosome 70 s	- Aminosides et Tétracyclines		

VI. Taxonomie et classification des bactéries

La taxonomie (ou taxinomie) (du grec *taxis* = arrangement) est la science qui étudie les méthodes permettant de classer les organismes en groupes d'affinité, dits **taxons**.

L'espèce est l'unité **fondamentale** de la classification. Elle regroupe les organismes qui possèdent de nombreux caractères communs. A l'intérieur d'une même espèce, on distingue des **souches**.

Les bactéries peuvent être classées selon leurs caractères :

- biochimiques (en biotypes ou biovars),
- pathogéniques (en pathotypes ou pathovars),
- antigéniques (en sérotypes ou sérovars),
- moléculaires (par ex séquençage de l'ARN ribosomal, en ribotypes),
- etc...

Les bactéries peuvent aussi être classées en fonction de leur(s) :

- morphologie,
- comportement vis à vis de la coloration de Gram,
- besoins nutritionnels,
- capacité de photosynthèse,
- exigences en O₂,
- etc...

STRUCTURE BACTERIENNE

I. Introduction

Chez les bactéries, on distingue des structures obligatoires, présentes chez toutes les bactéries et des structures dont la présence est facultative et caractérisent certains groupes bactériens (figure 1).

Concernant les structures obligatoires, on trouve le **cytoplasme**, généralement constitué d'un hyaloplasme où baignent essentiellement des **ribosomes** et parfois des éléments supplémentaires comme les substances de réserve. Dans le cytoplasme, on trouve l'**appareil nucléaire** diffus non entouré par une membrane. La **membrane cytoplasmique** qui entoure le cytoplasme possède deux feuillets phospholipidiques contenant des protéines. Au dessus de la membrane cytoplasmique, on trouve la **paroi** (sauf chez les mycoplasmes) qui forme une enveloppe rigide.

Les structures facultatives, quant à elles, peuvent être des polymères de surface comme la **capsule**, des appendices comme les **flagelles** et les **pili** ou des structures génétiques comme les **plasmides** (molécules d'ADN extrachromosomiques). Les **endospores** caractérisent quelques genres bactériens (*Bacillus* et *Clostridium*); elles ne sont élaborées que lorsque les conditions de vie deviennent défavorables.

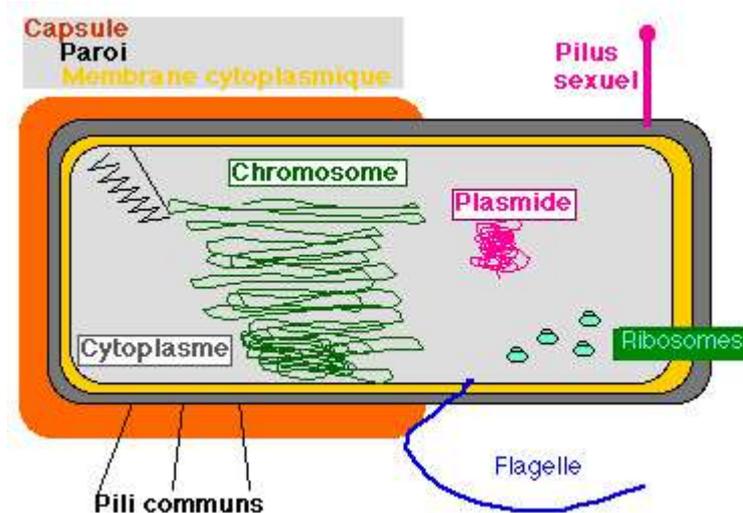


Figure 1 : Représentation schématique montrant les différentes structures bactériennes

II. Paroi

1. Historique

En 1884, un médecin danois, Christian **GRAM** a fait la distinction entre deux types de bactéries: **Gram⁺** et **Gram⁻**. Ceci a été possible après avoir coloré un frottis bactérien comme suit:

1. Coloration des bactéries par le violet de Gentiane
2. Addition d'une solution de lugol (solution iodo-iodurée, de mordantage)
3. Traitement par l'alcool ou un mélange alcool + acétone.

Après la troisième étape, certaines bactéries restent colorées en violet, elles sont dites **Gram⁺** ; d'autres se décolorent, elles sont dites **Gram⁻**.

Ceci montre donc qu'il existe des différences (de structure et/ou chimiques) entre ces deux types de bactéries.

Pour pouvoir bien observer les bactéries décolorées, on utilise la fuchsine après le traitement par l'alcool.

Les bactéries Gram⁺ gardent leur coloration violette alors que les Gram⁻ prennent une coloration rose-rouge (figure 2).

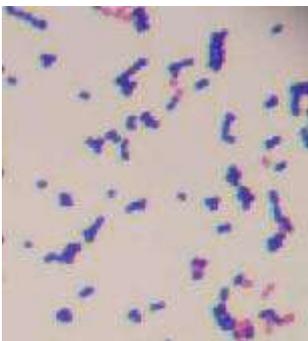


Figure 2 : Mélange de bactéries Gram⁺ (violette) et Gram⁻ (roses)

Par la suite, d'autres expériences ont permis d'élucider les différences entre Gram⁺ et Gram⁻ :

- Des bactéries G⁺ colorées en violet sont traitées par le lysozyme qui attaque le peptidoglycane de la paroi; ceci a pour résultat l'obtention de formes cellulaires dépourvues de paroi, appelées **protoplastes** (voir figure 3.A). *Pour éviter que les protoplastes éclatent, il faut travailler dans un milieu légèrement hypertonique (addition de saccharose)..*

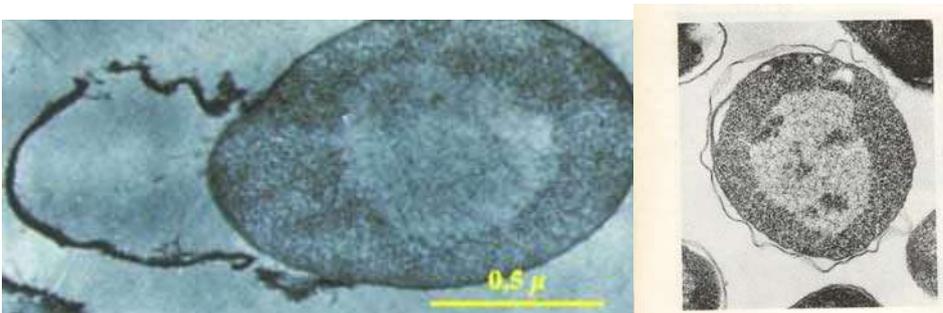


Figure 3 : A: Protoplaste

B: Sphéroplaste

Notez que les bactéries Gram⁻, traitées par le lysozyme, produisent des formes cellulaires qui gardent une partie de leur paroi; elles sont appelées sphéroplastes (figure 3.B)

Ces protoplastes gardent leur coloration violette ce qui montre que la coloration a lieu au niveau du cytoplasme.

- Quand on traite ces protoplastes par l'alcool, ils se décolorent; ceci prouve que c'est la paroi qui empêche les bactéries Gram⁺ de se décolorer. La paroi Gram⁻, par contre, est perméable à l'alcool.

Ces expériences montrent clairement que la différence de comportement des bactéries vis à vis de la coloration de Gram est due à des différences entre la paroi Gram⁺ et la paroi Gram⁻.

Plus tard, l'invention du microscope électronique et le développement des techniques d'analyse biochimiques ont permis de bien élucider les différences structurales et de composition chimique existant entre la paroi G⁺ et la paroi G⁻.

La paroi des bactéries Gram⁻ est riche en lipides (tableau 1), ce qui la rend perméable à l'alcool qui décolore le cytoplasme, alors que la paroi des Gram⁺ est imperméable à l'alcool et le cytoplasme reste coloré en violet.

Tableau 1 : Comparaison de la paroi Gram positif et Gram négatif.

	Paroi Gram⁺	Paroi Gram⁻
Épaisseur	20 à 80 nm	10 à 15 nm
Aspect en microscopie électronique	Une couche épaisse	Deux couches séparées par un espace clair
Membrane externe	-	+
Espace périplasmique	-	+
Muréine	Épais	Mince
Acides téichoïques	+++	-
Osamines	++	+
Acides aminés : - Nombre - Pourcentage	- 4 à 10 AA différents - 24 à 35 %	- 16 à 17 AA différents - 50 %
Lipides	1 à 2,5 %	10 à 22 %

2. Rôle de la paroi

Un bacille Gram⁺ traité par le lysozyme donne une forme cellulaire sphérique. Ceci montre que c'est la paroi qui confère la forme à la bactérie. Elle constitue, en effet, une enveloppe rigide qui évite aux bactéries de s'éclater malgré la forte pression osmotique qui règne à l'intérieur du cytoplasme. Elle constitue le squelette externe de la bactérie et représente environ 30 % du poids total de la bactérie.

Elle joue aussi un rôle déterminant dans la spécificité antigénique des bactéries (ex.: Antigène O de *Salmonella*)

3. Différentes formes bactériennes

La forme est très variable au sein du monde bactérien. On distingue généralement des formes sphériques (coques ou cocci), cylindriques (bacilles) et spiralées (voir figures ci-dessous). Certains bacilles peuvent être incurvés (*Vibrio cholerae*).

Les bactéries sont en général groupées entre elles selon des modes de groupement spécifiques. Chez les coques, on peut distinguer les diplocoques (paires), les streptocoques (chaînes), les staphylocoques (amas en forme de grappes de raisin) ou les tétrades (sarcines). Les bacilles se présentent soit en paires soit en chaînes (streptobacilles). Le mode de groupement est déterminé par le mode de division; il peut aider dans l'orientation de l'identification des bactéries.

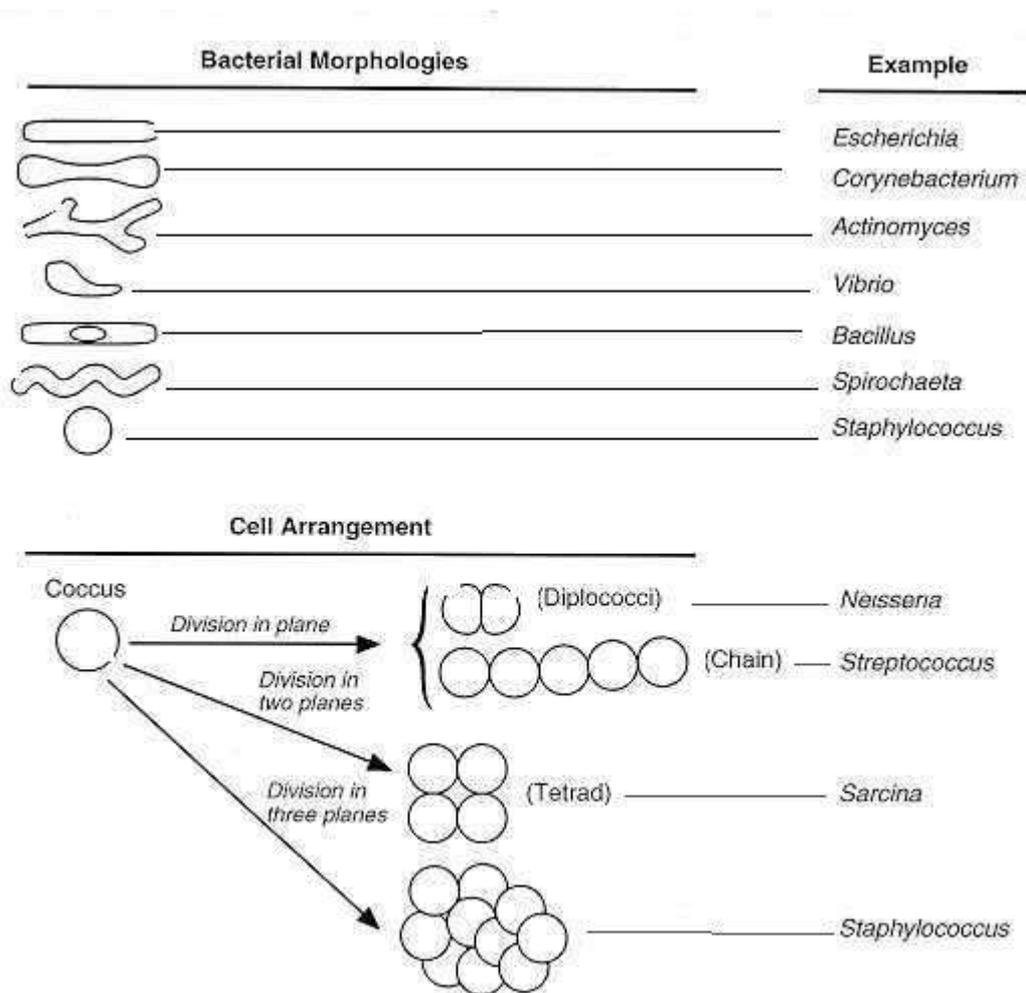


Figure 4 : Différentes formes et différents modes de groupement rencontrés chez la majorité des bactéries

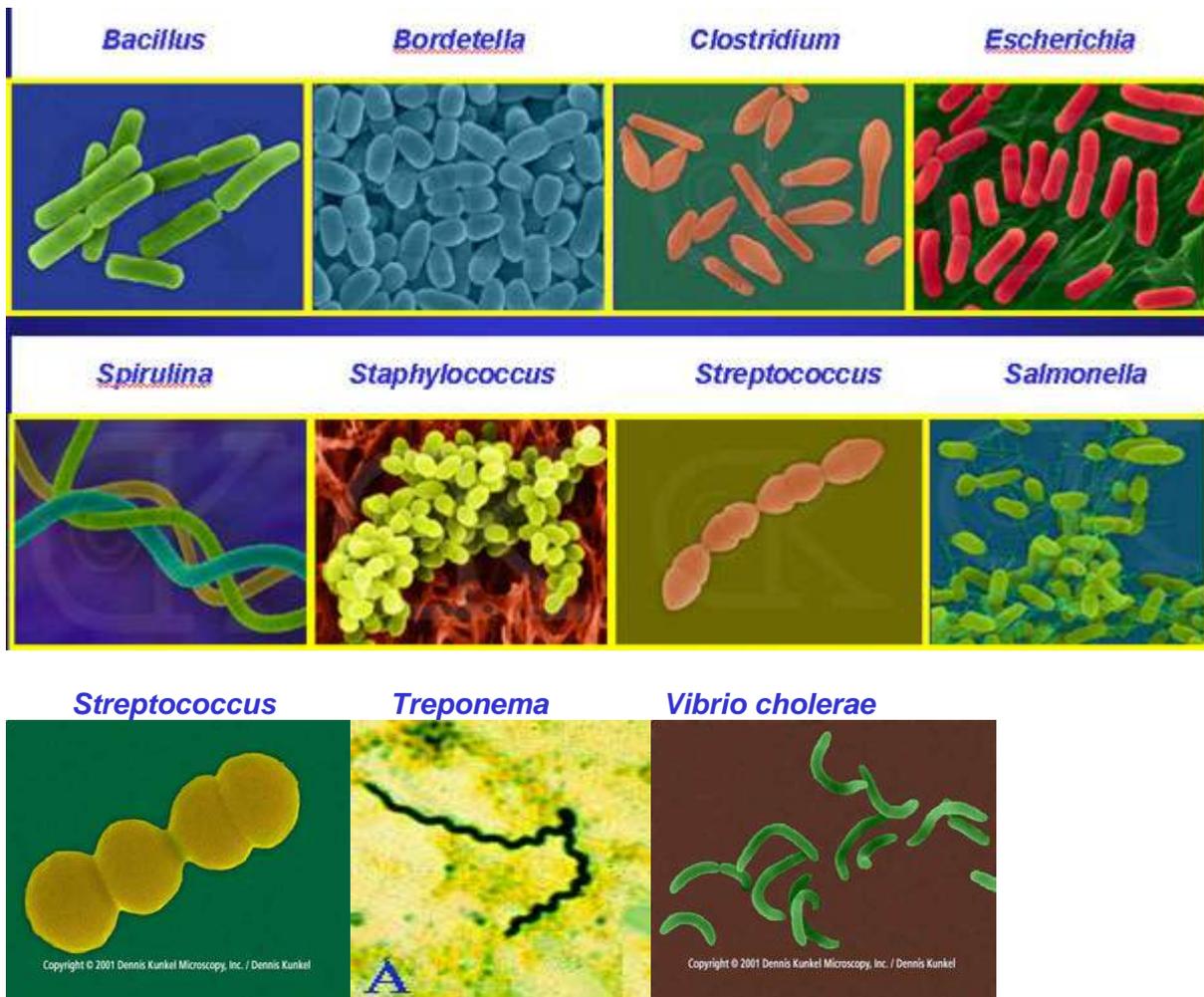
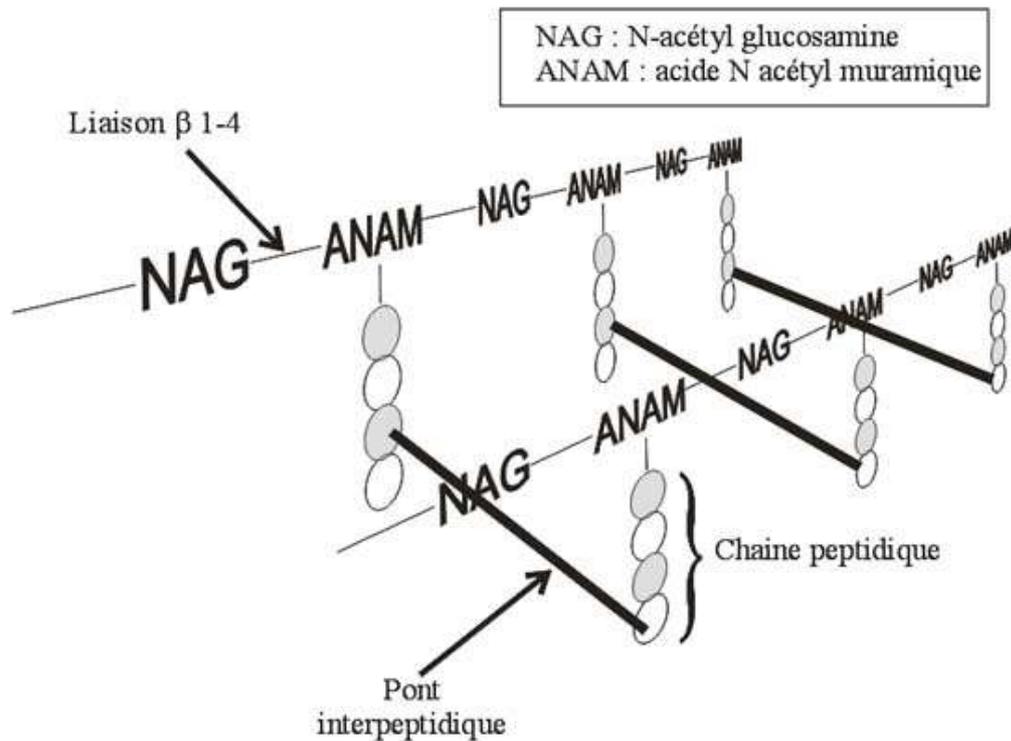


Figure 5 : Exemples de formes couramment rencontrées dans la nature
 (Notez que *Spirulina* est une algue)

4. Structure de la paroi

L'un des constituants essentiels qui caractérisent les parois bactériennes est la **muréine** (peptidoglycane ou mucopeptide) (figure 6). Il s'agit d'un hétéropolymère complexe formé de 3 éléments différents :

1. une structure composée d'une alternance de molécules de N-acétyl glucosamine et d'acide N-acétyl muramique ;
2. des chaînes latérales peptidiques, composées de 4 acides aminés et attachées à l'acide N-acétyl muramique ;
3. un ensemble de ponts inter-peptidiques.



Le peptidoglycane.

R.Moreda Lycée Lacroix Narbonne

Figure 6 : structure schématique du peptidoglycane

Dans le monde bactérien, on rencontre essentiellement deux types de paroi :

1- paroi épaisse et dense (figure 7):

Elle est constituée essentiellement de muréine, pouvant représenter jusqu'à 90 % des constituants de la paroi bactérienne, à laquelle sont associés des acides téichoïques. Cette structure caractérise la paroi des bactéries à Gram+ (figure 7).

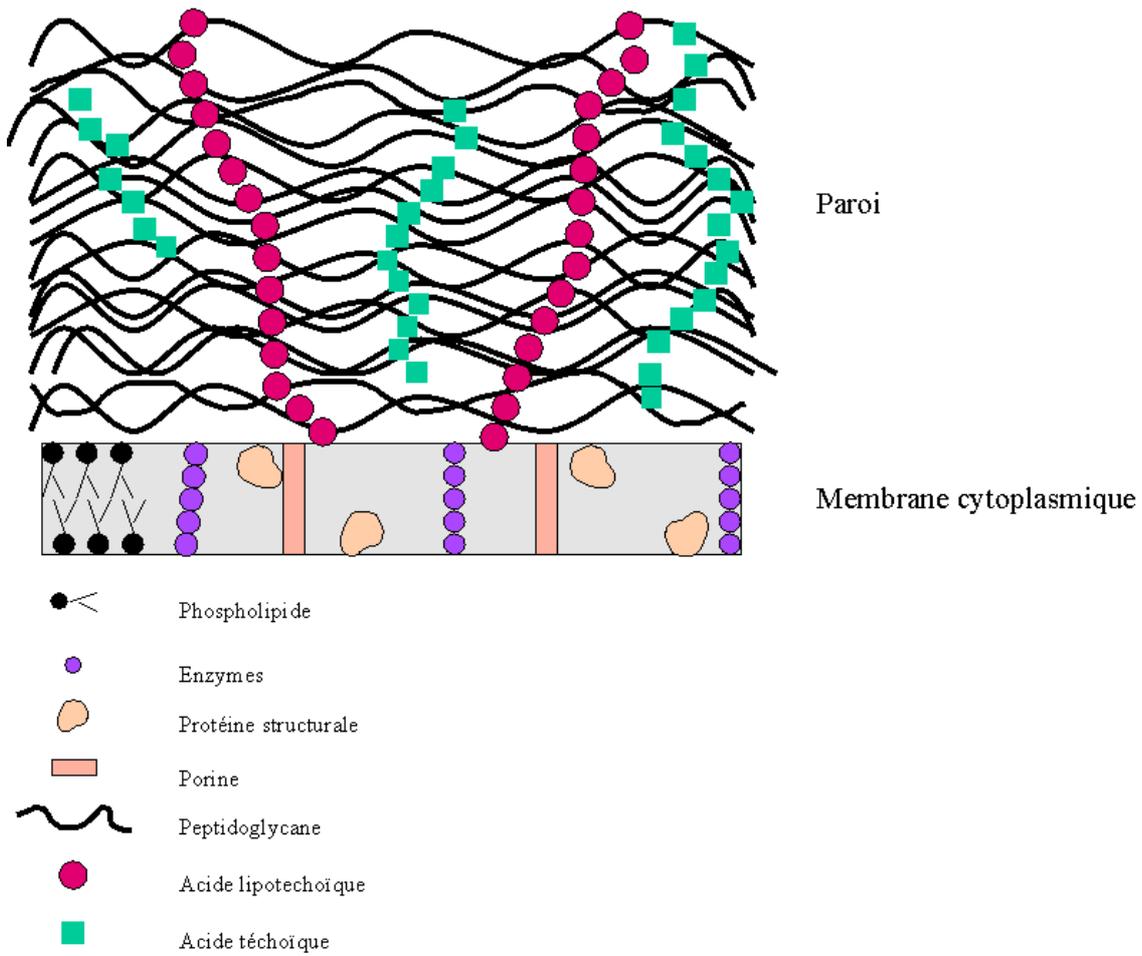


Figure 7.A : Schéma de la paroi des bactéries à Gram positif

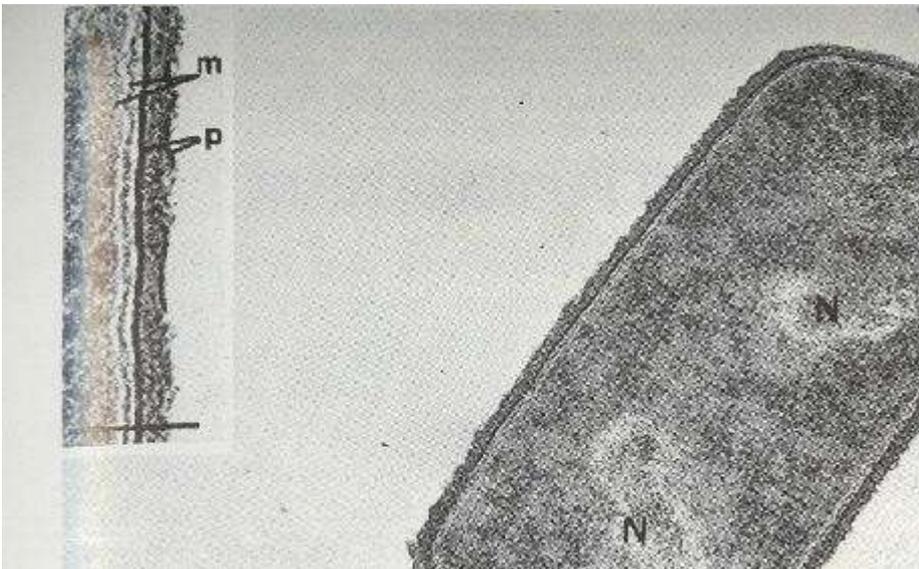


Figure 7.B : Paroi des bactéries à Gram positif vue au microscope électronique
(N: appareil nucléaire; p : paroi; m : membrane cytoplasmique)

2- paroi fine et lâche (figure 8):

Elle caractérise les bactéries à Gram négatif. Elle a une structure relativement complexe constituée d'une fine couche de mucopeptide à structure lâche (5 à 20 % des constituants de la paroi bactérienne) recouverte à l'extérieur d'une membrane externe. Cette paroi est séparée de la membrane cytoplasmique par un espace dit **espace périplasmique**.

La membrane externe est constituée de lipides (phospholipides et lipopolysaccharides) organisés en deux couches hydrophiles séparées par une couche hydrophobe. Dans l'épaisseur de cette membrane sont associées des protéines, qui peuvent être des **protéines de structure** ou des **porines** qui permettent le passage de petites molécules telles que les antibiotiques.

Les lipopolysaccharides les plus externes portent les **antigènes O** des bactéries et constituent l'**endotoxine** des bactéries.

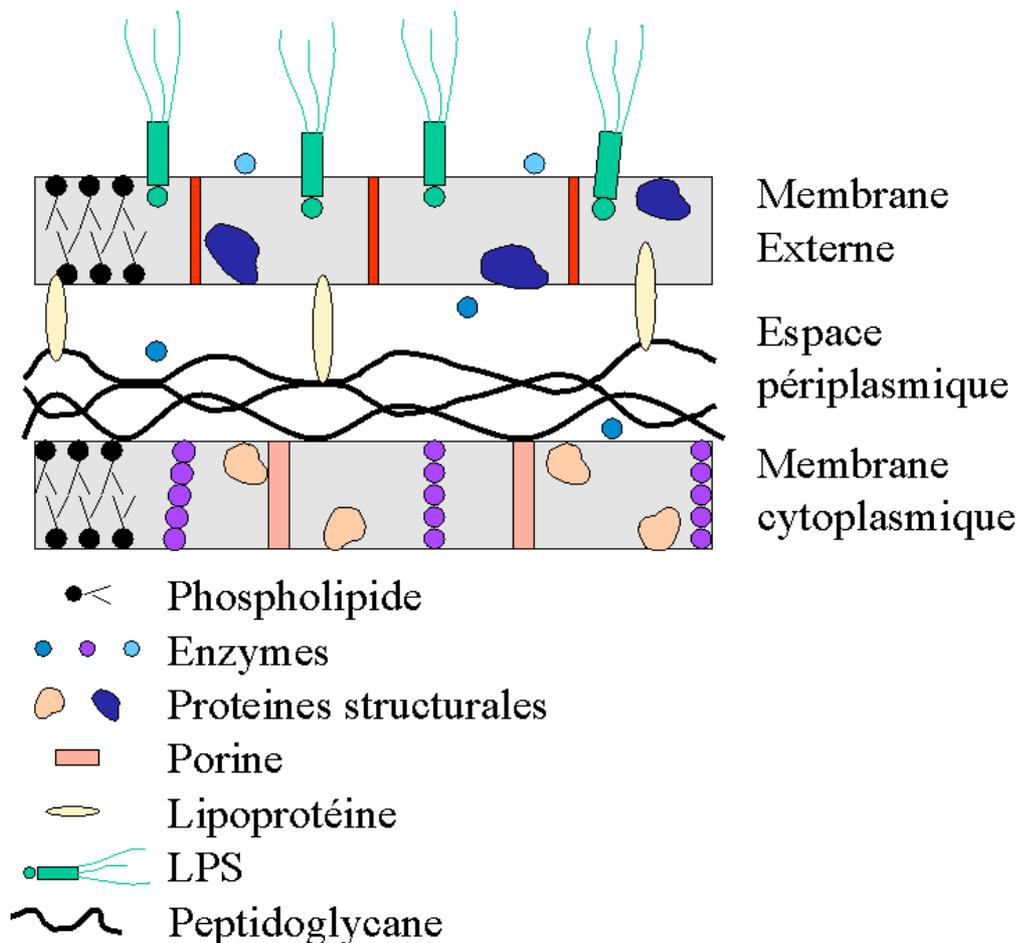


Figure 8.A : Schéma de la paroi des bactéries à Gram négatif

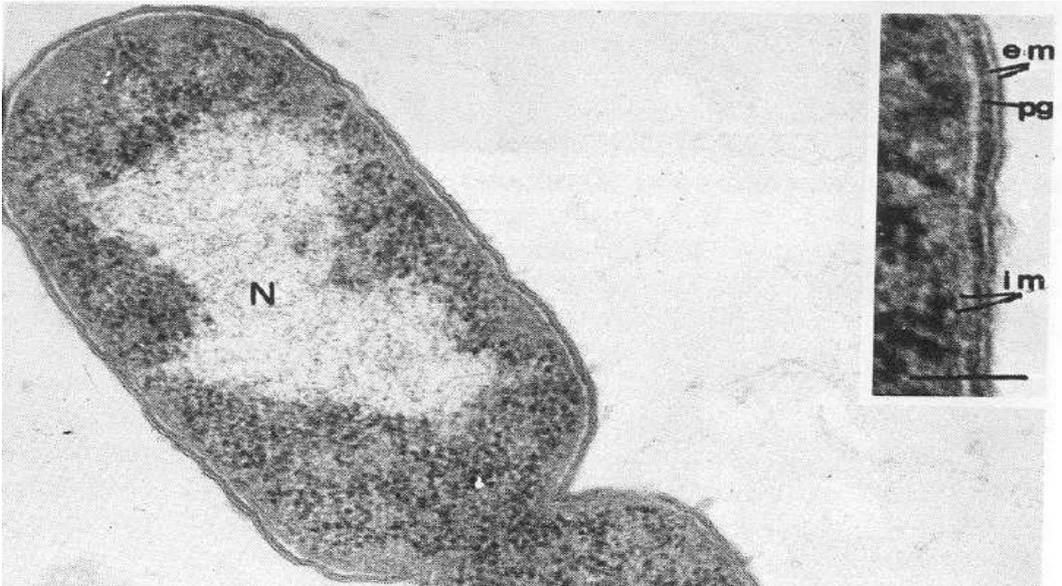


Figure 8.B : Paroi des bactéries à Gram négatif vue au microscope électronique (N: appareil nucléaire; em: membrane externe; im: membrane cytoplasmique; pg: peptidoglycane)

III. Flagelles

Les flagelles, encore appelés cils, sont des structures bactériennes facultatives. Ce sont des organes filamenteux, permettant la locomotion des bactéries. Chez les entérobactéries ils permettent une vitesse de déplacement de 10 à 20 micromètres par seconde; à l'échelle humaine, cette vitesse correspondrait à environ une soixantaine de km / h.

Ils sont longs d'une dizaine de μm et ont un diamètre qui varie entre 12 à 30 nanomètres. Ils sont composés de protéines (**flagellines**), d'un PM de 15 à 70 kDal. Leur nombre varie de 1 à 30 selon les espèces bactériennes. Ils sont souvent rencontrés chez les bacilles et rarement chez les coques.

Ils jouent un rôle important dans la spécificité antigénique des bactéries (antigènes H).

Vu leur faible épaisseur, pour pouvoir les observer au microscope photonique, on fait appel à des techniques de coloration spéciales qui permettent l'épaississement des flagelles (figure 9).



Figure 9 : Cellules flagellées de *Vibrio cholerae*

Les flagelles sont attachés dans le cytoplasme bactérien par une structure complexe (figure 10). Ils sont constitués de trois parties: un filament hélicoïdal, un crochet (hook) et un corpuscule basal avec deux ou quatre disques (ring).

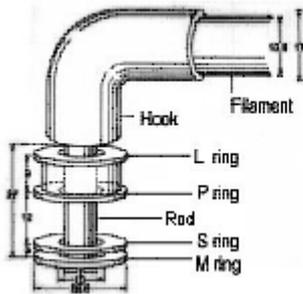
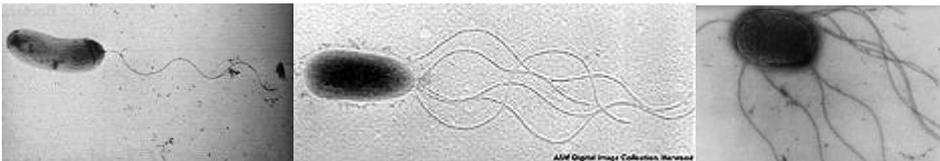


Figure 10 : Structure d'insertion du flagelle

Selon la disposition des flagelles (figure 11), on distingue les bactéries **monotriches** (un seul flagelle polaire), amphitriche (un flagelle à chaque pôle), **lophotriches** (une touffe de flagelles polaires) ou **péritriches** (flagelles répartis sur toute la surface de la bactérie). Les spirochètes possèdent un flagelle interne appelé filament axial (figure 12).



Ciliature monotriche Ciliature lophotriche Ciliature péritriche

Figure 11 : Différents systèmes ciliaires bactériens

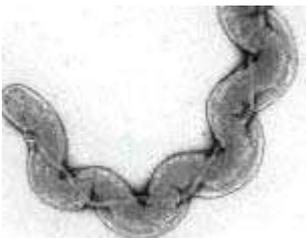


Figure 12 : Leptospire avec flagelle interne.

IV. Pili

Il s'agit d'appendices de surface plus fins que les flagelles que l'on trouve fréquemment chez les bactéries à Gram négatif et rarement chez les bactéries à Gram positif.

On en distingue deux types :

- **Les pili communs** (ou fimbriae):

Courts et cassants, très nombreux (parfois quelques centaines par bactérie), de 2 à 3 μm de long, disposés régulièrement à la surface de la bactérie (figure 13). Ils

jouent un rôle dans **l'agglutination** des bactéries et leur **attachement aux muqueuses** par exemple.

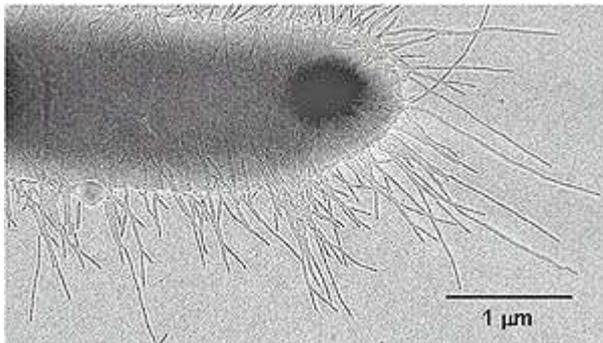


Figure 13 : Pili communs chez *Escherichia coli*

- Les pili sexuels :

Plus longs que les pili communs (jusqu'à 20 µm) mais en nombre plus restreint (1 à 4). Ils sont codés par des gènes plasmidiques (le prototype = facteur F). Ils existent uniquement chez les bactéries mâles (donatrices). Ils jouent un rôle essentiel dans l'attachement des bactéries entre elles au cours de la conjugaison (figure 14). Ils peuvent aussi servir de support de fixation pour certains bactériophages.

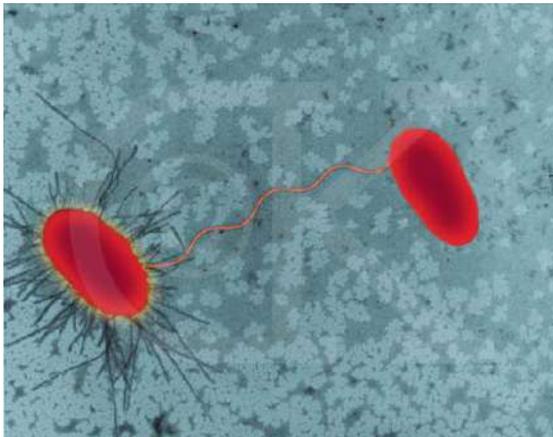


Figure 14 : Bactéries en conjugaison, liées par un pilus sexuel

V. Capsule

C'est un constituant facultatif rencontré chez certaines espèces bactériennes (ex.: *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*). Il s'agit de la formation la plus superficielle. Sa mise en évidence s'effectue par coloration négative (encre de Chine par exemple); la capsule apparaît alors en clair sur fond noir (figure 15). On peut aussi l'observer après la coloration de Gram (figure 16).

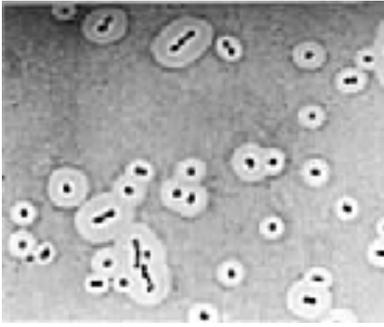


Figure 15 : Streptocoques avec capsule (coloration à l'encre de Chine)



Figure 16 : Coques capsulées (coloration de Gram)

La capsule est généralement de nature **polysaccharidique** et rarement polypeptidique (ex.: chez *Bacillus anthracis*).

Les bactéries capsulées, après développement sur milieu gélosé, donnent des colonies lisses (appelées "S" pour "Smooth") ou muqueuses, alors que les bactéries non capsulées donnent des colonies rugueuses (dites "R" pour "Rough"); il s'agit dans ce dernier cas de bactéries ayant perdu la capacité de synthèse de la capsule suite à une mutation.

La capsule joue un rôle important non seulement dans l'attachement des bactéries mais aussi dans leur **virulence** en les protégeant contre la phagocytose. Les cellules non capsulées sont **avirulentes**.

La capsule est antigénique, les antigènes capsulaires sont dénommés **antigène K**. Leur étude permet la distinction de plusieurs sérotypes au sein de la même espèce bactériennes.

VI. Endospores

Les bactéries appartenant à certains genres, notamment les genres *Bacillus* et *Clostridium*, placées dans des conditions défavorables de survie, (lorsque leur milieu s'épuise, par exemple), forment des **endospores** ; on parle alors de **sporulation**. La spore est donc une forme de résistance aux conditions défavorables de vie, avec conservation de toutes les aptitudes génétiquement déterminées. Durant la sporulation, la

cellule végétative subit une déshydratation progressive du cytoplasme, par l'apparition de certaines composés (dipicolinate de calcium), une densification des structures nucléaires et enfin la synthèse d'une paroi sporale épaisse, imperméable, et donc hautement résistante (figure 17). Elle est douée d'une résistance à la chaleur, à la dessiccation et aux radiations et est imperméable à plusieurs agents chimiques.



Figure 17 : Endospore avec ses enveloppes protectrices, observée au microscope électronique

Replacée dans des conditions favorables, la spore **germe** et redonne une cellule végétative identique à celle qui lui a donné naissance.

La spore contient, sous forme condensée, le génome et une partie du cytoplasme déshydraté autour d'une enveloppe très résistante. La spore intracellulaire est libérée dans le milieu extérieur et y survit des années. Elle peut résister pendant longtemps voire des milliers d'années (certaines espèces de *Bacillus*).

Le processus de sporulation débute à la fin de la phase de croissance exponentielle et il se déroule en plusieurs étapes (figure 18):

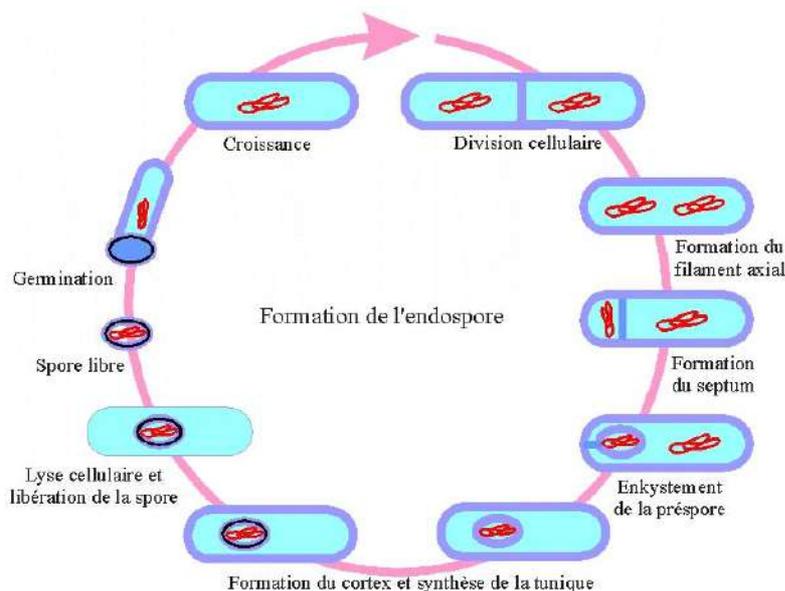
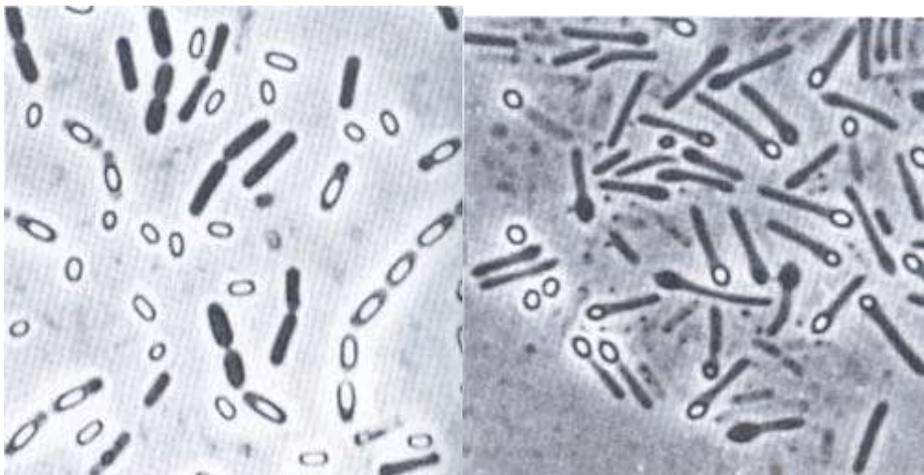


Figure 18 : Représentation schématique de la formation de la spore

- stade I : dit du **filament axial** caractérisé par la présence d'un matériel nucléaire qui s'étend sur toute la longueur de la cellule et qui correspond à 2 génomes.
- stade II, les deux génomes se séparent et en même temps la membrane cytoplasmique s'invagine près d'un pôle de la cellule pour former un **septum** de sporulation qui partage la cellule en deux parties inégales.
- stade III : le septum de sporulation va envelopper le cytoplasme de la plus petite partie pour former une **présore**.
- stade IV : la **paroi sporale** se forme entre les deux membranes limitant la présore, puis apparaît le **cortex**.
- stades V et VI : les **tuniques** sont élaborées et, après maturation, la cellule mère se lyse et libère la spore mature.

La forme et la situation de la spore dans la cellule sont caractéristiques de l'espèce. Elle permet l'orientation de l'identification des bactéries sporulantes. Elle peut être sphérique ou ovale, centrale, terminale ou subterminale, déformante (diamètre > diamètre de la bactérie) ou non déformante (figure 19).



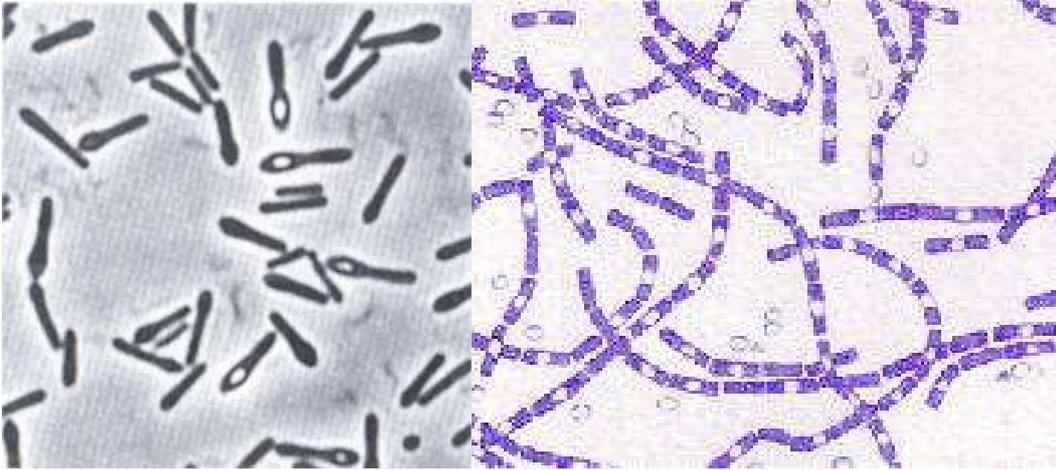


Figure 19 : Différentes situations de la spore

Sauf exception (*Clostridium disporicum*), on ne trouve qu'**une seule spore par cellule**.

Les spores peuvent être la cause de certaines contaminations d'origine tellurique (tétanos par exemple) ou de toxi-infections (botulisme).

METABOLISME ET NUTRITION BACTERIENS

I. Introduction

Pour assurer sa croissance ou sa survie, une bactérie doit trouver dans son environnement de quoi satisfaire ses besoins nutritifs: sources d'énergie, de carbone, d'azote, etc...

Ces éléments doivent être apportés dans un milieu où règnent des conditions physico-chimiques favorables (température, pH, pression osmotique, etc...).

Le métabolisme est l'ensemble des réactions biochimiques mises en jeu par un organisme pour permettre sa croissance (figure 1).

Les réactions métaboliques peuvent être classées en deux catégories:

- celles qui produisent de l'énergie: catabolisme.
- celles qui consomment de l'énergie: anabolisme ou biosynthèse.

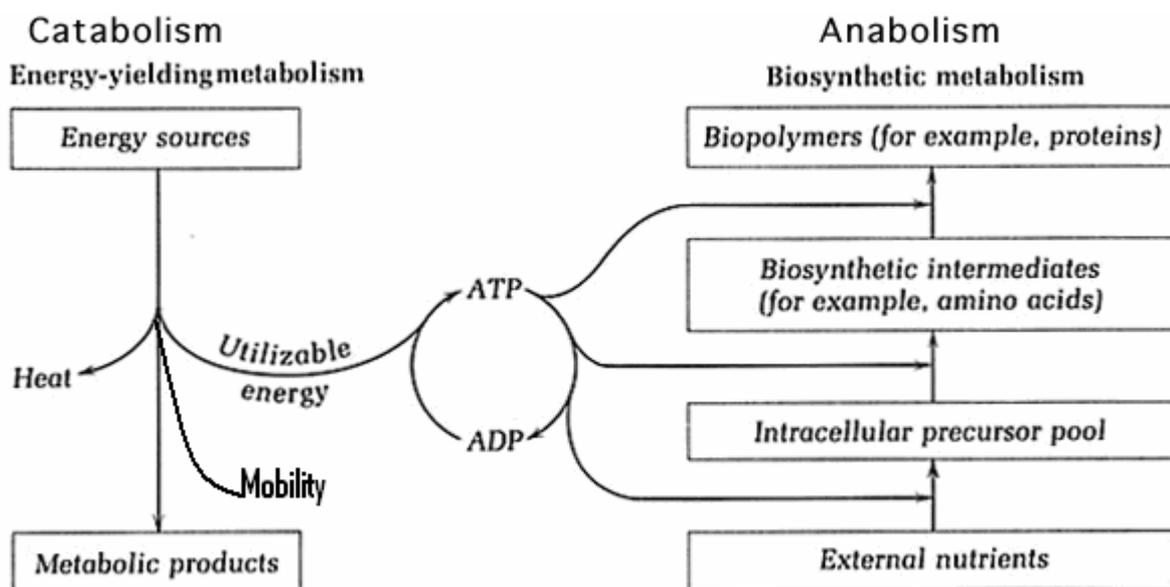


Figure 1 : Représentation schématique simplifiée montrant la relation entre le catabolisme et l'anabolisme

II. Métabolisme énergétique et types respiratoires

II.1. Métabolisme énergétique

Une bactérie, pour qu'elle puisse synthétiser ses constituants et se déplacer, doit dépenser de l'énergie. Cette énergie est procurée soit par photosynthèse (cas des bactéries photosynthétiques) soit par des réactions biochimiques d'oxydoréduction. On définit alors deux types trophiques:

- énergie lumineuse → **phototrophie**.

- énergie chimique → **chimiotrophie**.

Cette énergie est stockée dans des liaisons chimiques comme l'ATP (Adénosine triphosphate; figure 2).

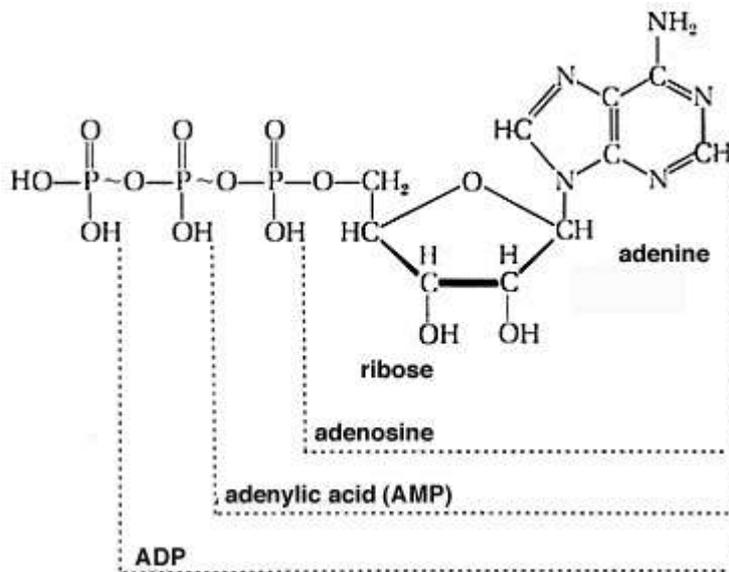


Figure 2 : Structure de l'ATP

Energie

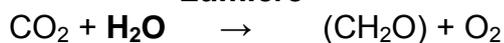


La bactérie, quand elle a besoin d'énergie, utilise l'ATP → ADP + Pi (PO₄³⁻) + Energie

II.1.1. Phototrophie (tableau 1)

* **Chez les plantes**, la photosynthèse peut se résumer ainsi :

Lumière



H₂O est le donneur d'électrons.

La photosynthèse a lieu au niveau des chloroplastes grâce aux pigments chlorophylliens.

* **Chez les bactéries photosynthétiques**, il n'existe pas de chloroplastes; la bactériochlorophylle est dispersée dans le cytoplasme sous forme de **chromatophores**.

On peut résumer leur photosynthèse comme suit:

Lumière



RH₂ est le donneur d'électrons.

Chez les bactéries, le donneur d'électrons **n'est jamais H₂O** ; sa nature chimique permet de distinguer deux types trophiques. Il peut être:

- minéral → **photolithotrophie**

- organique → **photoorganotrophie**

Tableau 1 : Comparaison entre la photosynthèse chez les organismes eucaryotes et chez les bactéries*

	Eucaryotes	Bactéries
Organismes	plantes, algues	bactéries vertes et pourpres
Type de chlorophylle	chlorophylle a absorbe à 650-750nm	bactériochlorophylle absorbe à 800-1000nm
Photosystème I (photophosphorylation cyclique)	présente	présente
Photosystème II (photophosphorylation non cyclique)	présente	absente
Production de O₂	oui	non
donneur d'électrons	H ₂ O	H ₂ S, autres composés soufrés ou certains composés organiques

* les cyanobactéries possèdent la photosynthèse des plantes supérieures

Pendant la photosynthèse, deux types de réactions ont lieu (figure 3):

- l'énergie lumineuse est absorbée par les pigments chlorophylliens, puis transformée en énergie de liaison (ATP) grâce à un système de transfert des électrons (light reaction).

- réactions de biosynthèse (dark reaction) pendant lesquelles l'énergie stockée sous forme d'ATP est utilisée pour les biosynthèses bactériennes effectuées à partir du CO₂ (ou de composés organiques).

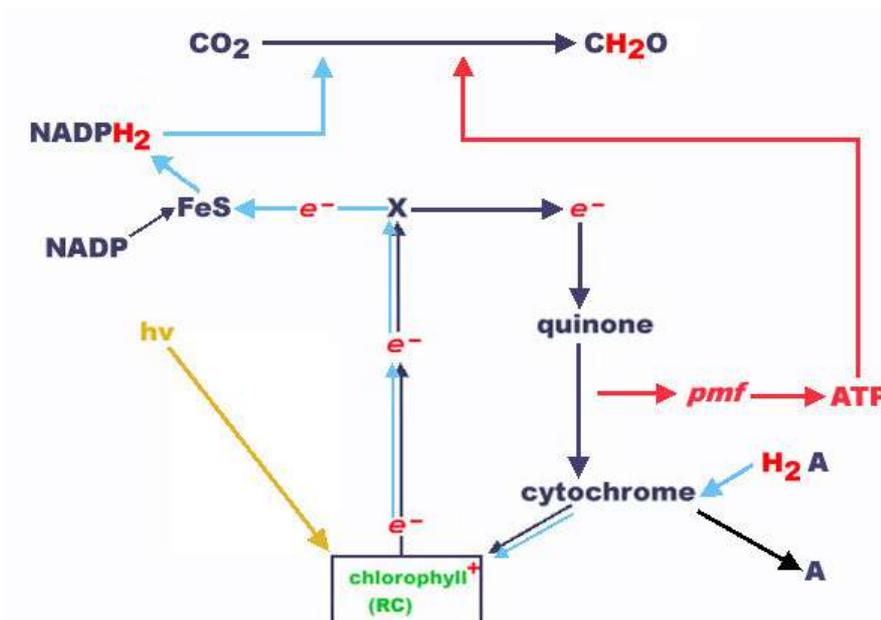


Figure 3 : Schéma montrant le couplage des réactions de photosynthèse
 pmf: proton motive force; H₂A: donneur externe d'électrons; X: ferredoxine

II.1.1.1. Photolithotrophes

Elles sont anaérobies strictes et utilisent les sulfures ou H_2 comme donneurs d'électrons. L'oxydation des sulfures produit des grains de soufre qu'on trouve dans le cytoplasme bactérien. On rencontre deux familles:

- *Chlorobacteriaceae* (bactéries vertes sulfureuses)
- *Thiorodaceae* (bactéries pourpres sulfureuses).

II.1.1.2. Photoorganotrophes

- *Athiorodaceae* (bactéries pourpres non sulfureuses).

Elles utilisent, comme leur nom l'indique, des substrats organiques comme donneurs d'électrons.

Dans la plupart des cas, la photosynthèse n'est pas obligatoire; à l'obscurité, les bactéries deviennent chémoorganotrophes.

II.1.2. Chimiotrophie

La majorité des bactéries rencontrées dans la nature sont dépourvues de pigments chlorophylliens et sont par conséquent incapables de faire la photosynthèse. Elles doivent donc se procurer de l'énergie à partir de réactions chimiques d'oxydoréduction.

L'ATP est produit lors de deux types de réactions de phosphorylation.

II.1.2.1. Phosphorylation au niveau du substrat (figure 4)

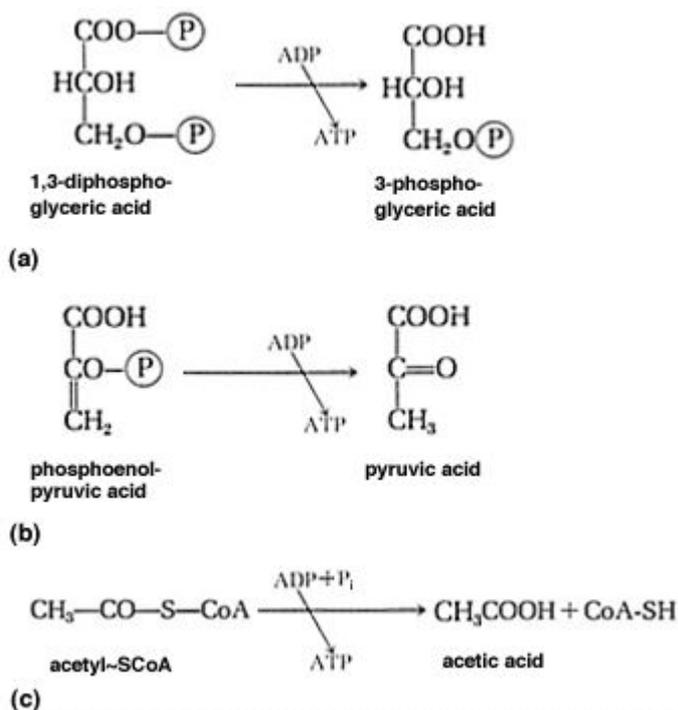
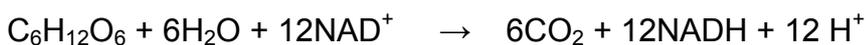


Figure 4 : Exemples de réactions de phosphorylation au niveau du substrat rencontrées chez les bactéries

II.1.2.2. Phosphorylation oxydative (chaîne de transfert des électrons)

La chaîne de transfert des électrons, encore appelée chaîne respiratoire, à laquelle sont associées les phosphorylations oxydatives, a une structure très complexe comparable à celles des cellules eucaryotes mais il existe des différences notables d'une bactérie à l'autre (voir exemples ci-dessous).

En admettant, **pour simplifier**, que le seul transporteur soluble d'électrons au cours du métabolisme respiratoire soit le NAD^+ , l'oxydation complète du glucose par la voie aérobie du cycle tricarboxylique correspond à la réaction globale suivante:



La chaîne respiratoire intervient pour réoxyder les coenzymes réduits:

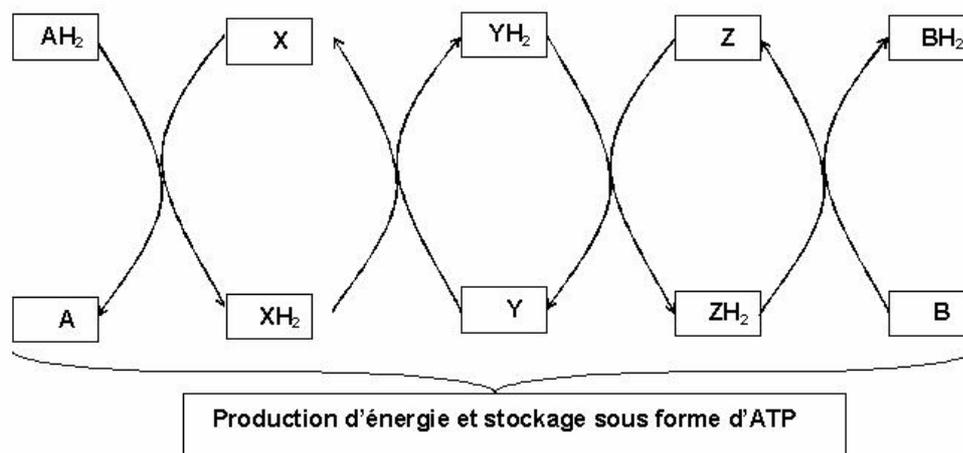


Figure 5 : Représentation schématique de la chaîne respiratoire chez les bactéries

AH₂ : Donneur d'électrons (substrat énergétique)

A : Donneur oxydé

B : Accepteur final d'électrons

Les transporteurs intermédiaires (X, Y et Z) peuvent être des co-enzymes (tableau1) tels que NAD, FAD, FMN ou des cytochromes.

En fonction de la nature du donneur, on définit deux types trophiques:

- donneur minéral → **chimolithotrophie**
- donneur organique → **chimioorganotrophie**

II.2. Types respiratoires des chimiotrophes

II.2.1. Respiration

La respiration est l'ensemble des réactions biochimiques d'oxydation procurant à l'organisme l'énergie nécessaire à ses biosynthèses essentiellement grâce à des phosphorylations oxydatives membranaires (chaîne de transfert des électrons).

On distingue deux types de réactions en fonction de la nature chimique de l'accepteur final (figure 5, tableau 2):

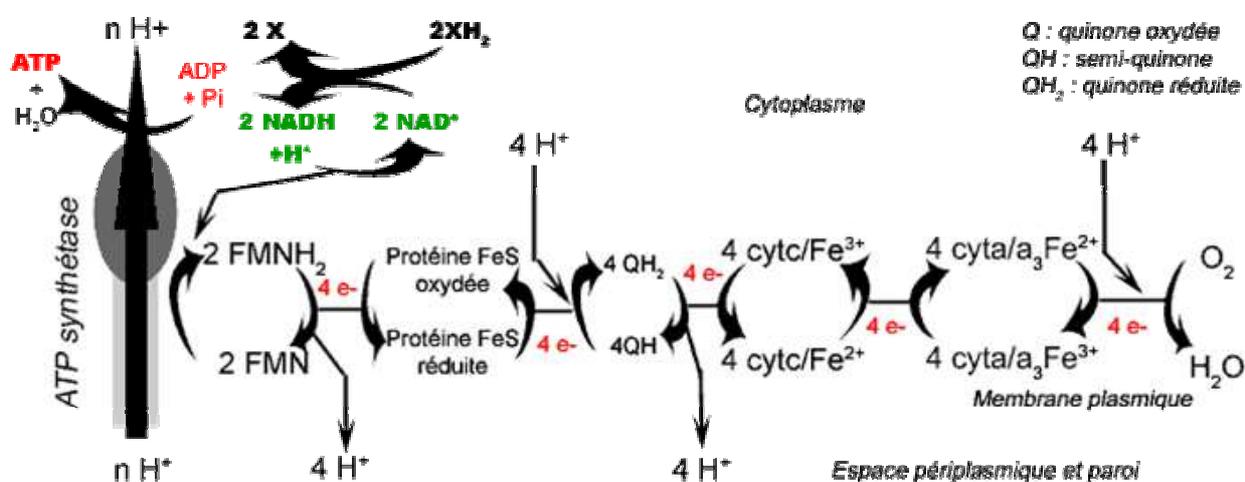
- accepteur = O_2 → **respiration aérobie**
- accepteur $\neq O_2$ → **respiration anaérobie**; l'accepteur peut être minéral (nitrates, sulfates, gaz carbonique) ou organique (ex: fumarate)

Tableau 2 : Différents accepteurs d'électrons utilisés lors de la respiration chez les bactéries

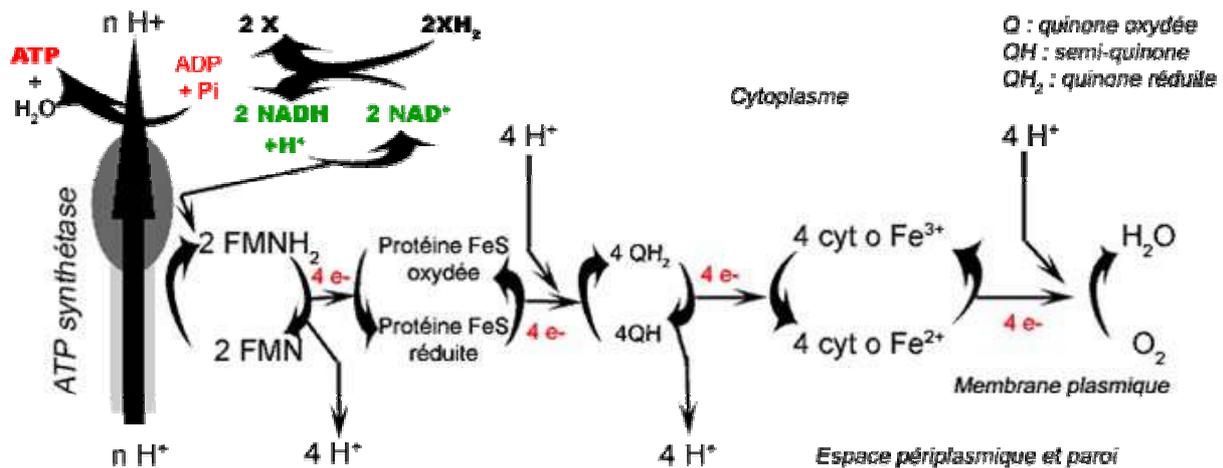
Accepteur d'électrons	Produit final réduit	Nom du processus	Exemples de microorganismes
O_2	H_2O	Respiration aérobie	<i>Escherichia coli</i> , <i>Streptomyces</i>
NO_3^-	NO_2^- , NH_3 or N_2	Respiration anaérobie (dénitification)	<i>Bacillus</i> , <i>Pseudomonas</i>
SO_4^{2-}	S or H_2S	Respiration anaérobie (réduction des sulfates)	<i>Desulfovibrio</i>
fumarate	Succinate	Respiration anaérobie utilisant un accepteur d' e^- organique	<i>Escherichia coli</i>
CO_2	CH_4	Méthanogenèse	<i>Methanococcus</i>

Exemples de chaînes respiratoires rencontrées chez les bactéries

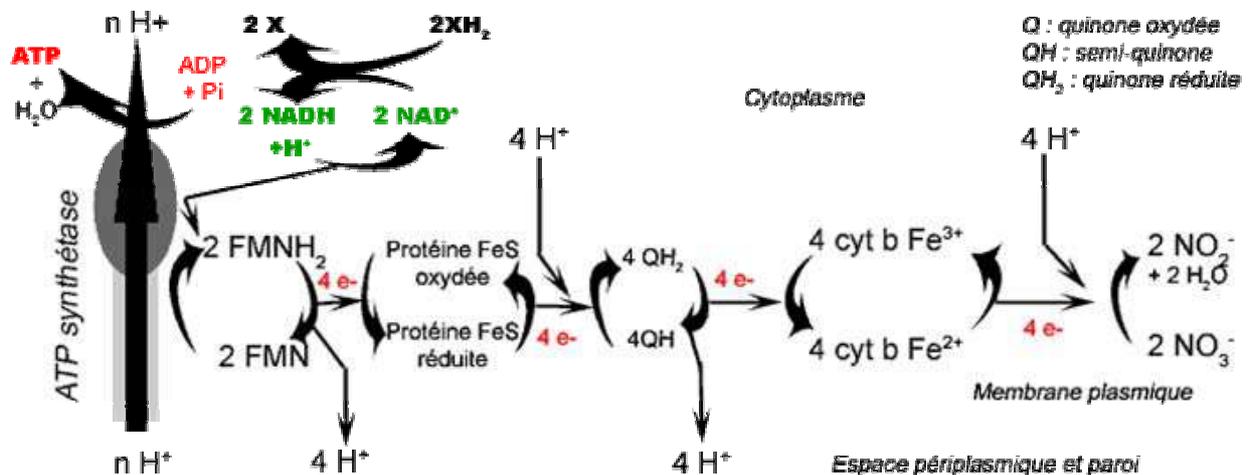
1) Respiration aérobie chez les bactéries oxydase⁺



2) Respiration aérobie chez les bactéries oxydase



3) Respiration anaérobie (nitrate comme accepteur final)



II.2.2. Fermentation

La fermentation est l'ensemble des réactions biochimiques d'oxydation qui fournissent à l'organisme de l'énergie grâce à des phosphorylations non couplées aux processus membranaires, mais ayant lieu uniquement dans le cytoplasme, au niveau du substrat.

La production d'énergie, par fermentation, est impossible chez les bactéries aérobies strictes. En aérobiose, seules les bactéries anaérobies facultatives aéro-tolérantes peuvent produire de l'énergie par fermentation; chez les bactéries anaérobies strictes et aéro-anaérobies facultatives les voies fermentatives sont réprimées en aérobiose (effet inhibiteur de l'oxygène).

La fermentation du glucose, par exemple, se fait en deux étapes:

- une première série de réactions aboutissant à l'oxydation du glucose en un composé intermédiaire (acide pyruvique);

- une seconde série conduit à un ou plusieurs produits finals (acide lactique, acétate, éthanol, etc...).

L'énergie produite par fermentation est nettement inférieure à celle procurée par respiration. Exemple: l'oxydation complète du glucose en CO₂ et H₂O, par respiration aérobie, produit 674 kcal; alors que sa fermentation en acide lactique ne produit que 22,5 kcal.

Ceci explique le faible rendement de croissance obtenu en anaérobiose, comparé à celui obtenu au cours des processus respiratoires.

III. Source de carbone

Certaines bactéries peuvent utiliser le gaz carbonique de l'air ou ses sels (carbonates) comme seule source de carbone; elles sont dites **autotrophes**. Elles sont donc capables de synthétiser la matière organique à partir de cette source minérale.

Parmi ces bactéries, on distingue:

- les autotrophes **strictes** qui exigent le CO₂ comme source de carbone unique
- les autotrophes **facultatives** qui peuvent utiliser le CO₂ et le carbone organique.

Pour la majorité des bactéries, la source de carbone est **organique**; elles sont dites **hétérotrophes**.

Parmi ces bactéries on distingue:

- celles qui sont capables de se développer en présence d'une seule source de carbone organique (glucose par exemple); elles sont appelées **prototrophes**. A partir de cette source, elles sont capables de synthétiser tout ce dont elles ont besoin comme substance organique.

- d'autres bactéries, notamment parmi les souches parasites, sont incapables de synthétiser certaines substances indispensables à leur croissance (**facteurs de croissance**) à partir de la seule source de carbone organique fournie; il faut donc les leur apporter dans le milieu; elles sont dites **auxotrophes**.

Les facteurs de croissance regroupent les **acides aminés**, les **vitamines** et les **bases azotées (purines et pyrimidines)**.

Tableau 3 : Exemples de vitamines utilisées par les bactéries

Vitamine	Forme du coenzyme	Fonction
Biotine	Biotine	Réactions de biosynthèse qui demandent la fixation du CO ₂
Acide nicotinique	NAD (nicotinamide adénine dinucléotide) et NADP	Transporteurs d'e ⁻ dans les réactions de déshydrogénation
Pyridoxine (B₆)	Pyridoxal phosphate	Transamination, désamination, décarboxylation des aminoacides
Riboflavine (B₂)	FMN (flavine mononucléotide) et FAD (flavine adénine dinucléotide)	Réactions d'oxydoréduction
Vitamine K	Quinones et naphthoquinones	Processus de transport d'électrons

Les AA sont essentielles pour la synthèse des protéines, les vitamines pour les coenzymes (Tableau 3) et les bases azotées pour les acides nucléiques.

Les bactéries prototrophes sont capables de croître dans un milieu **minimum** contenant une seule source de carbone (glucose en général), une source d'azote et des sels minéraux. Les bactéries auxotrophes en sont incapables; il faut leur apporter, dans ce milieu, le ou les facteur(s) de croissance dont elles ont besoin.

Récapitulatif des différents types trophiques

Classe du besoin	Nature du besoin	Type trophique
Source d'énergie	lumineuse	phototrophie
	chimique	chimiotrophie
Substrat énergétique	minéral	lithotrophie
	organique	organotrophie
Source de carbone	CO ₂ (minérale)	autotrophie
	organique	hétérotrophie
Facteurs de croissance	non indispensables	prototrophie
	indispensables	auxotrophie

On peut aussi définir des types trophiques en conjuguant la source d'énergie et la source de carbone: **chimioautotrophie** et **chimiohétérotrophie**; **photoautotrophie** et **photohétérotrophie**.

IV. Source d'azote

Pratiquement toutes les bactéries sont capables d'assimiler l'ammoniac (NH₃) ou les sels d'ammonium.

Quelques unes peuvent utiliser les nitrates (NO_3^-), les nitrites (NO_2^-) ou même l'azote organique (ex: acides aminés).

Toutes ces formes d'azote sont dites **combinées**.

D'autres bactéries peuvent fixer l'azote atmosphérique gazeux (N_2); elles n'ont pas besoin d'apport d'azote combiné; on distingue:

- des fixateurs libres (exemple : *Azotobacter*)
- des fixateurs symbiotiques (exemple: symbiose entre les bactéries du genre *Rhizobium* et les plantes de la familles des Légumineuses). La fixation de l'azote gazeux a lieu dans les nodules situés au niveau des racines de la plante; ceci se fait grâce à une substance élaborée conjointement par les deux parties, la **leghémoglobine**.

V. Besoins en ions minéraux

En plus des sources d'énergie, de carbone et d'azote, les bactéries ont besoin d'ions minéraux indispensables à leur croissance. Leurs sources et fonctions ainsi que celles des autres éléments majeurs (C, O, N et H) sont indiquées dans le tableau 4.

Tableau 4 : Eléments majeurs, leurs sources et leurs fonctions dans les cellules bactériennes

Elément	% poids sec	Source	Fonction
Carbone	50	Matière organique ou CO_2	Constituant majeur du matériel cellulaire
Oxygène	20	H_2O , Matière organique, CO_2 et O_2	Constituant du matériel et de l'eau cellulaires; O_2 est aussi accepteur d'électrons dans la respiration aérobie
Azote	14	NH_3 , NO_3^- , Matière organique, N_2	Constituant des acides aminés, nucléotides, et coenzymes
Hydrogène	8	H_2O , Matière organique, H_2	Constituant majeur de la matière organique et de l'eau cellulaire
Phosphore	3	phosphate inorganique (PO_4)	Constituant des acides nucléiques, ATP, phospholipides, LPS, acides téichoïques
Soufre	1	SO_4 , H_2S , S^0 , matière organique contenant S	Constituant de la cystéine, méthionine, glutathion, plusieurs coenzymes
Potassium	1	sels de Potassium	Cation cellulaire majeur et cofacteur pour certaines enzymes
Magnésium	0,5	sels de Magnésium	Cation cellulaire, cofacteur for certaines réactions enzymatiques
Calcium	0,5	sels de Calcium	Cation cellulaire et cofacteur pour certaines enzymes et composant des endospores
Fer	0,2	sels de Fer	Composant des cytochromes et certaines ferroprotéines et cofacteur pour quelques réactions enzymatiques

Les bactéries ont par ailleurs besoin d'autres ions mais en faibles quantités; ils sont appelés **oligoéléments**. Ils agissent en tant que **cofacteurs** pour les réactions enzymatiques essentielles dans les cellules. Ajoutés en grandes quantités, ils deviennent toxiques. Exemples: manganèse, fer, zinc, cuivre et cobalt.

VI. Facteurs physico-chimiques

Les éléments énergétiques et constitutifs nécessaires à la croissance bactérienne doivent être fournis dans certaines conditions physico-chimiques, de température, de pH, de pression osmotique, etc... Ces facteurs peuvent favoriser ou inhiber la croissance bactérienne.

VI.1. Température

Les bactéries sont rencontrées dans presque tous les environnements où il y a présence d'eau. Dr. Thomas D. Brock, en 1966, a découvert des microorganismes **thermophiles extrêmes** dans les eaux bouillantes du "Yellowstone National Park". Il ne s'agit pas seulement d'une survie mais d'une croissance et d'une multiplication.

Tableau 5 : Températures minimale, maximale et optimale de certaines bactéries et archéobactéries

Espèce bactérienne	Minimum	Optimum	Maximum
<i>Listeria monocytogenes</i>	1	30-37	45
<i>Vibrio marinus</i>	4	15	30
<i>Pseudomonas maltophilia</i>	4	35	41
<i>Thiobacillus novellus</i>	5	25-30	42
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	30-37	45
<i>Escherichia coli</i>	10	37	45
<i>Clostridium kluveri</i>	19	35	37
<i>Streptococcus pyogenes</i>	20	37	40
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	25	37	42
<i>Bacillus flavothermus</i>	30	60	72
<i>Thermus aquaticus</i>	40	70-72	79
<i>Methanococcus jannaschii</i>	60	85	90
<i>Sulfolobus acidocaldarius</i>	70	75-85	90
<i>Pyrobacterium brockii</i>	80	102-105	115

Une bactérie est en général capable de croître dans un intervalle plus ou moins important (selon les espèces) de température. Il est limité par une valeur **minimale** en dessous de laquelle il n'y a plus de développement et une valeur **maximale** au dessus de laquelle la croissance s'arrête (tableau 5, figure 6). La croissance est meilleure dans un intervalle de température **optimum**.

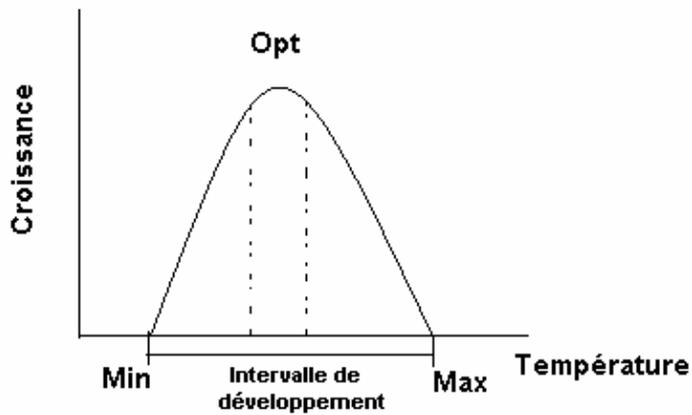


Figure 6 : Effet de la température d'incubation sur la croissance bactérienne

VI.1.1. Différents groupes

En fonction de la température optimale moyenne (TOM), on distingue plusieurs groupes de bactéries (figure 7, tableau 5):

- **Mésophiles** : TOM comprise entre 20 et 40°C; parmi eux, on trouve:

- **Saprophytes** : TOM = 30°C.

- **Pathogènes** : TOM = 37°C.

- **Psychrophiles** : TOM aux environs de 0°C.

- **Thermophiles** : TOM comprise entre 45 et 65°C. Certains microorganismes (archéobactéries) peuvent se développer dans des températures supérieures à 100°C.

A côté de ces groupes, on trouve aussi des bactéries :

- **Psychrotrophes** : se développent aux températures basses mais prolifèrent **mieux** à des températures plus élevées.

- **Thermotrophes** (thermotolérantes) : se développent à des températures élevées mais croissent **mieux** à des températures moyennes (30°C).

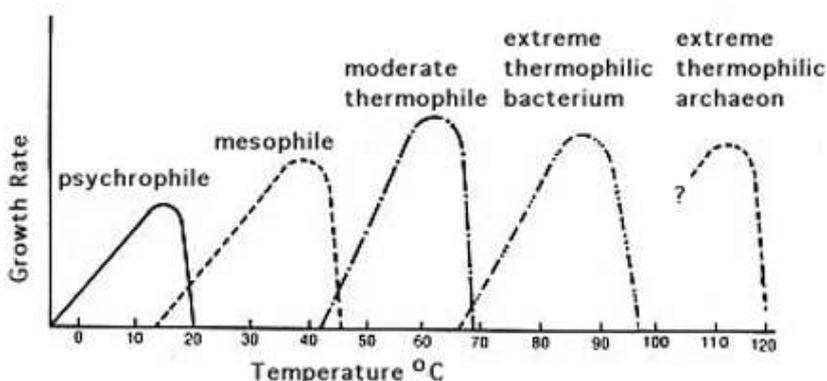


Figure 7 : Différents groupes bactériens

VI.1.2. Applications

Le facteur température peut être utilisé dans plusieurs objectifs; à savoir:

- Classification des bactéries;
- Culture des bactéries à des températures optimales de croissance;
- Conservation des aliments dans le réfrigérateur. La majorité des bactéries qui contaminent nos aliments ne se développent **pas ou peu** à des températures basses;
- Sélection ou enrichissement en jouant sur l'intervalle de développement des bactéries en mélange (figure 8).

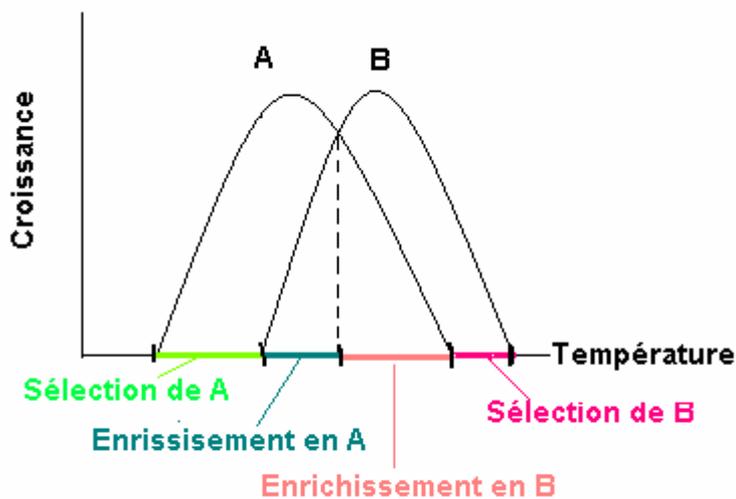


Figure 8 : Utilisation de la température d'incubation comme facteur d'enrichissement ou de sélection

VI.2. pH

Le potentiel Hydrogène (pH) traduit la concentration en H^+ dans un milieu. C'est un facteur très important qui influence beaucoup la croissance des bactéries.

Comme pour la température, une bactérie est capable de croître dans un intervalle plus ou moins important (selon les espèces) de pH. Il est limité par une valeur **minimale** en dessous de laquelle il n'y a plus de développement et une valeur **maximale** au dessus de laquelle la croissance s'arrête (figure 9, tableau 6). La croissance est meilleure quand le pH est **optimum**.

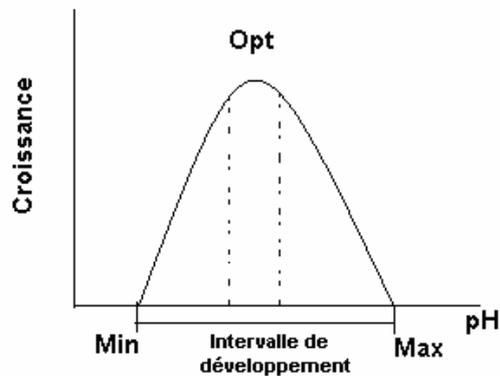


Figure 9 : Effet du pH sur la croissance bactérienne

VI.2.1. Différents groupes

En fonction du pH optimum, on distingue trois groupes bactériens:

- **Acidophiles** : pH optimum acide
- **Neutrophiles** : pH optimum proche de la neutralité
- **Basophiles** (alcalophiles): pH optimum basique.

Tableau 6 : pH minimal, maximal et optimal de certaines bactéries

Espèce bactérienne	pH minimum	pH optimum	pH maximum
<i>Thiobacillus thiooxidans</i>	0.5	2.0-2.8	4.0-6.0
<i>Sulfolobus acidocaldarius</i>	1.0	2.0-3.0	5.0
<i>Bacillus acidocaldarius</i>	2.0	4.0	6.0
<i>Zymomonas lindneri</i>	3.5	5.5-6.0	7.5
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	4.0-4.6	5.8-6.6	6.8
<i>Staphylococcus aureus</i>	4.2	7.0-7.5	9.3
<i>Escherichia coli</i>	4.4	6.0-7.0	9.0
<i>Clostridium sporogenes</i>	5.0-5.8	6.0-7.6	8.5-9.0
<i>Erwinia caratovora</i>	5.6	7.1	9.3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5.6	6.6-7.0	8.0
<i>Thiobacillus novellus</i>	5.7	7.0	9.0
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6.5	7.8	8.3
<i>Nitrobacter sp.</i>	6.6	7.6-8.6	10.0

VI.2.2. Applications

Les mêmes applications citées plus haut pour la température sont valables pour le pH; à savoir la culture, la classification, la conservation et la sélection/enrichissement.

VI.3. Pression osmotique

La **pression osmotique** d'un milieu traduit la concentration totale des ions et molécules en solution dans ce milieu.

L'**activité de l'eau** (A_w : "Activity of water") est inversement proportionnelle à la pression osmotique d'un milieu. Ainsi, elle est affectée par la concentration plus ou moins importante de sels ou de sucres dissous dans l'eau. Les bactéries peuvent se développer dans des milieux ayant une A_w comprise entre 1 et 0,7. L' A_w de l'eau pure est de 1; celle du sang humain est de 0,99; l'eau de mer = 0,98; celle des sols est située entre 0,9 et 1,0.

Les bactéries **halophiles** nécessitent du sel (NaCl) pour leur croissance. La concentration peut varier de 1-6% pour les faiblement halophiles jusqu'à 15-30% pour les bactéries halophiles extrêmes (*Halobacterium*).

Les bactéries halotolérantes acceptent des concentrations modérées de sels mais non obligatoires pour leur croissance (Ex. : *Staphylococcus aureus*).

Les bactéries **osmophiles** nécessitent des sucres pour leur croissance. Les **osmotolérantes** acceptent des concentrations modérées mais non obligatoires pour leur croissance.

Applications :

Des applications citées plus haut pour les premiers facteurs sont aussi valables pour la pression osmotique; à savoir: la culture, la conservation (utilisation du sel pour la conservation des viandes et du poisson) et la sélection/enrichissement.

VI.4. Besoins en oxygène

Plusieurs groupes bactériens peuvent être distingués en fonction de leurs besoins en O_2 (Figure 10, tableau 7) :

- 1) Les bactéries **aérobies strictes** ne se développent qu'en présence d'oxygène. Leur source principale d'énergie est la respiration aérobie où l'oxygène moléculaire est accepteur final d'électrons.

- 2) Les **microaérophiles** peuvent croître lorsque la pression partielle d'oxygène est faible.

- 3) Les **aéro-anaérobies facultatives** peuvent se développer en présence d'oxygène, en utilisant la respiration aérobie et en anaérobiose, la fermentation ou la respiration anaérobie.

- 4) Les **anaérobies aérotolérantes** se développent en présence et en absence d'oxygène mais sans l'utiliser. Elles empruntent exclusivement des voies fermentaires pour leur métabolisme.

- 5) Les **anaérobies strictes** sont incapables de croître en présence d'oxygène; il leur est toxique. Pour leur métabolisme, elles utilisent la fermentation, la respiration anaérobie ou la photosynthèse.

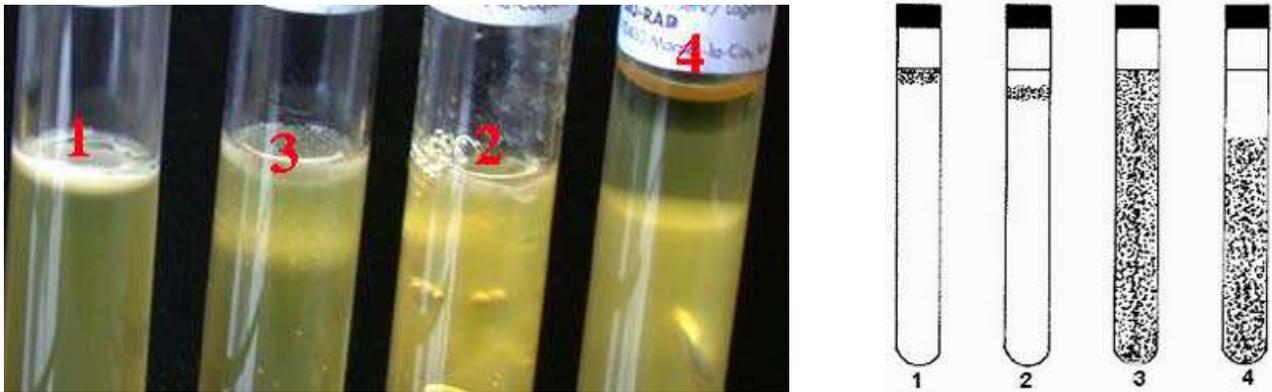


Figure 10 : Types respiratoires des bactéries
(1: aérobic strict; 2: microaérophile; 3: aéro-anaérobic; 4: anaérobic strict)

Tableau 7 : Besoins en O₂ des bactéries

<i>Environnement</i>			
<i>Group</i>	<i>Aérobiose</i>	<i>Anaérobiose</i>	<i>Effet de l'O₂</i>
<i>Aérobic strict</i>	Croissance	Pas de Croissance	Exigé (utilisé pour la respiration aérobic)
<i>Microaérophile</i>	Croissance si le niveau n'est pas élevé	Pas de Croissance	Exigé à des niveaux bas (en dessous de 0,2 atm)
<i>Anaérobic strict</i>	Pas de croissance	Croissance	Toxique
<i>Aéro-anaérobic facultatif</i>	Croissance	Croissance	Non exigé pour la croissance mais utilisé quand il est disponible
<i>Anaérobic aérotolérant</i>	Croissance	Croissance	Non exigé et non utilisé

Dans le cytoplasme cellulaire, on trouve des enzymes capables de transférer les électrons à l'oxygène moléculaire (O₂) pour produire des formes toxiques: le **peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)** et l'ion **superoxyde (O₂⁻)**.

Les peroxydes ont une toxicité modérée comparés à l'ion superoxyde qui contient un nombre impair d'électrons et qui se comporte comme radical libre, très instable et capable d'engendrer des radicaux libres hydroxyles (**OH⁻**) encore plus réactifs et plus toxiques.

Les bactéries se débarrassent (**détoxification**) de l'ion superoxyde grâce à l'enzyme **superoxyde dismutase**, et des peroxydes d'hydrogène grâce à la **catalase** et à la **peroxydase** (figure 11).

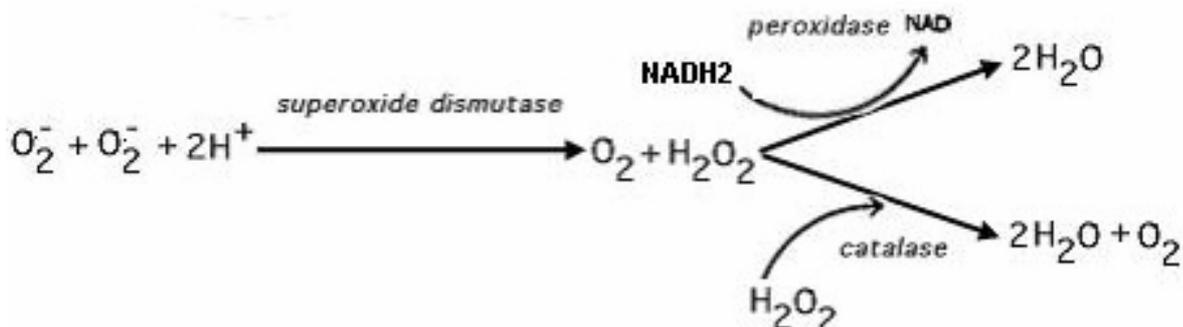


Figure 11 : Voies de détoxification

La distribution de ces enzymes est variable en fonction des groupes bactériens. La toxicité de l'oxygène pour les bactéries anaérobies strictes s'explique par l'absence des enzymes de détoxification chez ces dernières (tableau 8).

Tableau 8 : Distribution de la superoxyde dismutase, catalase et peroxydase chez des microorganismes avec différentes tolérances en O₂

Groupe bactérien	Superoxyde dismutase	Catalase	Peroxydase
Aérobies stricts et la plupart des anaérobies facultatifs	+	+	-
La plupart des anaérobies aérotolestants	+	-	+
Anaérobies stricts	-	-	-

VII. Culture des bactéries (voir travaux pratiques)

Au laboratoire, pour cultiver des bactéries, on utilise des milieux de culture appropriés préalablement stérilisés afin d'éliminer tous les autres contaminants potentiels. Ces milieux sont confectionnés de façon à apporter tous les éléments nutritifs essentiels à la croissance bactérienne.

VII.1. Milieux de culture

Les bactéries peuvent être cultivées en milieux liquides (figure 12), solides (figure 13) et semi-solides. Les milieux liquides sont généralement utilisés pour les cultures pures. Les milieux gélosés (solides ou semi-solides) sont généralement utilisés pour l'isolement.



Figure 12 : Aspect du milieu de culture liquide avant le développement bactérien (limpide) et après (trouble)

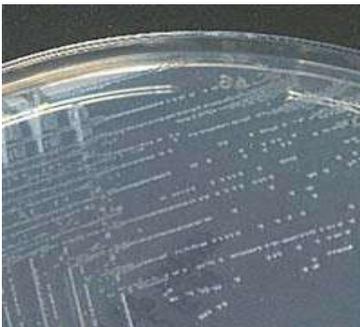


Figure 13 : Boîte de Pétri contenant un milieu gélosé, montrant un développement bactérien en colonies

Les milieux de culture peuvent également être classés selon la composition chimique ou selon leur utilisation.

VII.1.1. selon la composition chimique

- + Milieux synthétiques de composition bien définie.
- + Milieu semi-synthétiques, milieux synthétiques additionnés généralement d'un produit naturel.
- + Milieux empiriques ou naturels, constitués de produits d'origine naturelle [peptone (hydrolysate de protéine), extrait de viande, extrait de levure, etc...].

VII.1.2. selon l'utilisation

- + Milieux usuels (ex.: bouillon nutritif)
- + Milieux sélectifs, contenant le plus souvent un ou plusieurs inhibiteurs; ils permettent de ce fait la sélection d'une espèce ou un groupe bactérien à partir d'un mélange polymicrobien. La sélection peut aussi faire appel aux facteurs physico-chimiques (voir plus haut).
- + Milieux d'enrichissement, permettant le développement d'une espèce ou d'un groupe sans pour autant inhiber totalement celui des autres bactéries présentes.

+ Milieux d'identification, permettant de mettre en évidence des propriétés biochimiques des bactéries (ex: dégradation du lactose).

+ Milieux de conservation.

VII.2. Techniques de stérilisation

a) Chaleur

- **chaleur humide** : elle est appelée ainsi parce qu'il s'agit d'une stérilisation en atmosphère saturée en vapeur d'eau dans un **autoclave** (une grosse cocotte-minute permettant la régulation de la température et de la pression). Cette technique est utilisée surtout pour la stérilisation des milieux de culture. En général, 120°C pendant 15 à 20 minutes est la température utilisée.



Figure 14 : Autoclave

- **chaleur sèche** : fournie grâce au four Pasteur (enceinte thermostatée). Elle est surtout utilisée pour la stérilisation de la verrerie (180°C pendant 45 à 60 min).

- **Bec Bunsen** : pour la stérilisation des anses, des ouvertures des tubes, erlens, etc...

b) Filtration

Il s'agit de passer la solution à stériliser à travers une membrane de porosité faible (inférieure au diamètre bactérien (0,45 ou 0,22 micromètre par exemple); les particules sont retenues à la surface du filtre. Cette technique est utilisée particulièrement quand il s'agit de substances **thermolabiles**.

c) Radiations électromagnétiques

Les rayons UV, par exemple, sont utilisés pour la "stérilisation" (de l'air) des locaux (laboratoires, blocs opératoires, etc...). Les radiations γ sont utilisées pour la stérilisation

de certains aliments; vu leur très faible longueur d'onde, elles ont un pouvoir pénétrant très important d'où leur pouvoir bactéricide très important.

d) Gaz

Certains gaz bactéricides peuvent être utilisés pour la stérilisation des locaux (ex : ozone).

VII.3. Exemples de milieux de culture

a) Exemple de milieu minimum, de composition chimique définie, pour la croissance des bactéries prototrophes

Constituant	Quantité	Fonction
Glucose	10.0 g	Source de C et d'énergie
K_2HPO_4	2.5 g	Tampon pH; source de P et K
KH_2PO_4	2.5 g	Tampon pH; source de P et K
$(NH_4)_2HPO_4$	1.0 g	Tampon pH; source de N et P
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.20 g	Source de S et Mg^{++}
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	0.01 g	Source de Fe^{++}
$MnSO_4 \cdot 7H_2O$	0.007 g	Source de Mn^{++}
Eau distillée q.s.p.	1000 ml	
pH 7.0		

b) Exemple de milieu synthétique de composition chimique définie pour la croissance des bactéries chimiolithotrophes (ex : *Thiobacillus thiooxidans*).

Constituant	Quantité	Fonction
NH_4Cl	0.52 g	Source de N
KH_2PO_4	0.28 g	Source de P et K
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.25 g	Source de S et Mg^{++}
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	0.07 g	Source de Ca^{++}
Sulfures	1.56 g	Source d'énergie
CO_2	5%*	Source de C
Eau distillée q.s.p.	1000 ml	
pH 3.0		

* Il faut aérer le milieu, de temps en temps, avec l'air contenant 5% de CO_2

c) Milieu usuel complexe pour la croissance de bactéries fastidieuses

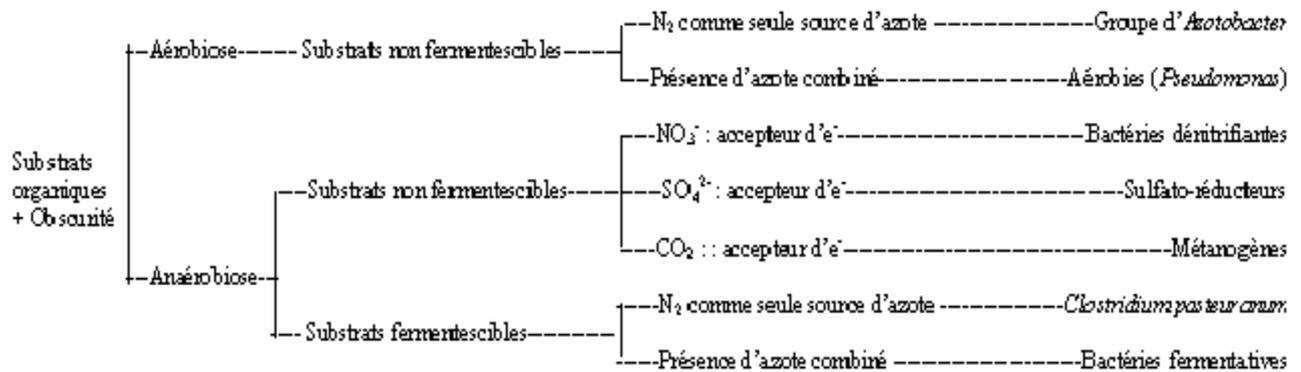
Composé	Quantité	Fonction
Extrait de viande	1.5 g	Source de sels minéraux, de vitamines et d'autres facteurs de croissance
Extrait de levure	3.0 g	Source de vitamines et d'autres facteurs de croissance
Peptone	6.0 g	Source d'AA, N, S, et P
Glucose	1.0 g	Source de C et d'énergie
Agar	15.0 g	Agent inerte solidifiant
Eau distillée q.s.p.	1000 ml	
pH 6.6		

d) Milieu sélectif et d'enrichissement pour la croissance des bactéries halophiles extrêmes

Composé	Quantité	Fonction du composé
Hydrolysate de protéine	7.5 g	Source d'AA, N, S et P
Extrait de levure	10.0 g	Source de facteurs de croissance
Citrate trisodium	3.0 g	Source de C et d'énergie
KCl	2.0 g	Source de K ⁺
MgSO₄, 7 H₂O	20.0 g	Source de S et Mg ⁺⁺
FeCl₂	0.023 g	Source de Fe ⁺⁺
NaCl	250 g	Source de Na ⁺ pour les halophiles et inhibiteur (concentration très élevée) pour les non halophiles
Eau distillée q.s.p.	1000 ml	
pH 7.4		

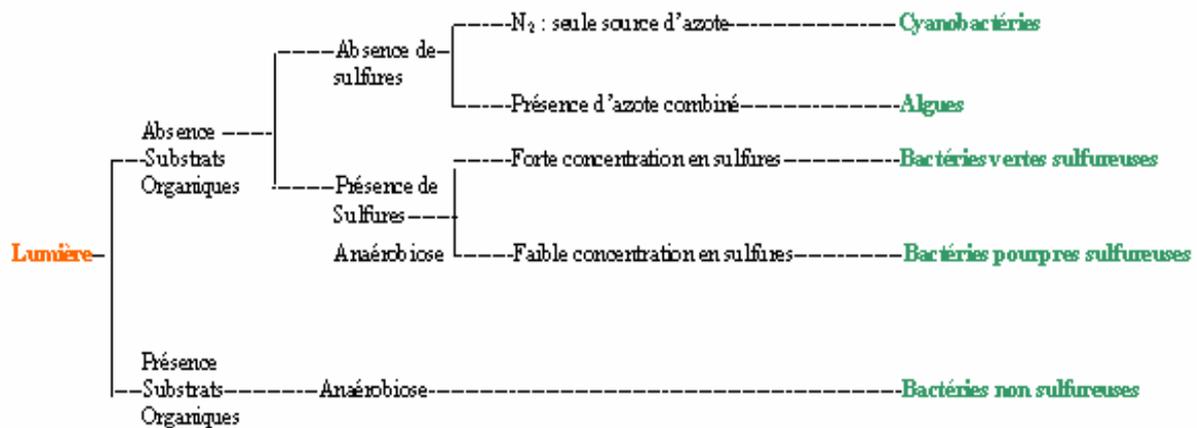
VII.4. Application à l'enrichissement

VII.4.1. Chimiohétérotrophes



Pour permettre un enrichissement d'un milieu en bactéries dénitrifiantes, il faut travailler à l'obscurité, en anaérobiose, en présence de substrats organiques non fermentescibles, et de nitrates.

VII.4.2. Microorganismes photosynthétiques



CROISSANCE BACTERIENNE

I. Introduction

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 (figure 1).

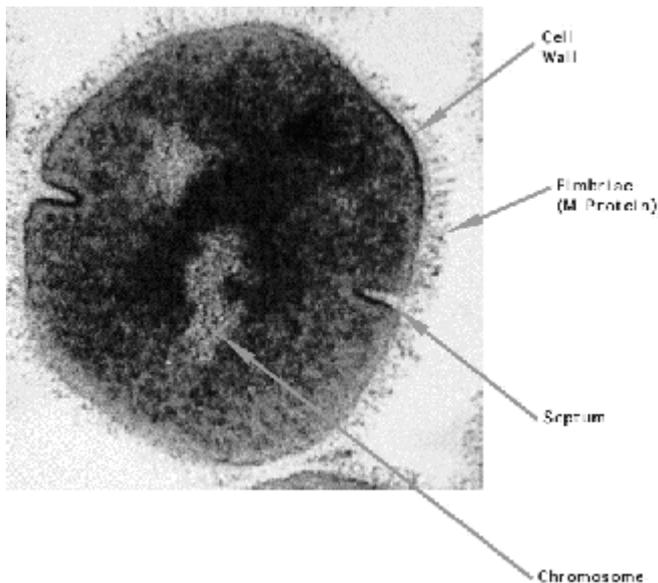


Figure 1 : Bactérie en division (début de formation du septum)

II. Mesure de la croissance bactérienne (voir TD)

L'estimation de la croissance bactérienne peut être faite par des numérations ou par des mesures de masse.

II.1. Méthodes de numération (dénombrement)

II.1.1. Numération totale directe

Cette technique permet le dénombrement de la totalité des bactéries. Elle se fait au microscope en utilisant des compartiments volumétriques (ex.: cellule de Thomas). Récemment, la numération a été automatisée; elle se fait par des compteurs automatiques de particules. L'inconvénient majeur de cette méthode est qu'elle ne distingue pas entre les bactéries viables et mortes. Elle n'est donc fiable que dans les conditions où la plupart des bactéries sont vivantes.

II.1.2. Numération indirecte des cellules viables

Cette méthode permet l'appréciation des bactéries viables et cultivables. Après avoir effectué une série de dilutions, une aliquote (0,1 ml en général) des dilutions convenables est étalée à la surface d'un milieu gélosé approprié. Après incubation, chaque cellule se multiplie pour donner une colonie visible à l'oeil nu. En tenant compte du facteur de dilution, nous pouvons déduire la concentration bactérienne initiale. Parfois, il arrive que plus d'une bactérie donne une seule colonie; il est donc plus prudent de donner la concentration bactérienne en unités formant colonies (UFC) par millilitre.

Notez qu'il existe une autre technique statistique semi-quantitative dite du "nombre le plus probable" (Most Probable Number : MPN).

II.2. Méthodes d'estimation de la masse bactérienne

On peut utiliser des méthodes directes ou indirectes.

1. Mesure physique directe du poids frais, du poids sec ou du volume cellulaire après centrifugation.

2. Mesure chimique directe de quelques constituants cellulaires, tels que l'azote total, les protéines totales ou encore l'ADN total.

3. Mesure indirecte de l'activité métabolique, en appréciant, par exemple la production ou la consommation d'O₂ ou de CO₂.

4. Mesure de la turbidité (densité optique) d'une culture bactérienne à l'aide d'un spectrophotomètre.

Si la technique est bien maîtrisée, on peut avoir des estimations correctes de la croissance bactérienne. C'est la technique la plus employée car la plus simple, la plus rapide et la moins coûteuse. Son inconvénient majeur est sa sensibilité relativement modérée; il faut des concentrations d'au moins 10⁷ bactéries / ml pour avoir des densités optiques mesurables.

III. Aspects théoriques de la croissance

Théoriquement, une bactérie, placée dans un milieu convenable peut se multiplier indéfiniment, par fission binaire (figure 2). La croissance se fait selon une progression géométrique : 1, 2, 4, 8, etc... ou 2⁰, 2¹, 2², 2³,.....2ⁿ (où n = nombre de générations). Il s'agit d'une croissance exponentielle, mais, en réalité, cette allure exponentielle ne représente qu'une petite partie de la multiplication bactérienne (figure 6).

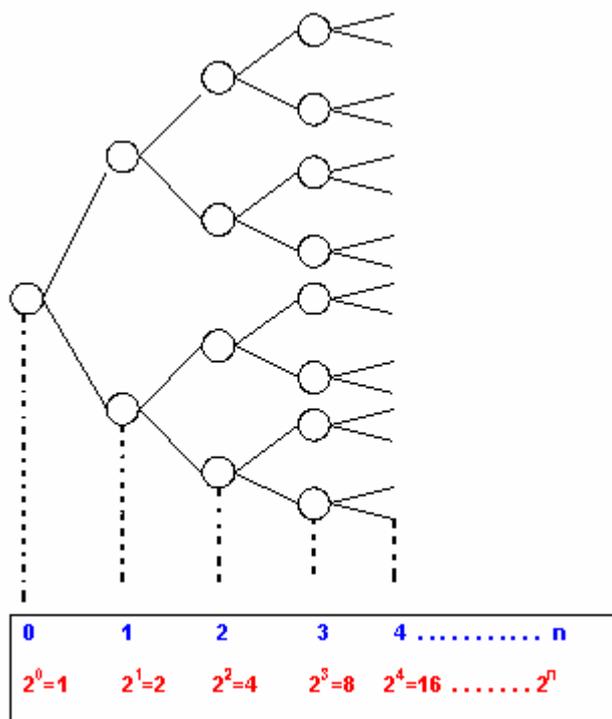


Figure 2 : Aspects théoriques de la croissance

Si on part d'une population initiale N₀, au bout de n divisions, on aura un nombre théorique de bactéries:

$$N = 2^n N_0 \quad (1).$$

Le temps qui sépare deux divisions successives (ou temps nécessaire au doublement d'une population) est appelé **temps de génération θ** .

$$\theta = t / n \quad (2)$$

Le taux de croissance (μ) exprime la vitesse de multiplication des bactéries; c'est le nombre de divisions effectuées par unité de temps.

$$\mu = n / t \Rightarrow n = \mu t \quad (3)$$

$$(1) \text{ et } (3) \Rightarrow N = 2^{\mu t} N_0 \quad (4)$$

Il s'agit d'une fonction exponentielle (figure 4).

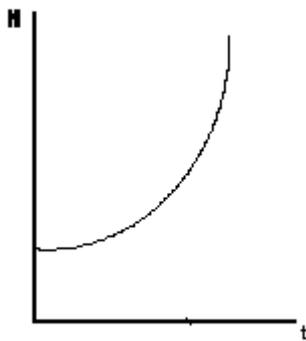


Figure 4 : Représentation schématique de la fonction (4)

Pour la simplifier (linéarisation), on va lui faire subir une transformation logarithmique (figure 5):

$$\log_2 N = \mu t + \log_2 N_0 \quad (5) \quad (Y = aX + b)$$

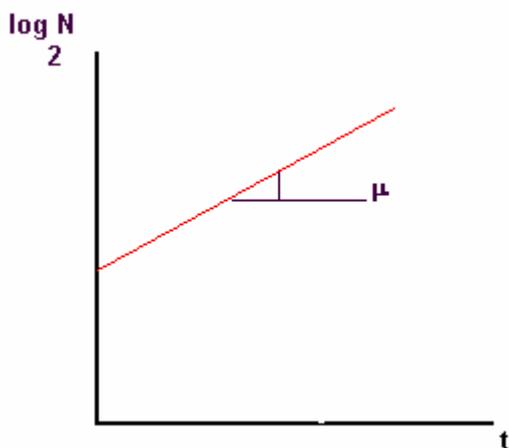


Figure 5 : Représentation schématique de la fonction (5)

Si on travaille dans la base 2, $\log_2 2 = 1$, donc

$\log_2 N = \mu t + \log_2 N_0 \quad (6)$, la pente représente le taux de croissance.

IV. Aspects expérimentaux de la croissance

IV.1. Courbe expérimentale de croissance

On ensemence un milieu de culture favorable et on assure le suivi de la croissance bactérienne en réalisant des dénombrements bactériens à des intervalles de temps réguliers.

On obtient la courbe suivante (figure 6).

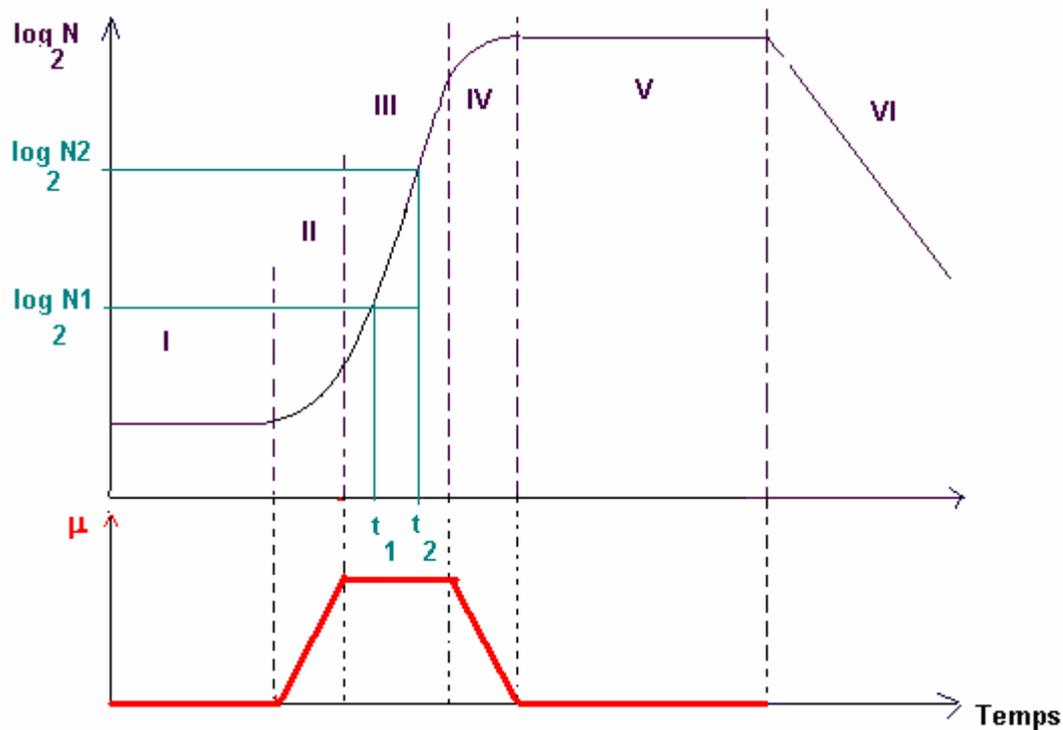


Figure 6 : Courbe expérimentale de croissance montrant les différentes phases de croissance distinctes par μ

En nous appuyant sur le taux de croissance, la figure ci-dessus nous permet de distinguer 6 phases de croissance:

I : Phase de latence où le taux de croissance est nul. La durée de cette phase dépend de plusieurs facteurs :

- **l'importance de l'inoculum** : les bactéries doivent d'abord détoxifier le milieu en le débarrassant des traces d'éléments toxiques qui contaminent, en général, les milieux de culture (métaux lourds par ex.). Plus l'inoculum est important, plus le temps nécessaire à la détoxification est court.

- **l'âge des bactéries** : les "vieilles" bactéries, introduites dans un milieu neuf, doivent d'abord réparer tous les dommages subies ; elles doivent donc restaurer leur état physiologique normal avant de commencer à se multiplier. Donc, plus la culture ayant servi d'inoculum est vieille, plus la durée de cette phase est longue.

- **la composition du milieu** : les bactéries doivent synthétiser les enzymes adaptées au nouveau milieu de culture. La diauxie illustre clairement cette adaptation (figure 7).

II : Phase d'accélération pendant laquelle la vitesse de croissance augmente.

III : Phase de croissance **exponentielle** où la vitesse de division est constante et maximum. La majorité des bactéries sont dans un bon état physiologique et se divisent de façon exponentielle. Le temps de génération des bactéries pendant cette phase est le plus court. La presque totalité de la masse cellulaire est représentée par des cellules viables (mortalité nulle).

IV : Phase de **ralentissement** (décélération) où μ diminue.

V : Phase **stationnaire** : Il y a une compensation entre les bactéries qui meurent, par autolyse, et celles qui continuent à se multiplier. Cette phase est déclenchée par **l'épuisement** du milieu, particulièrement le **facteur limitant*** (voir définition plus loin), et **l'accumulation de déchets toxiques** (ex.: acides organiques) libérés dans le milieu par les bactéries.

VI : Phase de **déclin** ($\mu < 0$) : le nombre de bactéries viables diminue durant cette phase. Ceci est dû à une lyse cellulaire sous l'action des enzymes protéolytiques endogènes (autolyse).

* Un facteur limitant est un facteur indispensable à la croissance bactérienne qui s'épuise le premier dans le milieu.

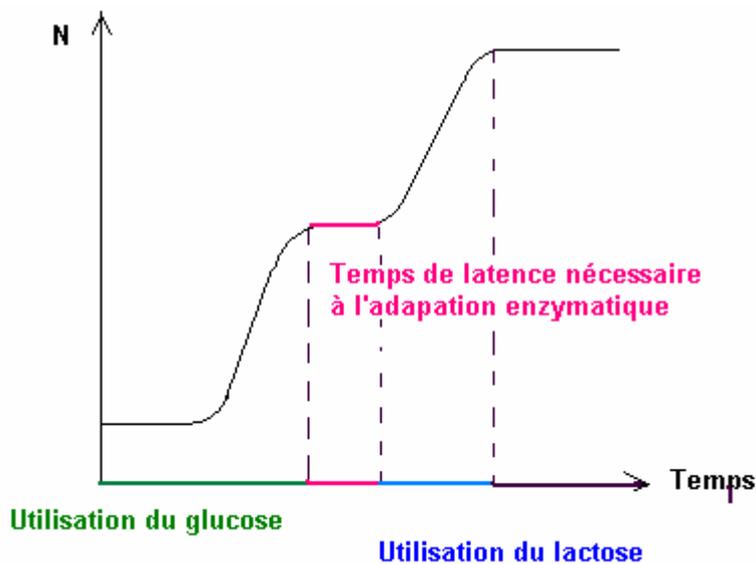


Figure 7 : Diauxie (glucose + lactose)

Lorsque des bactéries sont cultivées en présence de glucose et de lactose, elles commencent par l'utilisation du glucose jusqu'à son épuisement. On observe ensuite un temps de latence, durant lequel les bactéries vont synthétiser les enzymes nécessaires à l'utilisation du lactose, avant la reprise de la multiplication bactérienne.

IV.2. Détermination graphique du taux de croissance

D'après la courbe de la figure 6, le taux de croissance maximum peut être déterminé graphiquement, durant la phase exponentielle de croissance, comme suit:

$$\mu = (\log_2 N_2 - \log_2 N_1) / t_2 - t_1$$

Le taux de croissance est très variable selon les espèces et les conditions de culture.

Le temps de génération peut être déterminé comme suit : $\theta = 1 / \mu$; des exemples sont donnés dans le tableau suivant (tableau 1).

Tableau 1 : Exemples de temps de génération

	Température (°C)	Temps de génération (h)
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	60	0,14
<i>Escherichia coli</i>	40	0,35
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	37	6

En plus des conditions physico-chimiques déjà étudiées dans le chapitre "Métabolisme-Nutrition", plusieurs autres facteurs peuvent avoir un effet sur la vitesse de croissance des bactéries. Les antibiotiques, par ex., peuvent, selon la concentration utilisée, avoir un effet bactériostatique (inhibition partielle ou totale de la multiplication) ou bactéricide (mort des bactéries).

GENETIQUE BACTERIENNE

I. Définitions

I.1. Gène

Un gène est un segment d'ADN dans lequel la séquence de bases nucléotidiques détermine:

- par transcription, la séquence de bases dans une molécule d'ARNm,
- et par traduction, la séquence d'AA dans un polypeptide

I.2. Mutation

Une mutation peut être définie comme étant une altération dans la séquence de bases nucléotidiques du gène. C'est une variation :

- **rare** : La mutation est un phénomène rare qui n'affecte qu'une faible fraction de l'ensemble des cellules bactériennes au sein d'une large population.
- **discontinue** : la mutation ne s'effectue pas à la suite d'une longue période d'adaptation progressive, avec des formes intermédiaires, mais habituellement en une seule étape.
- d'emblée **héréditaire**.

II. Mutations

II.1. Différents types

II.1.1. Mutations ponctuelles

II.1.1.1 Microdélétion

Il s'agit de la perte d'une paire de bases.

II.1.1.2. Microinsertion (Microaddition)

Il s'agit du gain d'une paire de bases.

II.1.1.3. Substitution

Il s'agit de la substitution d'une paire de bases par une autre à la suite d'une erreur durant la réplication. On distingue deux types de substitutions:

- **Transition** : substitution d'une purine par une purine ou d'une pyrimidine par une pyrimidine.
- **Transversion** : Substitution d'une purine par une pyrimidine ou inversement.

II.1.2. Macrolésions

Il s'agit de mutations qui affectent une séquence de bases. On distingue plusieurs catégories:

- **Réarrangement** : la totalité de l'ADN est présente après ce type de mutation:
- + **Inversion** : inversion d'une séquence,
- + **Translocation** : excision d'un fragment puis sa réintégration dans un autre endroit.
- **Duplication** : un segment d'ADN est présent en double.
- **Délétion** : perte d'un fragment d'ADN.
- **Insertion** : gain d'un fragment d'ADN.

II.2. Effets des mutations ponctuelles

Ces mutations peuvent affecter aussi bien les gènes de structure que ceux de régulation.

II.2.1. Mutations "même sens" (same sense)

Elles sont en général détectées uniquement et seulement après séquençage du gène muté. Ceci est dû au fait que la séquence initiale en AA ne change pas (mutation silencieuse).

Exemple: substitution de U par C (au niveau de l'ADN, transition AT → GC) dans le codon GAU ce qui donne GAC. Les deux codons codent pour l'acide aspartique.

II.2.2. Mutations "non sens" (stop)

Il s'agit de mutations qui aboutissent à des codons de terminaison (stop) UAA, UAG ou UGA. Ces codons ne sont pas traduits parce que les bactéries ne possèdent pas d'ARNt qui reconnaît ces triplets. Le résultat de ces mutations est l'arrêt de la traduction avant la synthèse complète du polypeptide, ce qui donne naissance à un produit inactif.

II.2.3. Mutations "faux sens" (missense)

Ce type de mutation est obtenu par substitution d'une paire de bases par une autre, donc un AA par un autre AA au niveau du polypeptide. S'il s'agit d'une enzyme:

- la protéine peut avoir un site catalytique altéré donc perte totale ou partielle de l'activité enzymatique.
- la protéine peut devenir anormalement sensible à un facteur physique ou chimique; ex: mutants thermosensibles.
- les unités polypeptidiques peuvent subir une association anormale, ce qui a pour conséquence la perte de l'activité catalytique.
- Parfois aucun changement n'a lieu; c'est le cas d'une substitution d'un AA par un autre qui a les mêmes propriétés, ex: Glu par Asp.
- Parfois l'AA n'intervient pas dans les sites actifs et n'est pas déterminant dans la conformation.

II.2.4. Microdélétions ou microinsertions

La conséquence de telles mutations est le décalage de lecture au niveau de l'ARNm. Dans ce cas, le polypeptide produit contient la séquence correcte d'AA jusqu'au point où il y a eu mutation à partir duquel la séquence en AA change. Parfois, ce décalage génère un codon non-sens, d'où l'arrêt de la traduction.

II.2.5. Mutations "suppresseurs" (Réversion)

Un organisme muté peut subir une deuxième mutation qui ramène au caractère sauvage (initial). Cette seconde mutation est dite "suppresseur" car elle supprime l'effet de la première.

II.3. Exemples de mutations

II.3.1. Auxotrophie (déficiency)

Certains mutants dits déficients (auxotrophes), exigent la présence d'un ou plusieurs facteurs de croissance dans le milieu car ils sont incapables de le (les) synthétiser.

L'exigence d'un mutant est déterminée en le cultivant sur milieu minimum additionné d'un seul facteur de croissance à la fois (voir TD).

II.3.2. Résistance aux antibiotiques

II.3.2.1. Sites d'action

Les antibiotiques sont des substances antimicrobiennes qui agissent à faible dose et de façon spécifique sur une cible précise.

Ils peuvent agir à plusieurs niveaux de la cellule (figure 1):

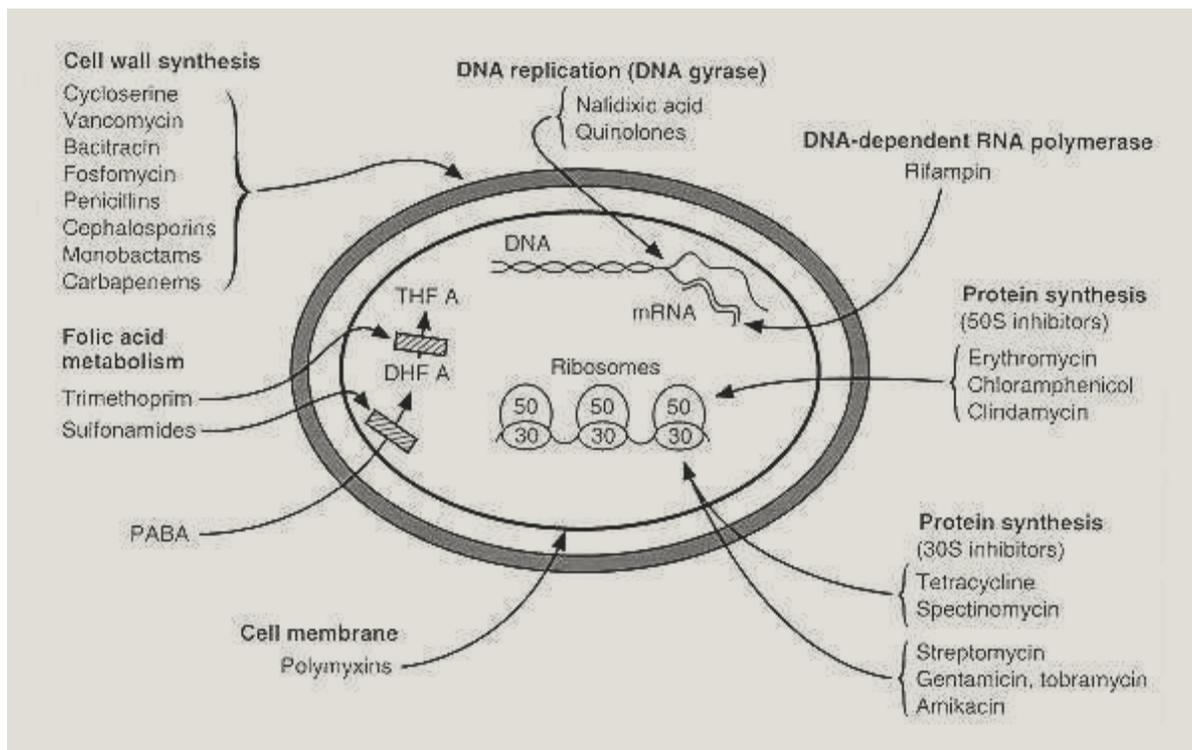


Figure 1 : Différentes cibles des antibiotiques

- au niveau de la membrane, par changement de la perméabilité membranaire, d'où échappement des constituants cellulaires vers l'extérieur; c'est le cas des polypeptides (ex : polymyxine).

- au niveau de la paroi; c'est le cas des β -lactamines qui agissent au niveau de la synthèse de la muréine.

- au niveau de la réplication de l'ADN; c'est le cas de l'acide nalidixique qui agit sur l'ADN gyrase.

- au niveau de la transcription; c'est le cas de la rifamycine.

- au niveau des ribosomes (traduction):

+ par erreur de la lecture (aminosides),

- + par empêchement de la transpeptidation (chloramphénicol),
- + par inhibition de la translocation (macrolides),
- + par inhibition de l'attachement du complexe ARNt-AA sur le ribosome (tétracyclines).

II.3.2.2. Mécanismes de résistance

Certaines bactéries peuvent résister à ces antibiotiques par mutation chromosomique:

- en devenant imperméables à l'antibiotique,
- en modifiant le site d'attachement de l'antibiotique (ex: au niveau du ribosomes).

Des bactéries peuvent résister aux antibiotiques par exportation active grâce à des transporteurs membranaires appelés pompes d'efflux.

D'autres bactéries peuvent devenir résistantes après acquisition de nouveaux gènes (plasmidiques par ex.) lors de transferts génétiques. Ces gènes permettent à la bactérie de synthétiser des enzymes dégradant l'antibiotique (ex.: β -lactamases) ou le modifiant, le rendant ainsi inactif (ex.: acétylases ou glycosylases).

Certaines enzymes permettent à la bactérie de modifier le site d'attachement de l'antibiotique (ex : la méthylation au niveau de l'ARNr empêche l'attachement des macrolides).

II.3.2.3. Isolement des mutants résistants

On procède, en général, en étalant un inoculum issu d'une population sensible sur un milieu contenant un antibiotique à une concentration supérieure à la CMI (concentration minimale inhibitrice). Après incubation, seules les bactéries résistantes à cet antibiotique peuvent se multiplier pour donner une colonie visible à l'oeil nu. Il s'agit de mutants spontanés qui existaient dans la population initiale. L'antibiotique n'a fait que les révéler. Les mutations induites (provoquées) sont générées par des agents mutagènes qui peuvent être physiques (ex.: UV) ou chimiques (ex.: acide nitreux). Ces agents augmentent la fréquence de mutation (voir TD).

III. Transferts génétiques

La bactérie peut être l'objet de variations génétiques autres que la mutation. Celles-ci peuvent résulter du transfert de matériel génétique d'une bactérie à une autre par des processus aussi différents que la transformation, la conjugaison et la transduction.

III.1. Transformation

Historiquement, la démonstration de la transformation d'une bactéries par l'ADN a été faite par Avery, MacLeod et McCarty, en 1944.

Griffith, auparavant (1928), avait observé que l'injection à des souris d'un mélange de pneumocoques avirulents (R : "rough") vivants et de pneumocoques virulents (S :

"smooth") tués pouvait provoquer une septicémie mortelle. Des souris mortes, il avait isolé des pneumocoques virulents. Il a parlé d'un principe transformant.

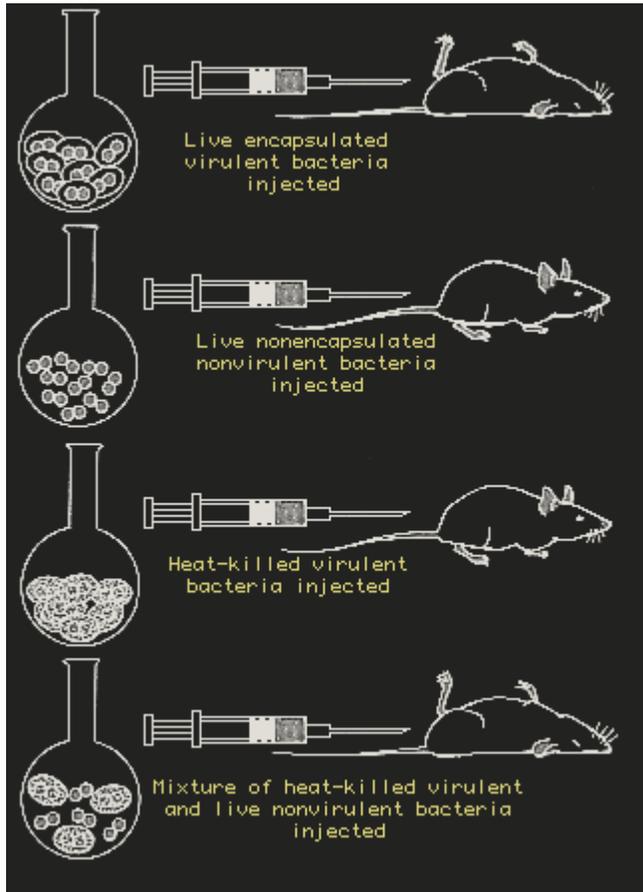


Figure 2 : Expérience de Griffith (1928)

Avery et ses collaborateurs ont étudié le phénomène, in vitro, et ont démontré que le principe transformant évoqué par Griffith est l'ADN et ont donc fourni, par la même occasion, la toute première indication que le support moléculaire de l'hérédité est l'ADN.

La transformation est le transfert d'un gène (ou plusieurs) porté(s) par de l'ADN libre, d'une bactérie donatrice vers une bactérie réceptrice qui va l' (les) exprimer (figure 3).

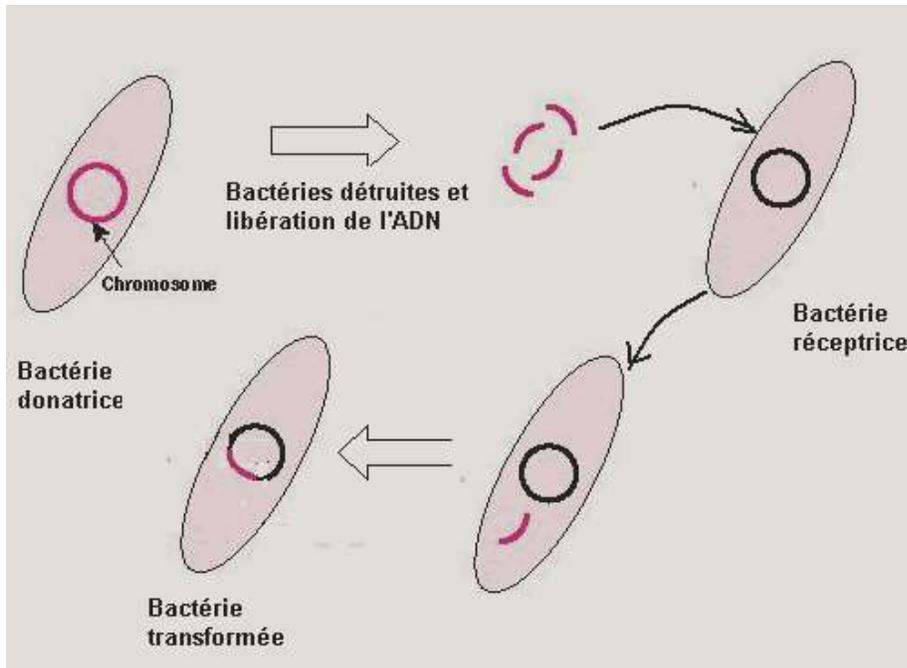


Figure 3 : Représentation schématique de la transformation

III.2. Conjugaison

Ce phénomène a été découvert par Lederberg et Tatum en 1946 (figure 4). Il s'agit d'un transfert de gènes d'une bactérie donatrice vers une bactérie réceptrice après un contact physique intime entre les deux bactéries partenaires (figure 5).

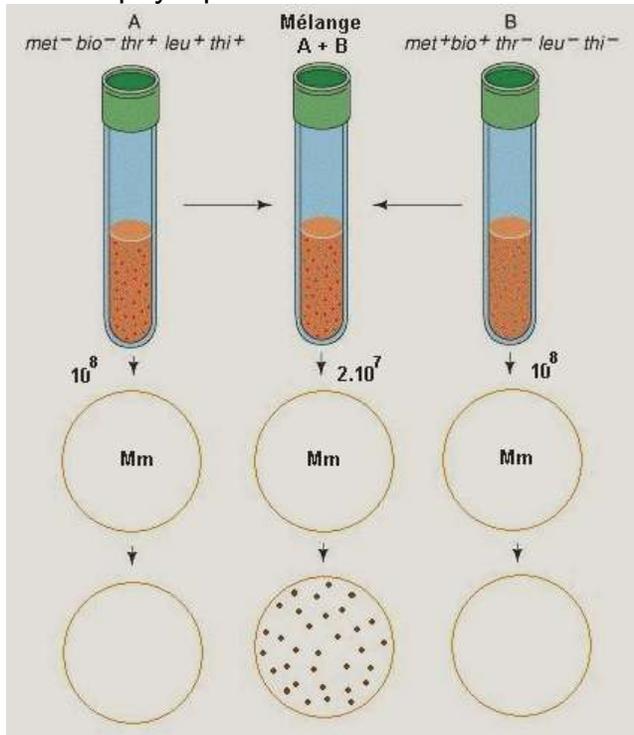


Figure 4 : Représentation de l'expérience de Lederberg et Tatum ayant permis la découverte de la conjugaison en 1946

Aucune des deux souches auxotrophes n'est capable de se développer sur milieu minimum. Par contre, lorsqu'on mélange des bactéries des deux souches en milieu liquide et que l'on étale ensuite une partie du mélange sur milieu minimum, on obtient des colonies.

Cette expérience suggère qu'il y a eu échange (de A vers B et/ou de B vers A) de matériel génétique entre les deux souches, aboutissant à la formation de cellules "met⁺ bio⁺ thr⁺ phe⁺ thi⁺", capables de se développer sur milieu minimum.

En effet, il est impossible d'obtenir un tel résultat par le seul jeu des mutations; la fréquence des mutations est très faible, de l'ordre de 10^{-7} (1 mutation pour 10 millions de cellules) pour chaque caractère. Pour observer deux mutations simultanément dans une cellule de souche A par exemple, il faudrait étaler au moins 10^{14} cellules.

D'autres expériences ont permis, par la suite, de démontrer que le transfert génétique est unidirectionnel (polarisé); il se fait toujours de A vers B. En effet, la souche A possède un facteur F (Fertilité) qui la rend capable de donner des gènes. Il s'agit d'un plasmide dit conjugatif, qui porte les gènes responsables de la synthèse des pili sexuels et du transfert des gènes vers la réceptrice. Seules les bactéries possédant un plasmide conjugatif (ex: facteur F) sont capables de donner des gènes.

Quand on mélange des bactéries donatrices et des bactéries réceptrices, le pilus sexuel reconnaît des sites récepteurs pariétaux de la réceptrice et s'y attache. Ensuite, il se rétracte pour mettre les bactéries en contact. Il se forme alors un pont cytoplasmique par lequel se fait le transfert des gènes (figure 5).



Figure 5 : Conjugaison entre une bactérie donatrice (mâle) et une bactérie réceptrice (femelle)

Le facteur F peut rester libre dans le cytoplasme ou s'intégrer dans le chromosome bactérien et se comporter par la suite comme une partie du chromosome (figure 6).

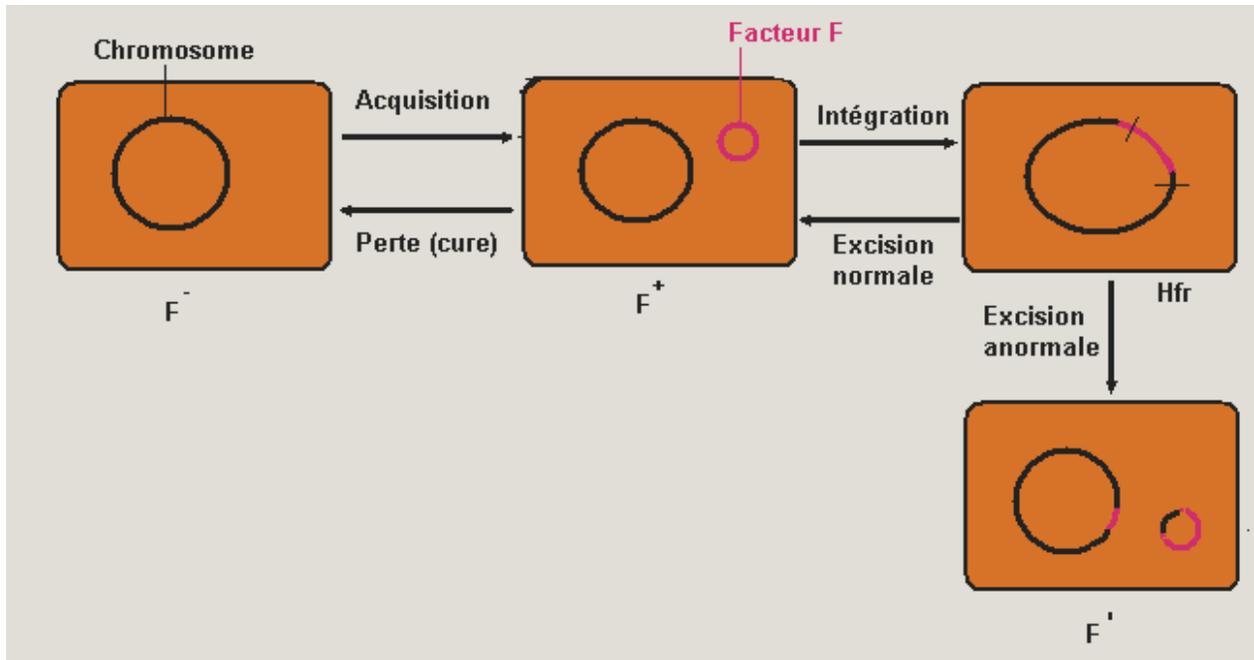


Figure 6 : Représentation schématique des différents états du facteur F

III. Transduction

Il s'agit du transfert de gènes d'une bactérie donatrice vers une bactérie réceptrice par l'intermédiaire d'un bactériophage (figure 7).

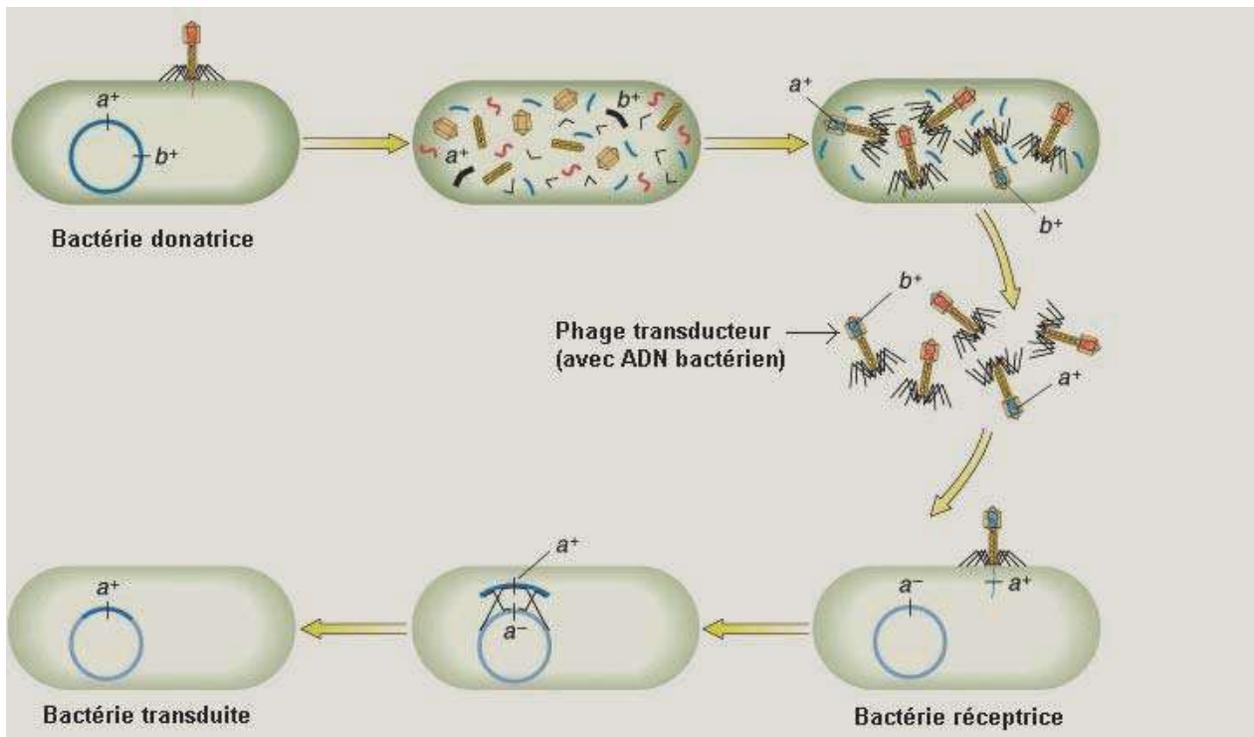


Figure 7 : Transduction généralisée (transfert du gène "a" de la bactérie donatrice vers la réceptrice par l'intermédiaire d'un phage virulent)

Bon courage



LIENS UTILES 🙌

Visiter :

1. <https://biologie-maroc.com>

- Télécharger des cours, TD, TP et examens résolus (PDF Gratuit)

2. <https://biologie-maroc.com/shop/>

- Acheter des cahiers personnalisés + Lexiques et notions.
- Trouver des cadeaux et accessoires pour biologistes et géologues.
- Trouver des bourses et des écoles privées

3. <https://biologie-maroc.com/emploi/>

- Télécharger des exemples des CV, lettres de motivation, demandes de ...
- Trouver des offres d'emploi et de stage

