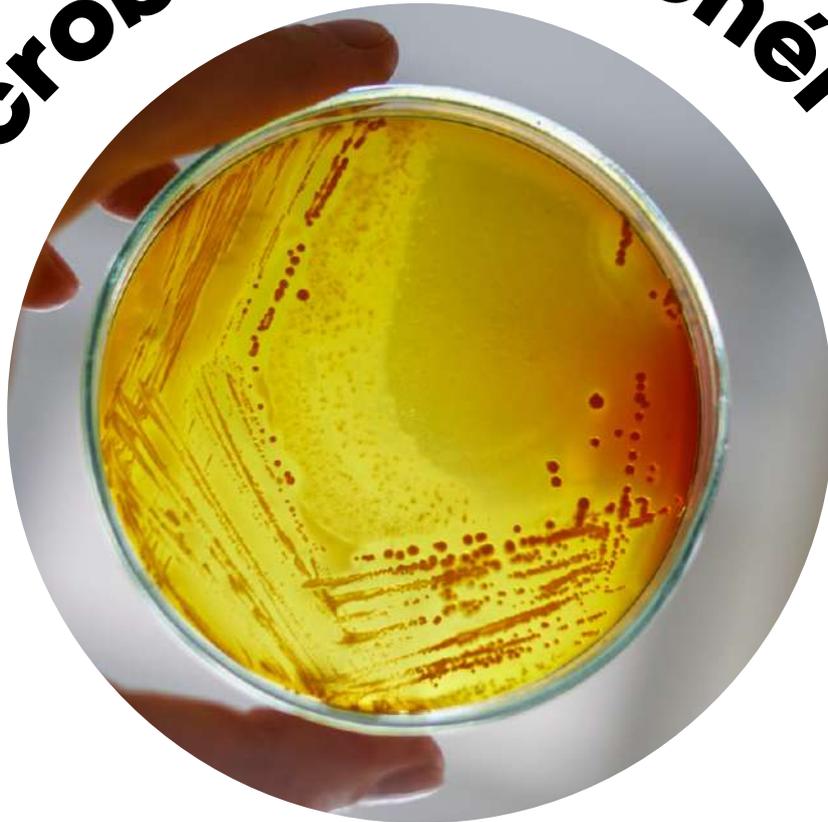


Microbiologie Générale



SCIENCES DE LA
VIE



Shop



- Cahiers de Biologie + Lexique
- Accessoires de Biologie



Etudier



Visiter [Biologie Maroc](#) 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



Université Cadi Ayyad

**Faculté polydisciplinaire
Safi**



Filière science de la vie (S₃)

Module:

« Microbiologie Générale »



Pr. Faissal AZIZ

faissalaziz@gmail.com / Faziz@kth.se

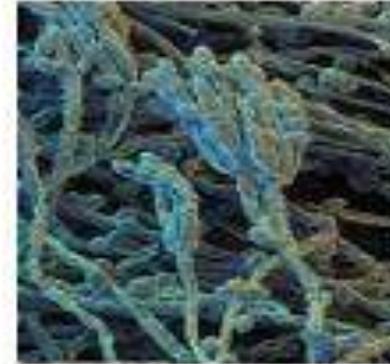
Chapitre I:

Monde Microbien - Historique

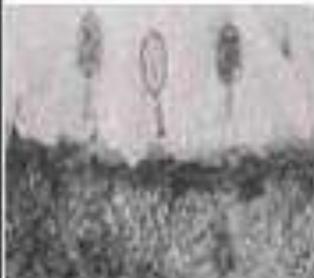
1. Débat sur la génération spontanée, découverte du rôle des microorganismes dans les maladies, découverte des effets des microorganismes sur la matière organique et inorganique.
2. Les différents types de microorganismes.
3. Le domaine et le rôle de la microbiologie.

Définition de la microbiologie

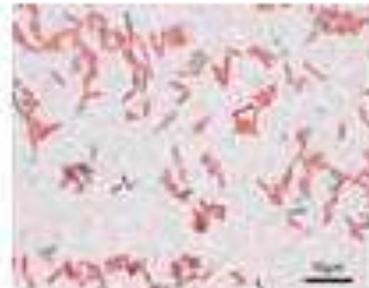
- La microbiologie est la science qui étudie les **micro-organismes**;
- Les micro-organismes constituent un groupe très **diversifié**, ils existent à l'état de **cellule isolée** ou **en groupe**. Ils sont de **petite taille**.



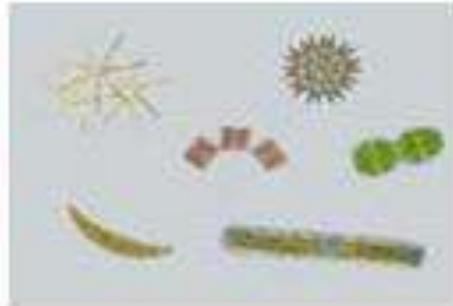
Champignons
(Mycologie)



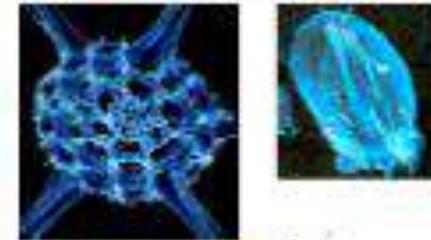
Virus
(Virologie)



Bactéries
(Bactériologie)



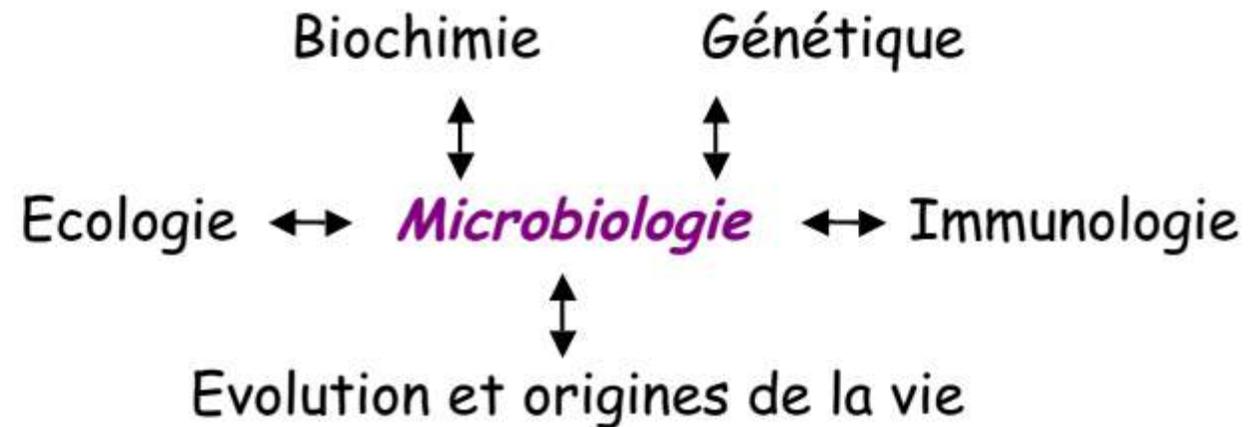
Algues unicellulaires
(Algologie)



Protozoaires
(Protozoologie)

- Cette étude implique des techniques spécifiques comme par exemple la microscopie et la mise en culture

- Occupe une place centrale en biologie :



Historique du monde microbien

• **Antony van Leeuwenhoek** (17ème siècle) : était le premier qui a observé et décrit les microorganismes sous microscope

* Grossissement (x50 à 300) en 1650 ("animalcules").

Microscope de **Leeuwenhoek**



Suite à ces observations se posa la Question suivante :

D'où proviennent ces microorganismes ?

Apparition de 2 théories contradictoires

Théorie 1
Génération spontanée

Théorie 2
Biogenèse

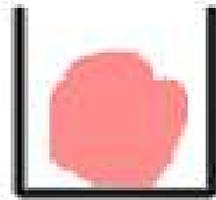
Génération spontanée = Idée selon laquelle **la vie** peut émerger du **non-vivant** ou de la **décomposition de tissus animaux et végétaux**

Biogenèse = Tout organisme vivant **provient** d'un organisme vivant
préexistant

Au début du 19^{ième} siècle

Plusieurs chercheurs, en se basant sur **des expériences**,
apportent des **preuves en faveur de la biogenèse**

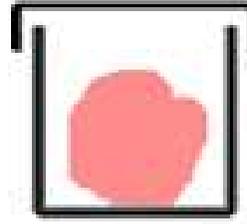
1- Expérience de Redi sur la viande en décomposition



viande à l'air libre



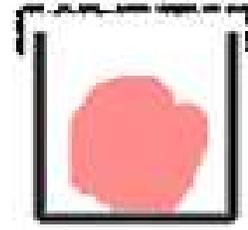
viande contaminée par les asticots



viande protégée par un papier



viande non contaminée



viande protégée par une gaze

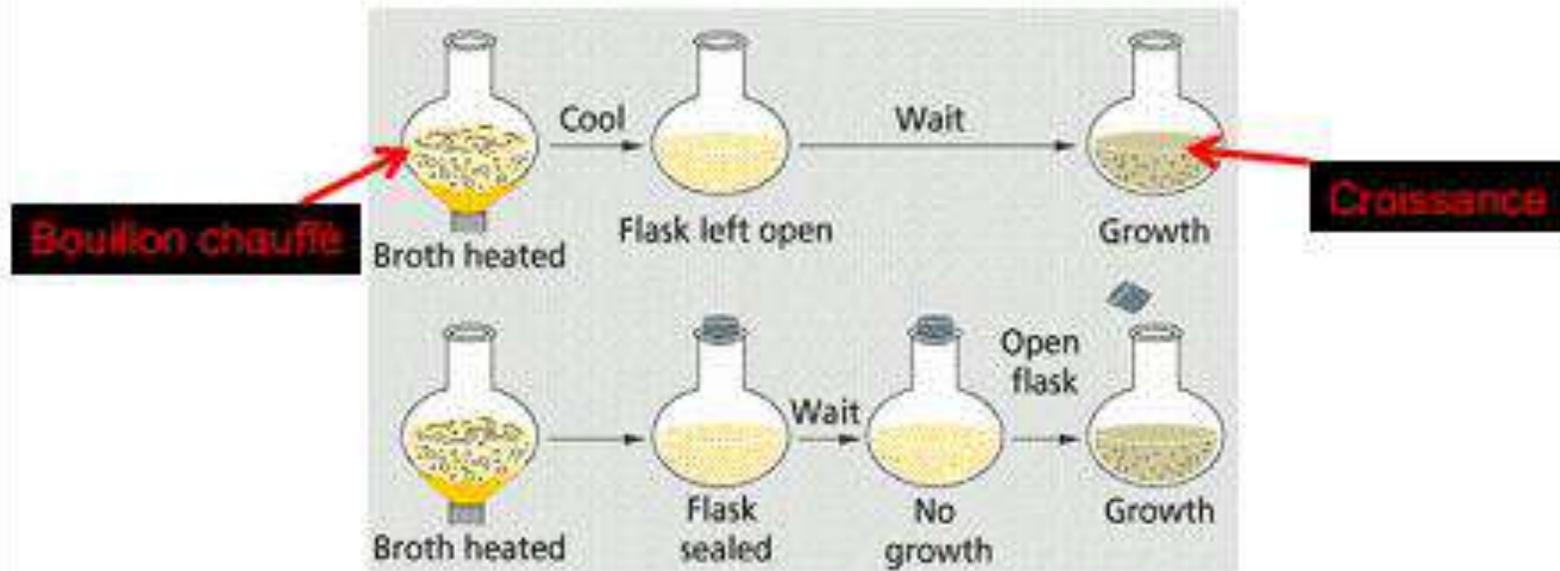


viande non contaminée mais oeufs présents sur la gaze

Conclusion :

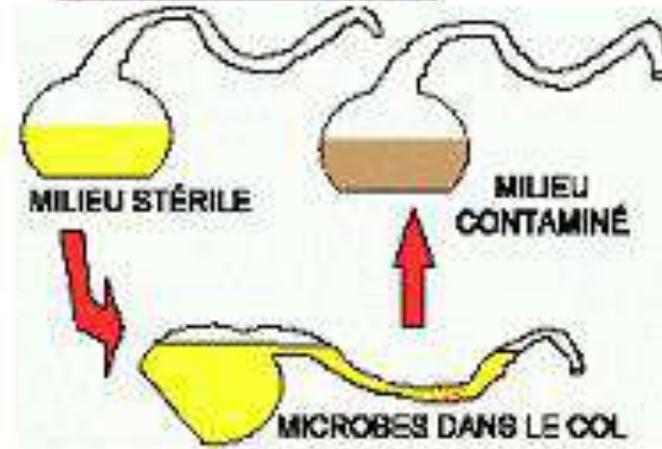
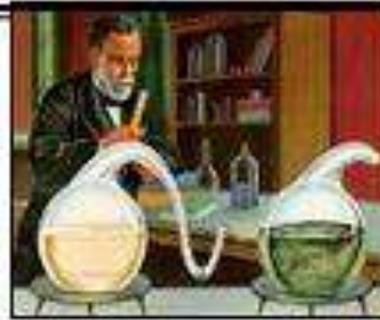
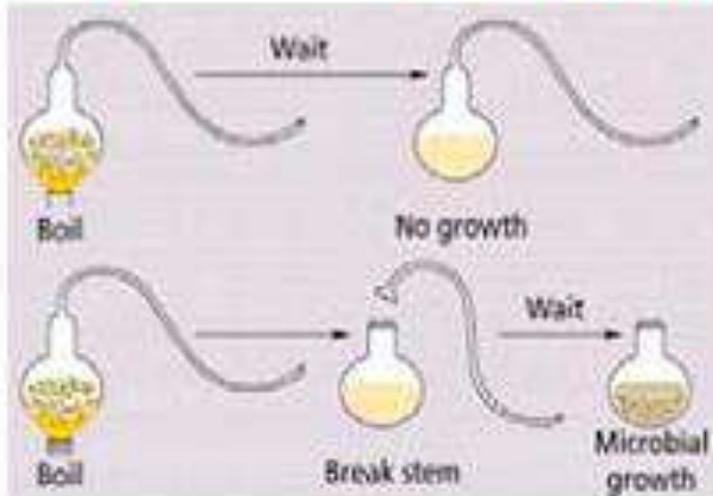
**l'apparition des asticots n'est pas due à la viande en décomposition
mais à la présence de mouches (Expérience en faveur de la biogénèse)**

2. Expérience de Spallanzani en 1768.



Conclusion : les microorganismes proviennent de l'air et ils sont tués par une ébullition.

4. Expérience de Louis Pasteur En 1861



- flacons à bec de cygne de Pasteur : préparés par chauffage du goulot des flacons contenant une solution nutritive

- Flacon à bec intact ouvert après ébullition : pas de croissance

- Flacon à bec cassé et ouvert après ébullition : croissance

- Inclinaison de la solution nutritive après ébullition dans la partie creuse du bec : Croissance

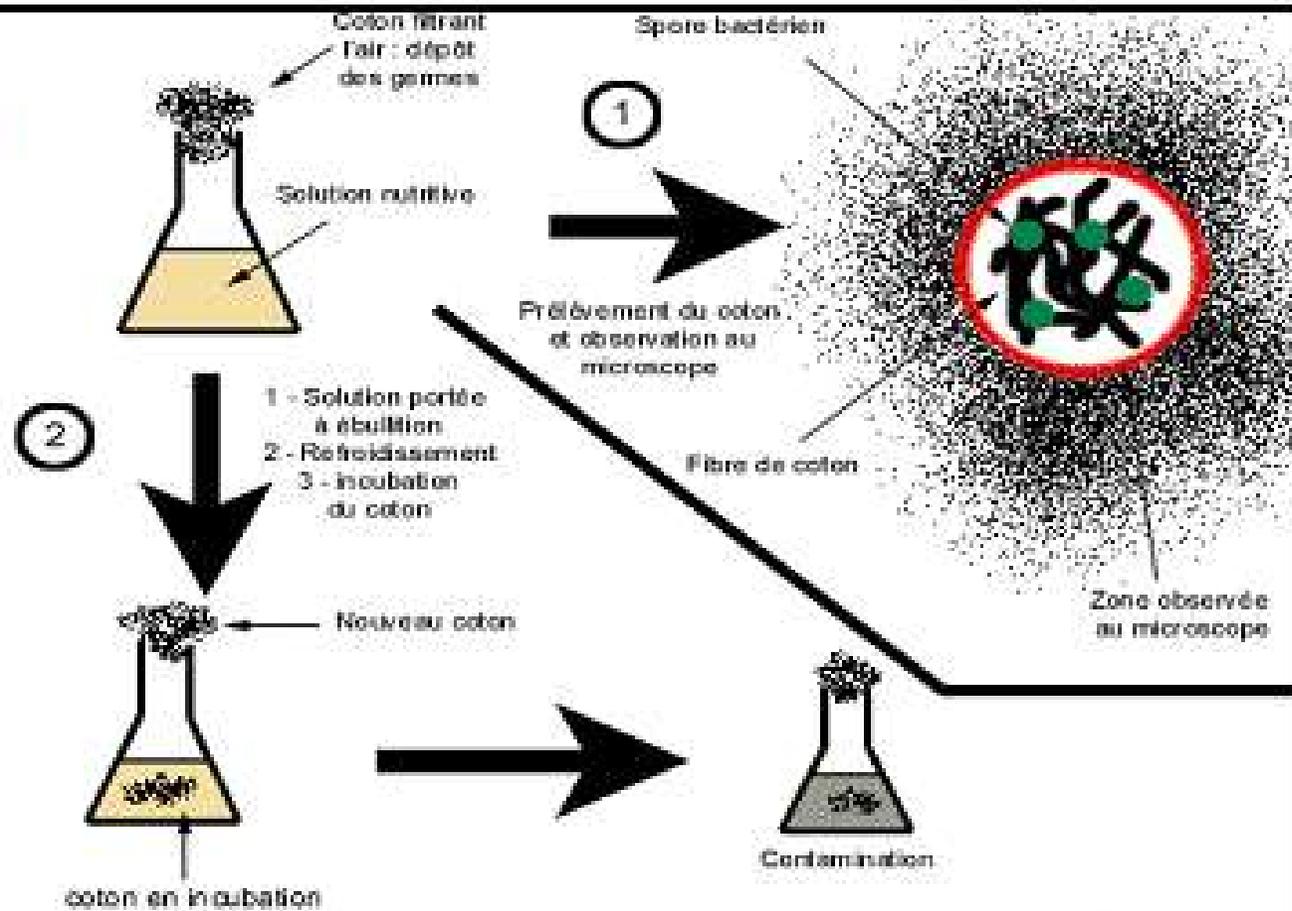
Conclusion :

- existence de microorganismes dans l'air

- Possibilité de maintenir des solutions nutritives stériles (ébullition + éviter contact avec l'air)

- expérience en faveur de la biogénèse

Autre expérience de Pasteur en faveur de la biogénèse



- Filtration de l'air à travers un coton et observation du contenu du coton après ébullition

1) présence de nombreuses particules ressemblant à des spores de végétaux piégées par le coton (flèche numéro 1).

2) En prenant ce coton et en le déposant sur un milieu nutritif il constate un développement de micro-organismes (flèche numéro 2) :

Conclusion : les microorganismes qui se trouvent dans l'air peuvent être présents sous une forme qui résiste à la chaleur, ce sont **les spores**

Remarque

En effet, en 1893, **George Tyndall** a démontré qu'il existait des formes d'endospores bactériennes résistantes à la chaleur : *Bacillus subtilis* (bactérie du foin). Il constata aussi qu'un milieu contenant des bactéries sporogènes peut être efficacement stérilisé par **Tyndallisation** encore utilisée de nos jours.

Conclusion générale :

**Après les travaux de Pasteur,
la biogenèse devient la théorie acceptée**

Autres découvertes de pasteur

Louis Pasteur (1822-1895) : biologiste et chimiste français, a découvert aussi :

- le rôle des germes dans la propagation des maladies infectieuses,
- la **pasteurisation**,
- des **vaccins** contre plusieurs maladies (exemple le vaccin contre la rage)
- la **fermentation**.

a) Relation microorganismes - fermentation

Toutes les civilisations anciennes ont utilisé des produits de fermentations (aliments ou boissons) :

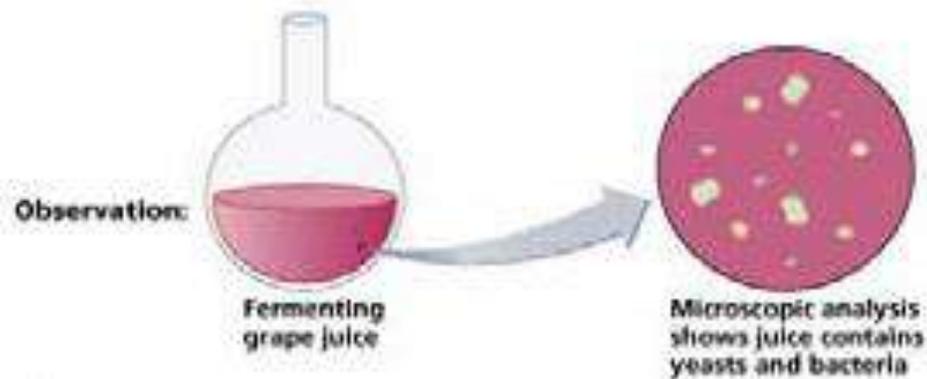
- Grecques : Vins provenant de fermentation de fruits
- Chinois : bière chinoise à base de riz
- Chine et Japon : sauces de soja à base de fèves fermentées

Il a fallu attendre les études de Pasteur sur le rôle des microorganismes dans la fabrication du vin pour comprendre que la fermentation était causée par des Microorganismes.

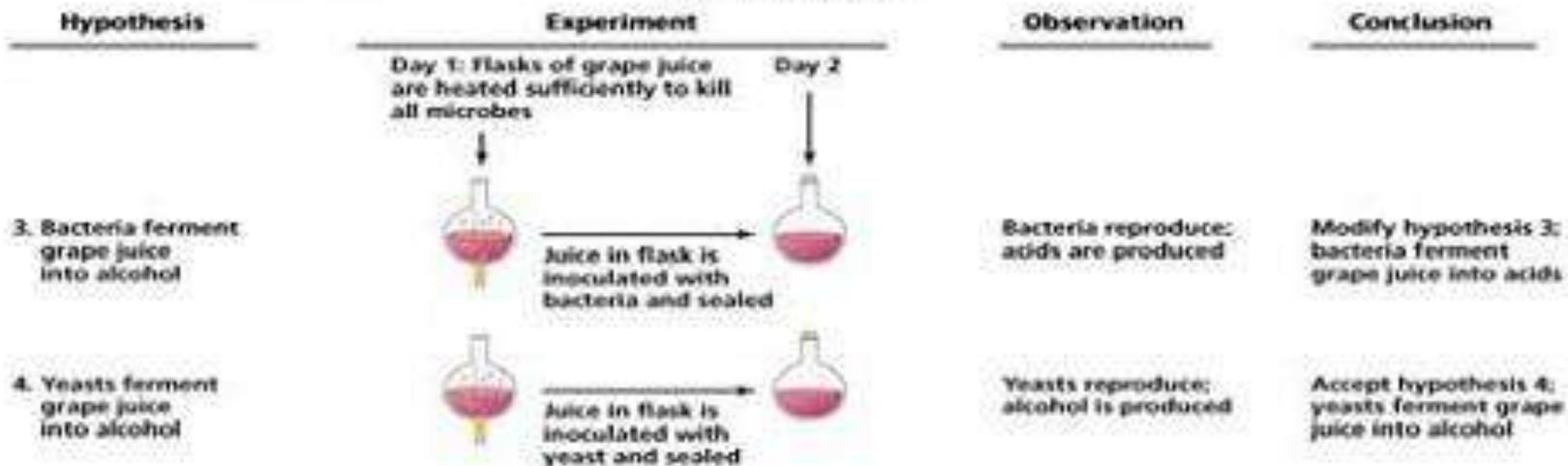
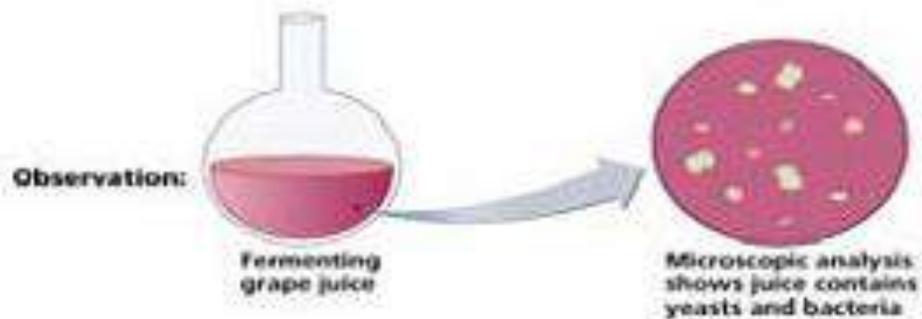
- C'est en 1850 que Pasteur s'intéressa à la fabrication du vin,
- il montra que les échantillons de vins contenaient différents types de microbes.
- certains microbes dominaient dans les bons échantillons

Il proposa alors de chauffer les jus de fruits à 62,8°C (Pasteurisation) pour éliminer les souches indésirables, puis de commencer la fermentation par une culture provenant du bon vin

Expériences de Pasteur sur la fermentation



Hypothesis	Experiment	Observation	Conclusion
1. Spontaneous fermentation occurs	<p>Day 1: Flasks of grape juice are heated sufficiently to kill all microbes</p> <p>Flask is sealed</p> <p>Day 2</p>	No fermentation; juice remains free of microbes	Reject hypothesis 1
2. Air ferments grape juice	<p>Flask remains open to air via curved neck</p>	No fermentation; juice remains free of microbes	Reject hypothesis 2



Copyright © 2000 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Conclusion : Les microorganismes responsables de la fermentation sont soit les bactéries (production d'acides) soit les levures (production d'alcool)

Différents types de Fermentations étudiés par Pasteur

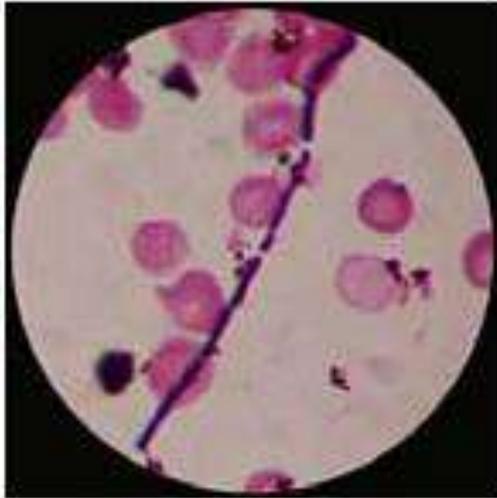
- **Fermentation lactique (1857)**
- **Fermentation alcoolique (1858)**
- **Fermentation butyrique – anaérobiose (1861)**
- **Etudes sur le vinaigre (1861-64)**
- **Etudes sur le vin (1866)**
- **Etudes sur la bière (1876)**

b) Relation microorganismes - Maladies

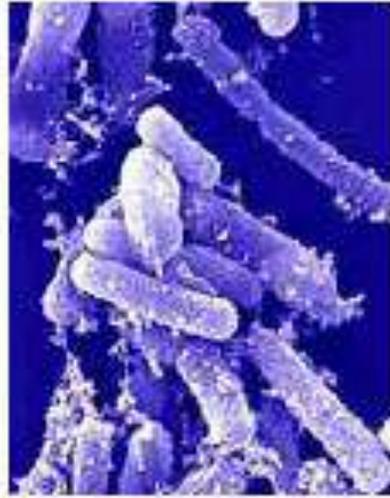
La théorie germinale des maladies était présente avant que Pasteur ne montre que les microorganismes étaient la cause des maladies.

- en 1546, **Fracastoro de Vérone** suggérait que les maladies pouvaient être provoquées par des êtres vivants.
- en 1762, **Von Plenciz de Vienne** prétendait que différents microorganismes provoquaient des maladies différentes
- en 1843, **Olivier Wendell Holmes** suggérait que la fièvre puerpérale, infection des femmes après accouchement, était contagieuse et causée par des microorganismes transportés d'une femme à l'autre par des sages femmes ou des médecins

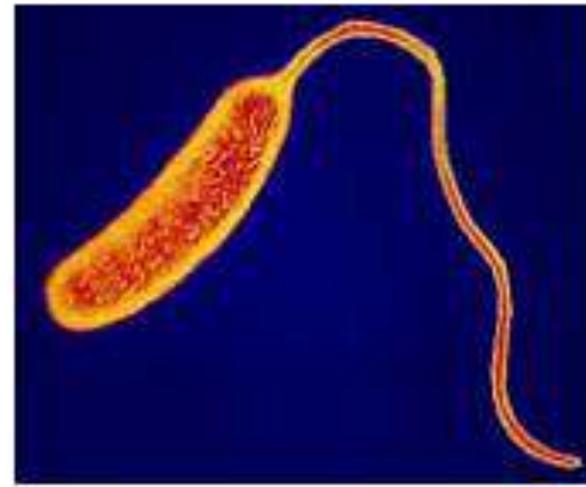
- en 1870, **Robert Koch** (puis Pasteur en 1877) a isolé des bactéries en forme de batonnets à bouts carrés à partir du sang de moutons atteints de la maladie du charbon. Plus tard Koch découvrit les bactéries responsables de la tuberculose et du Choléra.



Bacille du charbon
Bacillus anthracis



Bacille de Koch
Mycobacterium tuberculosis



Vibrio cholerae

c) Prévention et traitement des maladies

**Les méthodes de prévention et de traitement utilisées pour contrôler
Les maladies microbennes sont :**

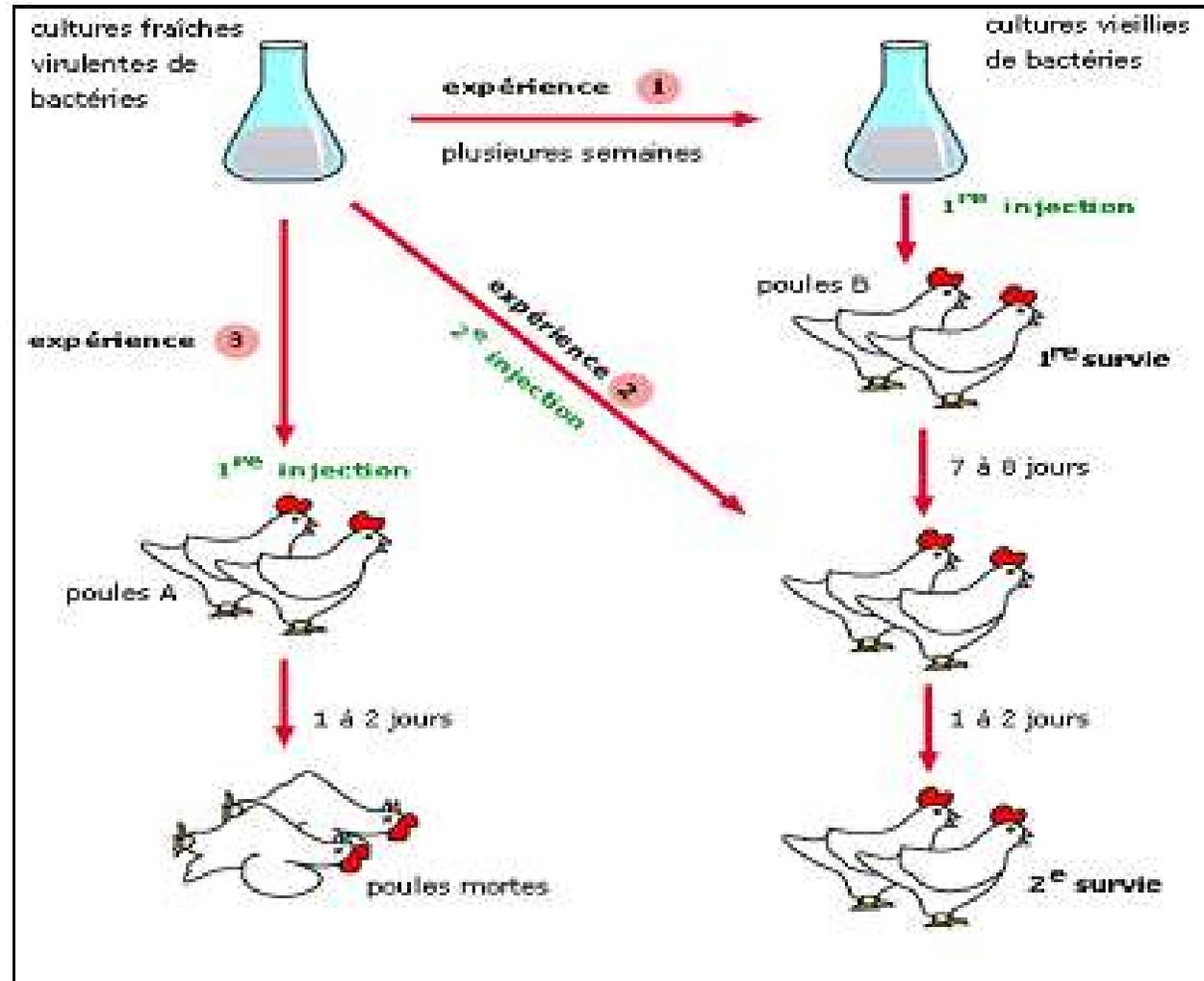
❖ l'immunisation ou vaccination

❖ l'antisepsie

❖ la chimiothérapie

❖ les mesures de santé public (purification des eaux,
traitement des eaux usées, conservation des aliments)

L'immunisation ou vaccination



En été 1879, **Pasteur et ses collaborateurs, Roux et Duclaux**, découvrent que les cultures vieilles du microbe du choléra injectées aux poules ne déclenchent pas la maladie. De plus, cela permet à ces poules de résister à de nouvelles infections .

Conclusions

- les bactéries atténuées pouvaient stimuler l'hôte à produire des anticorps = substances qui protègent contre l'infection contractée à la suite D'un contact avec l'organisme virulent : c'est une **immunisation**
- Les cultures **atténuées** = vaccins
- Vaccination = immunisation obtenue grâce aux cultures atténuées

Remarque : Pasteur appliqua ce principe d'immunisation à d'autres maladies comme le charbon et la rage

L'antiseptie

- * Sepsie = infection
- * Antiseptie = mesures prises pour combattre l'infection
- Technique utilisée par **Semmelweis** en premier puis par **Josef Lister** qui fut le premier à avoir utilisé le phénol comme désinfectant en 1864.

La chimiothérapie

Utilisation de produits chimiques pour soigner les maladies

- Mercure = 1^{er} produit utilisé (1495)
- **Paul Ehrlich** est le fondateur de la chimiothérapie, il a trouver des Produits chimiques capables de tuer les microbes sans nuire au malade

- Parmi les premiers produits utilisés en thérapeutique, **les sulfamides** découverts par le scientifique allemand **Gerhard Domagk**.
- À la même époque apparue aussi **la Pénicilline** découverte par le Bactériologiste écossais **Alexandre Fleming**.



Université Cadi Ayyad

**Faculté polydisciplinaire
Safi**



Filière science de la vie (S₃)

Module:

« Microbiologie Générale »



Pr. Faissal AZIZ

faissalaziz@gmail.com / Faziz@kth.se

Chapitre II :

Structure de la cellule procaryote

1. - Comparaison cellule eucaryote-cellule procaryote
2. - Structure générale et organisation de la cellule procaryote
3. - Paroi
4. - Flagelle
5. - Pili(commun et sexuel)
6. - Capsule
7. - Endospore

Organisation des cellules eucaryotes et procaryotes

	Procaryote	Eucaryote
Taille	0,2µm (mycoplasmes)-10 µm – voire plus chez certaines bactéries géantes (<i>Epulopiscium fishelsoni</i> : 10 à 500 µm selon la phase de croissance ; <i>Thiomargarita namibiensis</i> de 0,1 à 1 mm)	1 µm (<i>Nauchloron eucaryotum</i>) + 5 µm (levure) – 100 µm (voire de l'ordre du mètre si on pense aux neurones)
Organisation	Le plus souvent unicellulaire = différenciation rudimentaire	Uni ou multicellulaire = différenciation sophistiquée en tissus et organes chez les eucaryotes supérieurs
Noyau avec membrane	Absent (sauf très rare exception)	Présent
Matériel génétique	1 nucléoïde (parfois plusieurs) et parfois des plasmides Matériel génétique dans cytosol	Plusieurs chromosomes Matériel génétique dans noyau et certains organites
Cytosquelette	Pas à proprement parlé (néanmoins protéine FtsZ)	Présent (microtubules, filaments d'actine)
Division	Fission binaire	Mitose (réplication de la cellule) et souvent méiose (formation de gamètes)
Processus d'endocytose	Absent	Présent
Ribosomes	70S : 50S (ARN 23S et 5S) + 30S (ARN 16S)	80S (sauf mitochondrie et chloroplaste) : 60S (ARN 25S et 5,8 S et 5S) + 40S (ARN 18S)
Membranes internes	Très rare (cf. certaines bactéries photosynthétiques, les méthanotrophes, les bactéries nitrifiantes...)	Présentes
Compartiments internes (= organites)	Absents	Présents : compartimentation de la production d'énergie (mitochondrie, chloroplaste), des réactions enzymatiques (péroxyosome, lysosome, cytosol), de la synthèse protéique et sécrétion (réticulum endoplasmique, appareil de Golgi) – Quelques eucaryotes « primitifs » tels que <i>Giardia lamblia</i> n'ont pas de mitochondries ou de réticulum endoplasmique.

Tableau comparatif (suite) :

	Procaryotes	Eucaryotes
Appareil photosynthétique	Présent chez les phototrophes	Présent chez les algues et les plantes au sein d'organites spécialisés : les chloroplastes
Vacuole à gaz	Parfois présente	Absente
Endospore	Parfois présente	Absente
Flagelles, cils	Présent (selon espèces) – Flagelles constitués de flagelline et non entouré d'une membrane (le plus souvent)	Présent (selon espèces) – Flagelles et cils faits de tubuline, entourés d'une membrane
Paroi	Peptidoglycane présent chez la plupart des bactéries – Paroi absente chez quelques procaryotes (mycoplasmes, thermoplasmales) - Paroi différente présente chez certaines archées–	Paroi de cellulose chez les plantes, de chitine chez les champignons
Stéroïds dans les membranes	Très rare (exception : mycoplasme, méthanotrophe...)	Fréquente
Lipides liés par des liaisons ester	Présent chez les bactéries (mais pas les archées)	Présent
Lipides liés par des liaisons éthers	Présent chez les archées (mais pas les bactéries)	Absent

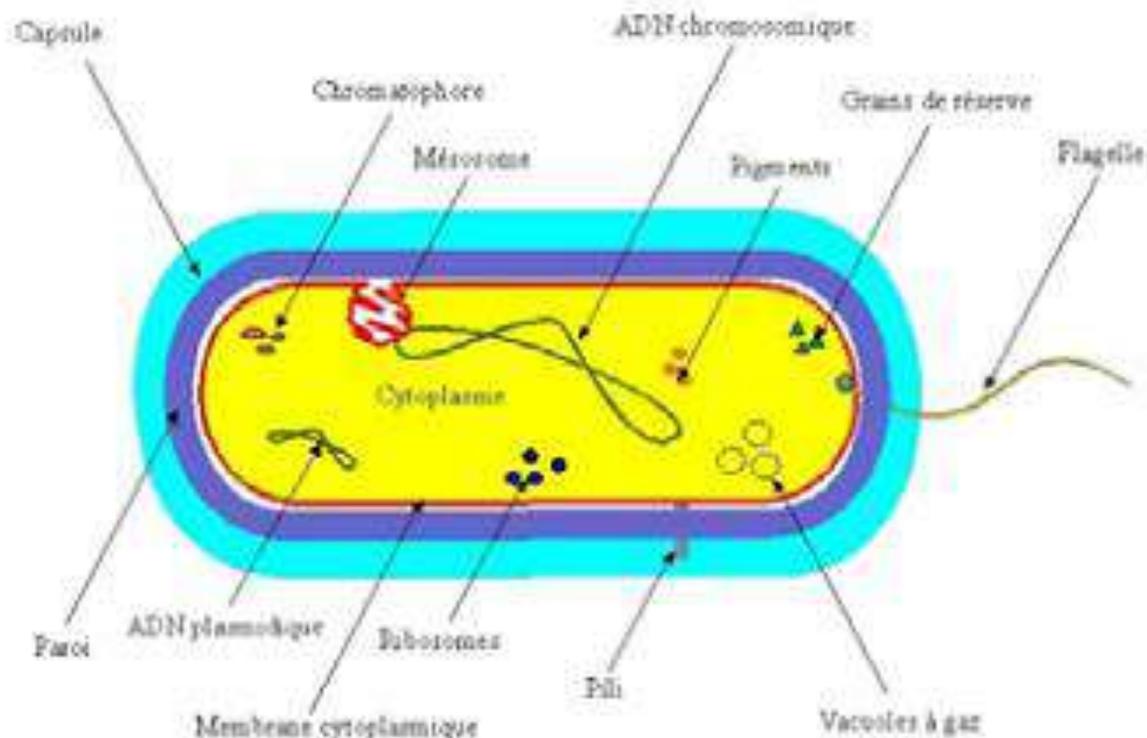
1- Morphologie générale.

a) Définition d'une bactérie :

* Etre unicellulaire de petite taille (microorganisme, micron) de morphologie différente qui présente des caractéristiques propres (Procaryote).

cellule bactérienne

Schéma de la structure bactérienne



b) Dimensions

- l'unité de mesure en microbiologie = le micromètre (μm)

- Les dimensions des bactéries sont variables

- Diamètre habituel \approx 0,5 à 1 μm

- Longueur \approx 2 à 5 μm

- Certaines bactéries sont très longues :

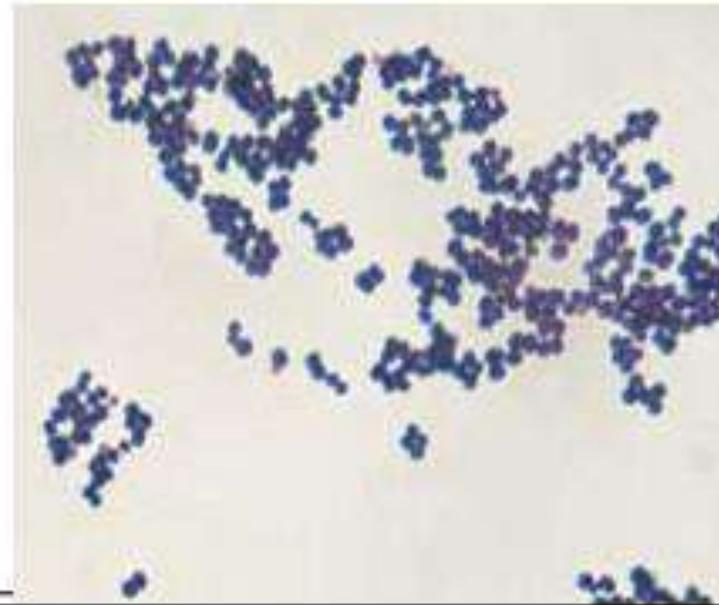
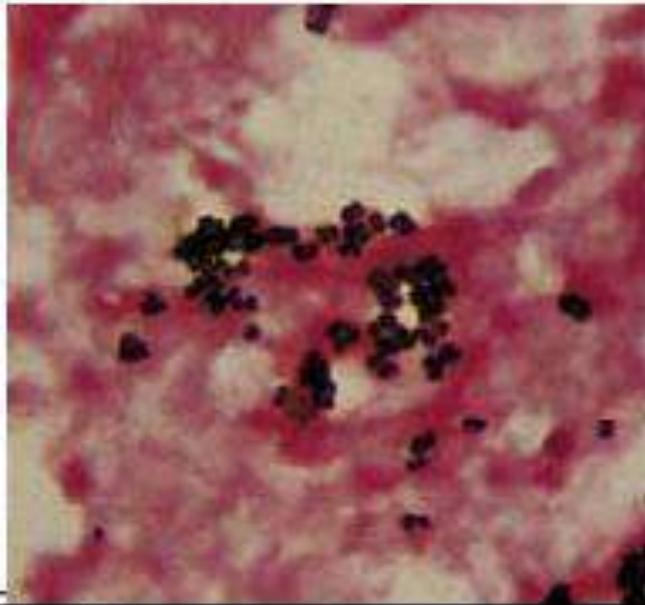
(longueur = 100 μm , diamètre = 1 à 2 μm)

Les plus petites bactéries = **mycoplasmes** (0,1 à 0,3 μm)

c- Forme des bactéries

- * La forme des bactéries est un critère permettant de les classer.
- * Les bactéries présentent des formes variables :

- Forme sphérique ou ovoïdes = *Coques ou Cocci*



- **Forme allongée droite ou cylindrique = Bacilles**



E. coli



Bacille de Koch

- **Forme spiralée = Spirilles (rigides ou relâchées)**

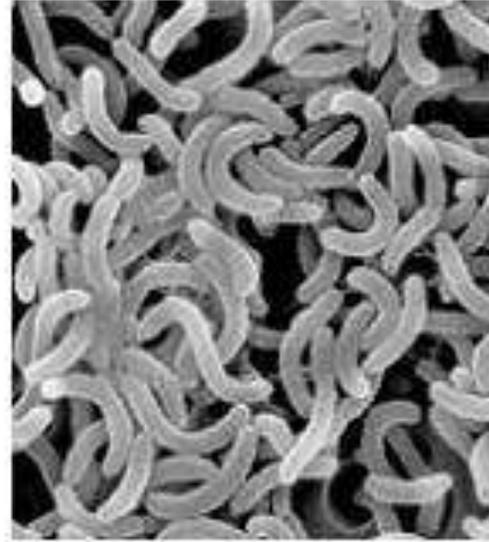


Spiroplasma melliferum



- **Forme incurvée (en virgule) = Vibrions**

Vibrio cholerae



- **forme ovale (intermédiaire entre coque et bacille) = Coccobacille**

Exemple : le genre *Brucella*



Copyright Dennis Kunkel

d- Groupement

- Certaines espèces bactériennes présentent des modes de groupement cellulaires caractéristiques de l'espèce.

* Pour les **cocci**, on trouve :

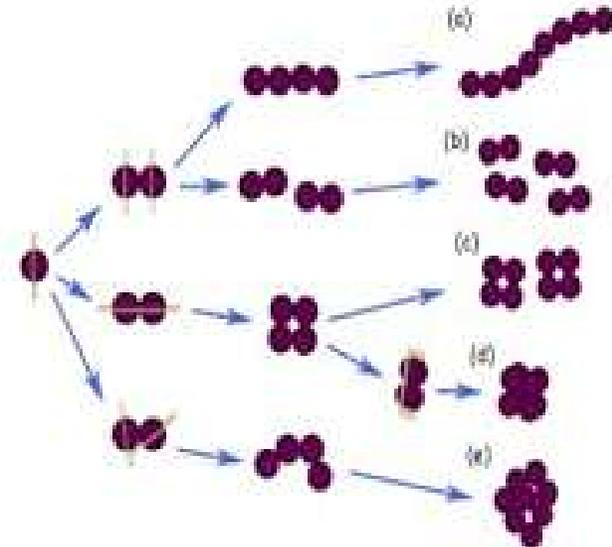
- **Streptocoques**, cocci en chaînettes (a) division selon un même plan;

- **diplocoques**, cocci regroupés deux à deux (b)

- **en Tétrades** (c) division selon deux plans régulièrement

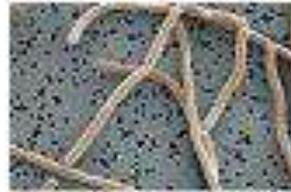
- **Sarcines** (d) division selon trois plans régulièrement

- **Staphylocoques**, cocci en amas. (e) division selon plusieurs plans, irrégulièrement



* Pour les **Bacilles**, on trouve :

- en chaîne : ex, *Lactobacillus*



- en palissade : ex, *Corynebacterium*



- en Y : ex, *Bifidobacterium*

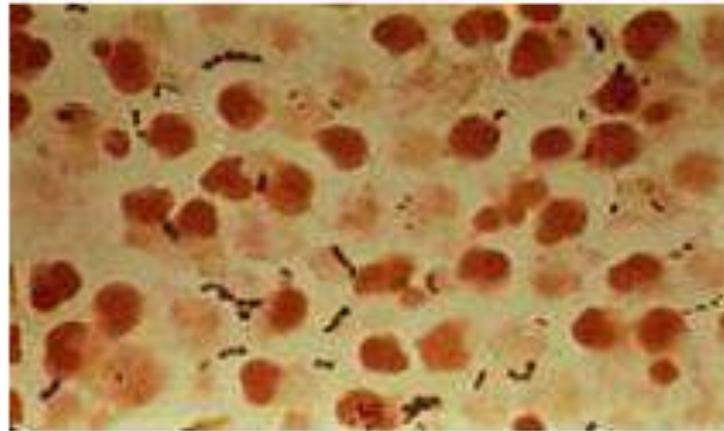


Remarque :

Ces groupements peuvent varier selon les circonstances



Sur un frottis de Streptocoques, on peut trouver des amas de deux, quatre, huit, des grappes et la forme en chaîne caractéristique



MORPHOLOGIE BACTÉRIENNE

Formes sphériques : coques	Formes allongées
<p>★ Forme ronde : ● Ex. : <i>Staphylococcus</i></p> <p>★ Forme ovale (ovoïde) : ● Ex. : <i>Streptococcus</i></p>	<p>★ Formes droites :</p> <p>court ■ Long ■■</p> <p>épais ■■ fin —</p> <p>Bouts ronds ●■ bords carrés ■■</p> <p>Coccobaccille ●■ Fusiforme ●■</p> <p>★ Formes particulières</p> <p>➤ Forme incurvée) ex : <i>Vibrio</i></p> <p>➤ Forme spiralée ~~~~~ ex : <i>Treponema</i></p>
<p>★ Mode de groupement :</p> <p>➤ isolé ● ●</p> <p>➤ par deux (diplocoques) ●●</p> <p>➤ En flamme de bougie ●● ex. : <i>Streptococcus pneumoniae</i></p> <p>➤ En grain de café ●● ●● ex. : <i>Neisseria</i></p> <p>➤ Par quatre : tétrade ●●●● ex. : <i>Micrococcus</i></p> <p>➤ En amas ●●●●●●●●</p> <p>➤ En chaînette ●●●●●●●●</p>	<p>★ Modes de groupement :</p> <p>➤ isolés ■■ ■■ ■■</p> <p>➤ diplobacille ■■ ■■</p> <p>➤ En amas ■■ ■■</p> <p>➤ En chaînette ■■ ■■ ■■ ■■ ■■ ■■</p> <p>➤ En palissade ■■ ■■ ■■ ■■ ■■ ■■</p>

e- Ultrastructure de la cellule bactérienne

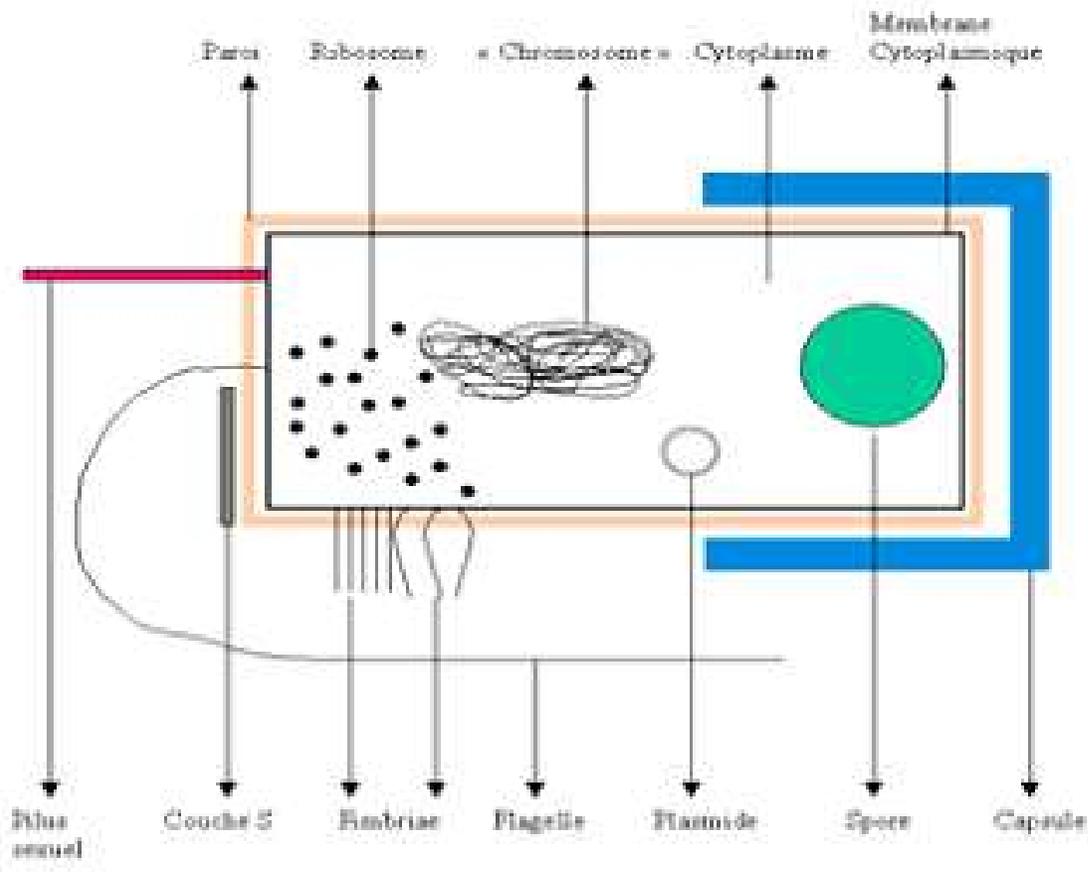
L'examen de la cellule bactérienne à l'aide des techniques microscopiques modernes révèle l'existence de deux types de Structures.

- **Structures extérieurs à la paroi cellulaire** (flagelles, pili, capsule...)
- **Structures à l'intérieur de la paroi** (membrane cytoplasmique, mésosome, cytoplasme et structures intracytoplasmiques...)

Les bactéries sont formées par des éléments

- obligatoires (présents chez toutes les bactéries)
- facultatifs (présents uniquement chez quelques espèces)

Éléments
obligatoires



@ Éléments obligatoires

* La Paroi bactérienne :

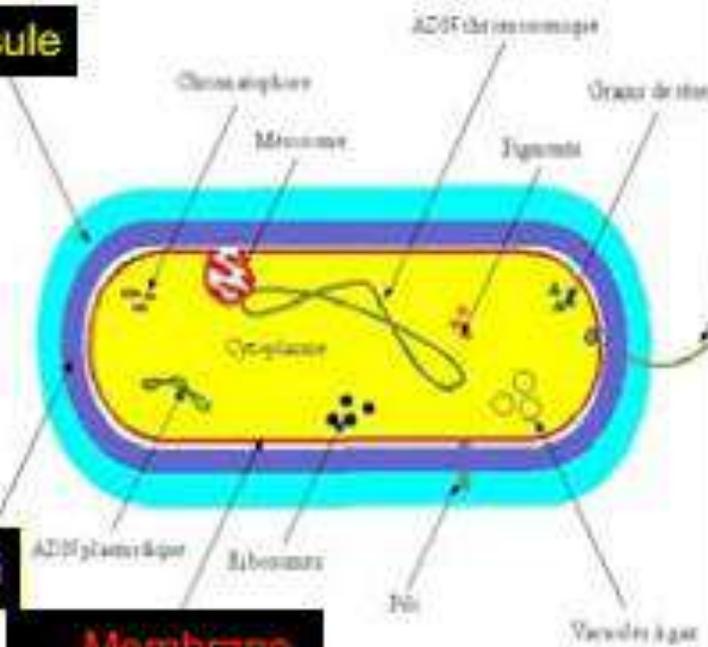
- * La paroi se trouve au dessus de la membrane cytoplasmique et au dessous de Capsule.
- * enveloppe rigide caractéristique de la cellule procaryote « exosquelette »
- * A part les mycoplasmes, toutes les bactéries possèdent une paroi cellulaire
- * Son épaisseur varie entre 10 et 35 nm chez la plupart des bactéries

cellule bactérienne

Capsule

Paroi

Membrane cytoplasmique



a) Rôles de la paroi bactérienne

* Résistance

- Confère à la bactérie **sa forme** (si on enlève la paroi, on obtient des cellules sphériques = protoplastes).
- Confère à la cellule **sa rigidité** et **sa résistance** aux pressions (pression osmotique interne des bactéries 5 à 20 atm)
- Assure la protection de la membrane cytoplasmique (membrane interne)
- Est constitué d'un composé spécifiquement bactérien, **le peptidoglycane (ou muréine)**, un polymère d'un dissaccharide formé de **N-acétyl-glucosamine et d'acide N-acétyl-muramique (il donne à la cellule sa rigidité)**

* Echanges

- Contrôle la diffusion des molécules en fonction de leur taille, degré d'hydrophobicité... : rôle de membrane semi-perméable
- Assure le captage des nutriments importants : récepteurs et transporteurs membranaires spécifiques
- Effectue le rejet des composés nocifs dans le milieu extérieur : pompes d'efflux

* Adaptation

- Se modifie pour permettre la croissance et la division cellulaire

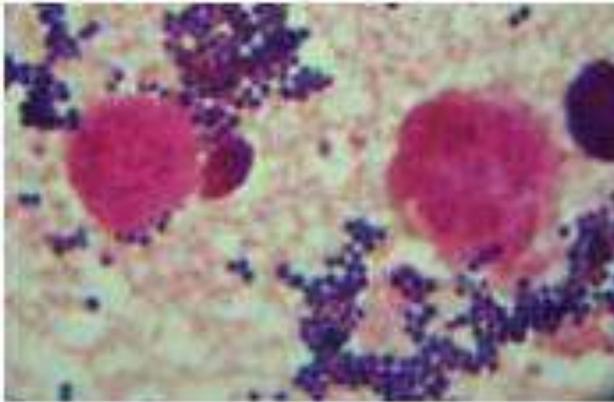
* Classification

- Est colorable par la méthode de Gram (1884).

Coloration de Gram

Cette coloration permet de diviser les bactéries en deux grands groupes

bactérie à Gram positif



Staphylococcus aureus

bactérie à Gram négatif



Escherichia coli

Coloration de Gram

- * C'est la coloration de base en bactériologie .
- * Cette coloration permet de différencier les bactéries selon deux critères :
 - leur forme ,
 - leur affinité pour les colorants .

Pour réaliser cette coloration, on doit d'abord préparer

ce qu'on appelle un frottis fixé

Voir TP

Principe de la coloration de Gram

- les bactéries sont imprégnées par une première solution colorante, **le violet Cristal**.
- puis elles sont fixées par **un mordant**, la solution de **Lugol** (solution d'iode dans l'iodure de potassium)

On fait ensuite agir un **décolorant** (**alcool** le plus souvent)

Suivant la composition de leur paroi :

- certaines bactéries **résistent à cette décoloration** et apparaissent colorées en **violet** elles sont dites **Gram positif**.
- d'autres bactéries **ne résistent pas** et ne sont plus visibles. On doit donc utiliser **un deuxième colorant** de teinte contrastante (**fuchsine**, ou safranine, colorants rouges). Ces bactéries apparaissent alors colorées en **rose**, elles sont dites **Gram négatif**.

La distinction entre bactéries à gram positif et bactéries à gram négatif repose sur une différence de composition chimique pariétale.

b) Composition chimique de la paroi bactérienne

	Bactéries Gram +	Bactéries Gram -
Osamines	+++	+
Acides aminés	24 à 35 %	50 %
Acides teichoïques	+++	-
Oses	20-60 %	20-60 %
Lipides	1-2,5 %	10-22 %

Les différents composants de la paroi bactérienne

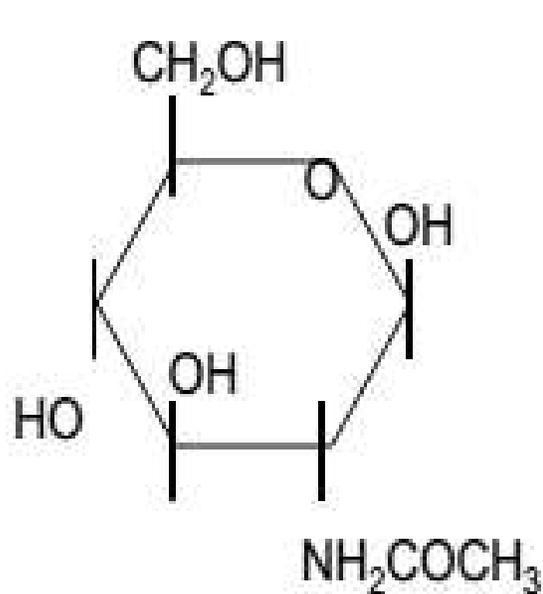
* Osamines

- La N-acétylglucosamine

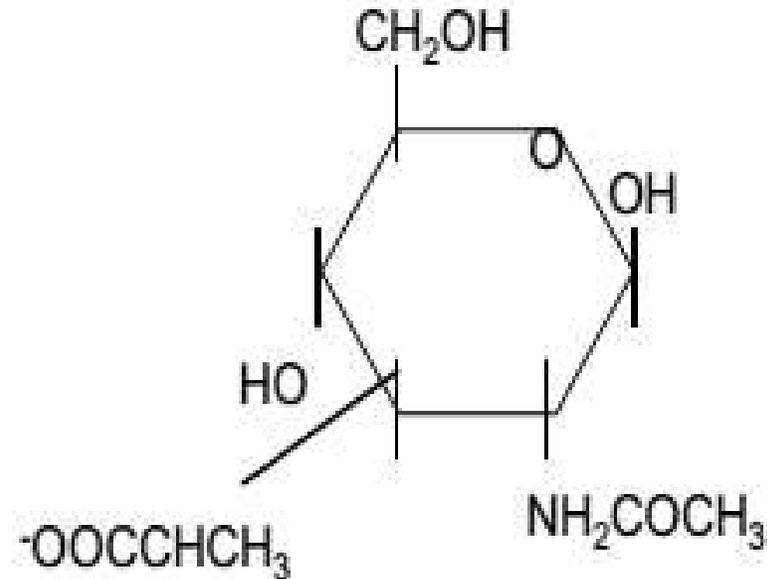
- L'acide N-acétylmuramique

- Présents chez toutes les bactéries
- Entrent dans la composition du peptidoglycane

- La glycosamine : présente chez quelques espèce seulement en faible proportion



N-acétylglucosamine (NAG)



Acide N-acétylmuramique (NAM)

*** Oses simples**

- **Nombreux : glucose, galactose, mannose, fructoseetc**
- **Leur nature et leur types d'associations confèrent aux antigènes de Paroi leur spécificité**

*** Lipides**

- **Présents en faible quantité (presque totalement absents chez les Gram +)**
- **entrent dans la composition des lipopolysaccharides des Gram -**

c) Structure moléculaire de la paroi bactérienne

- Il existe une nette différence de structure entre les parois des Gram + et des Gram -



Gram positifs

Gram négatifs



(Capsule, glycocalyx, slime, couche S...)

Peptidoglycane

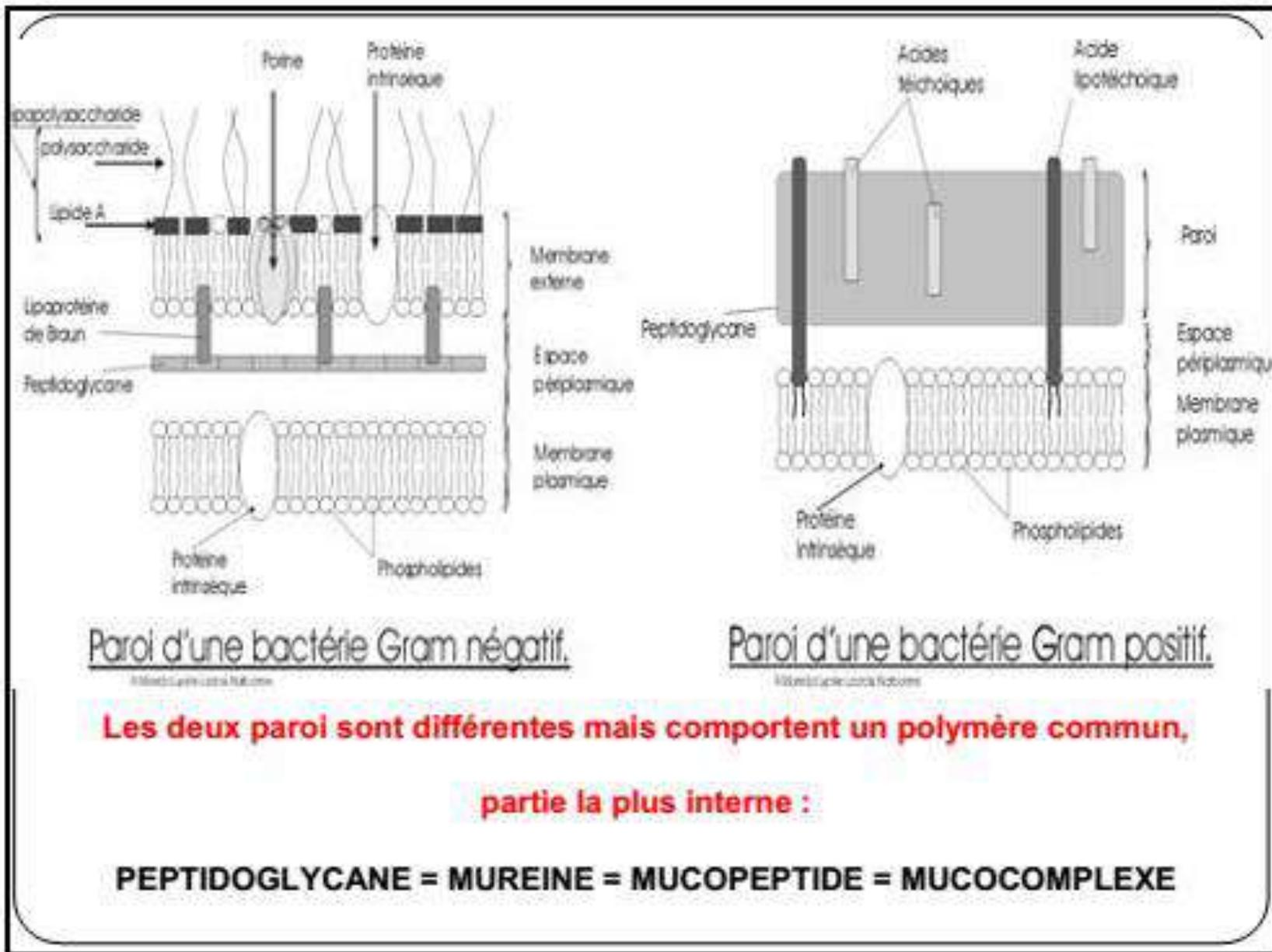
Membrane cytoplasmique



Membrane externe

- Paroi épaisse (15 à 80 nm)
- aspect homogène

- Paroi mince (6 à 15 nm)
- aspect hétérogène



* Le peptidoglycane

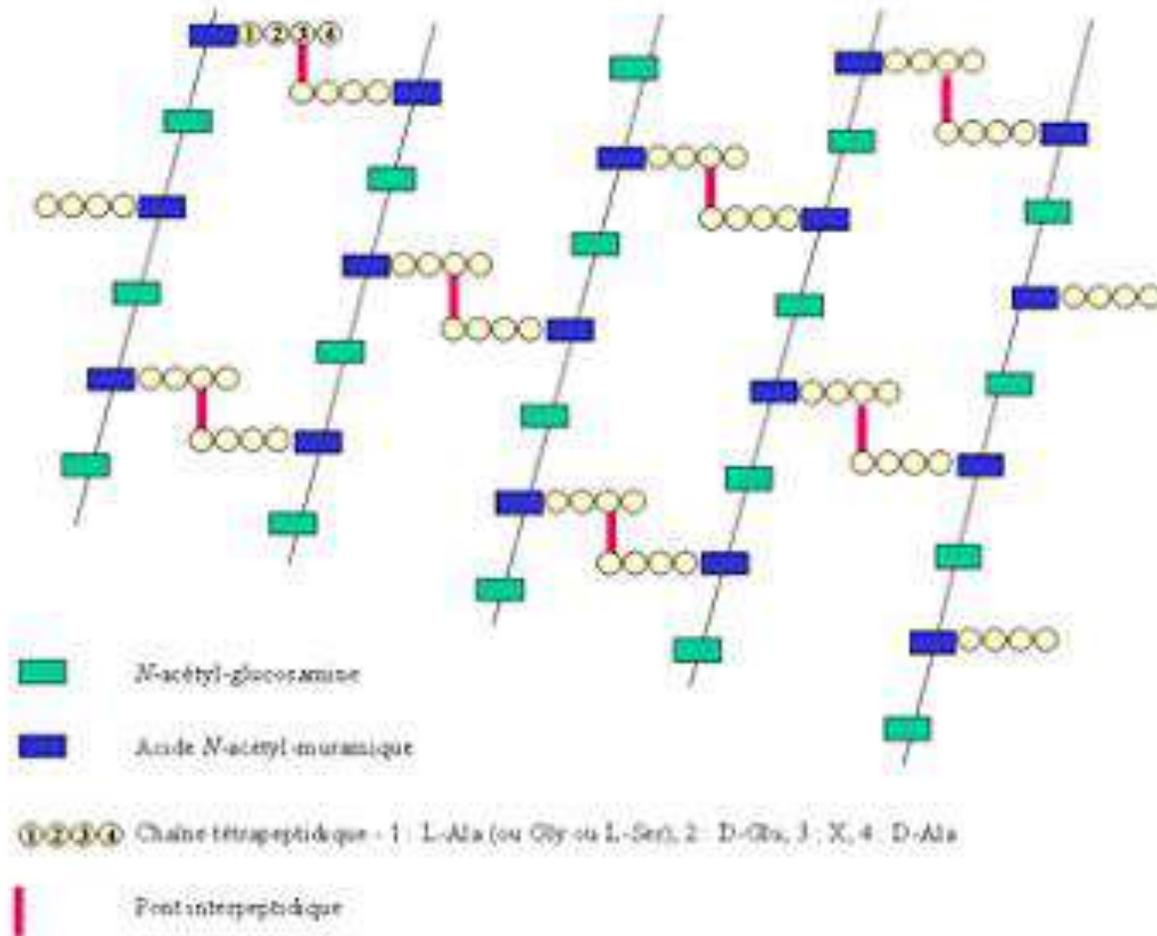
Comme son nom l'indique, le peptidoglycane est constitué :

* **d'une partie glucidique** : il s'agit d'une alternance de **N-Acetyl-Glucosamine (NAG)** et de **N-Acetyl-Muramique (NAM)** reliés par des liaisons Glycosidique β 1-4.

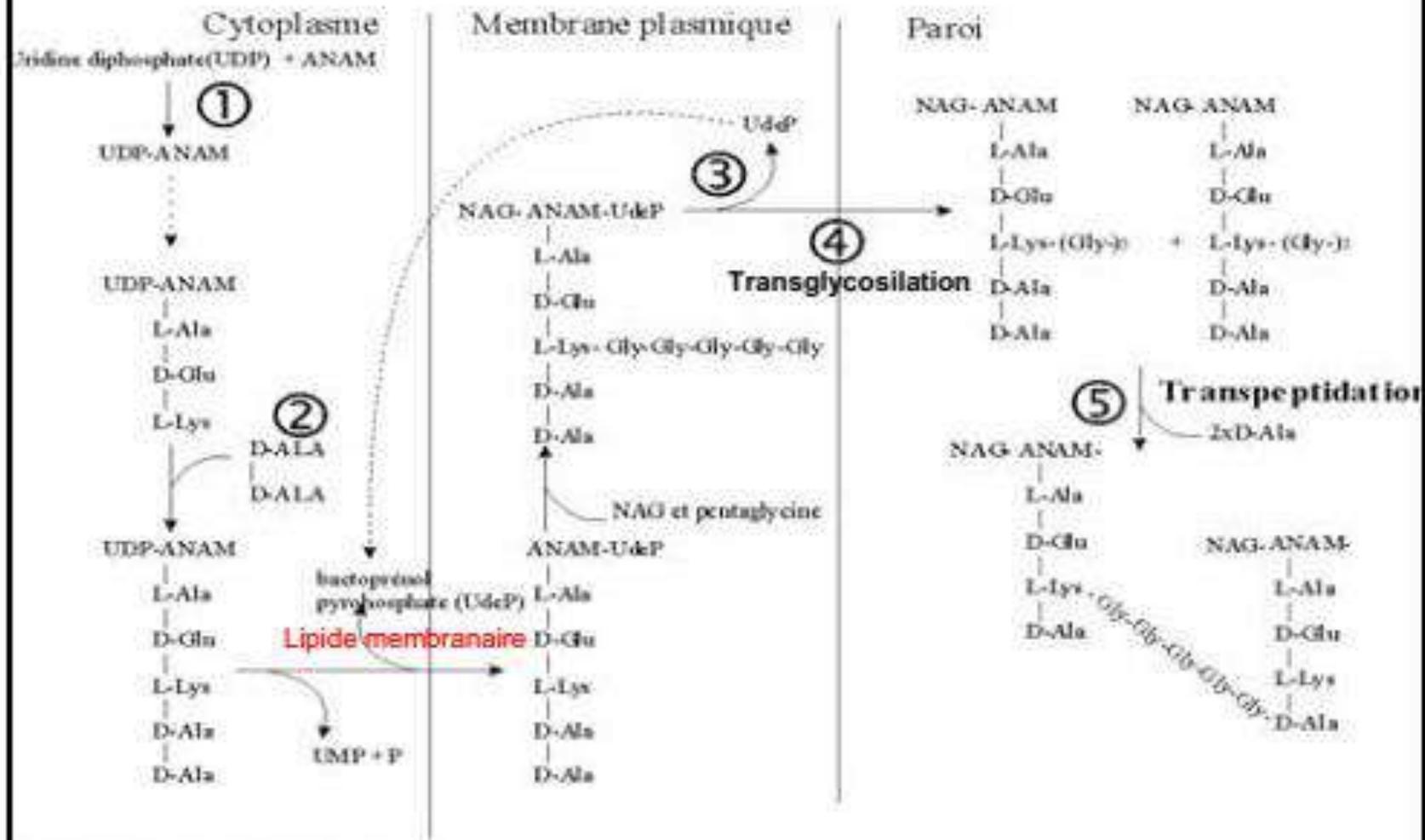
* **d'une partie peptidique** : 4 acides aminés qui sont reliés par une liaison amidique au niveau de la fonction acide carboxylique du résidu pyruvate du NAM.

Le peptidoglycane est formé par de longues chaînes répétitives montrant une alternance NAG-NAM

Structure du peptidoglycane (polymère en réseau donne sa rigidité à la cellule)



Biosynthèse du peptidoglycane



Action de certains antibiotiques :

1- Fosfomycine : bloque la formation de l'UDP-ANAM

2- Cycloserine : bloque la formation du dipeptide d'alanine

3- Bacitracine : elle empêche le recyclage du bactopréneol.

4- Vancomycine : elle empêche la liaison des nouveaux éléments synthétisés avec le peptidoglycane déjà existant (bloque transglycosylation)

5- Tétracyclines et céphalosporines : elles bloquent la transpeptidation.

Remarque

* Le peptidoglycane est la cible de nombreux antibiotiques (b-lactamines comme la pénicilline). → inhibition de la synthèse de la paroi

* Le lysosyme est une enzyme (présente dans les larmes, la salive...) capable d'hydrolyser les liaisons osidiques du peptidoglycane

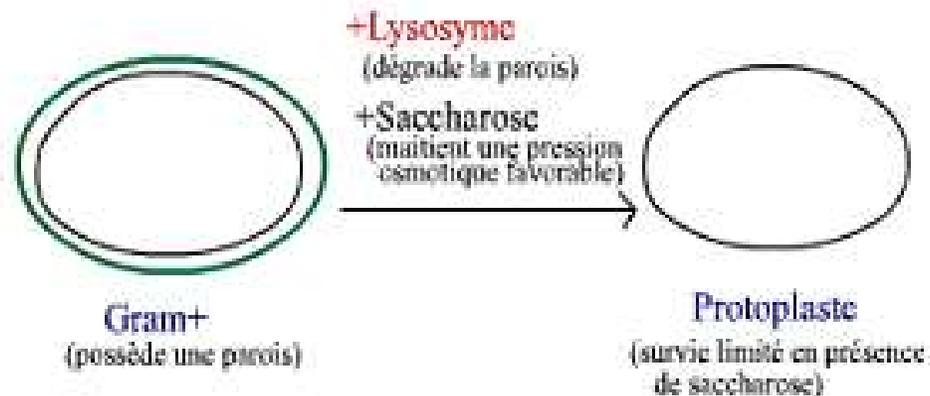
Protoplastes (bactéries Gram +) ← Destruction de la paroi

Sphéroplastes (bactéries Gram -)

* **Spheroplaste** = protoplasme isolé des cellules bactériennes Gram.-



* **Protoplaste** = Cellule bactérienne libérée de sa paroi mucopolysaccharidique



Conclusion des deux expériences

La paroi joue un rôle :

- dans la forme de la cellule
- dans la résistance à la pression interne de la cellule (milieu Hypertonique empêche la lyse des cellules)

Comparaison de la paroi des bactéries à Gram positif et des bactéries à Gram négatif

	Bactéries à Gram positif	Bactéries à Gram négatif
Aspect en microscopie électronique	Une couche épaisse et amorphe	Deux couches séparées par un espace clair
Présence d'une membrane externe	Non	Oui
Présence d'un espace périplasmique	Non	Oui
Peptidoglycane	Épais (15 à 80 nm), représente 40 p. cent du poids sec,	Mince (6 à 15 nm), représente moins de 10 p. cent du poids sec,
Acides téchoïques	Présents	Absents
Présence de protéines	Possible : liaisons covalentes avec le peptidoglycane, rôle éventuel dans le pouvoir pathogène, rôle éventuel dans l'antigénicité spécifique	Fréquente
Présence de polysaccharides	Possible : antigènes spécifiques de groupe pour certaines espèces	Possible
Lipopolysaccharides	Absents	Présents

Autres rôles de la paroi

- La paroi possède des propriétés antigéniques

* Bactéries à Gram +

- Acides teichoïques = principaux Ag chez
Les staphylocoques

- Chez le genre *Streptococcus*

Ag C
(polyosidiques)

Ag M, T, et R
(protéiniques)

À la base de la classification
antigénique de **Lansfield**
(groupes sérologiques A,B,C,D,E..)

* Bactéries à Gram -

- Polysaccharide O du LPS = Ag

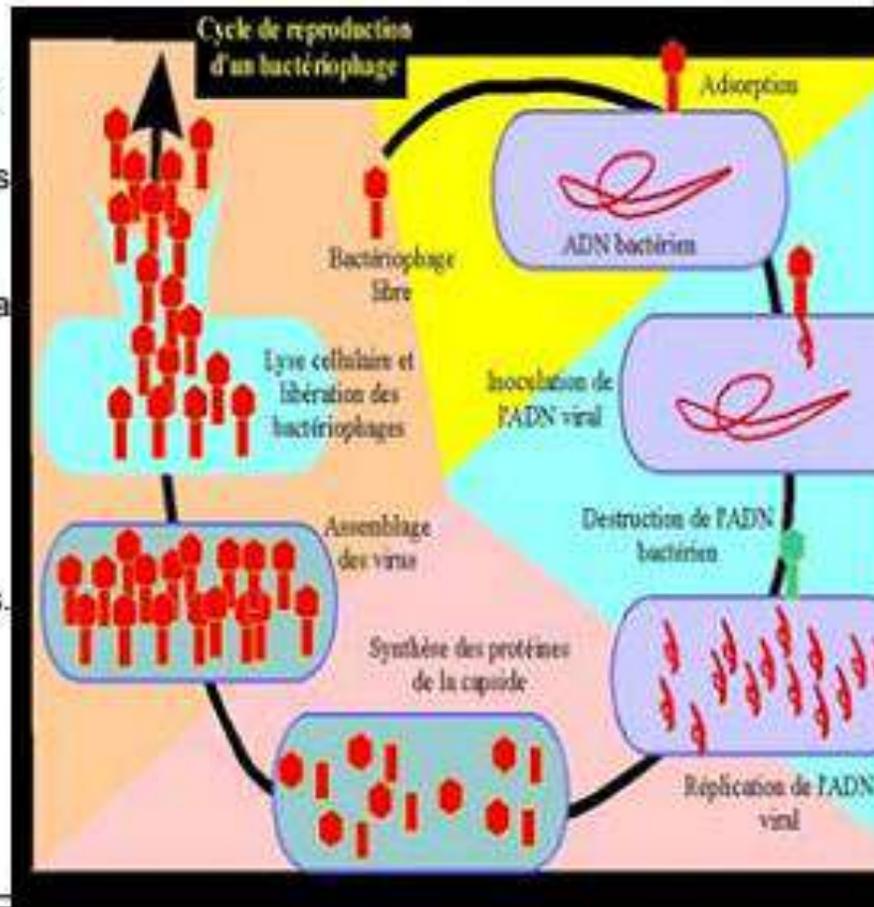


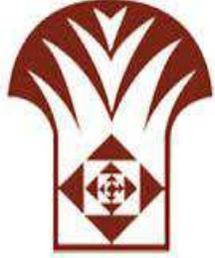
La classification des *Salmonella* par
Kauffmann et White en groupes
sérologiques repose sur la diversité des
facteurs O et H (antigènes flagellaires)

Autres rôles de la paroi

- Fixation des bactériophages

- Certains constituants de la paroi sont des sites privilégiés de fixation des bactériophages (ex : acides teichoïques des bactéries Gram positif)
- La fixation du virus sur la paroi constitue la première phase de l'infection virale.
- Celle-ci peut être suivie par la lyse de la cellule.
- Cette propriété peut être utilisée pour différencier certaines espèces bactériennes.
- la carte d'identité obtenue est appelée lysotype .





Université Cadi Ayyad

**Faculté polydisciplinaire
Safi**



Filière science de la vie (S₃)

Module:

« Microbiologie Générale »



Pr. Faissal AZIZ

faissalaziz@gmail.com / Faziz@kth.se

Chapitre II :

Structure de la cellule procaryote

1. - Comparaison cellule eucaryote-cellule procaryote
2. - Structure générale et organisation de la cellule procaryote
3. - Paroi
4. - Membrane cytoplasmique
5. - Flagelle
6. - Pili(commun et sexuel)
7. - Capsule
8. - Endospore

* La membrane cytoplasmique

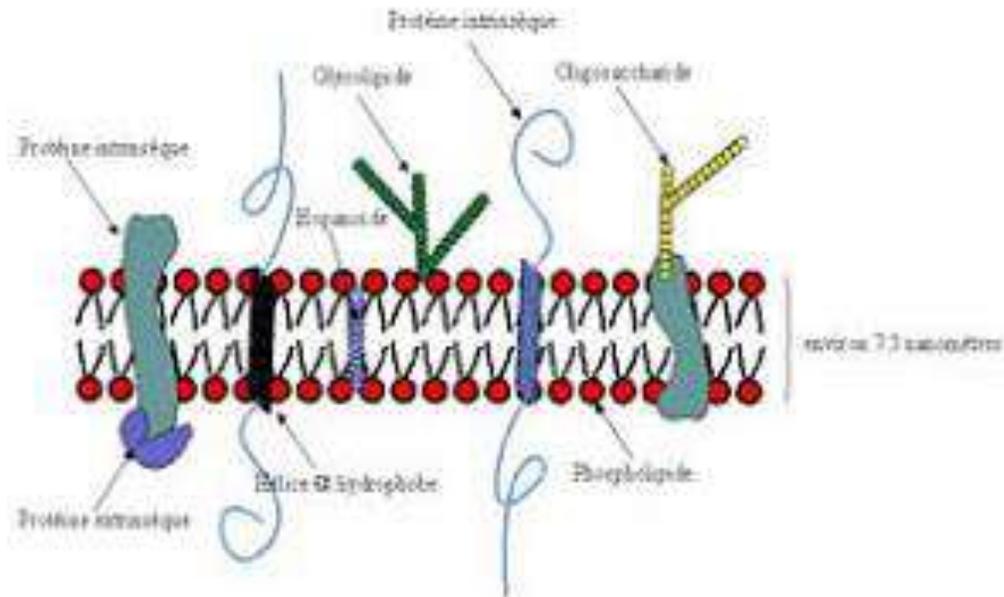
- Membrane ayant un aspect trilamellaire
- Située sous la paroi, interface entre cytoplasme et structures externes

• Composition

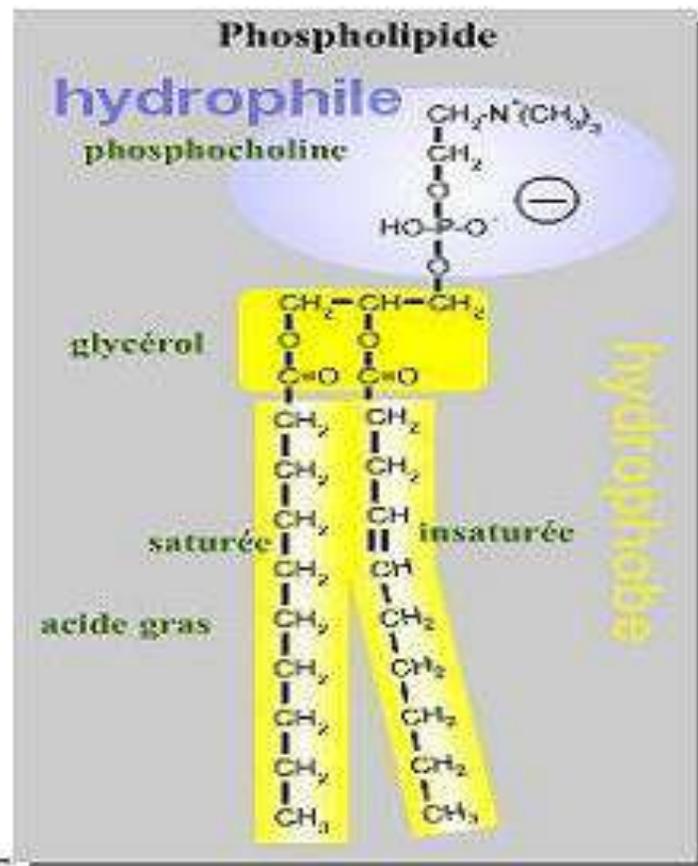
- Lipides (30 à 40 %)
- protéines (60 à 70 %)
- Glucides (constituants mineurs, glucose, glucosamine)

Absence de cholestérol =
différence avec la cellule
eucaryote

Structure de la membrane cytoplasmique



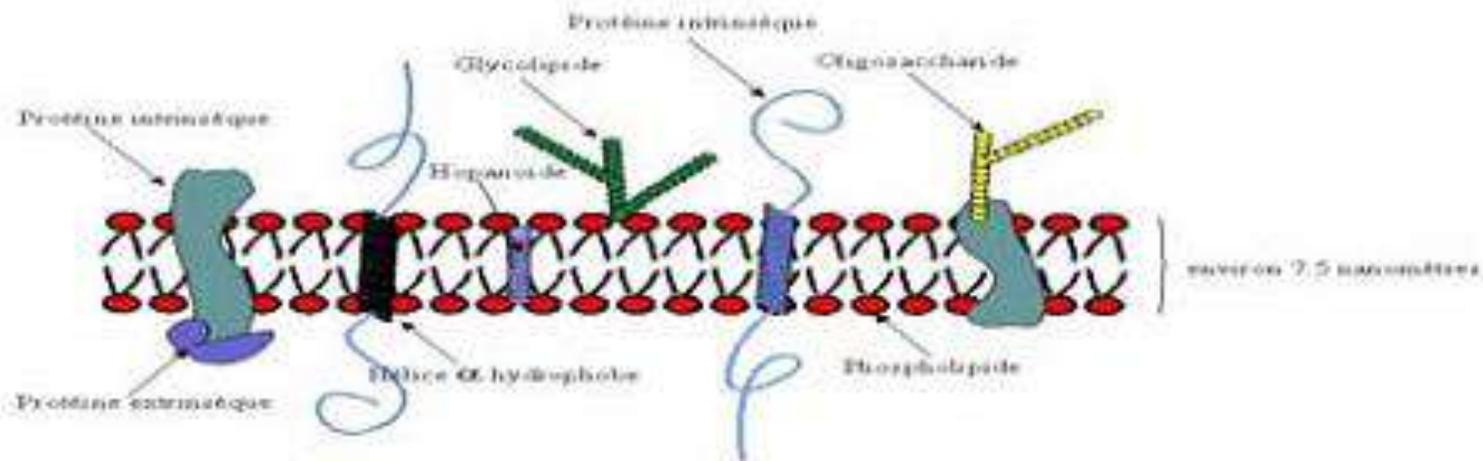
@ Lipides = phospholipides



@ Proteines

- **Proteines intrinsèques ou internes**, traversent le double feuillet membranaire
- **Proteines extrinsèques ou périphériques**, apparaissent sur l'une des deux faces du double feuillet, certaines sont constitutives, d'autres ont un rôle de transport.

Structure de la membrane cytoplasmique

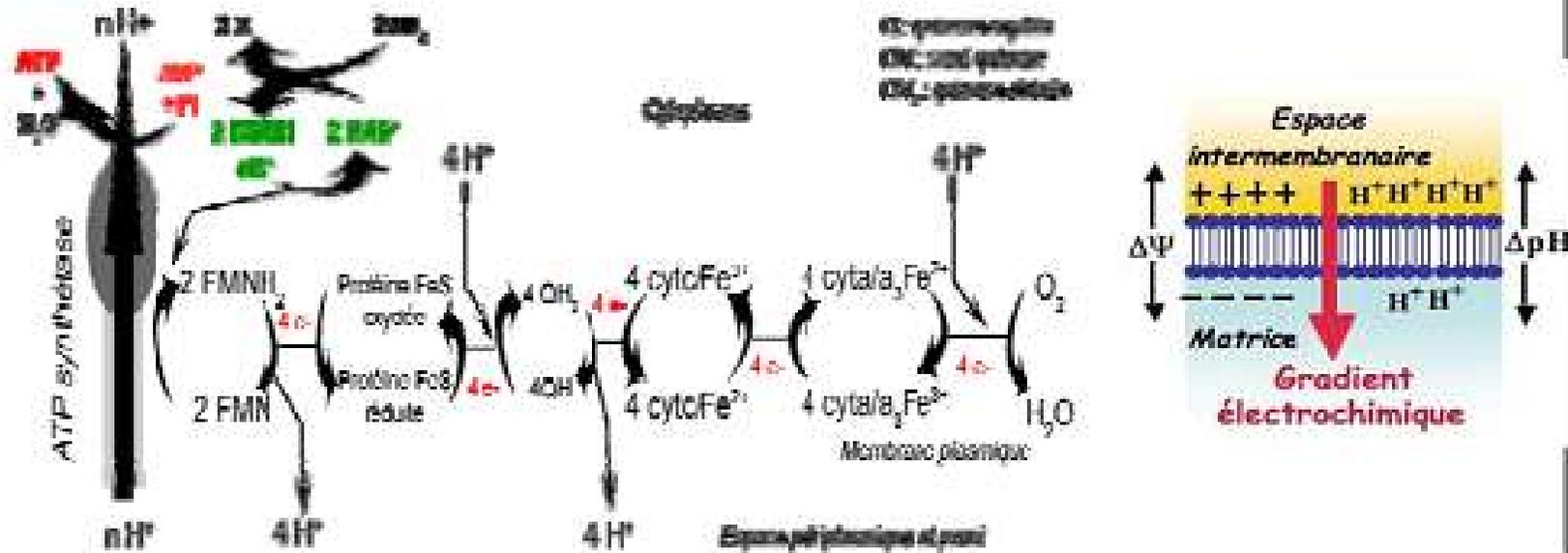


• **Fonctions de la membrane cytoplasmique**

- **Respiration (fabrication d'énergie)**
- **Transfert de substances :**
 - **diffusion simple « filtre » (loi de Fick)**
 - **transport actif (perméases)**

a) La respiration

- * Les chaînes respiratoires des bactéries sont semblables à celles des mitochondries
- * Dans la respiration aérobie, la réoxydation des coenzymes réduits est assurée par le transfert des électrons par "voie cytochromique" vers le dioxygène.
- * Les cytochromes = hétéroprotéines membranaires fonctionnant comme transporteur d'électrons .
- * Chez les bactéries la composition en cytochromes varie en fonction de l'espèce et même pour une espèce donnée en fonction des conditions de culture.



b) Transfert de substances

- * **La membrane cytoplasmique joue le rôle de barrière en empêchant :**
 - la fuite des composés intra-cytoplasmiques
 - la pénétration anarchiques des constituants extra-cellualires
- * **Elle assure les échanges entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule en :**
 - absorbant les éléments utiles pour le métabolisme
 - excréant d'autres molécules et éliminant les déchets
- * **Les échanges se font de différentes façons :**
 - Transport passif ou Diffusion simple passive ou facilitée
 - Transport actif

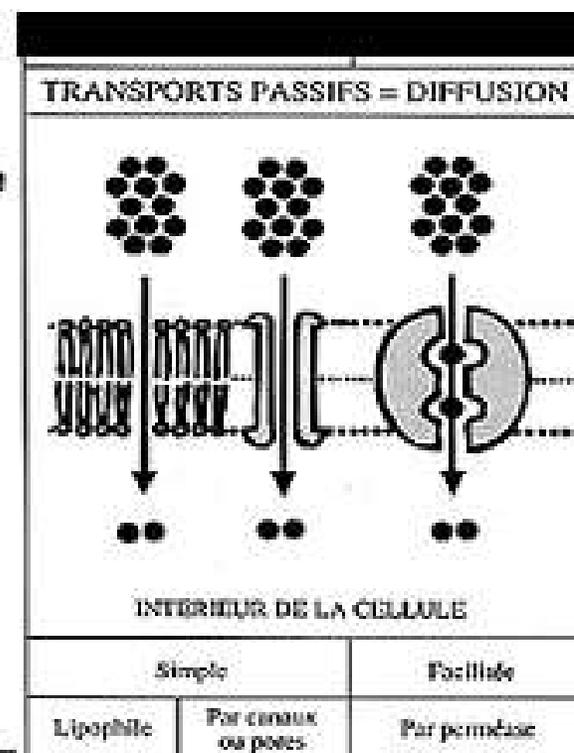
@ Transports passifs : sans apport énergétique

a) Diffusion simple passive : les petites molécules (O_2 , CO_2 , acides gras, éthanol,...) peuvent traverser librement la membrane cytoplasmique lorsque leur concentration dans le milieu extra cellulaire est supérieure à celle du milieu intracellulaire.

b) Pour les molécules de taille plus importante et hydrophiles la diffusion se fait de deux façons

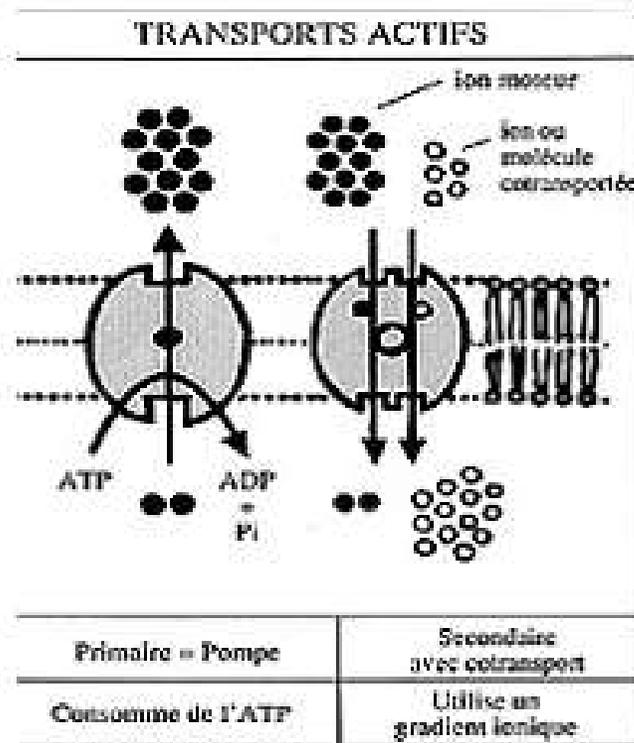
- diffusion simple par canal protéique

- diffusion facilitée par protéine porteuse



@ Transports actifs

- Se font contre le gradient de concentration
- nécessitent un apport énergétique



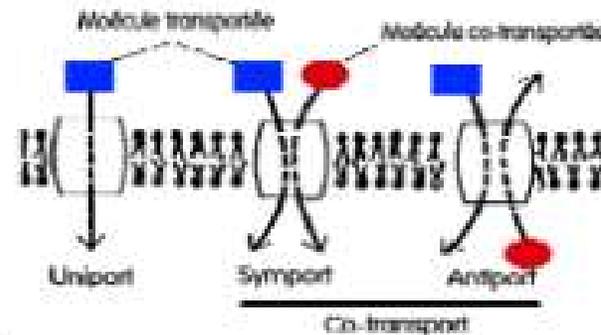
a) Transport ionique ou transport Actif primaire ou uniport

- se fait par des pompes (ex : pompe K^+)

b) Transport actif secondaire dit de cotransport

- **Cotransport symport** : entrée dans le même sens (entrée de lactose-entrée de H^+)

- **Cotransport antiport** : entrée dans le Sens opposé (ex : sortie de Ca^{++} /entrée de H^+)

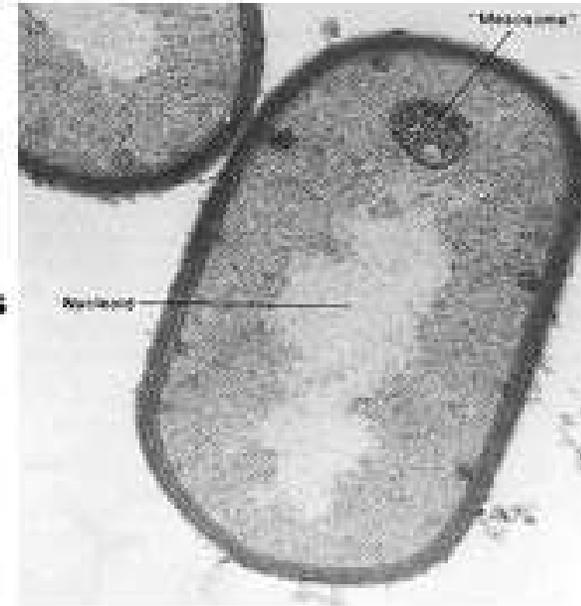


Autres fonctions de la membrane cytoplasmique

- **Synthèse des lipides membranaires et lipopolysaccharides**
- **synthèse du peptidoglycane**
- **assemblage et excrétion des protéines extracytoplasmiques**
- **Perception des caractéristiques physiques de l'environnement (température, pH, aw...)**

Mésosomes

- * structures membranaire intracytoplasmiques
- * une invagination de la membrane plasmique
- * leur forme peut être vésiculaire, tubulaires, ou lamellaires
- * Ils sont étroitement liés au matériel nucléaire
- * On pense qu'ils jouent un rôle dans la division cellulaire



*** Cytoplasme et structures intracytoplasmiques**

*** Hydrogel colloïdal comprenant :**

- une phase dispersante (sels minéraux et composés solubles de nature lipoprotéique)
- une phase dispersée formée de nucléoprotéines et de lipides .

*** Son pH est compris entre 7 et 7,2.**

*** Le cytoplasme contient**

- des ARN et ribosomes,
- des substances de réserves
- Chromatophores
- Vacuoles à gaz
- Chromosome,
- quelques organites spécialisés.

@ Ribosomes

• **Nombreux** : ~ 15 000 / bactérie

• **Constitution** :

comportent 2 sous unités (50S et 30S)

constituées de protéines + ARN (23S et 16S)

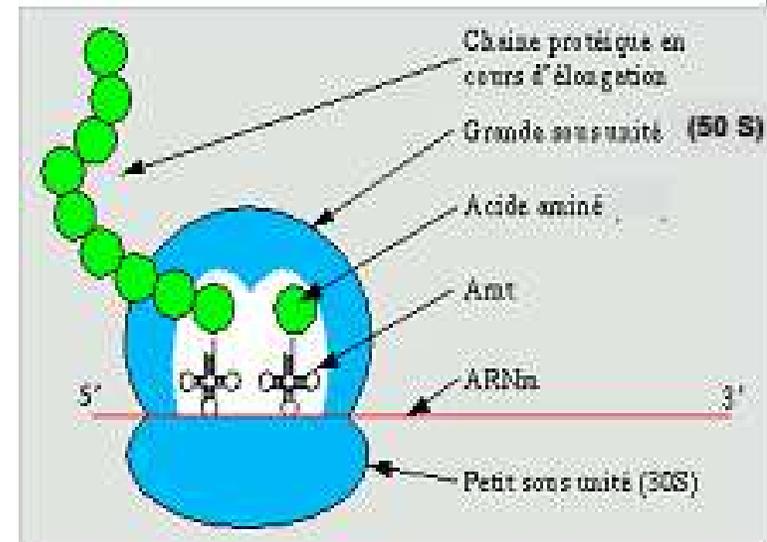
• **siège de la synthèse protéique** :

2 sites essentiels

- Site aminoacyl : accueille l'acyl-tARN

- Site peptidyl : accueille la chaîne d'acides

en cours de constitution



@ les substances de réserves

Les substances accumulées par les bactéries peuvent être organiques
Ou inorganiques :

- amidon
- Glycogène le plus souvent ,
- l'acide hydroxybutirique (*Pseudomonas, Vibrio, Micrococcus...*)
- des polyphosphates organiques (utilisés dans le diagnostic de certaines bactéries pathogènes comme *Corynebacterium diphtheriae*)
- des inclusions de soufre, de fer (caractéristiques de bactéries (*Beggiatoa* et les *Thiothrix*))

*** chromatophores :**

- existent chez les bactéries photosynthétiques,
- jouent le rôle des chloroplastes
- Contiennent des pigments appelés bactériochlorophylle

•Vacuoles à gaz :

- vésicules remplies de gaz présentes chez les bactéries photosynthétiques (bactéries pourpres et bactéries vertes)
- permettent aux bactéries de flotter à la surface de l'eau

@ Chromosome

- Pas de membrane nucléaire
 - Filament unique d'ADN
 - Bicaténaire
 - circulaire
 - surenroulé
 - 1000 fois plus long que la bactérie (masse ~ 2000MDa)
 - Double brin disposé en boucles
 - Protéines fixées dessus:
 - ADN et ARN polymérases
 - topoisomérases
- ADN 80%, ARN 10%, protéines 10%**

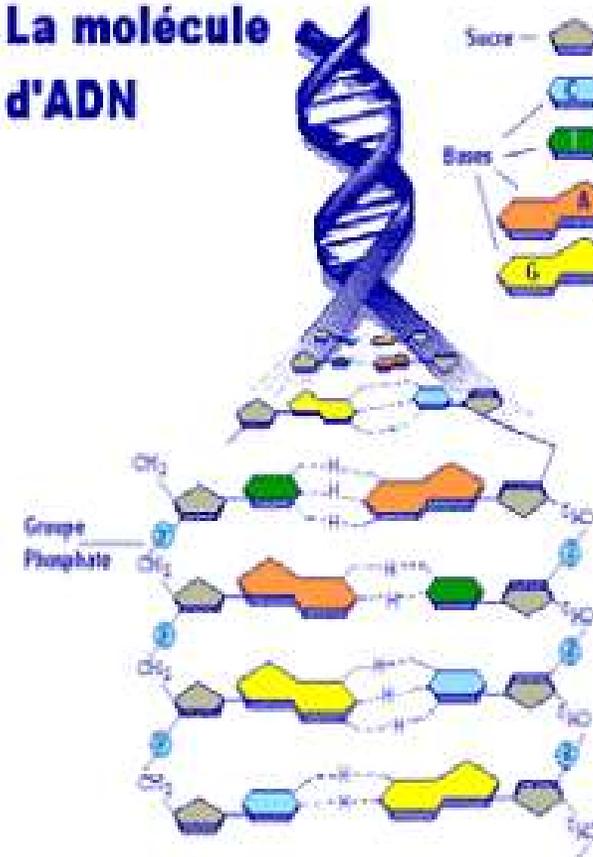
ADN bactérien

@ Composition chimique et structure

- Un brin d'ADN est une succession de nucléotides.
- Un nucléotide est formé d'une base azotée, d'un sucre (le désoxyribose) et d'un phosphate.
- Les bases azotées sont
 - * la guanine (G), l'adénine (A) = bases puriques
 - * la thymine (T), la cytosine (C) = bases pyrimidiques.

l'adénine se lie toujours avec la thymine et la guanine avec la cytosine par des liaisons faibles . **→ A = T et C = G**

La molécule d'ADN

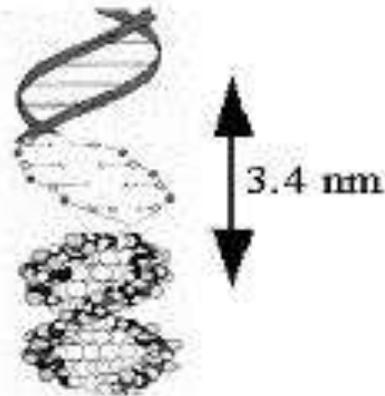


- Coefficient de Chargaff

- C'est le rapport $A+T / G+C$ (s'exprime aussi en GC%)
 - Varie selon les espèces bactériennes
 - le même dans toutes les souches d'une même espèce
 - 50 % *E. coli* , 30 à 40 % *Proteus* , 60 à 70 % *Pseudomonas*
- GC% joue un rôle taxonomique

ADN bactérien

Le modèle de base de Watson et Crick est une double hélice (contraintes géométriques: période: 10.5 pb tour, 3.4 nm tour)



Forme superenroulée de l'ADN

* Le chromosome bactérien est constitué d'un filament unique, continu et circulaire formé d'une double chaîne d'ADN

* Cet ADN présente une structure torsadée appelé super-helice ou forme superenroulée.

* L'ADN d'une bactérie mesure 1,4 mm alors que celui d'un chromosome humain mesure 2m .



ADN
D'E. coli

@ Rôle de l'ADN bactérien

1) support de l'information génétique

- * **Pneumocoque S (Smooth = lisse)** , colonies lisses, Virulents, Capsulés
- * **Pneumocoques R (Rough = rugueux)** , colonies rugueuses, non virulents, non capsulés

Expérience de Griffith(1928)

Bactéries S 	Bactéries R 	Bactéries S tuées par la chaleur 	Bactéries R + bactéries S tuées 
 Mort	 Survie	 Survie	 Mort
Bactéries S dans le sang de la souris	Pas de bactéries dans le sang	Pas de bactéries dans le sang	Bactéries S vivantes dans le sang

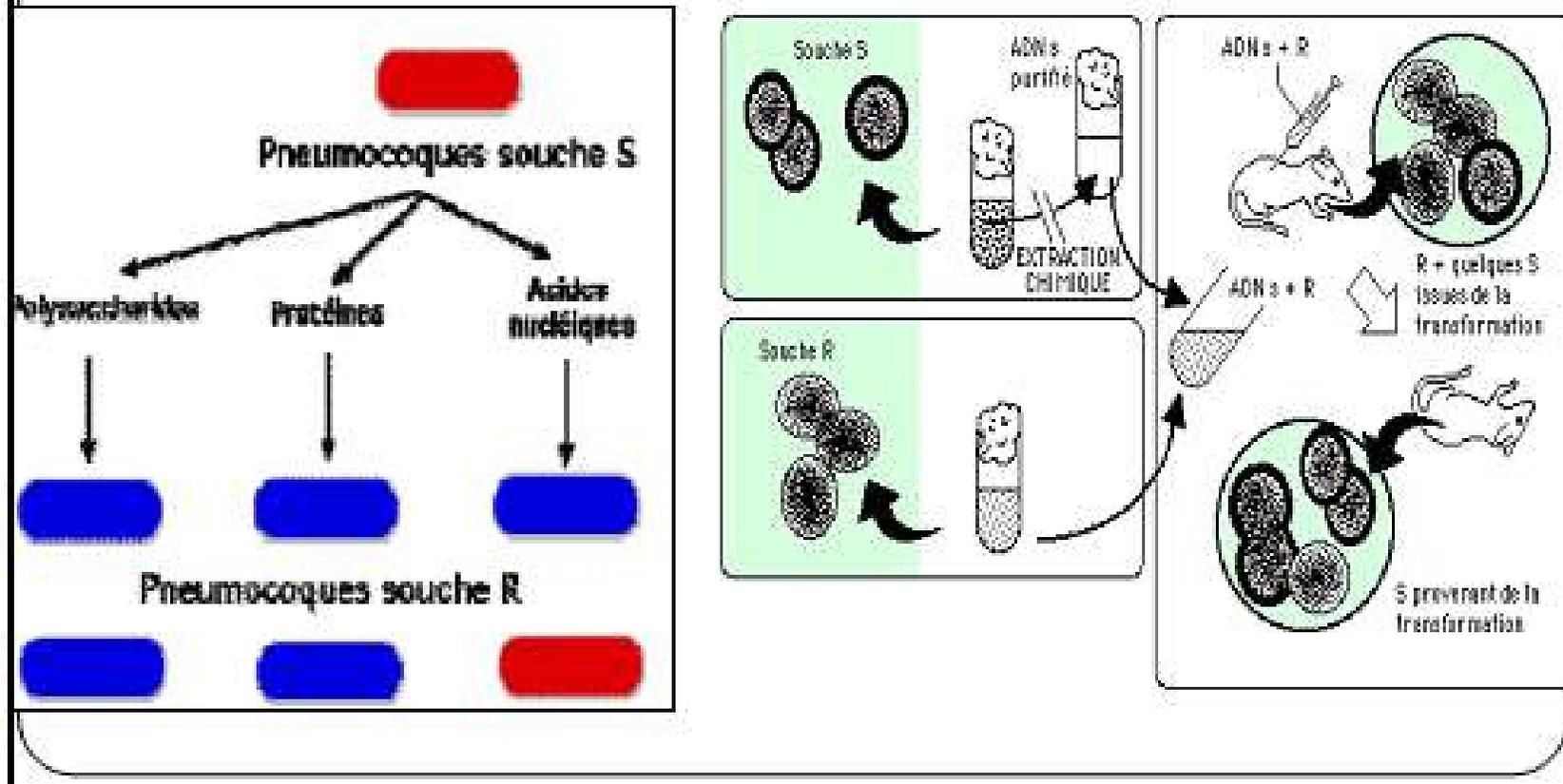
Lots 1 et 2 : la présence de la capsule détermine la virulence.

Lot 3 : la chaleur détruit la capsule et supprime la virulence, sans dénaturer le contenu de la bactérie.

Lot 4 : l'apparition de bactéries S ne peut s'expliquer que par une transformation des bactéries R par une substance issue du contenu des bactéries S tuées, qui ont libéré un "principe transformant."

En 1944, Avery, MacLeod et McCarty découvrent le principe transformant de Griffith

Expérience d'Avery, MacLeod et McCarty (1944)



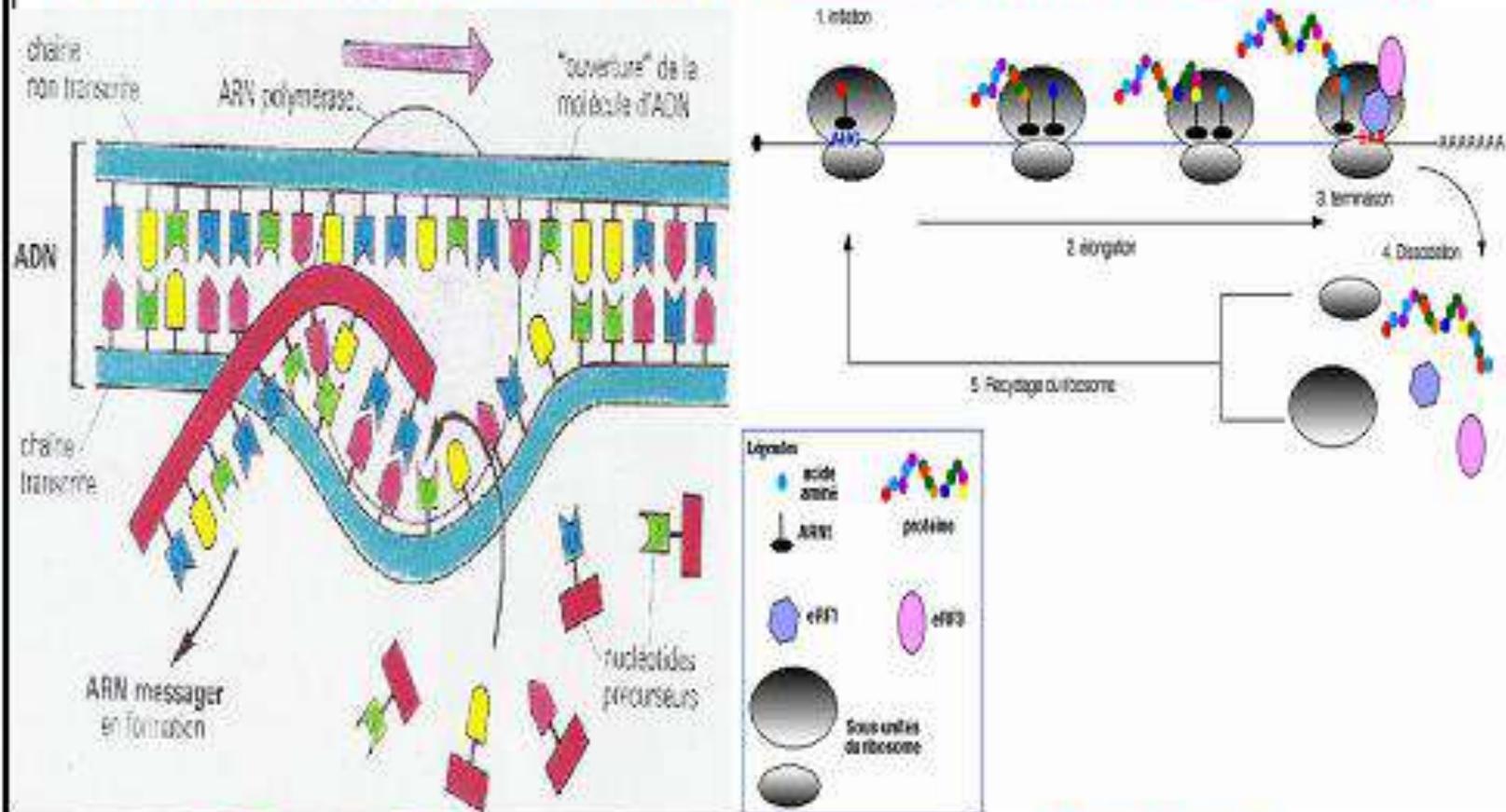
* Ces expériences démontrent que le pouvoir transformant est détenu par l'ADN des bactéries: c'est la substance du contenu des bactéries S qui n'a pas été détruit par la chaleur dans l'expérience de Griffith.

* Il programme la synthèse des polysaccharides de la capsule.

* Les descendantes des cellules R transformées en S sont de type S donc l'ADN contrôle la multiplication à l'identique.

* une bactérie peut acquérir de nouveaux caractères phénotypiques, de nouvelles fonctions métaboliques (sécrétion de polysaccharides, virulence) par l'intermédiaire d'ADN provenant d'une autre bactérie.

2) L'ADN intervient également dans le processus de synthèse des protéines .



Chez les bactéries les deux phénomènes se produisent au niveau du cytoplasme.

@ Éléments facultatifs

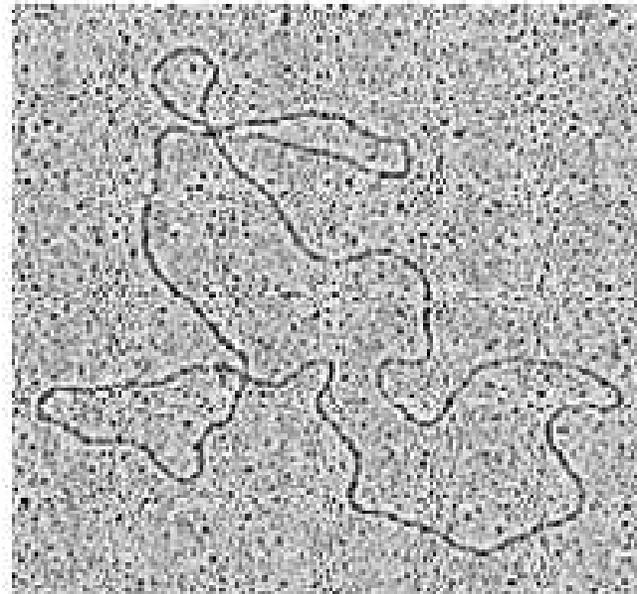
* Les plasmides

* en microbiologie un plasmide = molécule d'ADN circulaire en double brin, indépendante de l'ADN chromosomique, capable de réplication autonome.

* Le terme plasmide fut introduit par le biologiste moléculaire américain **Joshua Lederberg en 1952.**

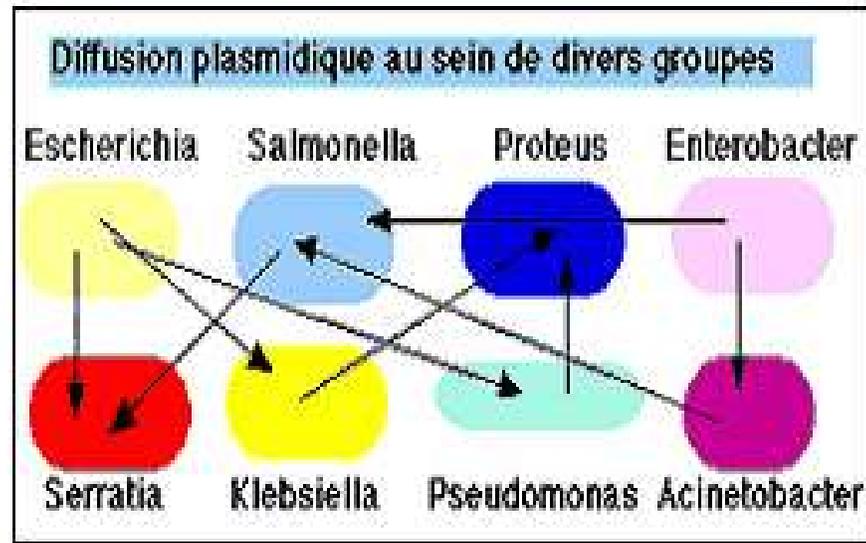
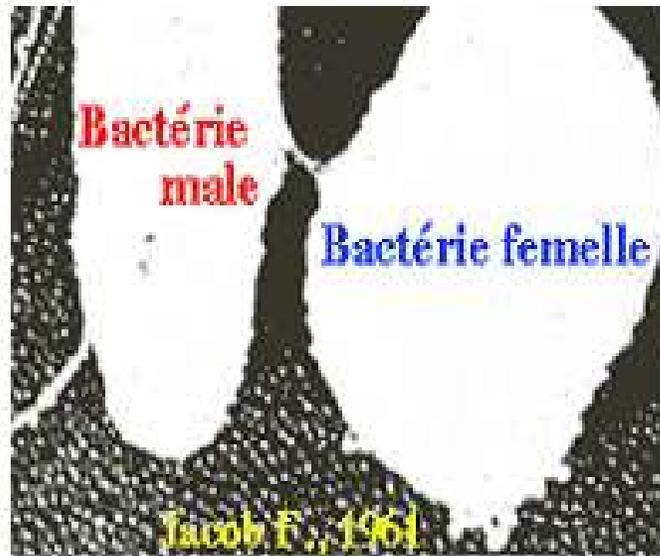


Schéma représentant une bactérie contenant des plasmides.
1) ADN chromosomique (bactérien)
2) Plasmides .



Plasmide vu au microscope électronique

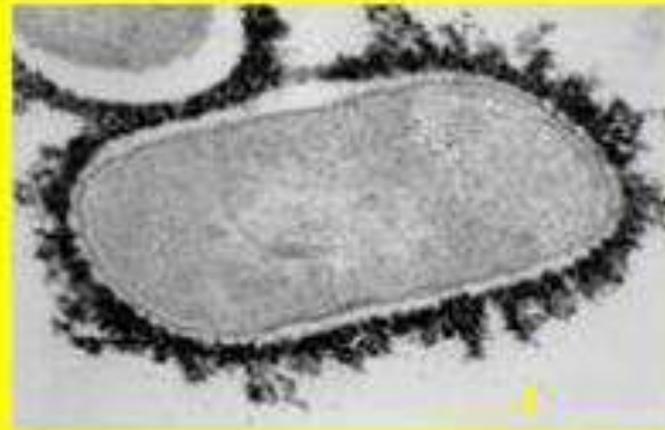
* Leur transmission d'une cellule à l'autre s'effectue habituellement par **conjugaison** (codent pour des pilis sexuels), ou encore **transduction** ou **transformation**, mais souvent sans spécificité d'hôte.



* Ils sont médiateurs de nombreuses propriétés permettant une meilleure adaptation des bactéries (**exemple : résistance aux antibiotiques, antiseptiques, métaux toxiques, irradiation**)

* La capsule

- Elle est formée par des substances organiques visqueuses élaborées par la bactérie
- couche plus ou moins compacte qui entoure la paroi.
- Toutes les bactéries ne produisent pas de capsule.
- Au sein d'une espèce, certaines souches en produisent, d'autres pas.
- L'élaboration de la capsule est influencée par certaines conditions du milieu. Les glucides jouent un rôle important dans la présence ou non de la capsule .



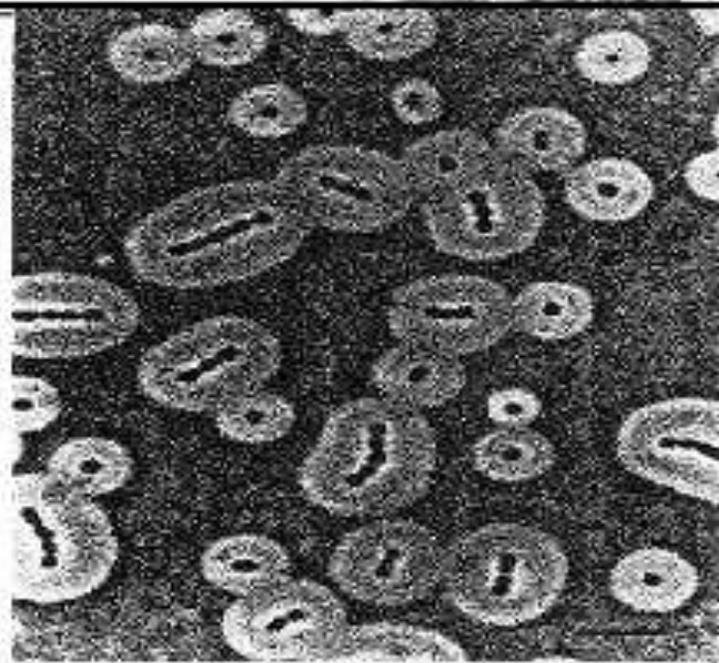
Une bactérie encapsulée



La même espèce mutante, sans capsule

Aspect des cellules d'*Acinetobacter sp.*

La coloration à l'encre de chine révèle la capsule très épaisse qui entoure ces bactéries, ici sous forme de cocci isolés ou en chaîne .



*** Composition chimique de la capsule**

- Les constituants capsulaires sont fréquemment des polyholosides, parfois des polypeptides

- Rôles de la capsule

- rôle important dans la **défense** des bactéries contre :

* la dessiccation,

* les prédateurs (protozoaires)

* les parasites (les bactériophages sont incapables de se fixer sur une bactérie capsulée).

- **Support de pouvoir infectueux** : empêche la phagocytose des bactéries dans l'organisme,

- **Support de propriétés physiopathologiques et immunologiques**. Ainsi, les pneumocoques capsulés se révèlent pathogènes, alors que les pneumocoques non capsulés ne le sont pas .



Coloration de Gram

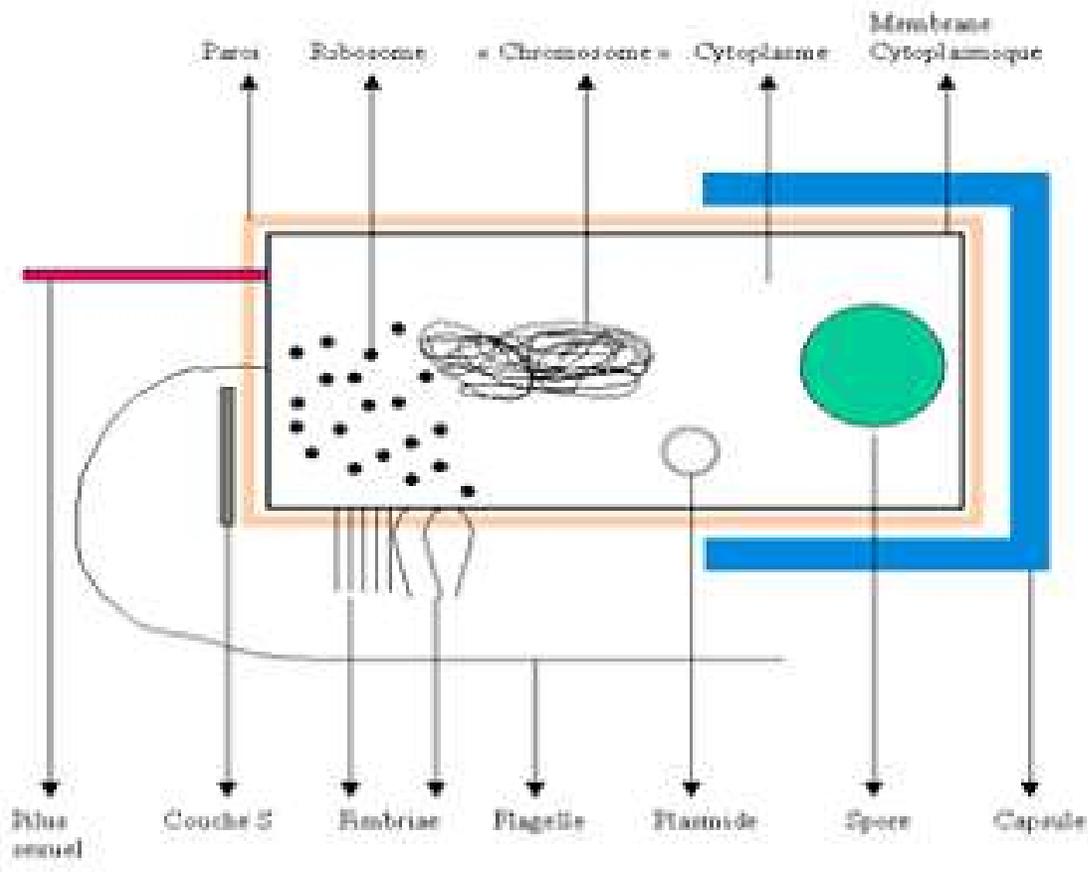
Pneumocoque ou

Streptococcus pneumoniae

Les bactéries sont formées par des éléments

- obligatoires (présents chez toutes les bactéries)
- facultatifs (présents uniquement chez quelques espèces)

Éléments
obligatoires



*** Cils et flagelles**

• Les bactéries mobiles se déplacent soit par

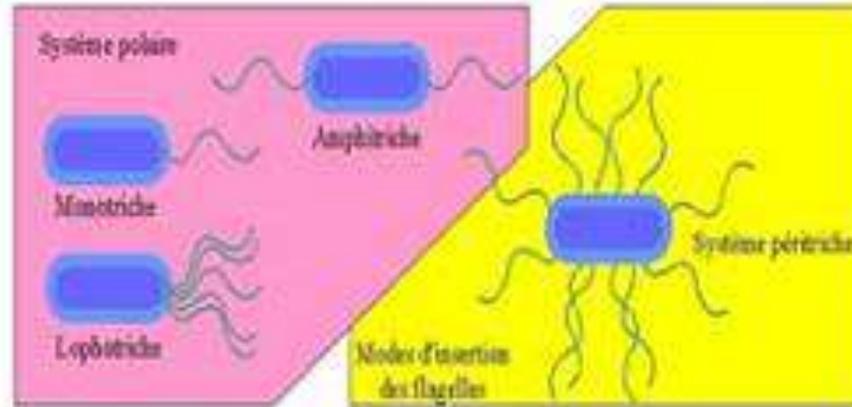
- glissement (cyanobactéries),
- rotation autour d'un axe central (spirochètes),
- au moyen de cils ou de flagelles .

* Les cils et les flagelles sont des filaments extrêmement ténus, invisibles au microscope optique sur les bactéries vivantes et plus longs que la bactérie elle-même.

* Le point d'insertion des cils et des flagelles se situe dans le cytoplasme, au contact de la membrane plasmique.

* Cette insertion diffère selon que les bactéries sont Gram positif ou Gram négatif .

Chez les **bactéries** mobiles, il existe différents types flagellaires induisant des déplacements variables qu'on appellera ciliature :

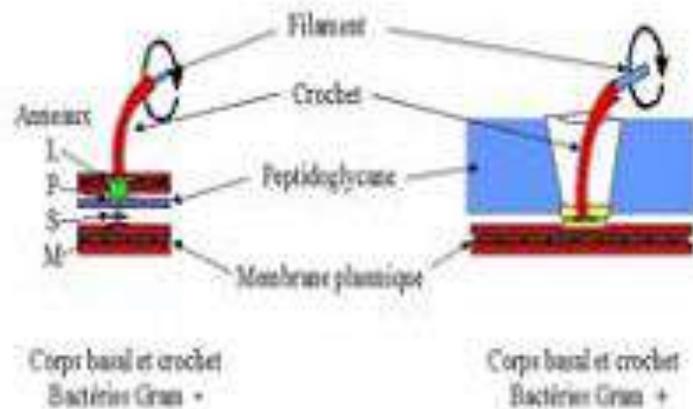


* un seul flagelle polaire = ciliature monotriche

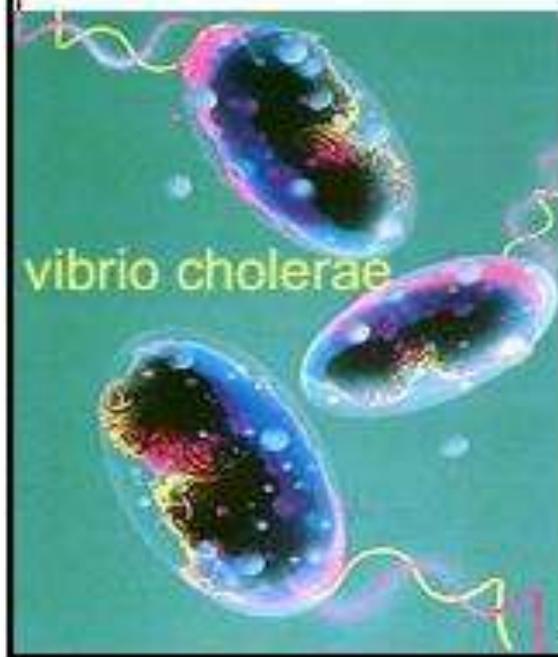
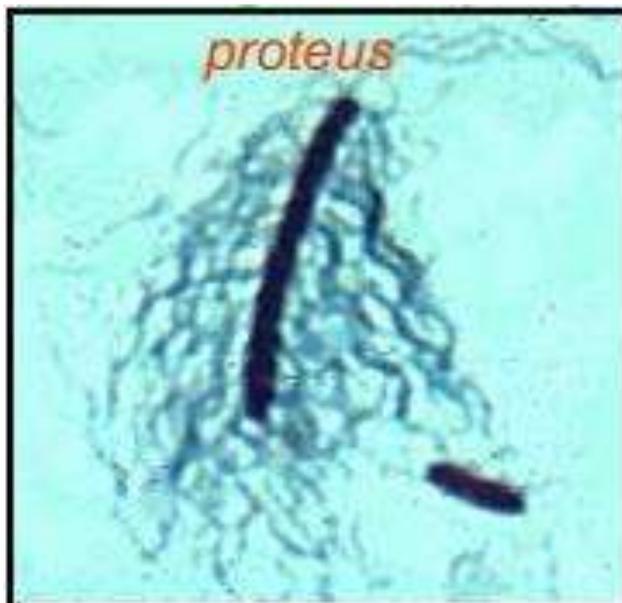
* plusieurs flagelles polaires = ciliature lophotriche

* un flagelle à chaque pôle = ciliature amphitriche

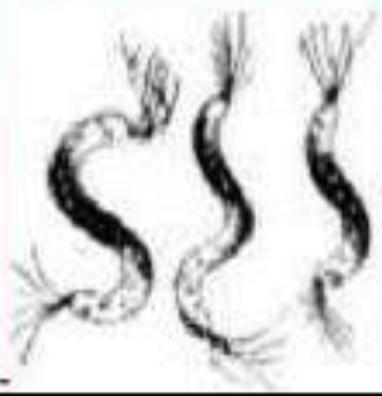
* des flagelles entourant la bactérie = ciliature péritriche



Le type de ciliature peut être utilisé dans un but taxonomique



Spirillum undula



* Rôle des cils et flagelles

1- Mobilité

* Les cils et les flagelles confèrent une certaine mobilité aux bactéries qui peuvent se déplacer dans les milieux liquides ou à la surface des géloses.

* Certaines espèces peuvent même envahir les milieux de culture, masquant les autres colonies.
C'est le cas des *Proteus* ou des *Pseudomonas*.

2- Chimiotactisme

* Certaines bactéries capables de se mouvoir, sont attirées par les nutriments (sucres, acides aminés) et repoussées par des substances toxiques ou nuisibles.

3- propriétés antigéniques

* Les flagelles confèrent à la bactérie de nouvelles propriétés antigéniques

Milieu semi-solide

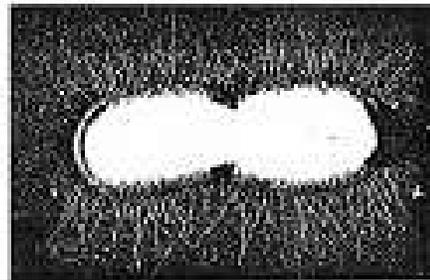


Pili ou fimbriae

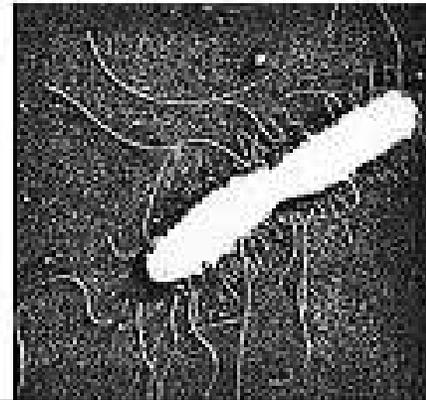
Les pili (poils) sont des formations qu'on ne peut observer qu'au microscope électronique. Surtout présent chez les Gram-

- * **pili communs** ou fimbriae sont courts et cassants. Ils sont utiles pour l'adhésion des bactéries aux interfaces et aux muqueuses et sont donc des facteurs de virulence . Ils ont une structure protéique : la piline
- * **pili sexuels** ,plus longs, relient deux bactéries et sont voies d'échanges de matériel génétique entre les bactéries. Les bactéries capables de produire des pili sexuels sont dénommées bactéries "mâles" à l'opposé des autres qui sont dites "femelles."

Shigella



Salmonella



Flagelles plus longs
Que les pili

Moyens d'étude de la structure bactérienne



Bactérie = être vivant, unicellulaire, de petite taille (1 à 10 μm)

- microscopie optique (x 1000 à 1500)
- examen à l'état frais à forme, mobilité éventuelle
- coloration à morphologie, groupement (bleu de méthylène, Gram,)



- microscopie électronique (x > 10 000)
- à structure fine des bactéries

- fractionnement des bactéries
- Constituants libérés, séparés, analysés



* Les spores bactériennes

- * Certaines bactéries ont la propriété de former des spores
- * Une spore = petite unité sphérique douée d'une extraordinaire résistance.
- * les spores bactériennes sont des **endospores**, car elles se forment à l'intérieur de la cellule bactérienne .
- * Les spores se forment au sein de trois genres bactériens principaux :
 - * *Bacillus*,
 - * *Clostridium*
 - * *Sporosarcina* .
- * Conditions de formation des spores :
 - Milieu pauvre en éléments nutritifs
 - Conditions physico-chimiques défavorables

* Les spores se caractérisent par :

- **leur faible teneur en eau** (15 %) contre 80 % chez les cellules bactériennes végétatives.

- **leur thermorésistance** (les spores de *Plectridium caloritolerans* résistent plus de 8 heures à 100° C et 5 minutes à 120°C .

- **leur résistance aux attaques** des acides, des bases, des antiseptiques, des rayons UV ou X, des antibiotiques, etc .

* **Les actinomycètes** produisent aussi des spores, à partir de conidies ou sporanges. A ne pas confondre avec les spores de résistance des eubactéries .

@ Morphologie et structure des spores

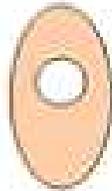
- Chez la bactérie vivante, la spore apparaît comme un espace clair, réfringent, ovoïde, limité par un contour régulier

- La spore peut déformer ou non le corps microbien

- Sa position joue un rôle taxonomique



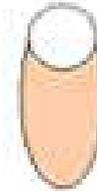
Bacillus subtilis en phase de sporulation. La structure ovale, au centre, correspond à la spore, forme résistante de la bactérie.



Spore centrale ou subterminale non déformante.
Exemple : *Bacillus* sp.



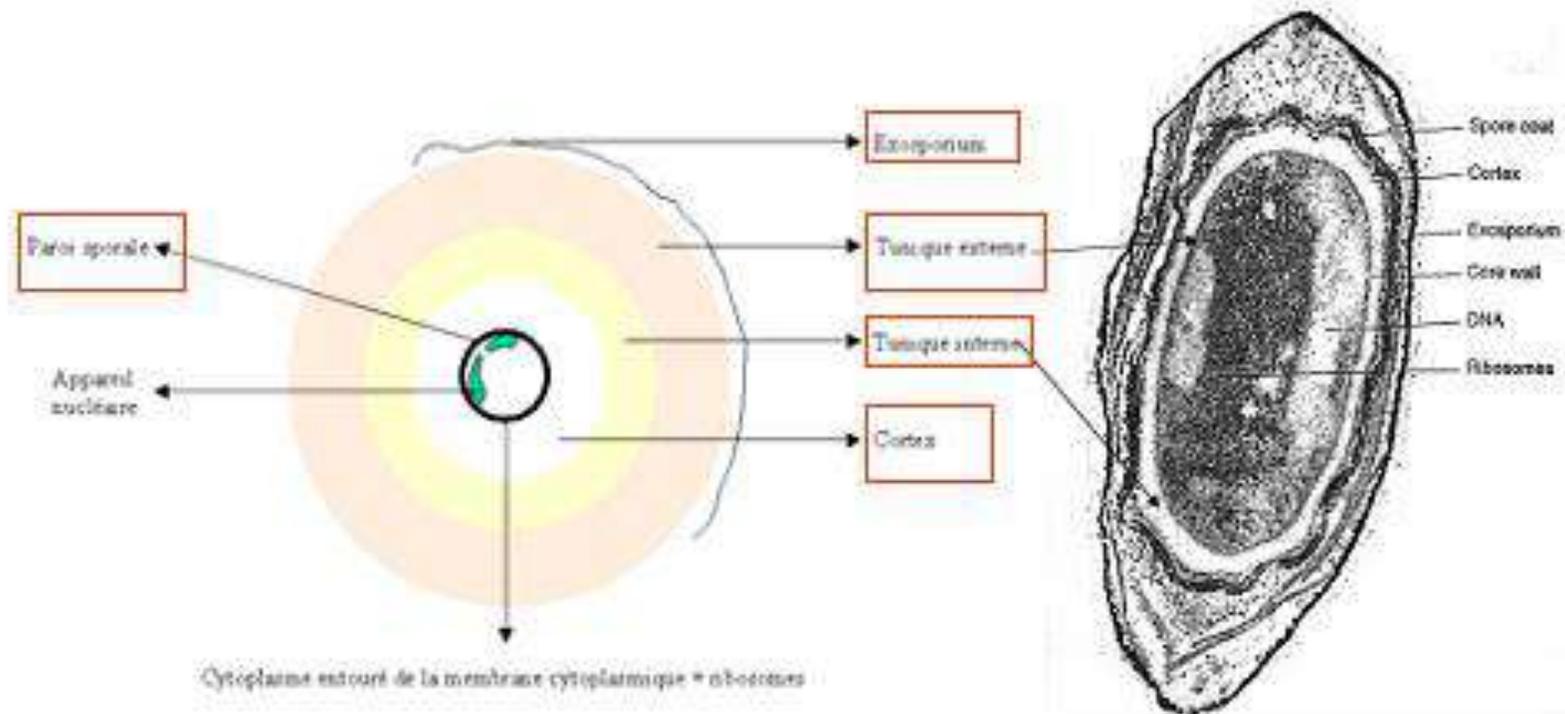
Spore sub-terminale déformante.
Exemple : *Clostridium* sp.



Spore terminale déformante.
Exemple : *Clostridium tetani*.

- La spore bactérienne présente une **structure complexe**

- **La paroi sporale (peptidoglycane)** donnera la paroi de la cellule végétative
- **Le cortex** : couche épaisse (peptidoglycane), sensible Au lysozyme
- **Tuniques (interne et externe)** : composées de protéine (kératine), impénétrables, résistantes aux agents chimiques
- **Exosporium** : couche plus externe (lipoprotéique), non essentiel à la survie de la spore



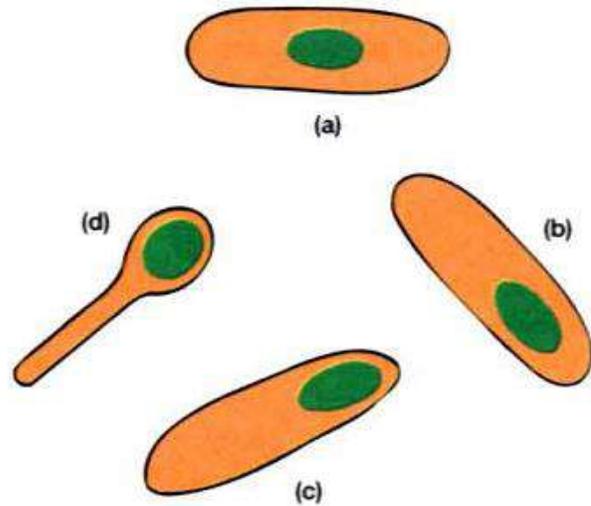
L'endospore bactérienne :

Cette structure a été trouvée dans les échantillons des momies, elle a été conservée dans la nature et permet de récupérer des informations importantes.

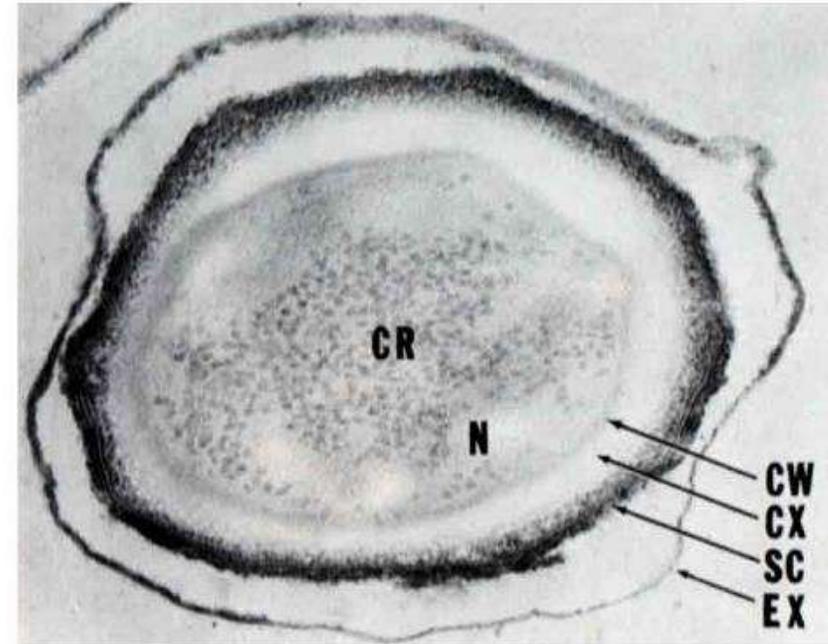
Elle est importante pour la médecine et les domaines agro-alimentaire car possède une grande résistance : tolérante à des températures très élevées, tolérante aux radiations des UV, à l'action des désinfectants, tolérante à une pénurie d'eau.

Cette tolérance est permise par la synthèse de l'acide dipicolinique. Leur structure est très particulière. Il existe des exospores qui se forment à l'extérieur de la cellule, les endospores se forment à l'intérieur de la cellule. C'est une structure dormante, un moyen de protection contre les conditions extrêmes comme le manque de nutriments, où il y a un phénomène de sporulation (chez les Gram+ principalement).

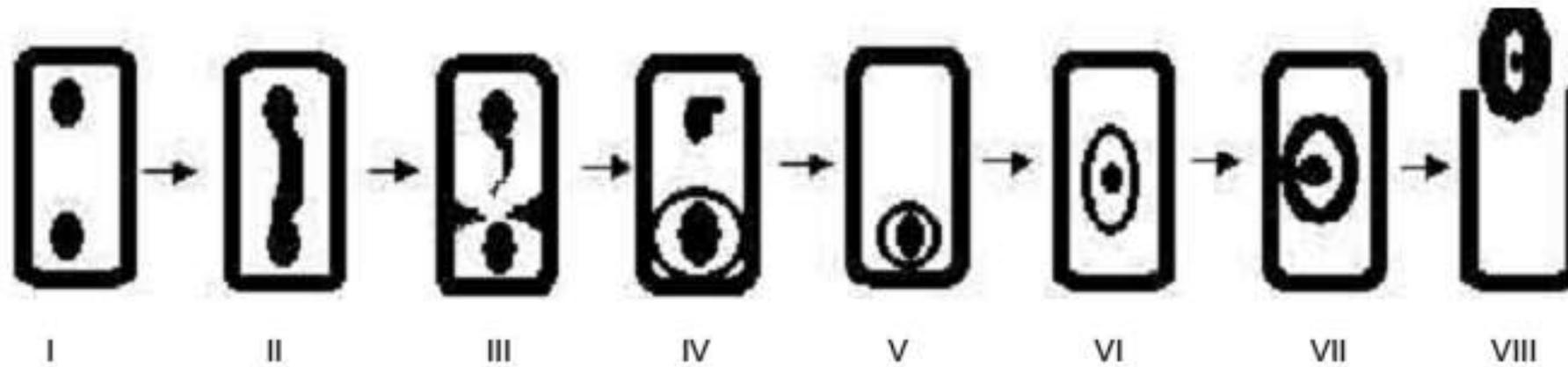
a) Definition : Un certain nombre de bactéries Gram + (genre *Bacillus*, *Clostridium* et *Plectridium*) acquièrent une structure spéciale, résistante, dormante, à l'intérieur de la cellule végétative, appelée endospore. C'est une forme de vie au ralenti, sans multiplication, ni métabolisme (état de cryptobiose), qui se forme lorsque le milieu est appauvri en nutriments ou dans des conditions physiques défavorables.



Exemples de localisation et de taille des endospores. (a) Spore centrale. (b) Spore subterminale. (c) Spore terminale. (d) Spore terminale avec sporange gonflé.



La structure d'une endospore. Endospore de *Bacillus anthracis* (x 151.000). Notez les structures suivantes : exosporium, EX; tunique SC; cortex, CX; paroi de la spore CW; le protoplaste avec son nucléoïde, N, et les ribosomes CR.



b) Etapes de la sporulation :

Sporulation : 7 étapes d'environ une heure :

étape 1 : formation d'un filament axial par assemblage des deux nucléoïdes de la cellule végétative. La cellule produit des antibiotiques (bacitracine, bacilysine) et des enzymes (ribonucléase, amylase, protéase).

étape 2 : formation du septum transversal par invagination de la membrane. Apparition d'alanine deshydrogénase qui pourrait jouer un rôle dans la germination.

étape 3 : individualisation de la spore : formation de la préspore. Certaines enzymes acquièrent de nouvelles propriétés (exemple : la catalase devient résistante à la chaleur).

étape 4 : formation du cortex par accumulation d'acide picolinique et de calcium ; la spore devient très réfringente.

étape 5 : synthèse de protéines à l'origine des tuniques

étape 6 : étape de maturation avec acquisition de toutes les propriétés de thermorésistance.

étape 7 : destruction du sporange par des enzymes lytiques et libération de la spore

c) Propriétés de la spore :

Thermorésistance : les spores résistent plusieurs dizaines de minutes à 80 °C, parfois 8 heures à 100 °C et même 5 minutes à 120°C (problème de stérilisation : nécessité de chauffer à 120°C pendant 20 min, en chaleur humide). Le dipicolinate (associé au Ca⁺⁺) joue un rôle essentiel : il rend la spore imperméable et conserve l'état déshydraté favorable à la résistance des protéines et des acides nucléiques à la dénaturation. (*B. subtilis* : 30 min à 120°C). Elles résistent très bien au froid (-70°C), à la lyophilisation)

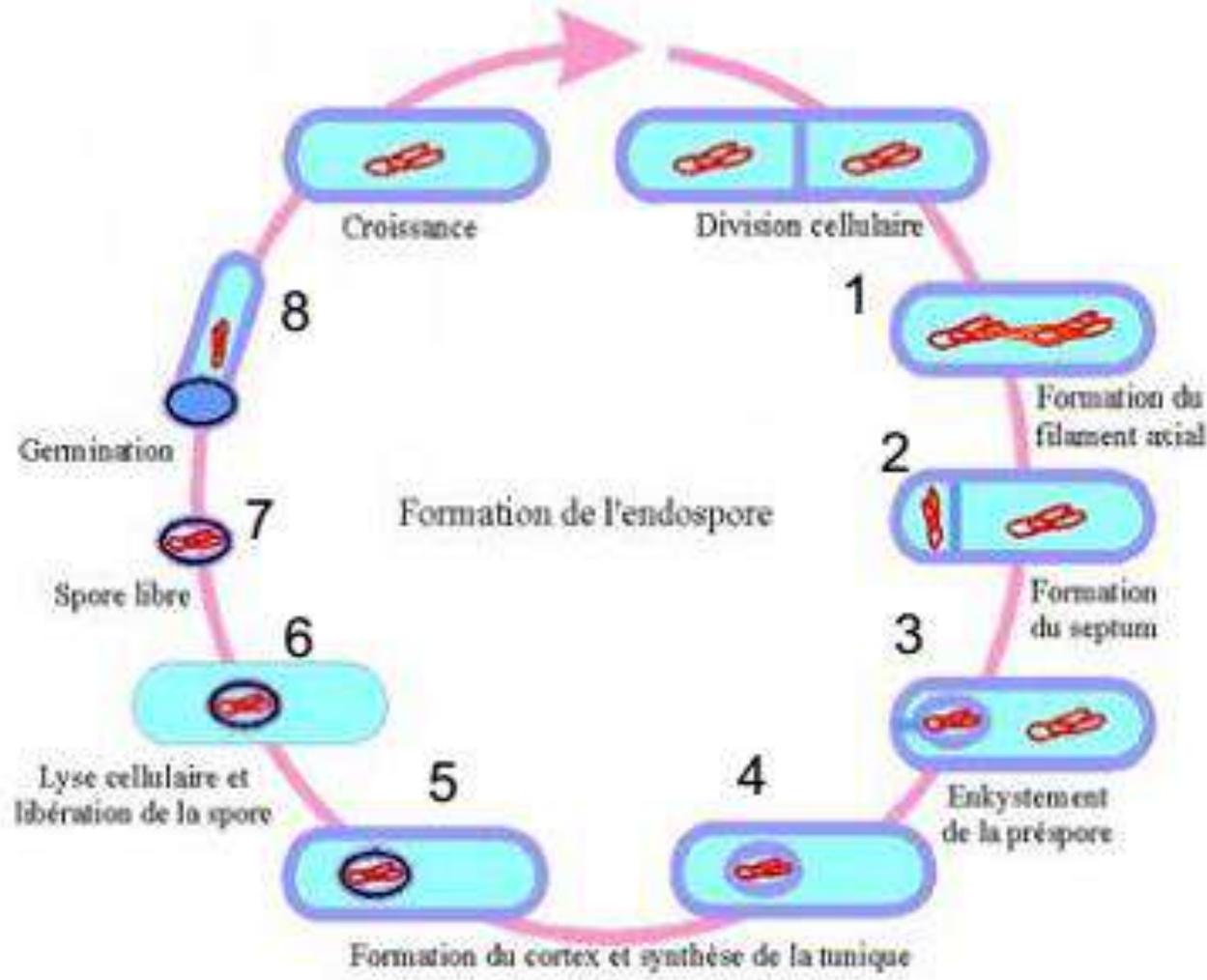
Résistance aux agents physico-chimiques : résistance aux U.V., R.X, hautes pressions, antiseptiques, antibiotiques, à la dessiccation etc.

d) La germination :

dans des conditions favorables (humidité, chaleur...), la spore peut être activée et donner naissance à une cellule végétative. La spore doit être activée par un agent capable de léser la tunique sporale : choc, chaleur, acidité. Le moyen le plus utilisé est le chauffage entre 65 et 95°C (ex : tyndallisation). La germination ne commence qu'en présence de conditions favorables d'hydratation et de métabolites effecteurs (alanine, adénosine) qui déclenche un phénomène autolytique.

On observe une destruction du cortex, une perte de la réfringence, une sensibilité à la chaleur, une excrétion de calcium, de dipicolinate et de peptidoglycane du cortex puis une reprise métabolique. La spore se libère des tuniques après rupture de celles-ci et donne une nouvelle cellule végétative.

La sporulation



Principales étapes de la sporulation



Université Cadi Ayyad

**Faculté polydisciplinaire
Safi**



Filière science de la vie (S₃)

Module:

« Microbiologie Générale »

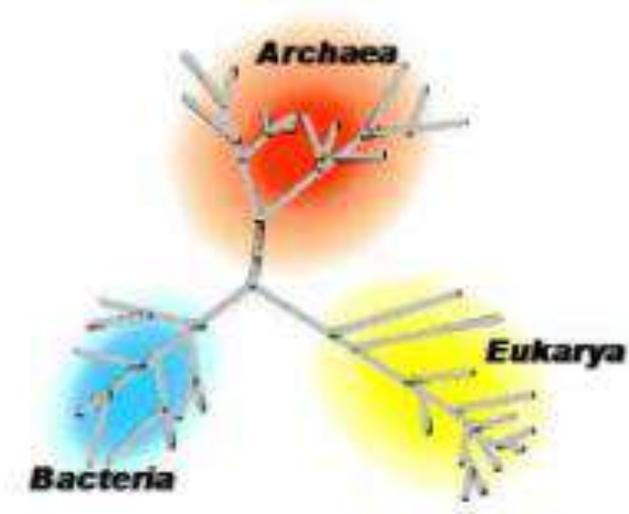


Pr. Faissal AZIZ

faissalaziz@gmail.com / Faziz@kth.se

3. Les Bacteria et Archaea

Les *Archaea* - le troisième domaine du vivant



Notions à retenir

- les Archées sont des procaryotes unicellulaires
- les Archées ne sont pas des bactéries
- les Archées ne sont pas que des bêtes exotiques vivant dans des conditions extrêmes dans des endroits inaccessibles et uniques (sources chaudes, fond d'océan).
- elles sont partout et représentent jusqu'à 20% des procaryotes en biomasse ;

La découverte des Archaea (archées, archéobactéries)

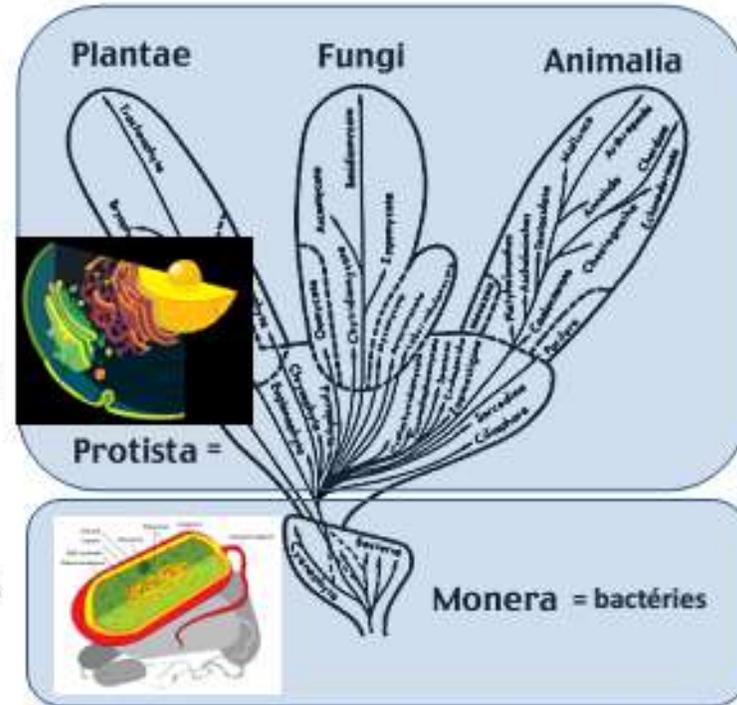
Les classifications du vivant au XX siècle – classification de Robert Whittaker (1969)

Cinq règnes du vivant
représentant 2 mondes

↓
eucaryotes
et
procaryotes

eucaryotes

procaryotes





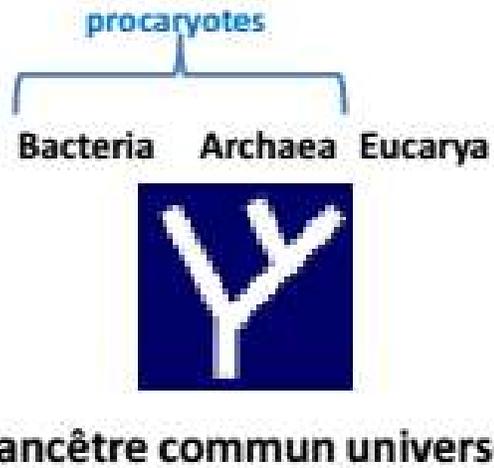
Trois domaines du vivant de Carl Woese

« the Woesian Revolution »

1977-1990

- nouvel arbre du vivant basé sur la phylogénie moléculaire
- trois domaines de la vie
- découverte des Archaea

Woese is currently a professor of Microbiology
University of Illinois at Urbana-Champaign.



Questions à poser

- pourquoi les Archées n'ont-elles pas été découvertes plus tôt ?
- comment ont-elles été découvertes?

3 groupes de procaryotes connus depuis longtemps et mal classifiés

Par leur phénotype

-petites cellules; - pas de noyau; - pas d'organites

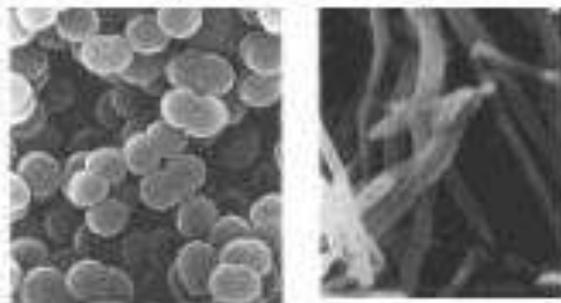
ils ressemblent aux procaryotes typiques et ne peuvent pas être distingués des bactéries

les méthanogènes



Methanobrevibacter

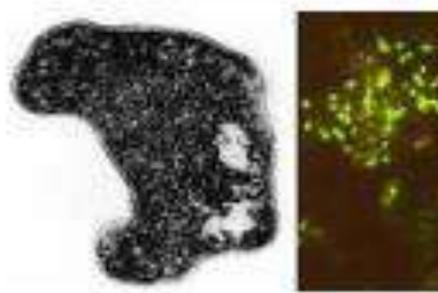
les halophiles



Halococcus

Halobacterium

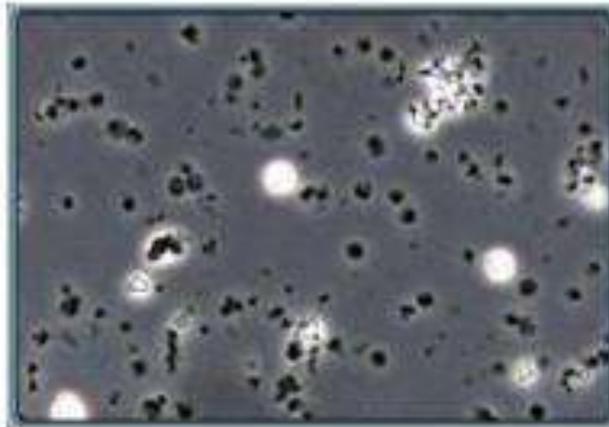
les extrémophiles



Sulfolobus acidocaldarius
60-95°C pH 1-5

en réalité, ce ne sont pas des bactéries mais des Archées (Archaea)

L'observation au microscope ne permet pas de constater la différence entre les vraies bactéries et les archées



Une archée hyperthermophile, *Sulfolobus solfataricus*

La découverte du méthane – gaz combustible – par Alessandro Volta en 1776 – Lac Majeur



Alessandro Volta
(1746-1827)



le gaz est produit par une « bactérie » appelée méthanogène et habitant dans les marais

Les méthanogènes: une biodiversité extraordinaire

Habitats variés:

- eaux stagnantes (marais, station d'épuration)
- sol
- lacs salés
- zones volcaniques
- sédiments sous-marins des sources chaudes
- tractus intestinal des mammifères (homme inclus)

Modes de vie très variés:

- adaptation à la salinité
- adaptation à toutes les températures

Methanogenium frigidum (15°C)

Methanopyrus, 100°C

Les méthanogènes: comme leur nom l'indique...

... ce sont les seuls organismes sur Terre à produire du méthane:

méthanogenèse



réduction du CO_2 ou des substrats méthylés
en utilisant l'hydrogène comme donneur d'e-

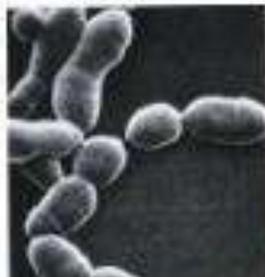
CONDITIONS: anaérobie stricte; une réductase avec des coenzymes uniques
contenant le Ni^{2+}

Conclusion

l'étude phénotypique et métabolique des méthanogènes ne permettait pas de mettre en évidence leur différence par rapport aux autres bactéries

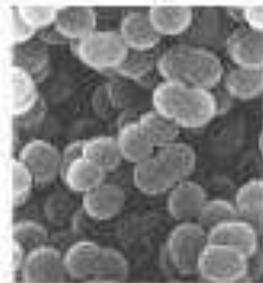
Alors – les méthanogènes, sont elles tout simplement des bactéries bizarres?

les méthanogènes



Methanobrevibacter

les halophiles



Halococcus



Halobacterium

les extrémophiles



Sulfolobus acidocaldarius
60-95°C pH 1-5



Les halophiles sont parmi les premiers extrémophiles connus

Les extrémophiles sont des organismes capables de vivre dans des conditions de température, pression, salinité, acidité, rayonnement... extrêmes, qui seraient mortelles pour la majorité des êtres vivants.

Un organisme halophile (du grec *alos*, sel et *philein*, aimer) est un organisme qui a un besoin absolu de fortes concentrations en sel pour vivre

Procaryotes

- *Halobacterium*
- cyanobactérie *Aphanothece halophytica*

Eucaryotes

- une algue verte *Dunaliella salina*

Les extrêmes halophiles - habitat

TABLE 17.1 Ionic composition of some highly saline environments

Ion	Concentration (g/l)			
	Great Salt Lake	Dead Sea	Typical soda lake	Seawater (for comparison)
Na ⁺	105	40.1	142	10.6
K ⁺	6.7	7.7	2.3	0.38
Mg ²⁺	11	44	<0.1	1.27
Ca ²⁺	0.3	17.2	<0.1	0.40
Cl ⁻	181	225	155	18.9
Br ⁻	0.2	5.3	—	0.065
SO ₄ ²⁻	27	0.5	23	2.65
HCO ₃ ⁻ or CO ₃ ²⁻	0.7	0.2	67	0.14
pH	7.7	6.1	11	8.1



Great Salt Lake, Utah, USA



La Mer morte



Marais salants,
Californie

Les procaryotes extrêmes halophiles

Type trophique : chimioorganotrophes - acides aminés , acides organiques

Respiration: aérobies obligatoires

Division cellulaire: fission binaire; pas de noyau – procaryotes typiques

Capacité de mouvement : motiles



Haloferax sulfurifontis



Halobacterium

Conclusion

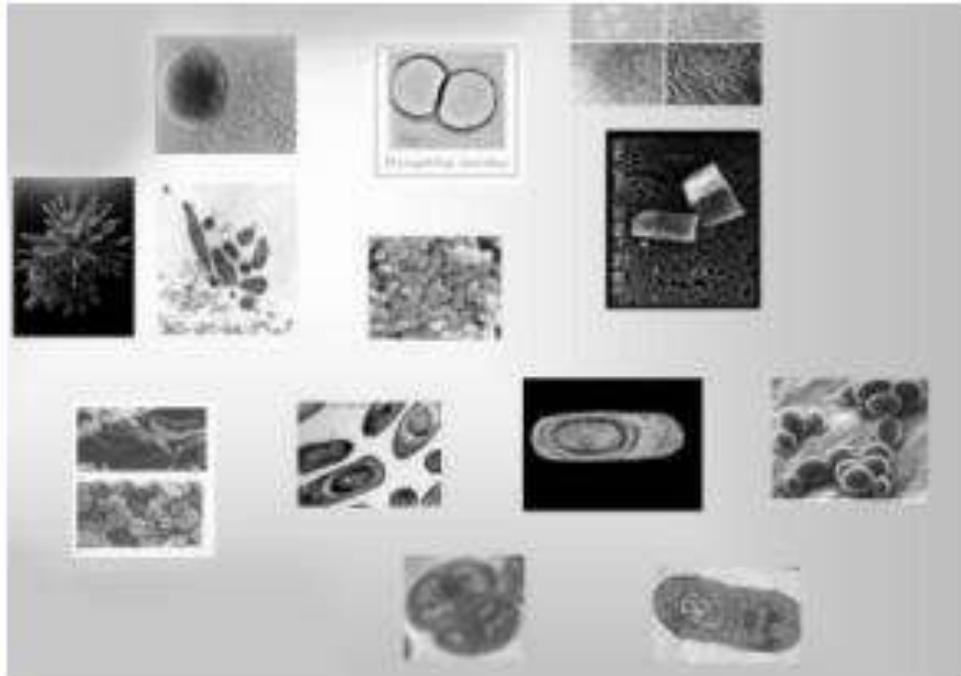
les études phénotypiques et métaboliques de certains halophiles ne permettaient pas de mettre en évidence leur différence par rapport aux autres bactéries

**Alors – tous les procaryotes halophiles, sont
elles tout simplement des bactéries bizarres?**

La taxonomie classique des microorganismes est difficile et inexacte...

Les critères sont

- morphologie
- coloration
- métabolisme
- habitat
- autres ??



... et ne reflète pas l'évolution réelle du monde des procaryotes

Les macromolécules, témoins de l'évolution

J. Theoret. Biol. (1965) **8**, 357-366

Molecules as Documents of Evolutionary History

EMILE ZUCKERKANDL AND LINUS PAULING

*Gates and Crellin Laboratories of Chemistry,
California Institute of Technology, Pasadena, California, U.S.A.*

(Received 17 September 1964)

Different types of molecules are discussed in relation to their fitness for providing the basis for a molecular phylogeny. Best fit are the "semantides", i.e. the different types of macromolecules that carry the genetic information or a very accurate translation thereof. The fact that more than one coding triplet may code for a given amino acid residue in a polypeptide leads to the notion of "isozymal substitutions" in gene and messenger polynucleotides. Such substitutions lead to differences in nucleotide sequences that are not expressed by differences in amino acid sequence. Some possible consequences of isozymalities are discussed.

1. The Chemical Basis for a Molecular Phylogeny

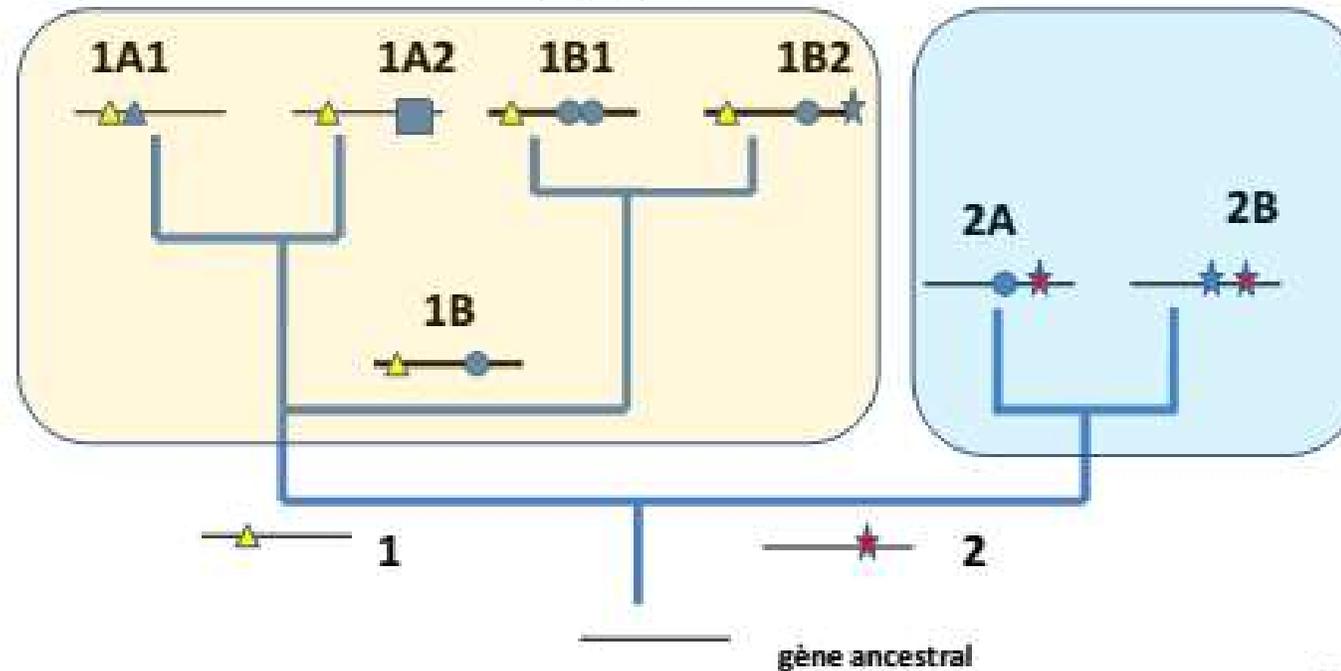
**L'idée de comparer les
séquences des
macromolécules
pour retracer l'évolution
date de 1965**

(Emile Zuckerkandl, Linus Pauling)

**nouvelle approche – la phylogénie moléculaire
basées sur l'analyse de séquences des gènes**

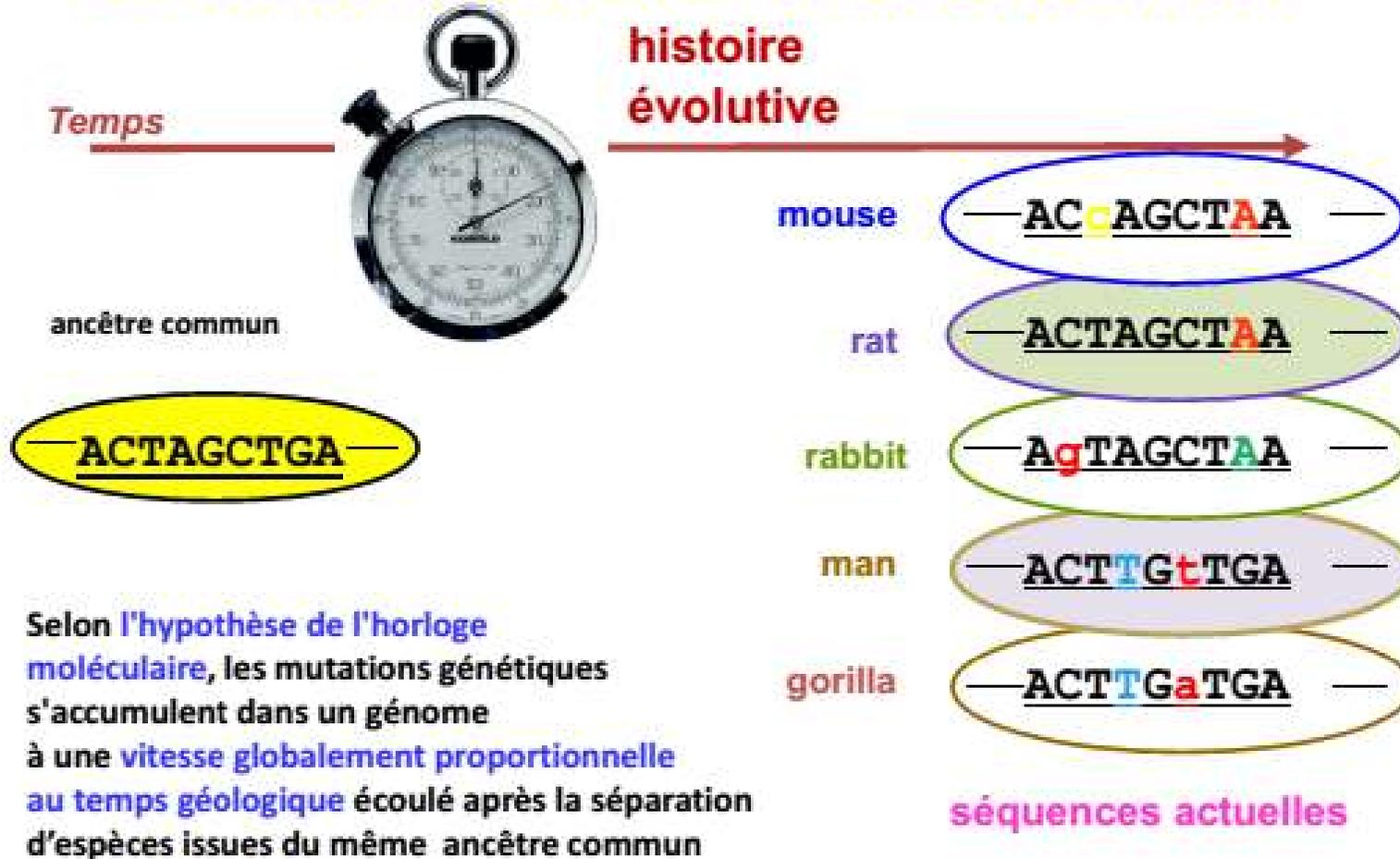
L'ADN en tant que mémoire de l'évolution

- les gènes ont une histoire commune car ils descendent d'un même ancêtre.
- l'analyse de rares changements dans la séquence d'ADN codant permet de construire un arbre phylogénétique

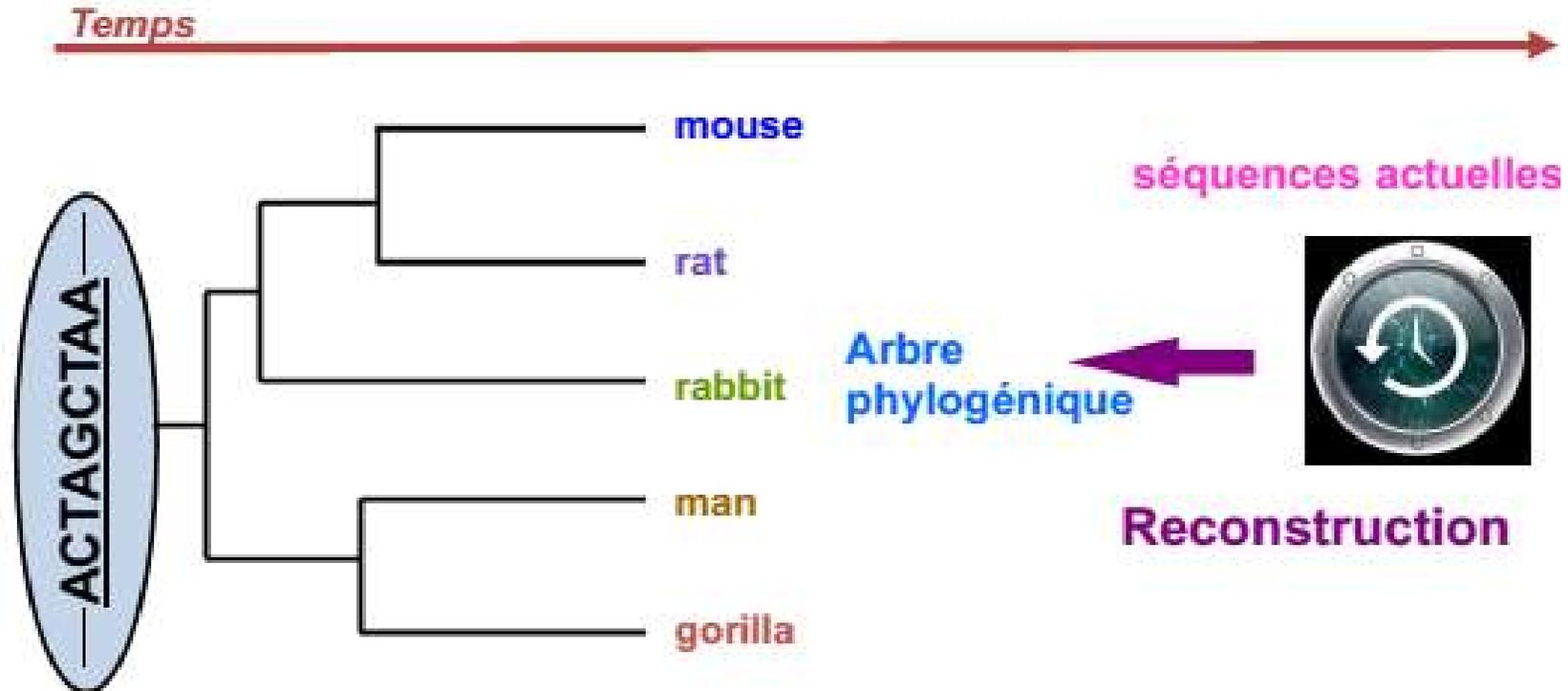


21

Les macromolécules, témoins de l'évolution



Phylogénie moléculaire – une machine à remonter le temps

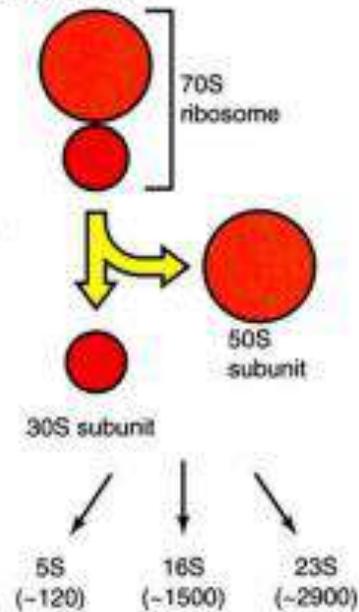


L'arbre phylogénique construit même avec un seul gène reflète l'histoire naturelle des espèces

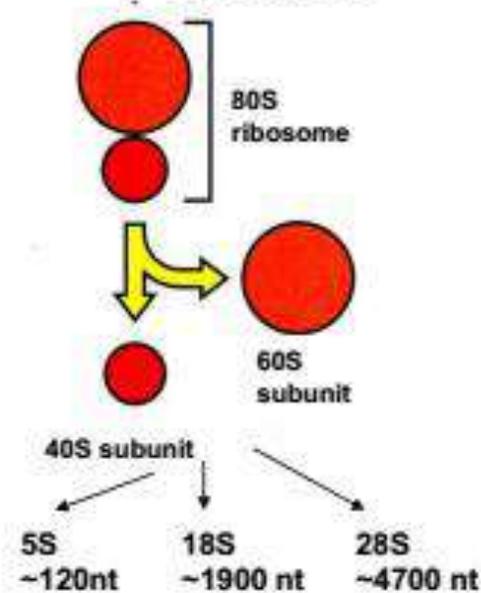
Phylogénie moléculaire des grands groupes – avec quel(s) gène(s)?

- les ARN ribosomiaux - **ubiquitaires** (toutes les cellules possèdent des ribosomes)
- **essentiels** (message non saturé)
- **et longs** (contiennent suffisamment d'information)

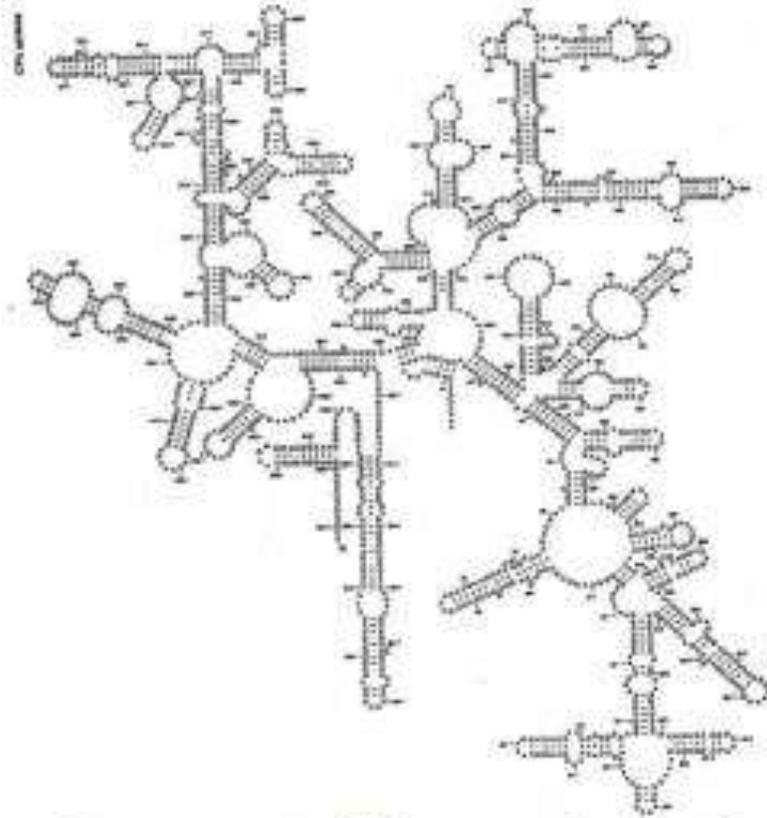
procaryotes



eucaryotes



ARN 16S (ou 18S) – le choix idéal



**ARN 16S – 1400 - 1500 nt
(18S chez eucaryotes -1900 nt)**

- plus riche en information
que le 5S – 120-130 nt

-plus facile à étudier
que le 23S – ~3000 nt

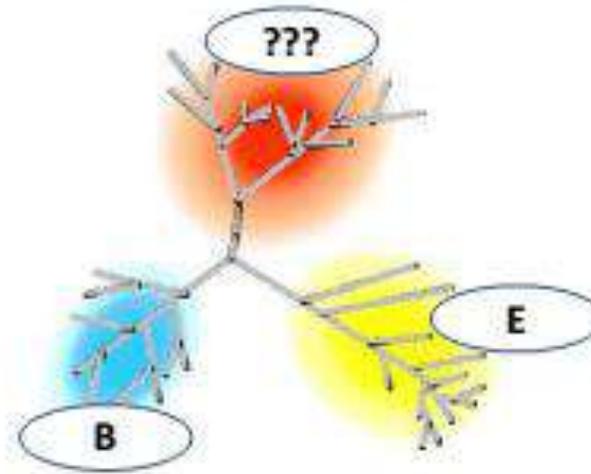
Pour comparer il faut connaître les séquences de ARN 16S venant de plusieurs espèces

« Il existe trois grands types d'ARN 16S (et donc 3 type de ribosomes) sur Terre »



Department of Microbiology
University of Illinois at Urbana-Champaign

Carl Woese, 1977

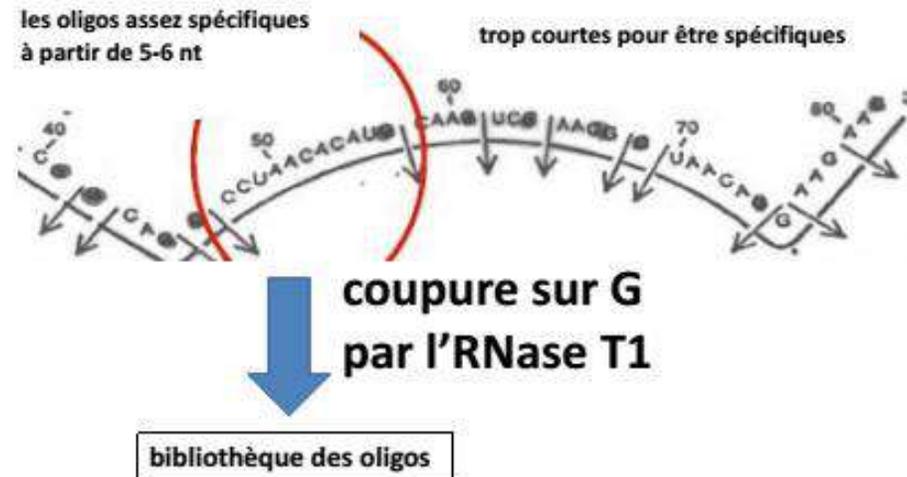


- 1 - E – eucaryotes
- 2 - B – procaryotes (bactéries)
- 3 - ??????

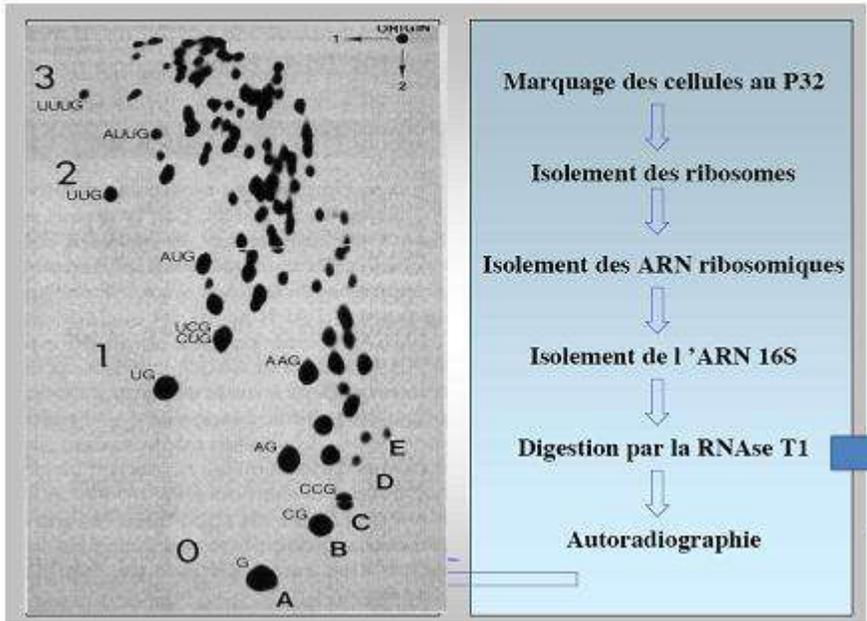
1977 – la technique employée par C. Woese pour séquencer l'ARN 16S

- la technique de séquençage de l'ADN est inconnue
- cependant, l'ARN 16S peut être facilement extrait des ribosomes
- une technique laborieuse permet de comparer les séquences des différents ARN

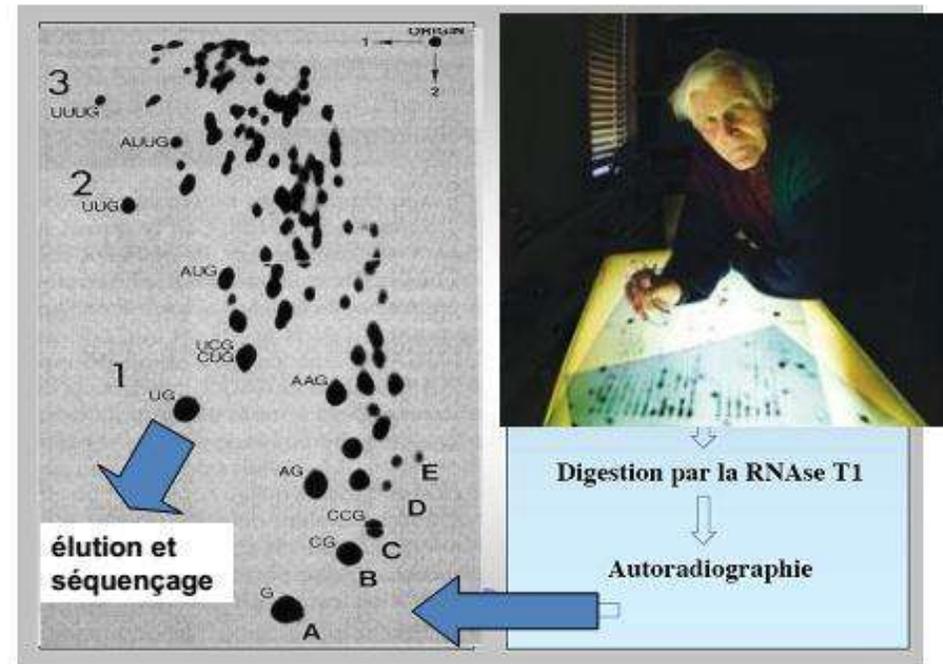
Production d'un catalogue d'oligonucléotides digérés par la RNase T1



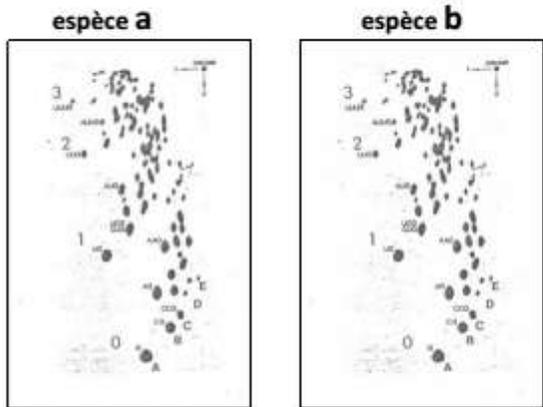
Les bibliothèques d'oligonucléotides



Les bibliothèques d'oligonucléotides



La comparaison des bibliothèques d'oligonucléotides



S_{ab} – la coefficient de similarité (ou coefficient d'association)

Na = Nombre d'oligo dans le catalogue De l'espèce a

Nb = Nombre d'oligo dans le catalogue De l'espèce b

Nab = Nombre d'oligo Commun aux catalogues des espèces a et b

S_{ab} = 2Nab/Na + Nb

Les premiers résultats de Woese – les bactéries sont éloignées des eucaryotes

– les chloroplastes sont des ex-bactéries

Cyanobactérie-Chloroplaste	0.31		proches
Plante-Chloroplaste	0.09		éloignés

Homme-levure de bière	0.33		proches
Homme-Colibacille	0.06		éloignés
Levure de bière-Colibacille	0.05		éloignés
Cyanobactérie-Colibacille	0.26		proches

Les valeurs de S_{AB} de deux bactéries ou de deux eucaryotes sont toujours supérieures à 0,2

Carl Woese entreprend alors l'analyse des « bactéries bizarres »:

- les méthanogènes
- les halophiles
- les hyper thermoacidophiles (*Sulfolobus*)

Le résultat

Les « bactéries » bizarres ne sont pas les bactéries (ni les eucaryotes).
Une autre forme de vie??

Signature sequences from 16S or 18S rRNA defining the three domains of living organisms

Oligonucleotide signatures ^a	Approximate position ^b	Occurrence among ^c		
		les « bactéries » bizarres	Bacteria	Eukarya
CACYYG	315	0	>95	0
CYAAVUNYG	510	0	>95	0
AAACUCAAA	910	3	100	0
AAACUAAAAG	910	100	0	100
NUAAAUICG	960	0	>95	0
YUYAAUUG	960	100	<1	100
CAACCYYCR	1110	0	>95	0
UUCOCG	1380	0	>95	0
UCCOCG	1380	>95	0	100
CUCUUG	1390	>95	0	0
UACACACCG	1400	0	>99	100
CACACACCG	1400	100	0	0

Trois formes de vie

Méthanogène-Homme 0.05

I^{ère} forme de vie - eucaryotes

Méthanogène-Colibacille 0.06

II^{ème} forme de vie - eubactéries

Méthanogène-*Halobacterium* 0.19

existence de la troisième forme de vie

Méthanogène 1-Méthanogène 2 0.25

Méthanogène-*Sulfolobus* 0.13

Halobacterium-Sulfolobus 0.15

Conclusions

Sab

<u>eucaryote</u> A - <u>eucaryote</u> B	0,29 - 0,36
<u>eucaryote</u> - <u>bactérie</u>	0,05 - 0,11
<u>bactérie</u> A - <u>bactérie</u> B	0,20 - 0,34
<u>méthanogène</u> - <u>bactérie</u>	0,05 - 0,13
<u>méthanogène</u> - <u>eucaryote</u>	0,06 - 0,11
<u>méthanogène</u> - <u>méthanogène</u>	0,24 - 0,51
<u>halophile</u> - <u>méthanogène</u>	0,19 - 0,34
<u>Thermoplasma</u> - <u>méthanogène</u>	0,13 - 0,23
<u>Sulfolobus</u> - <u>méthanogène</u>	0,13 - 0,17

- les méthanogènes sont aussi éloignés de l'homme que des bactéries

- les trois groupes analysés

-méthanogènes

-halophiles

-hyperthermophiles

forment un domaine très distincts de ceux de vraies bactéries et d'eucaryotes

C. Woese appelle ce domaine **Archeobactéries** devenu aujourd'hui Archées (**Archaea**)

Italie, Sicile



USA, Yellowstone Park



conditions –
température 85-115°C
pH – de 0 à 2 riche en H₂SO₄

Islande



OrderLab.com, United States - the highest flow hot spring in Europe



Yellowstone National Park

UNESCO Category II (National Park)



Location: Wyoming, Montana and Idaho, USA

Desulfurococcus

Pyrobaculum

**Découverte des
hyperthermophiles
neutrophiles
anaérobies**

Methanopyrus

Staphylothermus

Thermoproteus

Thermotoga

45

Conclusions 1:

a membrane cytoplasmique: bactéries /eucaryotes vs archées

3 points principaux qui distinguent la membrane des archées:

- chiralité du glycérol – D chez les Bactéries / L chez les Archées
- liaison **ester** chez les Bactéries / **ether** chez les Archées entre le glycérol et les chaîne des acides gras
- acides gras **non saturés et non ramifiés** chez les Bactéries /
chaînes isopréniques saturées et ramifiées chez les Archées

Conclusions 2:

a membrane cytoplasmique: bactéries /eucaryotes vs archées

**La membrane atypiques des archées leur permet
de mieux résister aux
conditions extrêmes, surtout à la température extrême.**

**Quels sont d'autres facteurs permettant aux archées
de mieux s'adapter
aux conditions extrêmes?**

Chapitre III :

Taxonomie bactérienne

1. Place des microorganismes dans le monde vivant
2. Classification biologique contemporaine
3. Classification des protistes procaryotes

Introduction générale et vue d'ensemble

- **Taxinomie**

- **Science de la classification biologique.**
- **Constituée de 3 parties séparées mais reliées entre elles:**
 - **Classification:** Arrangement des organismes en groupes ou **taxons** selon leur similitude et leur parenté évolutive.
 - **Nomenclature:** Consiste à donner des noms aux groupes taxinomiques selon les règles publiées.
 - **Identification:** Détermine qu'un isolat particulier appartient à un taxon connu.

Importance de la taxinomie

- **Permet de mettre de l'ordre dans l'énorme quantité de connaissances que nous avons des organismes, parce que tous les membres d'un groupe donné partagent de nombreuses caractéristiques.**
- **Permet de faire des prédictions et des hypothèses pour une recherche future, basée sur la connaissance d'organismes similaires.**
- **Répartit les micro-organismes en groupes significatifs, utiles, avec des noms précis, de sorte que les microbiologistes peuvent les étudier et communiquer efficacement.**
- **Essentielle pour l'identification précise des micro-organismes.**

L'évolution et la diversité microbiennes

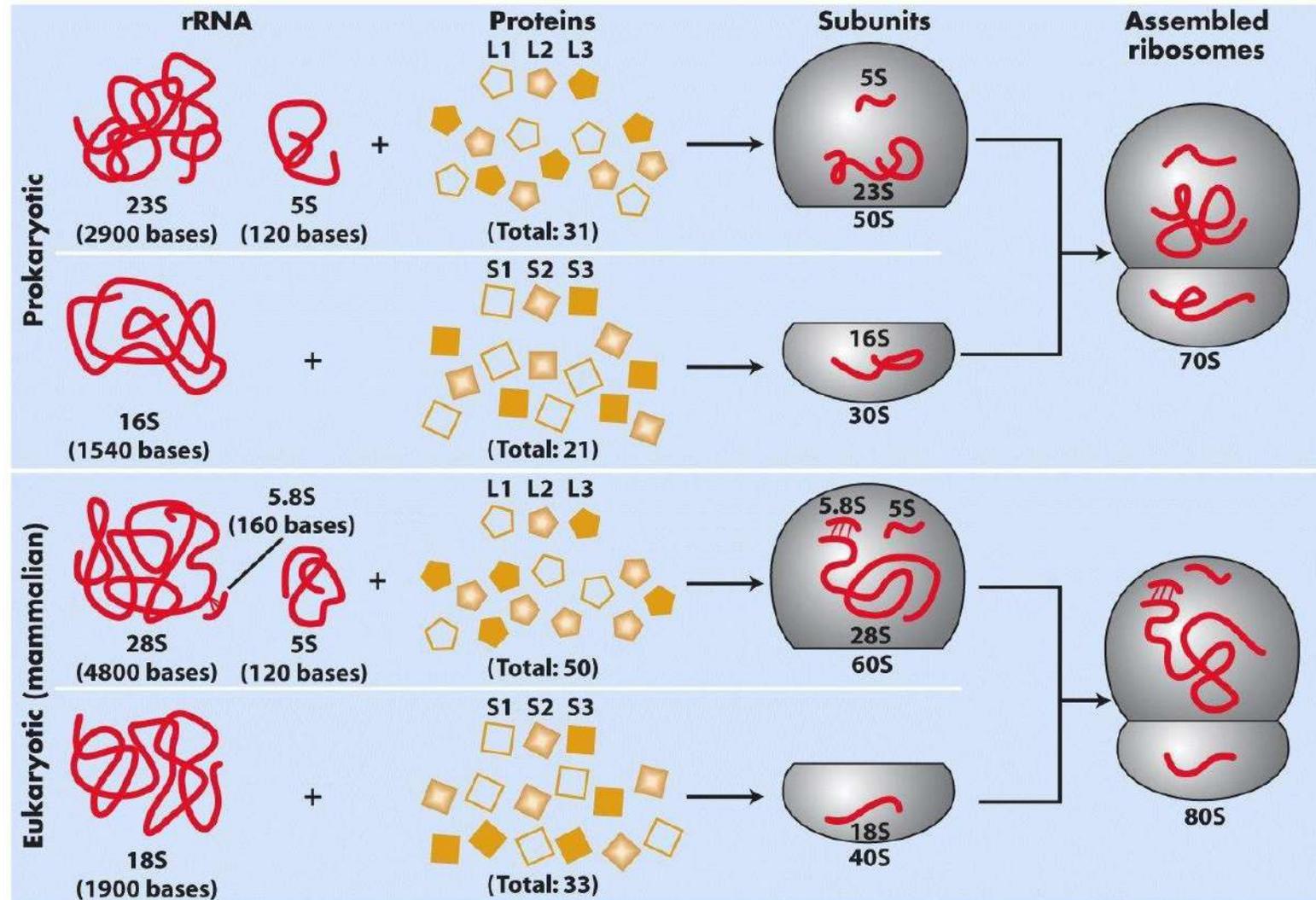
- **Notre planète est âgée de ~ 4.6 milliards d'années.**
- **Les premiers procaryotes datent d'au moins 3.5 à 3.8 milliards d'années.**
- **Des restes fossiles ont été découverts dans les stromatolithes et les roches sédimentaires.**
 - **Stromatolithes:** Roches stratifiées, souvent en forme de dômes, qui sont formés par de minéraux dans des tapis microbiens.
- **Étaient probablement anaérobiques.**



Évolution des eucaryotes

- **Les cellules eucaryotes modernes auraient dérivé des procaryotes voici environ ~ 1.4 milliard d'années.**
- **Deux hypothèses principales:**
 - 1) **L'hypothèse de la fusion des génomes**
 - Soutien que certains gènes bactériens et archéens se sont combinés pour former un seul génome eucaryote – évolution du noyau.
 - 2) **L'hypothèse endosymbiotique**
 - Une endosymbiose serait responsable de l'apparition des organites.
 - Les chloroplastes origineraient de cyanobactéries photosynthétiques qui seraient entrées en relation symbiotique avec des eucaryotes primitifs.
 - Les mitochondries origineraient d'un mécanisme similaire (alpha-protéobactérie).

Les ribosomes



L'arbre phylogénique universel

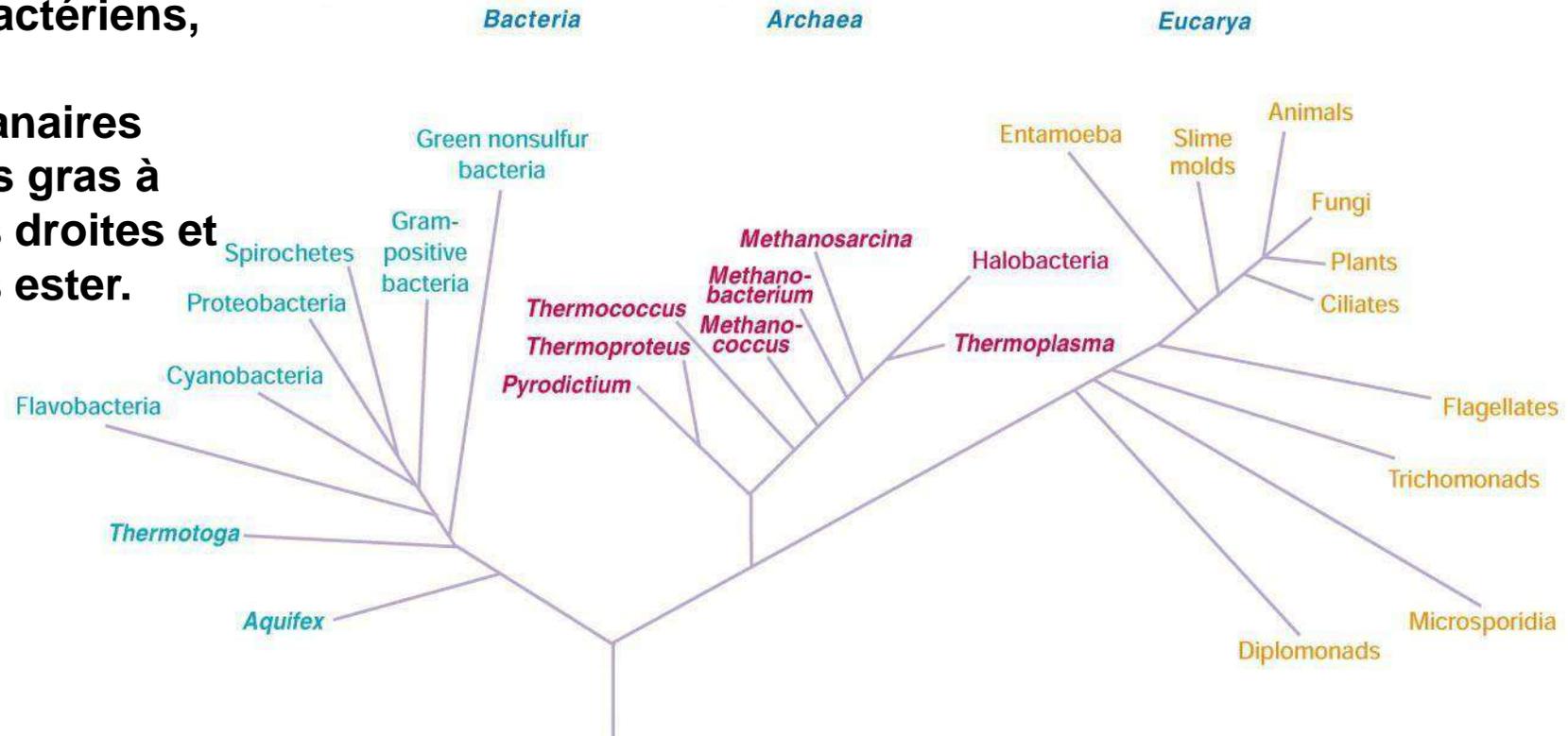
Archaea

Cellules procaryotes, ARNr achéobactériens, lipides membranaires constitués de chaînes aliphatiques ramifiées et liaisons éther.

Bacteria
Cellules procaryotes, ARNr bactériens, lipides membranaires d'acides gras à chaînes droites et liaisons ester.

Eucarya

Cellule eucaryotes, ARNr encaryote, lipides membranaires d'acides gras à chaînes droites et liaisons ester.



Comparaison des *Bacteria*, *Archea*, et *Eucarya*

Table 19.8 Comparison of *Bacteria*, *Archaea*, and *Eucarya*

Property	<i>Bacteria</i>	<i>Archaea</i>	<i>Eucarya</i>
Membrane-Enclosed Nucleus with Nucleolus	Absent	Absent	Present
Complex Internal Membranous Organelles	Absent	Absent	Present
Cell Wall	Almost always have peptidoglycan containing muramic acid	Variety of types, no muramic acid	No muramic acid
Membrane Lipid	Have ester-linked, straight-chained fatty acids	Have ether-linked, branched aliphatic chains	Have ester-linked, straight-chained fatty acids
Gas Vesicles	Present	Present	Absent
Transfer RNA	Thymine present in most tRNAs	No thymine in T or T ψ C arm of tRNA	Thymine present
	<i>N</i> -formylmethionine carried by initiator tRNA	Methionine carried by initiator tRNA	Methionine carried by initiator tRNA
Polycistronic mRNA	Present	Present	Absent
mRNA Introns	Absent	Absent	Present
mRNA Splicing, Capping, and Poly A Tailing	Absent	Absent	Present
Ribosomes			
Size	70S	70S	80S (cytoplasmic ribosomes)
Elongation factor 2	Does not react with diphtheria toxin	Reacts	Reacts
Sensitivity to chloramphenicol and kanamycin	Sensitive	Insensitive	Insensitive
Sensitivity to anisomycin	Insensitive	Sensitive	Sensitive
DNA-Dependent RNA Polymerase			
Number of enzymes	One	Several	Three
Structure	Simple subunit pattern (4 subunits)	Complex subunit pattern similar to eucaryotic enzymes (8–12 subunits)	Complex subunit pattern (12–14 subunits)
Rifampicin sensitivity	Sensitive	Insensitive	Insensitive
Polymerase II Type Promoters	Absent	Present	Present
Metabolism			
Similar ATPase	No	Yes	Yes
Methanogenesis	Absent	Present	Absent
Nitrogen fixation	Present	Present	Absent
Chlorophyll-based photosynthesis	Present	Absent	Present ^a
Chemolithotrophy	Present	Present	Absent

^a Present in chloroplasts (of bacterial origin).

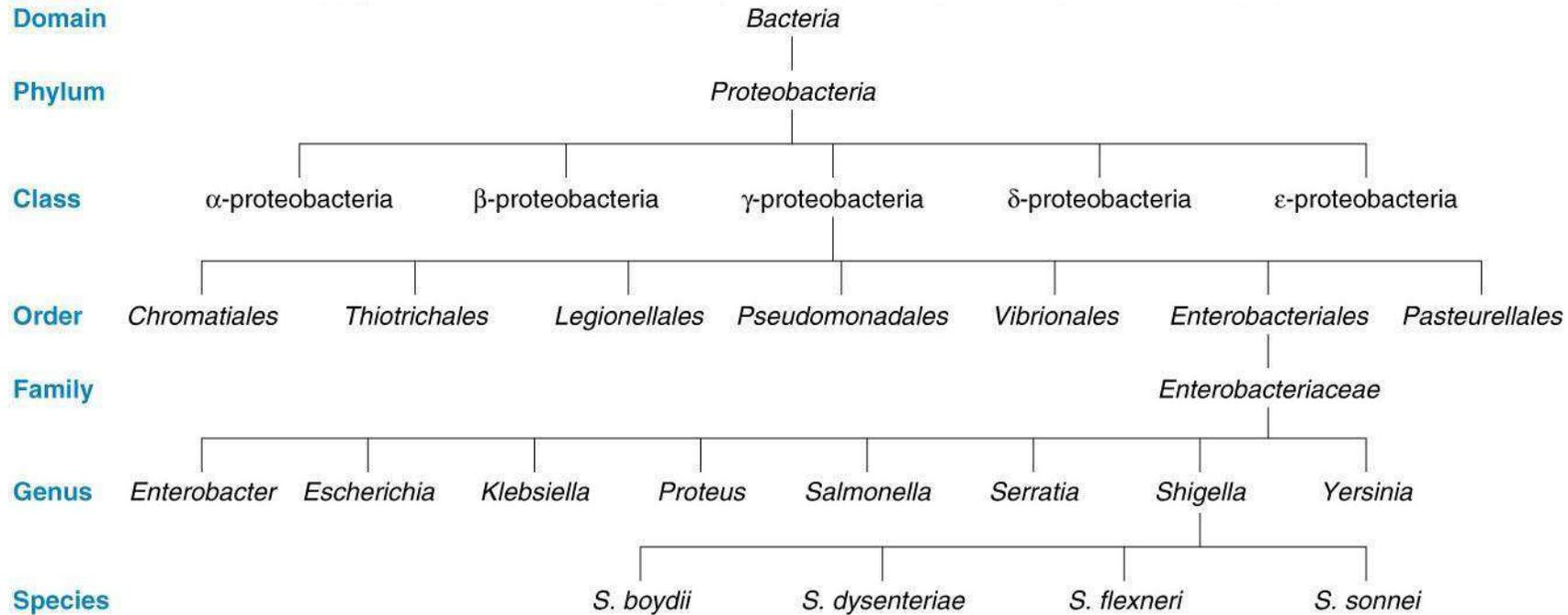
Les rangs taxinomiques

- **Les microbiologistes utilisent fréquemment des noms communs**
 - **i.e., bactéries pourpres, spirochètes, bactéries sulfureuses, etc.**

Table 19.1 An Example of Taxonomic Ranks and Names

Rank	Example
Domain	<i>Bacteria</i>
Phylum	<i>Proteobacteria</i>
Class	γ -Proteobacteria
Order	<i>Enterobacteriales</i>
Family	<i>Enterobacteriaceae</i>
Genus	<i>Shigella</i>
Species	<i>S. dysenteriae</i>

Structure hiérarchique en taxinomie



Genre: Groupe bien défini, d'une ou plusieurs espèces, qui est clairement séparé des autres genres.

Chapitre III :

Taxonomie bactérienne

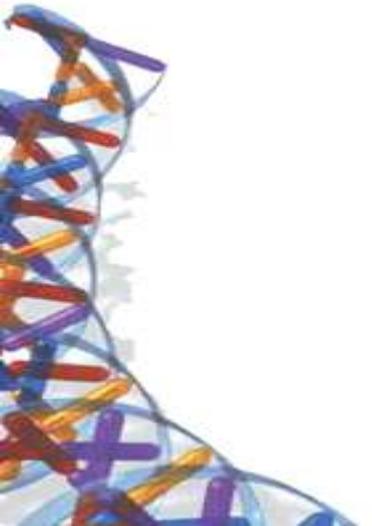
(Suite)

1. Place des microorganismes dans le monde vivant
2. Classification biologique contemporaine
3. Classification des protistes procaryotes

Définir une espèce procaryote



- **On ne peut utiliser la même définition que pour les organismes eucaryotes supérieurs car les procaryotes ne se reproduisent pas de façon sexuée.**
- **Deux définitions possibles:**
 - **Ensemble de souches qui partagent de nombreuses propriétés stables et diffèrent des autres groupes de souches.**
 - **Ensemble des organismes qui partagent les mêmes séquences pour l'essentiel de leurs gènes domestiques (gènes qui codent pour les produits nécessaires à toutes les cellules et qui sont habituellement exprimés en permanence).**



Une souche



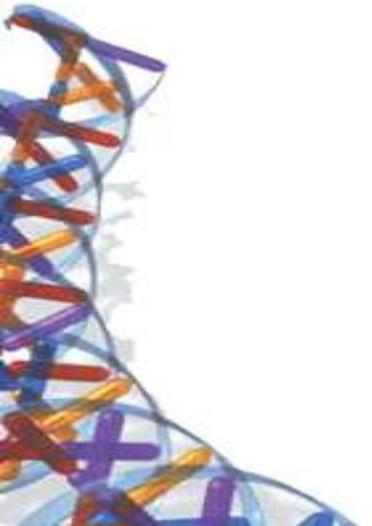
- On considère qu'elle provient d'un organisme unique ou d'un isolat de culture pure.
 - **Biovars**: Différences biochimiques ou physiologiques.
 - **Morphovars**: Différences morphologiques.
 - **Sérovars**: Propriétés antigéniques distinctes.



Une souche type



- **Habituellement une des premières souches étudiées.**
- **Souvent plus complètement caractérisée que les autres souches.**
- **Cependant, elle n'est pas toujours le membre le plus représentatif.**
- **La souche type de l'espèce est appelée espèce type. C'est le type nomenclatural ou détenteur du nom de l'espèce.**



Systeme binomial de nomenclature



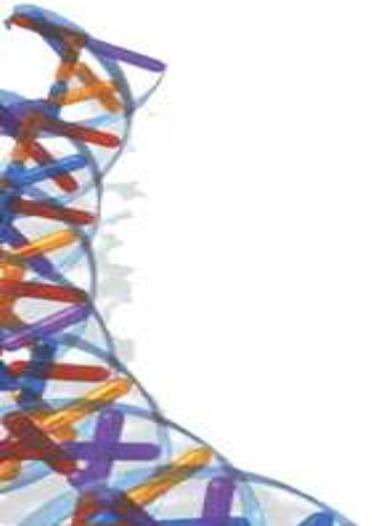
- Développé par Carl von Linné (Carolus Linnaeus).
- Le nom latin comprend deux parties:
 - **Nom du genre**: italique et débutant par une majuscule (i.e. *Escherichia*).
 - **L'épithète spécifique**: italique et minuscule (i.e., *coli*).
- Peut être raccourci après le premier usage (i.e., *E. coli*).



Les systèmes de classification



- **Classification naturelle**
 - Arrange les organismes en groupes dont les membres ont en commun de nombreuses caractéristiques.
 - Reflète autant que possible la nature biologique des organismes.
- **Deux méthodes principales de construction:**
 - **Phénétique**
 - Groupe les organismes suivant la similitude de leurs caractères phénotypiques.
 - **Phylogénique**
 - Groupe les organismes selon des relations évolutives plutôt que des ressemblances générales. Utilise des caractères de nature moléculaire.





- **Deux groupes de caractéristiques:**
 - **Caractéristiques classiques**
 - Morphologiques
 - Physiologiques et métaboliques
 - Écologiques
 - Analyse génétique
 - **Caractéristiques moléculaires**
 - Composition en base des acides nucléiques
 - Hybridation des acides nucléiques
 - Séquençage des acides nucléiques
 - Prise d'empreintes génomiques
 - Séquençage des protéines



Quelques caractéristiques morphologiques, physiologiques et métaboliques couramment utilisées en phénétique



Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

Table 19.4 Some Morphological Features Used in Classification and Identification

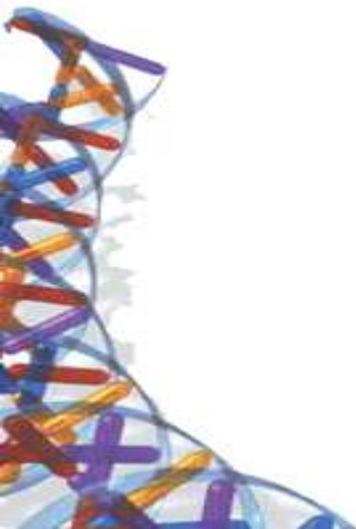
Feature	Microbial Groups
Cell shape	All major groups ^a
Cell size	All major groups
Colonial morphology	All major groups
Ultrastructural characteristics	All major groups
Staining behavior	Bacteria, some fungi
Cilia and flagella	All major groups
Mechanism of motility	Gliding bacteria, spirochetes
Endospore shape and location	Endospore-forming bacteria
Spore morphology and location	Bacteria, protists, fungi
Cellular inclusions	All major groups
Color	All major groups

^aUsed in classifying and identifying at least some bacteria, fungi, and protists.

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

Table 19.5 Some Physiological and Metabolic Characteristics Used in Classification and Identification

- Carbon and nitrogen sources
- Cell wall constituents
- Energy sources
- Fermentation products
- General nutritional type
- Growth temperature optimum and range
- Luminescence
- Mechanisms of energy conversion
- Motility
- Osmotic tolerance
- Oxygen relationships
- pH optimum and growth range
- Photosynthetic pigments
- Salt requirements and tolerance
- Secondary metabolites formed
- Sensitivity to metabolic inhibitors and antibiotics
- Storage inclusions



Composition en base des acides nucléiques

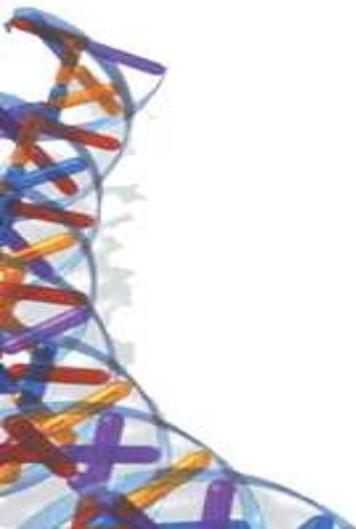
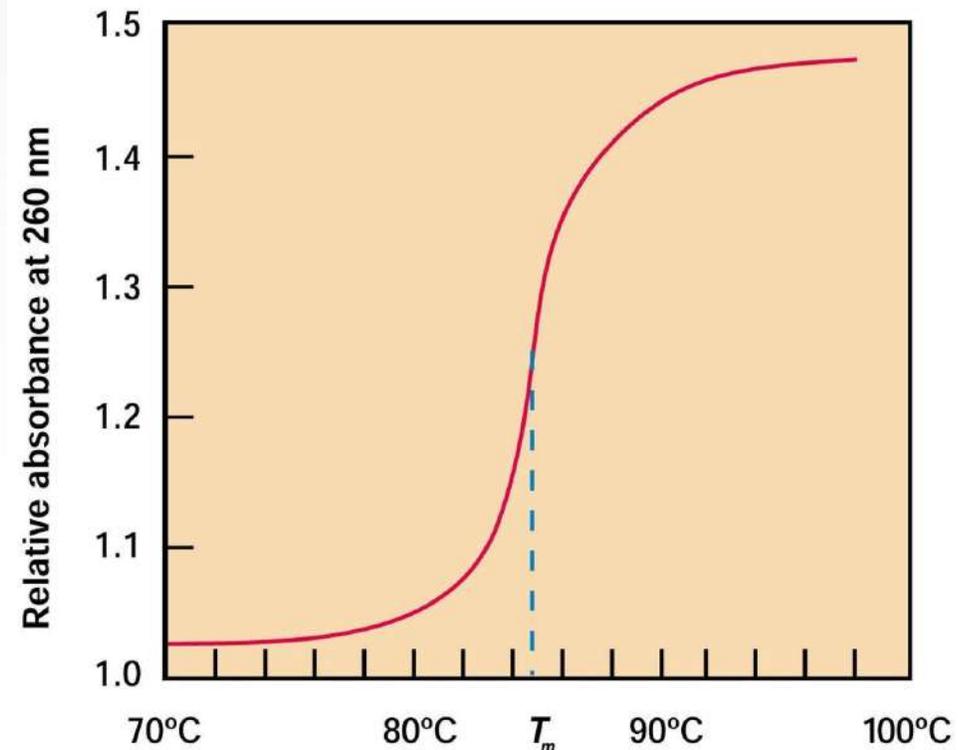


- **Contenu en GC**

- Mol% G + C =
$$\frac{(G + C)}{(G + C + A + T)} \times 100$$

- Le contenu en GC est déterminé à partir de la **température de fusion** (T_m pour melting temperature).

- Variation à l'intérieur d'un genre bactérien généralement < 10%.



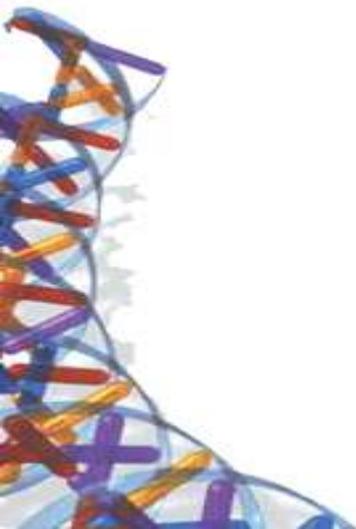
Contenus en GC représentatifs des micro-organismes



Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

Table 19.6 Representative G + C Content of Microorganisms

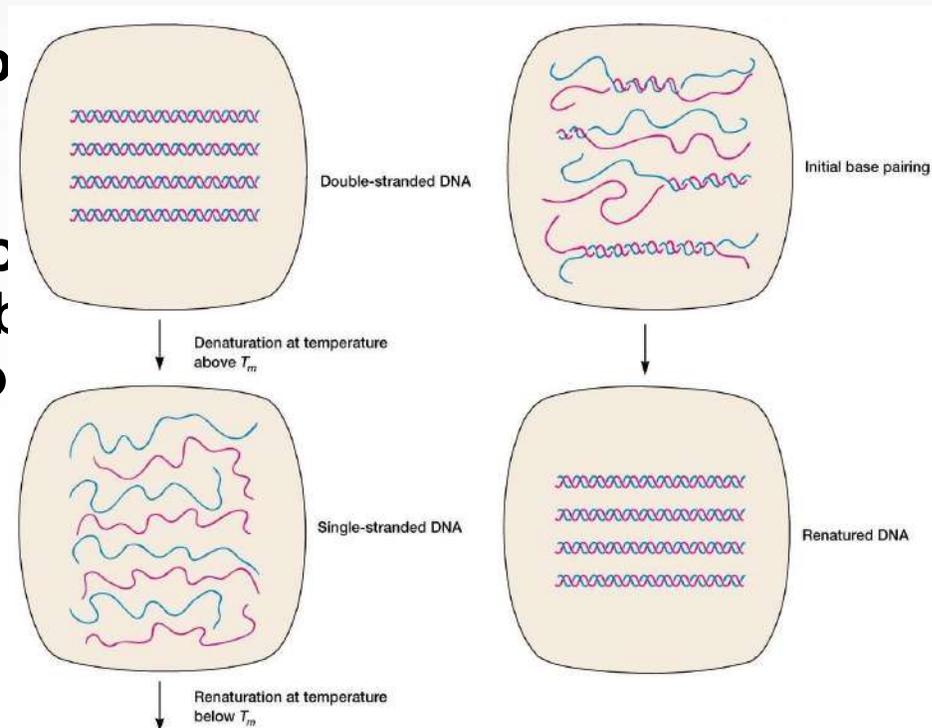
Organism	Percent G + C	Organism	Percent G + C	Organism	Percent G + C
Bacteria		<i>Rhodospirillum</i>	62–66	<i>Peridinium triquetrum</i>	53
<i>Actinomyces</i>	59–73	<i>Rickettsia</i>	29–33	<i>Physarium polycephalum</i>	38–42
<i>Anabaena</i>	39–44	<i>Salmonella</i>	50–53	<i>Plasmodium berghei</i>	41
<i>Bacillus</i>	32–62	<i>Spirillum</i>	38	<i>Scenedesmus</i>	52–64
<i>Bacteroides</i>	28–61	<i>Spirochaeta</i>	51–65	<i>Spirogyra</i>	39
<i>Bdellovibrio</i>	49.5–51	<i>Staphylococcus</i>	30–38	<i>Stentor polymorphus</i>	45
<i>Caulobacter</i>	62–65	<i>Streptococcus</i>	33–44	<i>Tetrahymena</i>	19–33
<i>Chlamydia</i>	41–44	<i>Streptomyces</i>	69–73	<i>Trichomonas</i>	29–34
<i>Chlorobium</i>	49–58	<i>Sulfolobus</i>	31–37	<i>Trypanosoma</i>	45–59
<i>Chromatium</i>	48–70	<i>Thermoplasma</i>	46	<i>Volvox carteri</i>	50
<i>Clostridium</i>	21–54	<i>Thiobacillus</i>	52–68		
<i>Cytophaga</i>	33–42	<i>Treponema</i>	25–53	Fungi	
<i>Deinococcus</i>	62–70			<i>Agaricus bisporus</i>	44
<i>Escherichia</i>	48–59	Protists		<i>Amanita muscaria</i>	57
<i>Halobacterium</i>	66–68	<i>Acanthamoeba castellanii</i>	56–58	<i>Aspergillus niger</i>	52
<i>Hyphomicrobium</i>	59–67	<i>Acetabularia mediterranea</i>	37–53	<i>Blastocladiella emersonii</i>	66
<i>Methanobacterium</i>	32–50	<i>Amoeba proteus</i>	66	<i>Candida albicans</i>	33–35
<i>Micrococcus</i>	64–75	<i>Chlamydomonas</i>	60–68	<i>Claviceps purpurea</i>	53
<i>Mycobacterium</i>	62–70	<i>Chlorella</i>	43–79	<i>Coprinus lagopus</i>	52–53
<i>Mycoplasma</i>	23–40	<i>Cyclotella cryptica</i>	41	<i>Fomes fraxineus</i>	56
<i>Myxococcus</i>	68–71	<i>Dictyostelium</i>	22–25	<i>Mucor rouxii</i>	38
<i>Neisseria</i>	48–56	<i>Euglena gracilis</i>	46–55	<i>Neurospora crassa</i>	52–54
<i>Nitrobacter</i>	59–62	<i>Lycogala</i>	42	<i>Penicillium notatum</i>	52
<i>Oscillatoria</i>	40–50	<i>Nitella</i>	49	<i>Polyporus palustris</i>	56
<i>Prochloron</i>	41	<i>Nitzschia angularis</i>	47	<i>Rhizopus nigricans</i>	47
<i>Proteus</i>	38–41	<i>Ochromonas danica</i>	48	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	36–42
<i>Pseudomonas</i>	58–69	<i>Paramecium</i> spp.	29–39	<i>Saprolegnia parasitica</i>	61



Hybridation des acides nucléiques



- Mesure la similitude entre génomes.
- Une des technique les plus courantes:
 - ADN non radioactif de l'espèce A dénaturé et fixé à une membrane de nitrocellulose.
 - Incubation avec l'ADN simple marqué à la radioactivité.
 - On lave la membrane puis c restante attachée à la membrane reflète le degré d'hybridation des ADN.



Hybridation des acides nucléiques



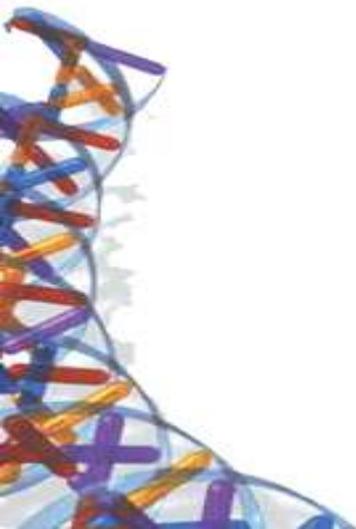
Table 19.6 Comparison of *Neisseria* Species by DNA Hybridization Experiments

Membrane-Attached DNA ^a	Percent Homology ^b
<i>Neisseria meningitidis</i>	100
<i>N. gonorrhoeae</i>	78
<i>N. sicca</i>	45
<i>N. flava</i>	35

Source: Data from T. E. Staley and R. R. Colwell, “Applications of Molecular Genetics and Numerical Taxonomy to the Classification of Bacteria” in *Annual Review of Ecology and Systematics*, 8: 282, 1973.

^aThe experimental membrane-attached nonradioactive DNA from each species was incubated with radioactive *N. meningitidis* DNA, and the amount of radioactivity bound to the membrane was measured. The more radioactivity bound, the greater the homology between DNA sequences.

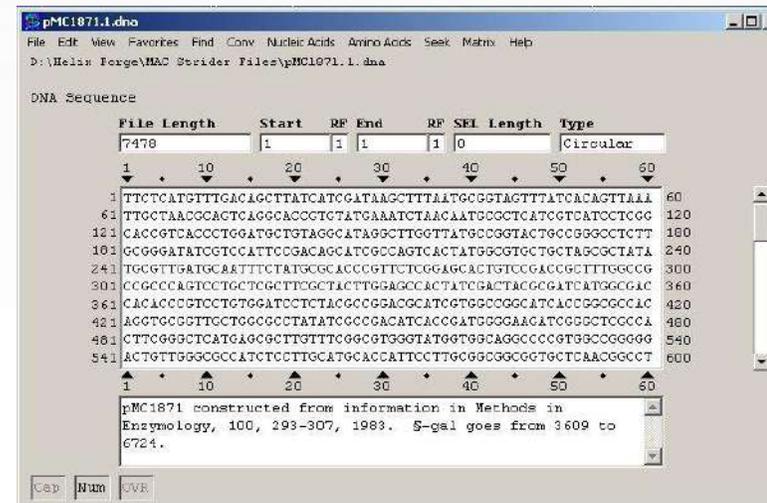
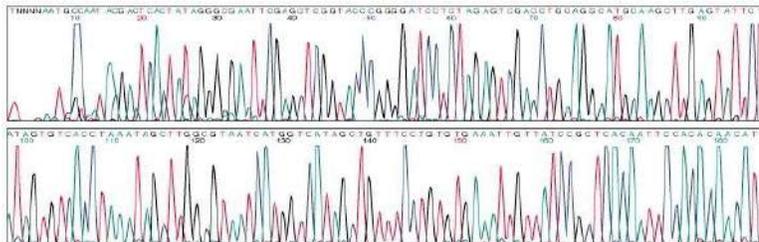
^b
$$\frac{\text{N. meningitidis DNA bound to experimental DNA}}{\text{Amount bound to membrane-attached N. meningitidis DNA}} \times 100$$



Séquençage des acides nucléiques



- Très souvent, on séquence les gènes ribosomaux (ARNr) 16S et 18S.
- Récemment des génomes procaryotes complets ont été séquencés. La comparaison directe de séquences de génomes complets deviendra importante en taxinomie.



Séquençage des acides nucléiques



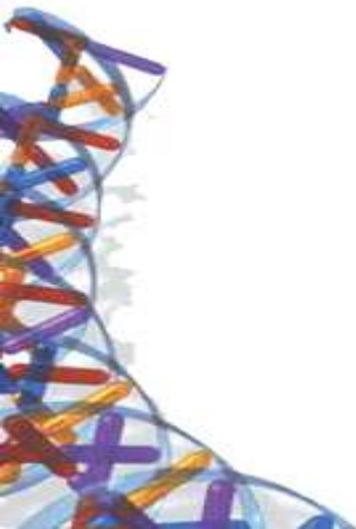
- L'analyse comparative de séquences d'ARNr 16S ou 18S de milliers d'organismes à démontré la présence de signatures oligonucléotidiques.
- Le typage de séquence multilocus (MLST pour *multilocus sequence typing*) est une autre approche basée sur l'analyse de séquences et la comparaison de 5 à 7 gènes domestiques, permettant de déterminer l'identité d'une l'espèce ou d'une souche.

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

Table 19.8 Selected 16S rRNA Signature Sequences for Some Bacterial Groups^a

Position in rRNA	Consensus Composition	Cyanobacteria	Spirochetes	Bacteroides	Green Sulfur	Green Nonsulfur	Deinococcus	Gram Positive (Low GC)	Gram Positive (High GC)	Planctomyces
47	C	+	+	U	+	+	+	+	+	G
53	A	+	+	G	+	+	G	+	+	G
570	G	+	+	+	U	+	+	+	+	U
812	G	c	+	+	+	+	C	+	+	+
906	G	Ag	+	+	+	+	A	+	+	A
955	U	+	+	+	+	+	+	+	A	C
1,207	G	+	C	+	+	+	+	C	C	+
1,234	C	+	+	a	U	A	+	+	+	+

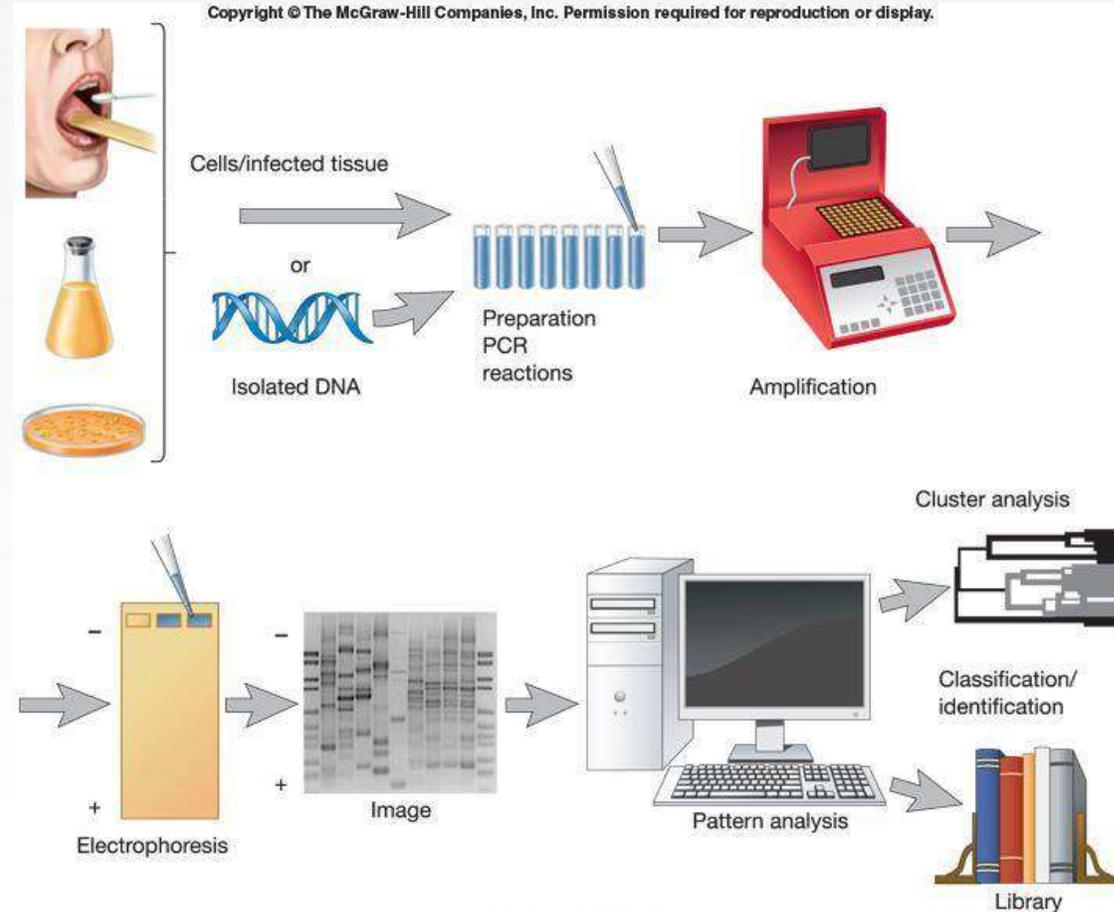
^aA plus sign in a column means that the group has the same base as the consensus sequence. If the letter is given in upper case, it is changed in more than 90% of the cases. A lowercase letter signifies a minor occurrence base (< 15% of the cases).



Prises d'empreintes génomiques



- La prise d'empreintes génomiques n'implique pas de séquençage nucléotidique .
- Deux principales approches existent:
1) **Polymorphisme de longueur de fragments de restriction (RFLP)** et
2) **rep-PCR** (BOX-PCR, ERIC-PCR et REP-PCR).



Réaction de polymérase en chaîne



Si on connaît la séquence de certaines portions d'un gène ou d'un fragment d'ADN d'intérêt, on peut l'amplifier en conditions *in vitro*. Cette procédure s'appelle la **réaction de polymérase en chaîne** (PCR ou *polymerase chain reaction* en anglais).

Étapes de la réaction:

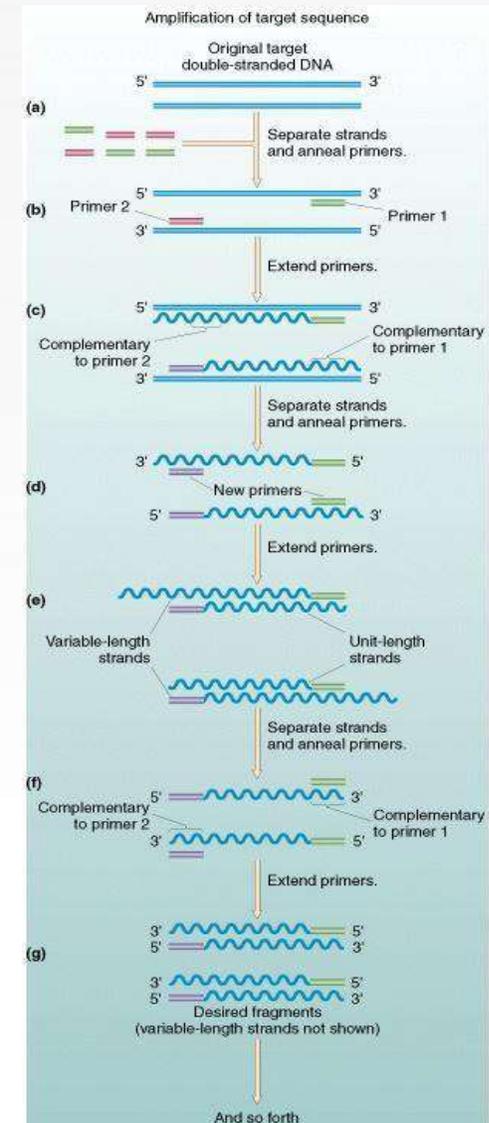
1) **Dénaturation** (95°C)

étape qui dénature les deux fragments d'ADN

2) **Hybridation** (température variable) étape où les amorces s'hybrident à leurs séquences complémentaires

3) **Élongation** (72°C)

Extension des amorces par l'ADN polymérase



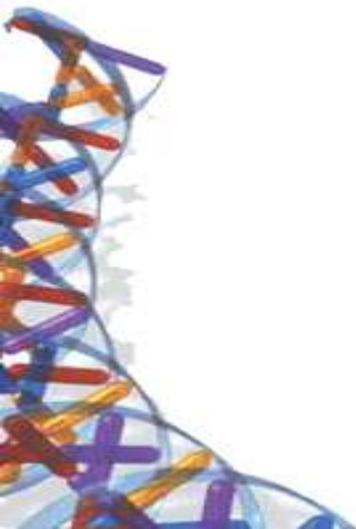
Les enzymes de restriction



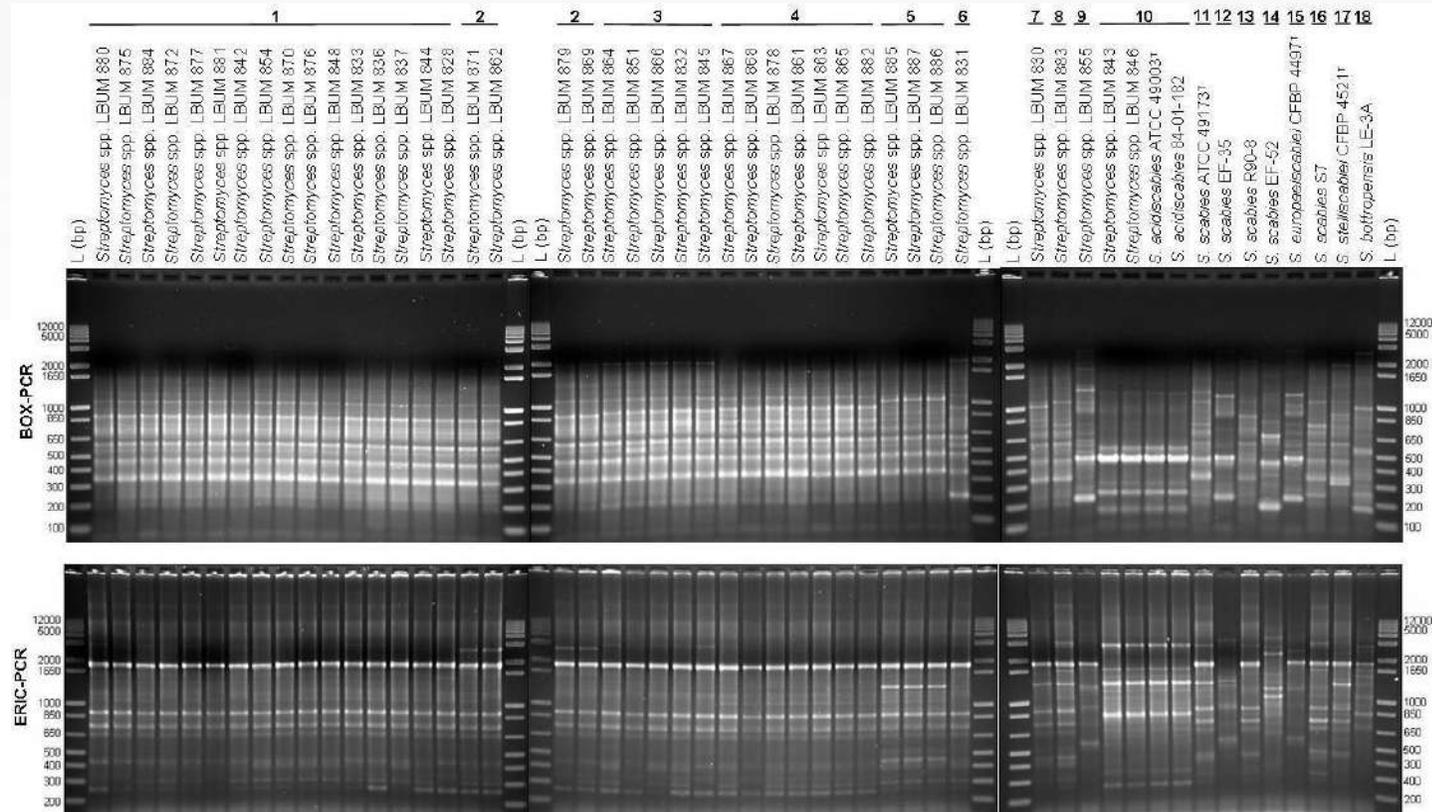
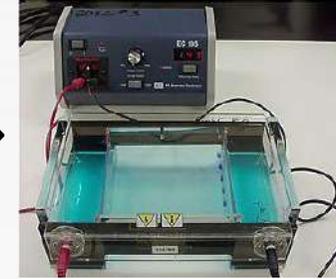
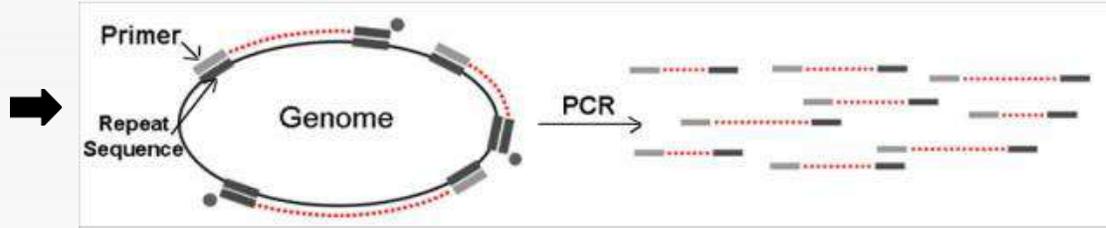
- Enzymes qui clivent l'ADN
- Reconnaissent des séquences nucléotidiques spécifiques
- 1^{ère} enzyme découverte chez *Haemophilus influenzae* en 1970
- Différentes enzymes sont disponibles commercialement
- Nomenclature: **BamHI**
 - **B** première lettre du genre bactérien (*Bacillus*)
 - **am** lettres de l'espèce bactérienne (*amyloliquefaciens*)
 - **H** représente la souche bactérienne
 - **I** première enzyme découverte

Some restriction enzymes

Enzyme	Source organism	Restriction recognition site in double-stranded DNA	Structure of the cleaved products
(a) EcoRI	<i>Escherichia coli</i>		
PstI	<i>Providencia stuartii</i>		
SmaI	<i>Serratia marcescens</i>		
(b) HaeIII	<i>Haemophilus aegyptius</i>		
HpaII	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>		



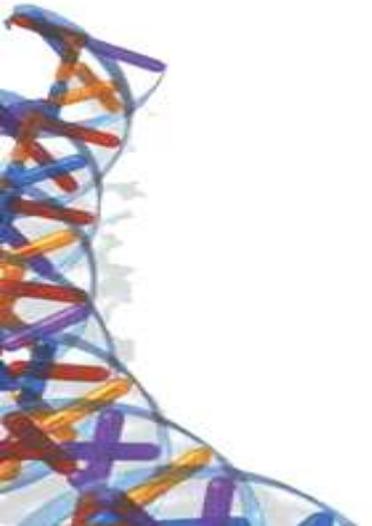
Rep-PCR



Séquençage des protéines



- **Déterminer la séquence en acides aminés de protéines ayant la même fonction.**
- **Méthodes indirectes:**
 - **Comparer la mobilité électrophorétique des protéines.**
 - **Déterminer les propriétés immunologiques des protéines.**
 - **Comparer des propriétés enzymatiques.**

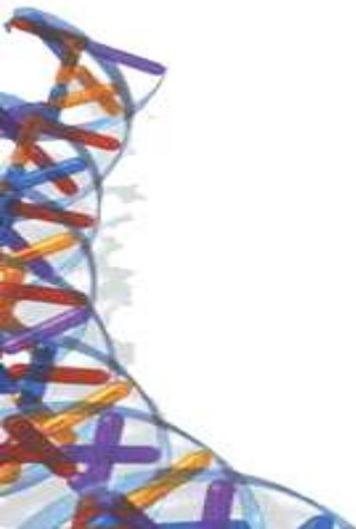


Résolution taxinomique des différentes techniques moléculaires



Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

Family	Genus	Species	Subspecies	Strain
Genome sequencing				
16S rDNA sequencing				
Mol% G+C				
DNA-DNA hybridization				
Multilocus sequence typing				
Whole cell protein profiling				
Genomic fingerprinting				

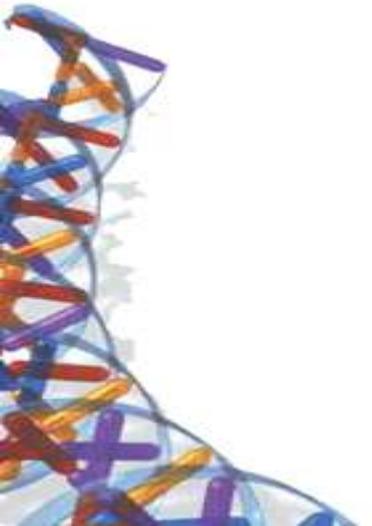


L'évolution de la phylogénie microbienne



- **Chronomètres moléculaires**

- Les séquences d'acides nucléiques et de protéines changent avec le temps et sont considérées comme des chronomètres moléculaires.
- Ceci est basé sur l'hypothèse qu'il existe une horloge de l'évolution.
 - Les séquences changent au cours du temps sans que leurs fonctions soient perdues ou fortement modifiées.
 - On suppose que de tels changements sont neutres en terme de sélectivité.
 - Le nombre de changement augmente de façon linéaire avec le temps.
- Problèmes avec les chronomètres moléculaires:
 - La vitesse du changement des séquences peut varier.
 - Différentes molécules ou diverses parties d'une même molécule peuvent changer à des vitesses différentes.

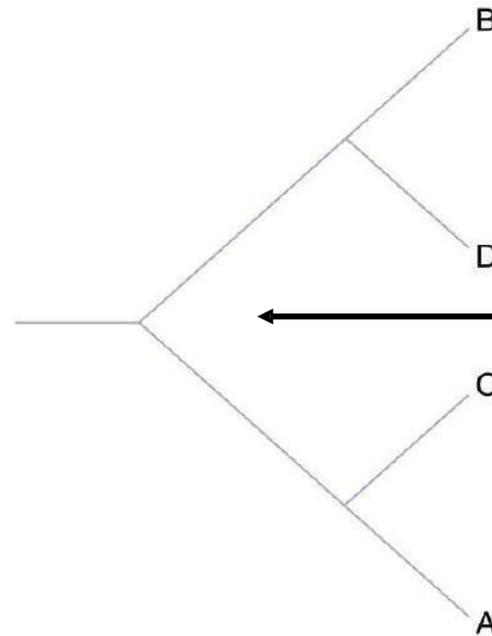
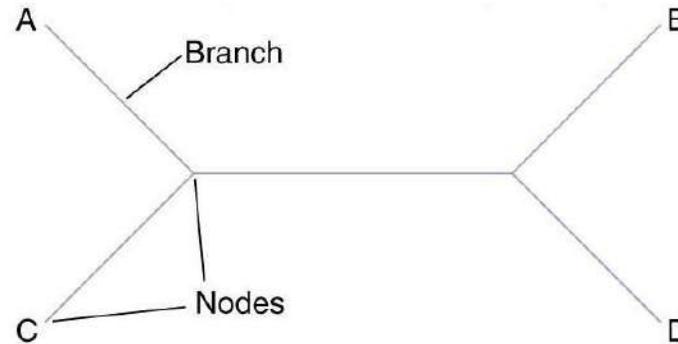


Les arbres phylogénétiques

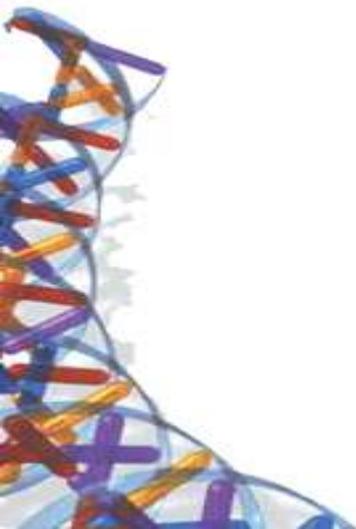


Noeuds = Unités taxinomiques (i.e., espèce ou genre)

Noeuds terminaux = Organismes vivants



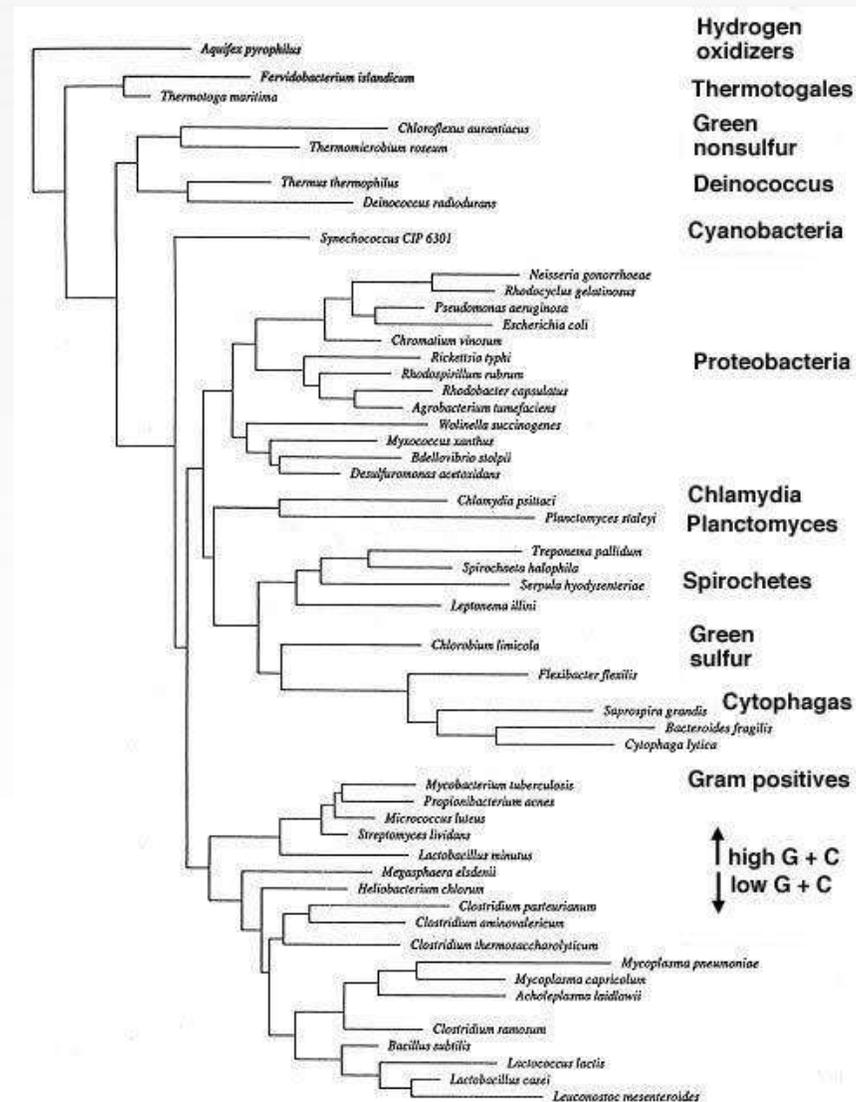
Arbres racinés = Comporte un noeud qui sert d'ancêtre commun



Créer un arbre phylogénétique à partir de données moléculaires



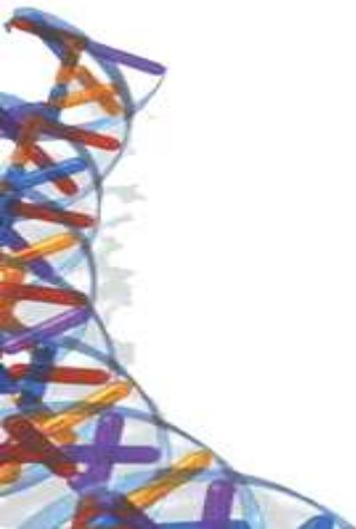
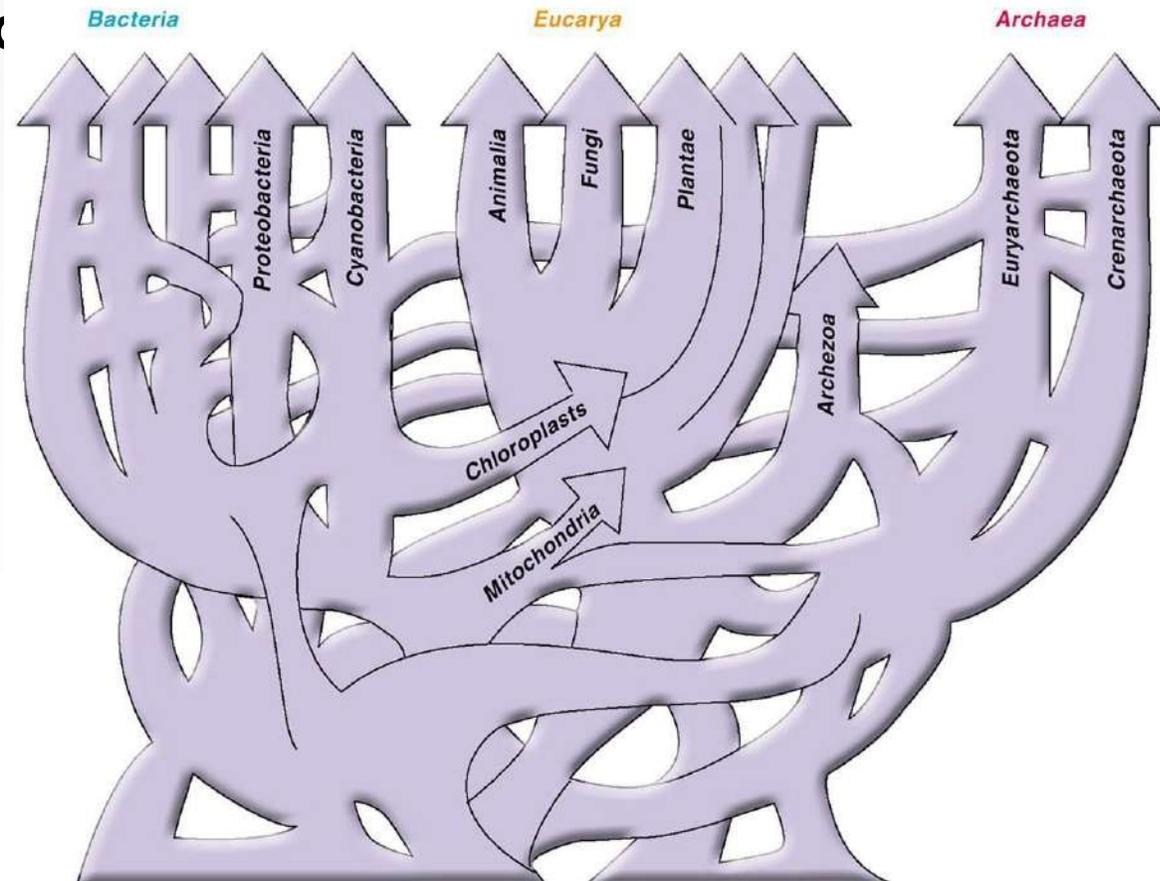
- Aligner les séquences.
- Déterminer le nombre de positions qui varient entre les séquences.
- Exprimer cette différence
 - i.e., **distance évolutive**
- Utiliser cette mesure de différence pour créer un arbre phylogénétique.



Les transferts génétiques horizontaux



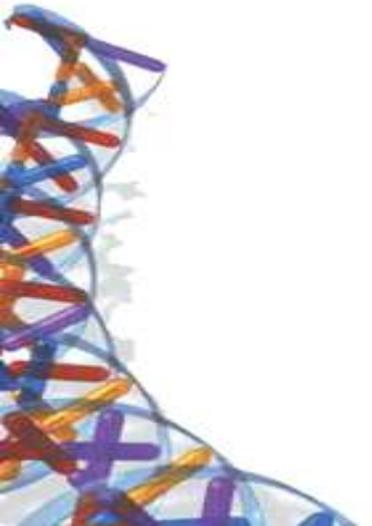
- Un transfert génétique horizontal considérable a lieu à l'intérieur et entre les domaines.
- Le pattern de l'évolution n'est donc pas aussi simple qu'on ne l'avait d'abord pensé.



Le *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*



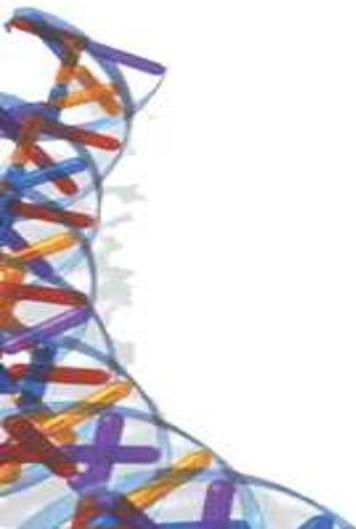
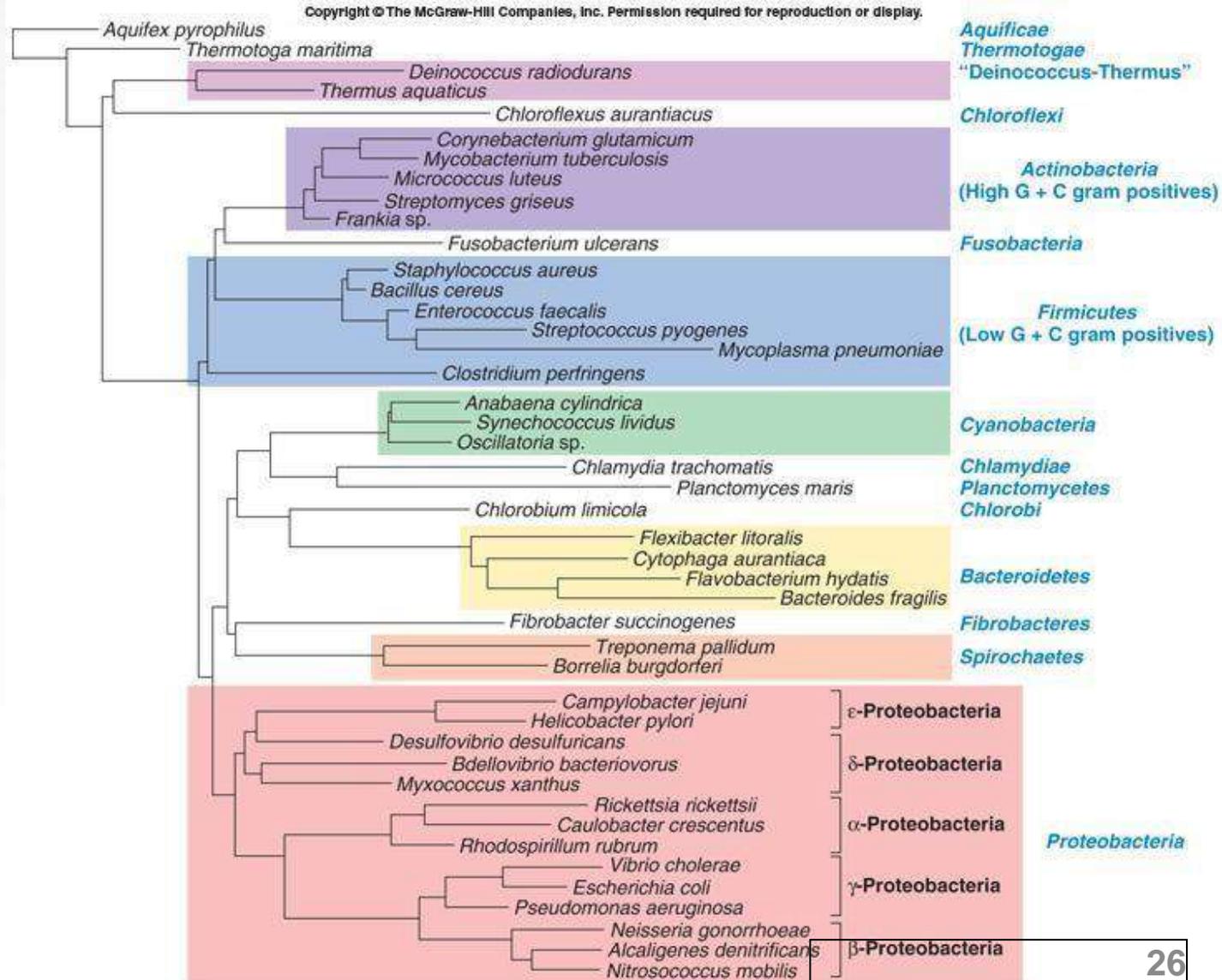
- Travail détaillé comportant des descriptions de toutes les espèces procaryotes actuellement identifiées.
- La **première édition** du *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*
 - Principalement phénétique.
- La **deuxième édition** du *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*
 - Principalement phylogénique plutôt que phénétique.



La phylogénie des bactéries (*Bacteria*)



25 Phyla



Chapitre 4

Nutrition et métabolisme bactériens

A. NUTRITION BACTERIENNE.

Définition

Les bactéries se nourrissent :

- * de substances organiques simples (acides aminés, glucides, acides gras, vitamines, hydrocarbures, ect.) et**
- * de certaines substances inorganiques (phosphates, soufre, nitrates, ect.).**

- * Plusieurs types de bactéries sécrètent des enzymes digestives qui leurs permettent d'absorber certains constituants alimentaires plus ou moins complexes .**

Besoins nutritifs des bactéries

- Les bactéries se nourrissent à partir des aliments présents dans les milieux de culture et dans des conditions physico-chimique bien précises
- les besoins nutritifs des bactéries sont de deux types :

* Besoins élémentaires

- eau,
- une source d'énergie,
- une source de carbone,
- une source d'azote et
- éléments minéraux .

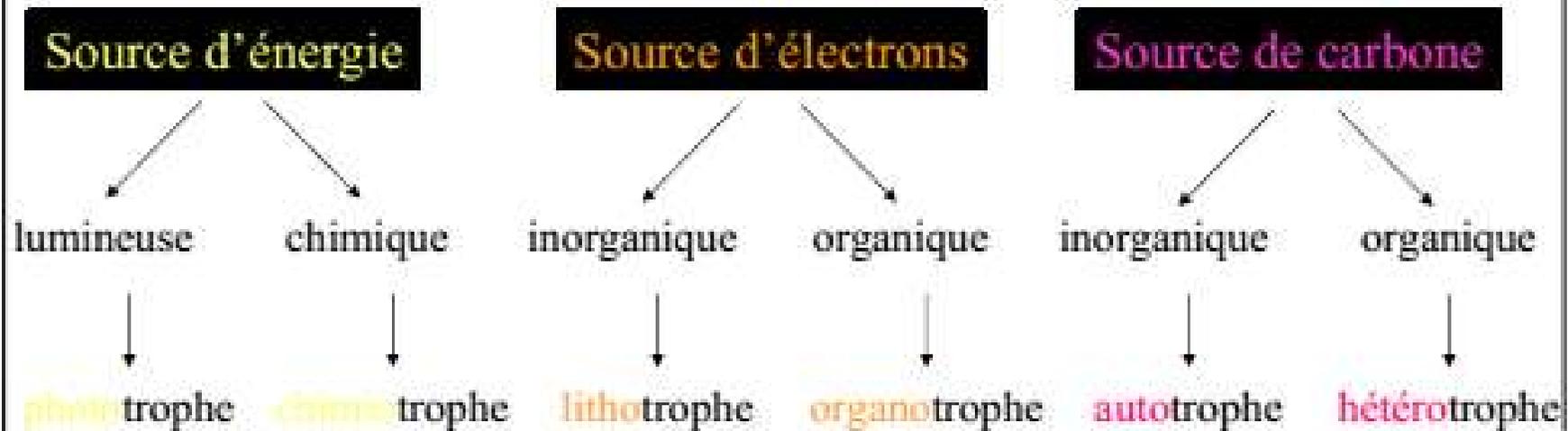
Besoins communs à toutes les bactéries

* Besoins spécifiques

- facteurs de croissance

Besoins essentiels pour certains types de bactéries

Diversité de types trophiques



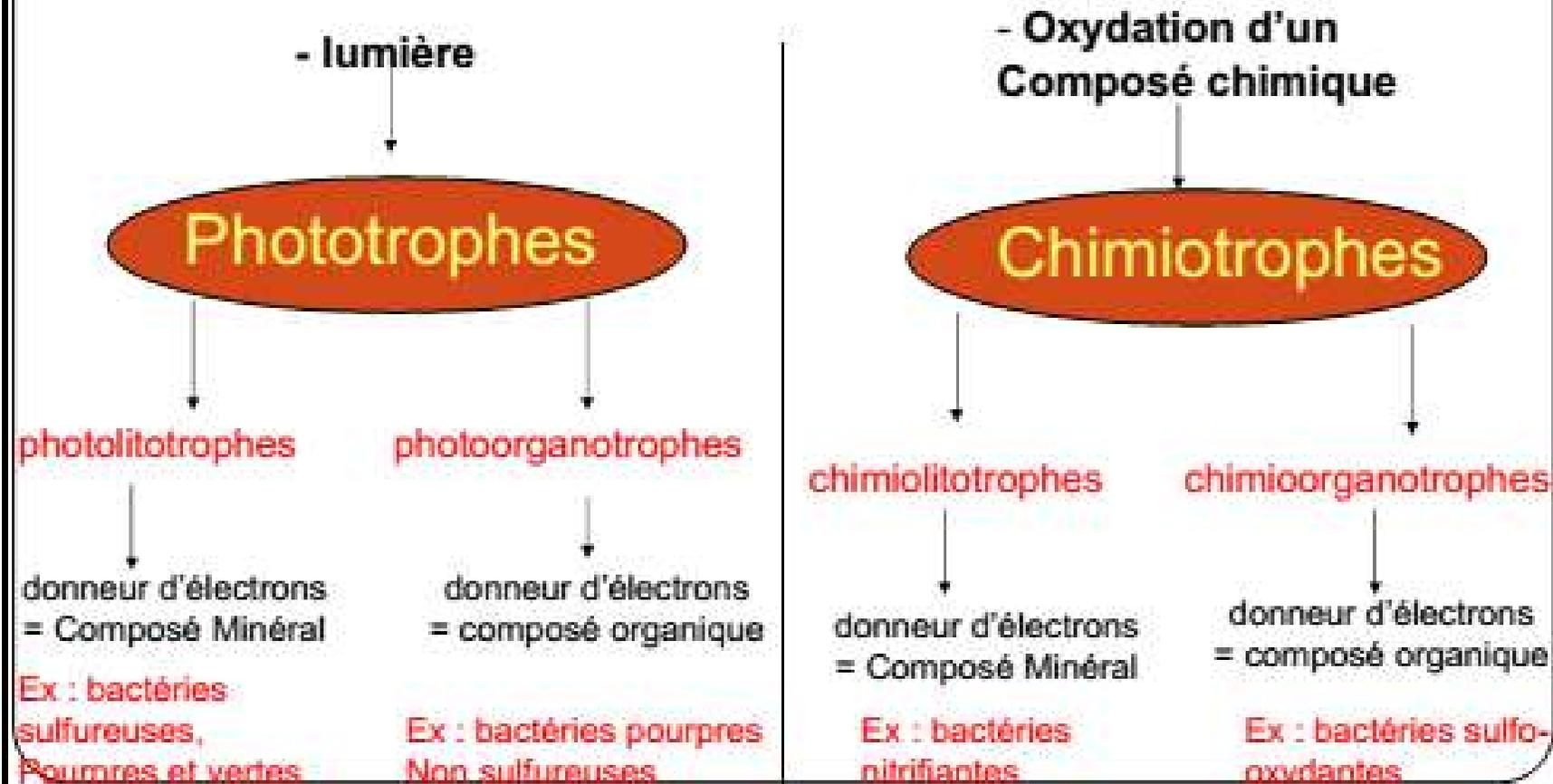
Types autotrophes : photolithoautotrophe, photoorganohétérotrophe, chimiolithoautotrophe, chimioorganohétérotrophe

Types mixotrophes (mixotrophes) : photolithohétérotrophe, photoorganoaotrophe, chimiolithohétérotrophe, chimioorganoaotrophe

A. Besoins élémentaires

Selon la nature des besoins nutritifs, on définit différentes catégories de bactéries : ce sont **les types trophiques**

1) Source d'énergie



2) Source de carbone

Le carbone est l'élément constitutif le plus abondant chez les bactéries .

Selon la source de carbone on distingue :

Autotrophes

Se développent en milieu **inorganique**
CO₂ = seule source de carbone

hétérotrophes

Exigent des **composés organiques**
Pour se reproduire

2) Source d'azote

- La synthèse des protéines nécessite des substances azotées .
- La source d'azote peut être :

* L'azote moléculaire :

- bactéries vivant en symbiose avec des légumineuses (*Rhizobium*)



nodules de *Rhizobium*
sur des racines

- bactéries jouant un rôle dans la fertilisation des sols. (*Azotobacter*)



Azotobacter

* **composés inorganiques** (ammoniac, sels d'ammonium, nitrites, nitrates)

* **sources organiques** (groupements amines des composés organiques)

Chez la majorité des bactéries

3) Eléments minéraux

- Le soufre et le phosphore sont particulièrement importants .

* **Le soufre** est présent dans certains acides aminés (groupement thiol) et il est incorporé sous forme de sulfate ou de composés soufrés organiques.

* **Le phosphore** fait partie des acides nucléiques, de nombreuses coenzymes et de l'ATP. Il est incorporé sous forme de phosphate inorganique .

- **Le sodium, le potassium, le magnésium et le chlore** jouent un rôle dans l'équilibre physico-chimique de la cellule

- **le fer, le manganèse, le molybdène, le calcium, le vanadium ou le cobalt** sont des oligoéléments nécessaires à des concentrations très faibles .

B. Besoins spécifiques = facteurs de croissance

- les bactéries capables de croître en présence d'eau, d'une source d'énergie, d'une source de carbone, d'une source d'azote et d'éléments minéraux sont qualifiées de **prototrophes**.
- Les bactéries nécessitant, en plus, un ou plusieurs facteurs de croissance qu'elles sont incapables de synthétiser sont dites **auxotrophes**

Définition

Un facteur de croissance est un élément indispensable à la croissance de la bactérie (auxotrophe pour ce facteur). Il doit être présent dans l'environnement car la bactérie est incapable de le synthétiser .

Nature des facteurs de croissance

Les facteurs de croissance

Besoins quantitatifs

- des bases puriques ou pyrimidiques,

10 $\mu\text{g/ml}$

- des acides gras,

10 $\mu\text{g/ml}$

- des acides aminés,

10 $\mu\text{g/ml}$

- des vitamines (coenzymes, précurseurs

1 $\mu\text{g/ml}$

de coenzymes, groupements prosthétiques

de diverses enzymes)

* Si une bactérie a besoin d'un facteur de croissance, ce dernier doit être introduit dans le milieu de culture

* Quelques fois les besoins en facteur de croissance d'une espèce bactérienne peuvent être satisfaits par la présence dans le milieu d'une autre espèce capable de synthétiser ce facteur : **c'est le phénomène de Syntrophie**

Exemple : la culture sur la même boîte de :

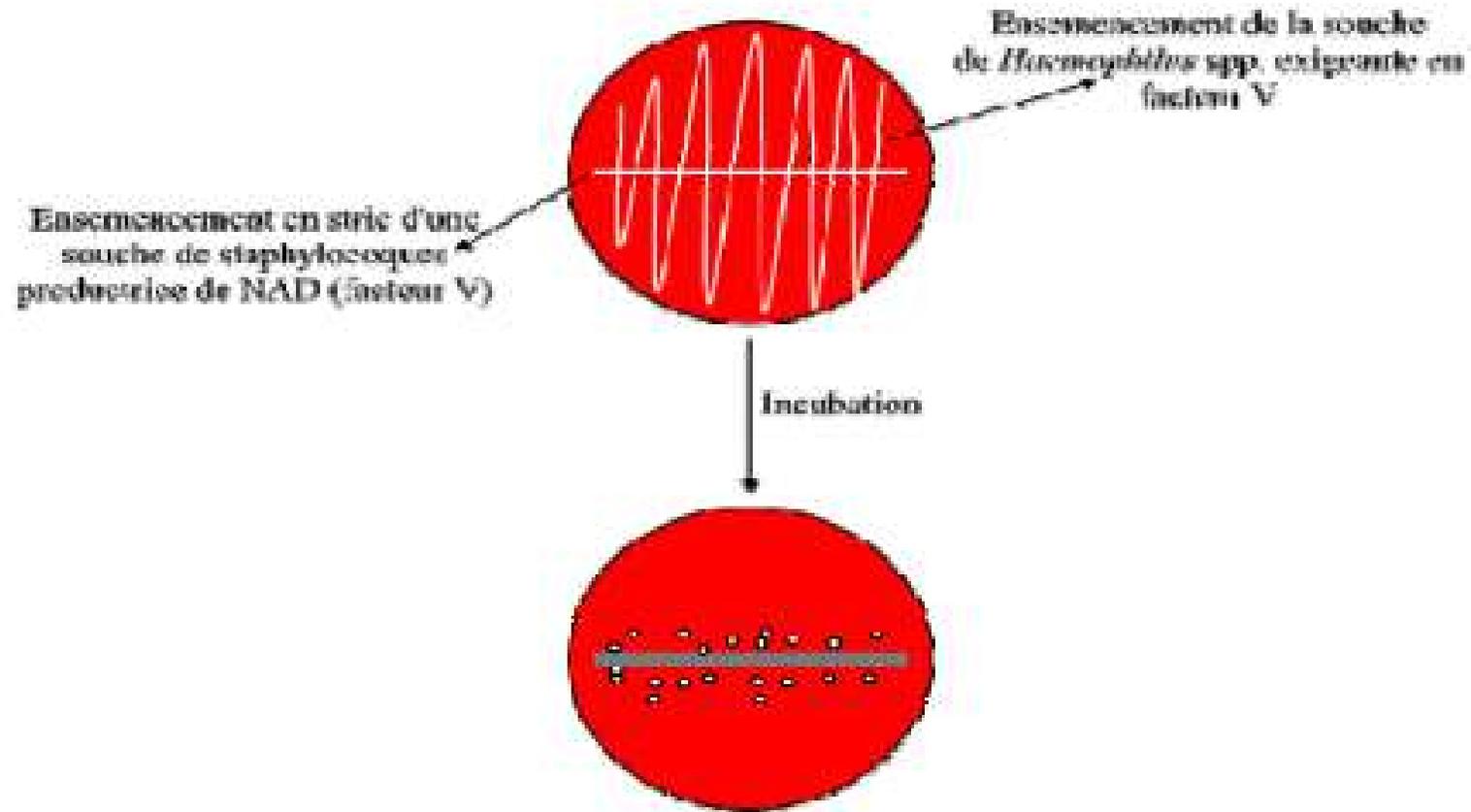
* ***Haemophilus spp*** = bactérie auxotrophe au facteur V (NAD)

* ***Staphylococque*** = bactérie productrice de NAD

Donne une culture en satellite de ***Haemophilus spp***

Un exemple de syntrophie

Croissance d'une souche de *Haemophilus* spp. exigeante en facteur V



Après incubation, la culture de la souche de *Haemophilus* spp. n'est observée qu'à proximité de la culture de la souche de staphylocoques.

C. facteurs physiques

- On appelle facteurs physiques les facteurs qui relèvent de l'environnement
- * ces facteurs peuvent favoriser, empêcher ou inhiber la nutrition et la croissance bactérienne
 - Eau
 - température
 - pH
 - oxygène
 - pression osmotique

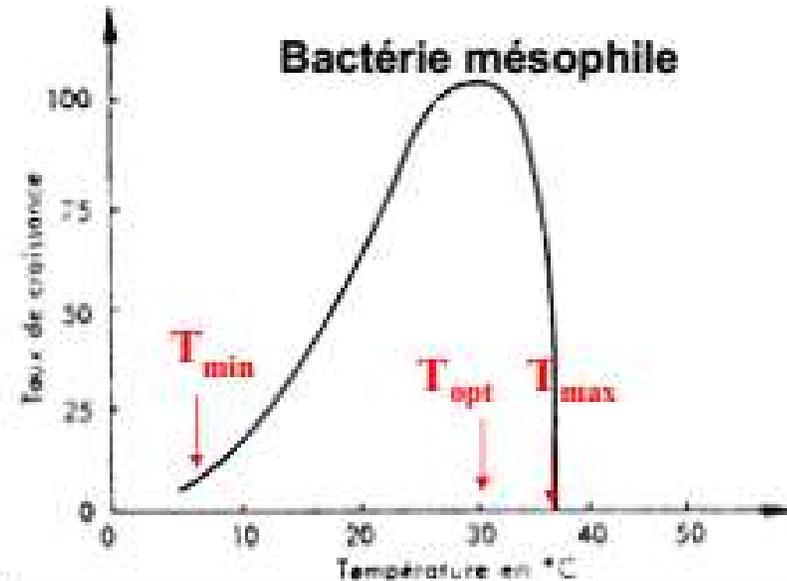
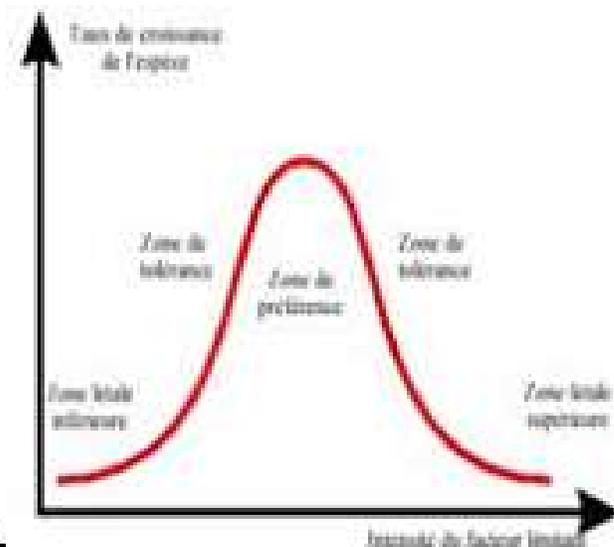
a) Eau :

- représente 80 % des constituants cellulaires,
- * indispensable au développement
- * solvant des nutriments et agent des réactions d'hydrolyse

b) Température

- * Elle influence aussi bien la multiplication que le métabolisme bactérien
- * Les différentes espèces bactériennes ont une température

- * **minimale** : à laquelle elles peuvent se développer
- * **optimale** : c'est la meilleure à laquelle elles peuvent se développer
- * **maximale** : au-delà de laquelle elles ne peuvent se développer



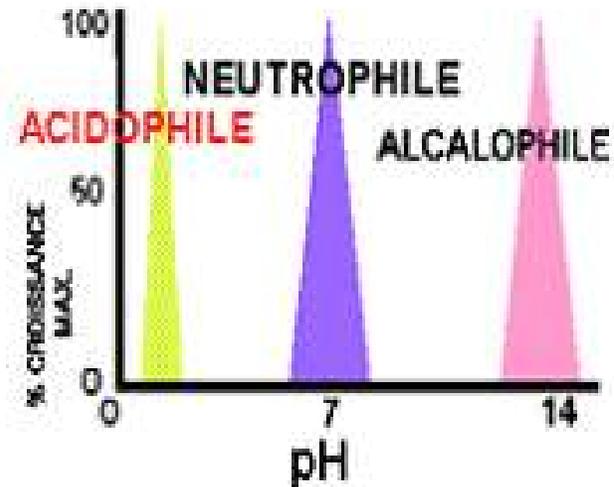
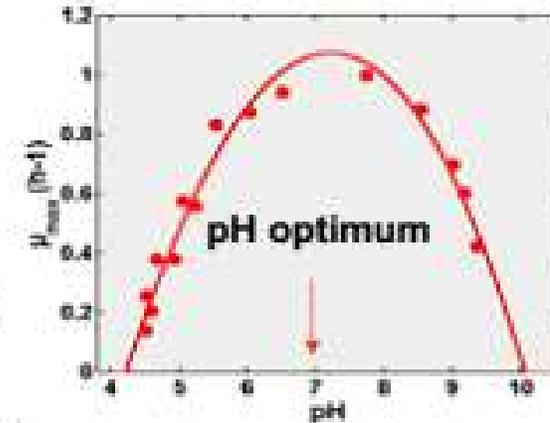
c) Le pH

* Il influence l'équilibre ionique du milieu, les réactions métaboliques
Et l'activité enzymatique

• Les milieux de culture doivent avoir un pH favorable à la croissance de l'espèce recherchée.
C'est la raison pour laquelle ces derniers contiennent
Généralement des tampons (ex : K_2HPO_4 , KH_2PO_4)

* Selon leur pH optimale de croissance on distingue des bactéries :

- Acidophiles (1– 4)
- Neutrophiles (5,5 – 8,5)
- Basophiles (alcalophiles) (8,5 à 11,5)

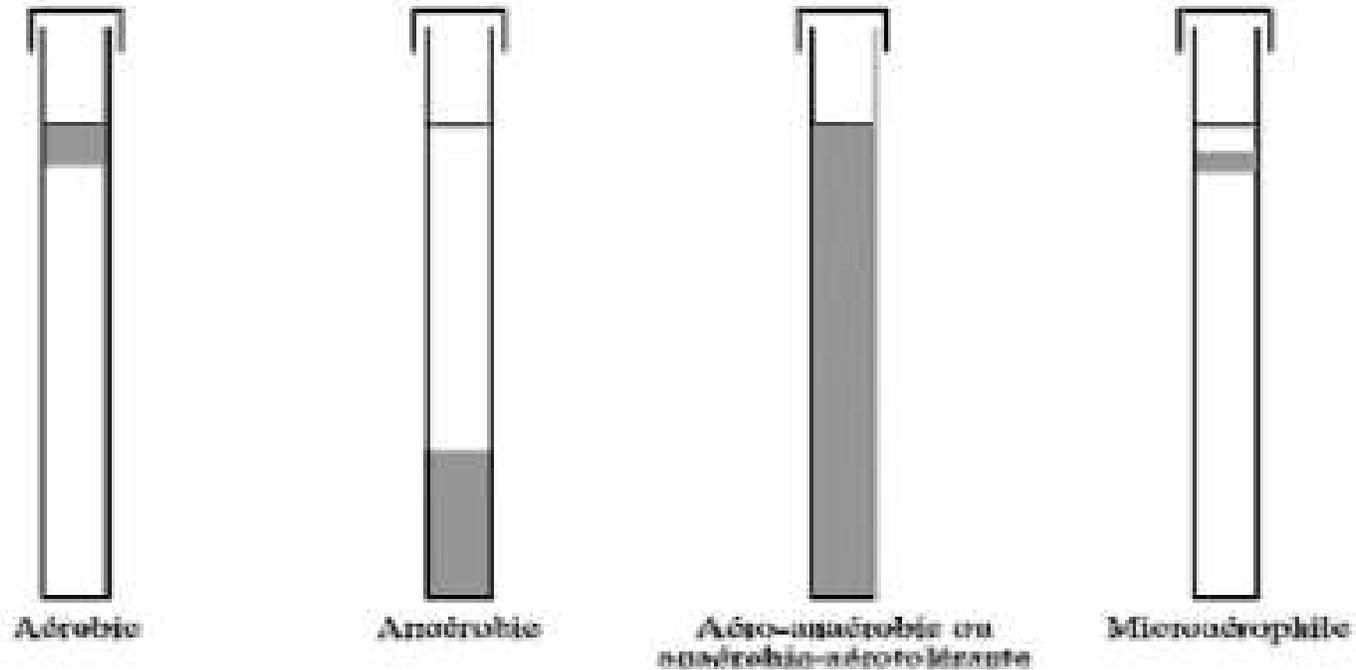


d) oxygène

* En fonction de leur exigence en oxygène, on distingue **4 types respiratoires** de bactéries :

- **Aérobies stricts** : exigent l'oxygène libre pour leur croissance
- **Aéro-anaérobies (anaérobies facultatives)** : capables de croître avec ou sans oxygène libre.
- **Anaérobies stricts** : ne peuvent pas se multiplier en présence d'oxygène libre
- **Microaérophiles** : se multiplient en présence d'une faible tension d'oxygène

* Mise en évidence du type respiratoire des bactéries



Les milieux utilisés doivent contenir du glucose et ne pas contenir de nitrates qui pourraient servir d'accepteurs et permettre le développement en anaérobiose de certaines bactéries aérobies comme les *Pseudomonas* spp.

Le milieu le plus utilisé est la gélose viande-fôie. Ce milieu est coulé dans des tubes longs et étroits. Avant ensemencement, les tubes sont régénérés dans un bain-marie bouillant durant 20 minutes, capsule dévissée, afin de chasser l'oxygène contenu dans le milieu. Les milieux sont ensemencés sur toute la hauteur des tubes (pipette Pasteur bouchonnée) lorsque leur température est d'environ 45 °C.

La lecture est effectuée après incubation d'au moins 18 heures à une température compatible avec la multiplication de la bactérie à étudier.

e) La pression osmotique

* La plupart des bactéries sont insensibles à la pression osmotique

(protégée par la paroi rigide)

* Seules les bactéries marines adaptées à une concentration de 35 g/l de NaCl sont sensibles aux variations de ce paramètre.

•Selon cette sensibilité on distingue

- les **non-halophiles** : (NaCl < 0,2 M) (entérobactéries)
- les **halophiles** : $0,2 < \text{NaCl} < 5,2 \text{ M}$ (*Ps. Marina*, *Halobacterium salinarium*)
- Les **halotolérants** : NaCl élevée (*Staphylococcus*)

Généralités sur les Milieux de culture

* La mise au point des milieux de culture est une étape importante
En microbiologie

* C'est grâce aux milieux de culture que l'étude des bactéries
Est passée du simple examen microscopique à l'isolement,
et de là à l'identification de bactéries

Définition

Le milieu de culture doit apporter à la bactérie un mélange équilibré de tous les nutriments nécessaires, à des concentrations qui permettent une croissance optimale, c'est à dire :

- **ni trop faible**, sinon le milieu s'appauvrit vite et la bactérie cultive mal ;

- **ni trop forte** sinon le milieu devient vite toxique.

* La composition du milieu de culture **varie à l'infini**.

* Elle est choisie en fonction du **but à atteindre** et **des besoins** requis par la bactérie

* Le milieu peut être **liquide** ou **solidifié** par addition d'**Agar** :

C'est une substance extraite d'algues marines et qui possède la propriété de fixer une grande quantité d'eau d'où gélification.

CRITERES DE CLASSIFICATION DES MILIEUX DE CULTURE

1) Composition chimique

Naturels ou Complexes	Semi-synthétiques	Synthétiques
<p>- Composition chimique non définie</p> <p>(Extraits de Matière Organique + Glucose)</p> <p>-Exemples : Gélose nutritive</p> <p>-Types :</p> <p>Extraits de Levure Peptones pepsiques Peptones trypsiques Peptones pancréatiques</p>	<p>Milieu synthétique + Extrait de Levure</p> <p>Exemple : Citrate de Kristensen</p>	<p>- Composition chimique bien définie</p> <p>Exemple :Citrate de Simmons</p>

LES MILIEUX D'ISOLEMENT DES COQUES

GRAM+
Légende: trypticase soja

Composition

Peptone trypsique de caséine	15 g	}	→ Source de C et N
Peptone papainique de soja	5 g		
Chlorure de sodium	5 g	→	Source minérale
Agar (gélose)	15 g		
ED	qsp 1 L		

pH = 7,2

Milieu d'isolement riche qui convient à tous les microorganismes
Non exigeants

2) Consistance

- milieu liquide (ex. bouillon de Clark Lubs)
- milieu solide ou gélosé (ex. gélose Chapman)
- milieu semi-liquide ou faiblement gélosé (ex. milieu-Mannitol-mobilité).

3) Utilisation

- * **les milieux usuels ou de base** (ex. gélose nutritive , bouillon nutritif)
- * **les milieux enrichis** (ex. gélose au sang , Bouillon pour Hémoculture)
- * **les milieux sélectifs ou électifs** (ex. gélose SS)
- * **les milieux d'identification** (ex. milieu TCBS)
- * **les milieux de conservation**
- * **les milieux de transport**

**Exemples de milieux de culture
Et
Etude de leur composition**

Milieux de culture



Milieux de culture

- Préparation nutritive destinée à la croissance de microorganismes en laboratoire
- Peuvent être liquides ou solides
- Milieux synthétiques
- Milieux complexes

Milieu solide

- Milieu liquide auquel on ajoute un agent de solidification tel que l'agar-agar
- L'agar-agar est un polysaccharide extrait d'une algue marine.
- C'est un gel qui est à l'état solide à une T° de moins de 60°C et qui se liquéfie à 100°C.
- Permet donc l'incubation à des T° élevées.
- N'est pas une source nutritive pour les bactéries
- Permet d'obtenir des colonies isolées

Milieux synthétiques

- Milieu qui doit fournir une source d'énergie et des éléments tels que le carbone, l'azote, le soufre, le phosphore et des facteurs de croissance.
- La composition chimique de ce milieu est connue.

Milieux complexes

- Aussi appelés milieux empiriques.
- Contiennent des ingrédients dont la composition chimique est indéterminée.

Ingrédients des milieux complexes

- Extrait de levure (source de vitamine B)
- Extrait de viande (vitamines et facteurs de croissance)
- Peptones (source d'azote)
- Sang (élément nutritif +observation des propriétés hémolytiques de certaines bactéries)
- NaCl : isotonie
- Phosphates: tampon
- Eau : hydratation du milieu.

Ingrédients (suite)

Indicateurs de pH

- indiquent une activité enzymatique qui produit un métabolite acide ou alcalin

	pH	Acide	Alcalin
Rouge de phénol	6.8 à 8.3	jaune	rouge
Rouge de méthyl	4.2 à 6.3	rouge	jaune
Bromothymol bleu	6.0 à 7.6	jaune	bleu
Bromocrésol pourpre	5.6 à 6.8	jaune	pourpre

Milieux enrichis



- Contiennent des substances organiques complexes (sang, infusions, extraits de levure).
 - Permettent la croissance des bactéries plus exigeantes.
- Ex : gélose au sang

Gélose sang (composition)

- Infusion de cœur de bœuf
- Peptone
- NaCl
- Agar
- Sang défibriné de mouton ou de cheval en concentration de 5 à 10%
- Utilité: visualiser l'hémolyse

Types d'hémolyse



- Alpha (α) : hémolyse incomplète (partielle)
- Zone verdâtre autour de la colonie

Types d'hémolyse



- Bêta (β) : hémolyse complète (complète)
- Zone transparente autour de la colonie

Types d'hémolyse

- Alpha prime (α') : double hémolyse
 - hémolyse α tout près de la colonie
 - hémolyse β qui entoure l'hémolyse α
- Gamma (γ) : absence d'hémolyse

Milieu sélectif

- Inhibe la croissance des bactéries indésirables et stimule celle des microbes recherchés
- Contiennent des agents inhibiteurs (Ab, sel, colorant)
Ex : cristal violet et sels biliaries dans la gélose MacConkey

Milieu différentiel



- Facilite la distinction entre les colonies de la bactérie recherchée et les autres colonies présentes sur le même milieu.

Milieux sélectif-différentiel

- Possède les caractéristiques des milieux sélectifs et différentiels

Ex : MacConkey
mannitol salt

Gélose MacConkey composition



- Peptones
- Lactose (sucre) : élément différentiel
- Sels biliaires et cristal violet : éléments sélectifs
- NaCl
- Agar
- Rouge neutre: indicateur de pH
- Utilité: isolement et distinction des bactéries Gram (-)

Gélose Mannitol salt Composition

- Extrait de boeuf
- Peptones
- NaCL 7.5% : élément sélectif
- Mannitol: élément différentiel
- Rouge de phénol: indicateur de pH
- Utilité: isolement des bactéries halophiles comme les Staphylocoques.

Milieux d'enrichissement

- Milieu **liquide**
- Donne des conditions favorables à la croissance d'un seul microbe donné ce qui en favorise la multiplication

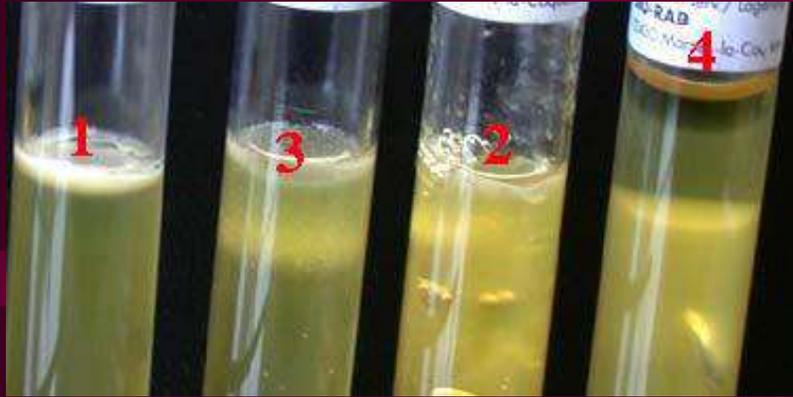
Ex : milieu sélénite utilisé dans les spécimens de selles pour favoriser la croissance des salmonelles et des shigelles au détriment des autres bactéries présentes.

Milieux de transport

- Utilisés pour assurer la survie des microorganismes fragiles présents dans les spécimens cliniques pendant leur transport
- Milieux pauvres en nutriments.

Ex : Stuart-Amies

Milieux et méthodes de culture des anaérobies



On doit utiliser un milieu réducteur tel que le thioglycolate de sodium.



- Lorsqu'on utilise une boîte de Petri, on utilise une jarre pour placer les bactéries en atmosphère anaérobie.

Jarre anaérobie

Figure 32.4 Procédés permettant la culture des microorganismes anaérobies



Photographie : Becton-Dickinson.

- 2 générateurs :
 - borohydrure de sodium (H_2)
 - bicarbonate de sodium (CO_2)
- Catalyseur : chlorure de palladium
- Indicateur : bleu de méthylène
- Composition finale de l'air ambiant :
 - 10% H_2
 - 5% CO_2
 - 85% N_2

Méthode de culture en CO₂



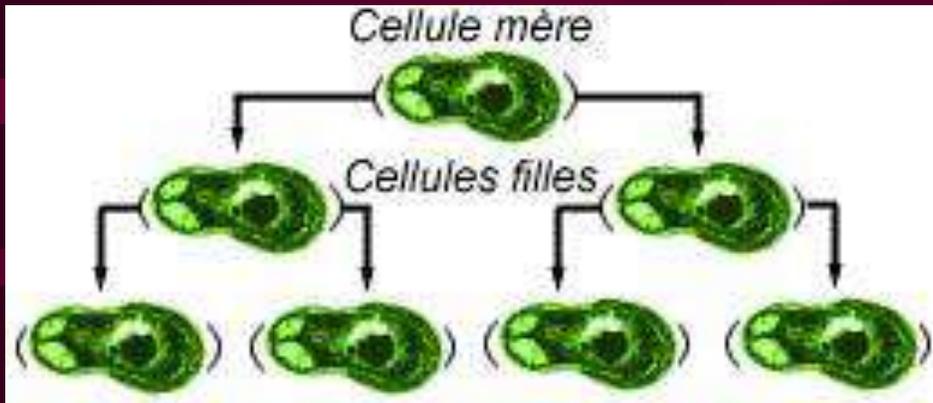
- Utilisée pour la culture des bactéries aérobies nécessitant une concentration de CO₂ plus élevée que celle de l'atmosphère (bactéries capnophiles).
- On peut les cultiver soit en étuve, en jarre à chandelle ou par la méthode des sachets.
- Le but est d'obtenir des conditions semblables à celles du tube digestif ou du système respiratoire où se développent des bactéries pathogènes.

Méthode de culture en CO₂

- **Jarre à chandelle** : jarre étanche avec une chandelle allumée qui consomme l'O₂.
- La chandelle s'éteint lorsqu'on atteint l'atmosphère CO₂.
- **Méthode du sachet**: acide citrique
bicarbonate de sodium

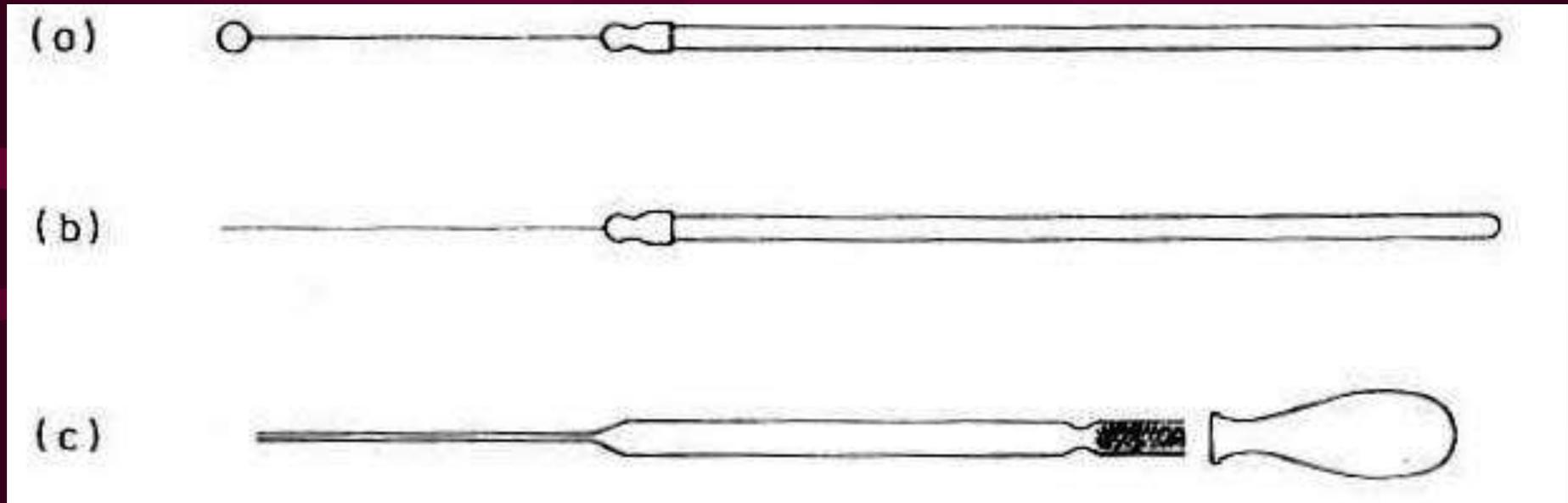
Concentration finale en CO₂ : 10%

Préparation d'une culture pure

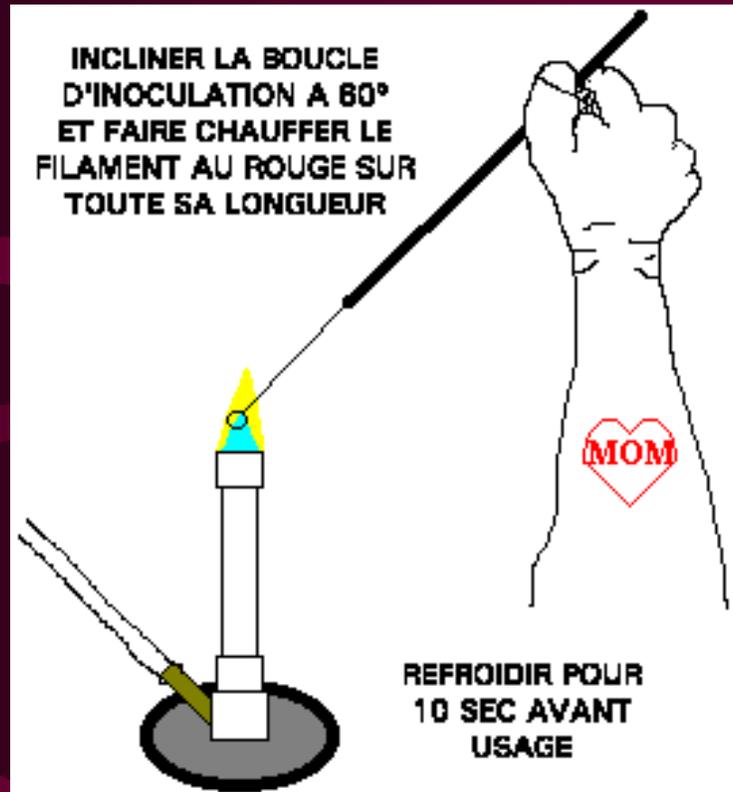


- But : obtention de colonies isolées
- Colonie : masse visible à l'œil nu de bactéries qui proviennent toutes d'une même cellule mère (clones)
- Technique la plus courante : méthode en stries

Outils du microbiologiste



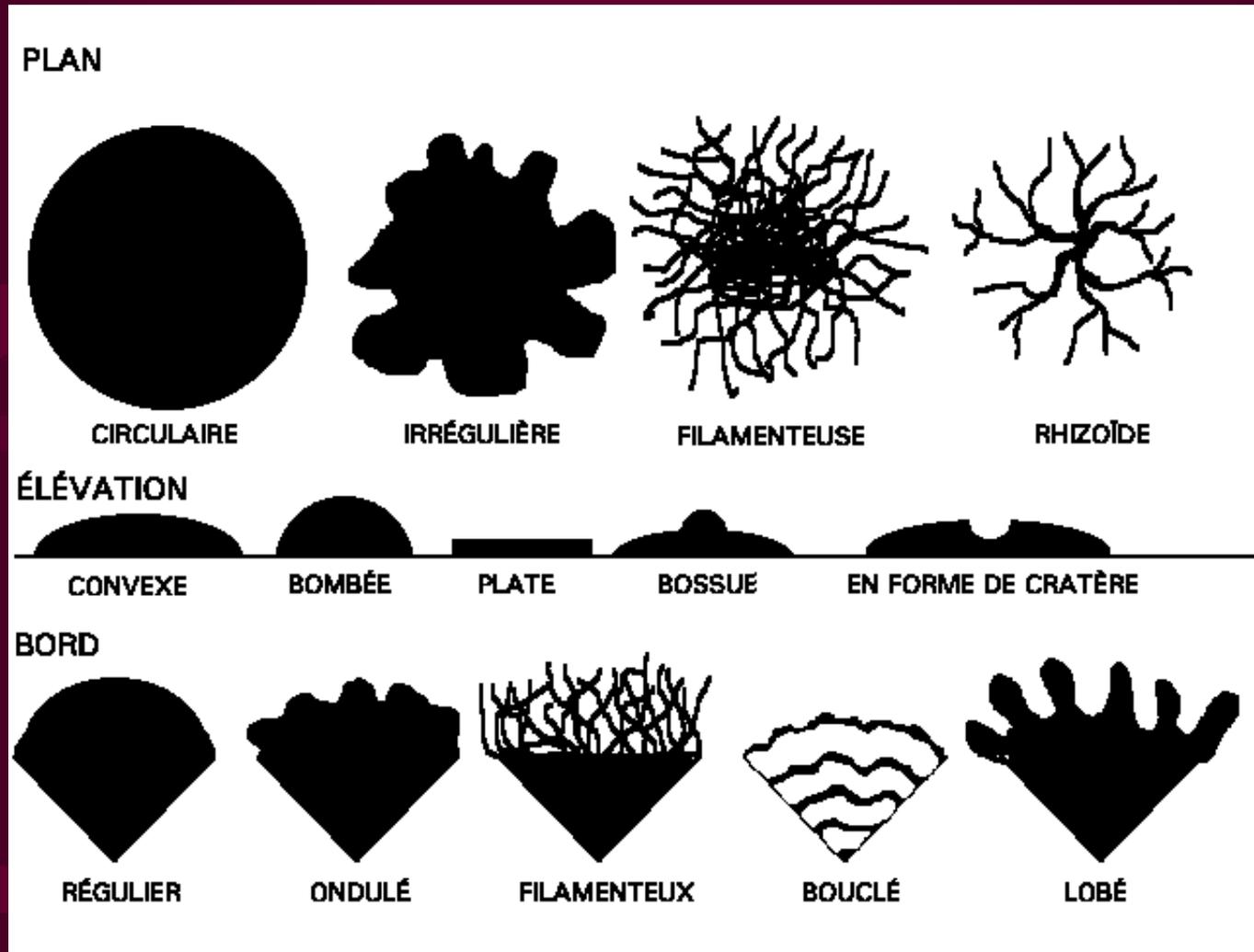
Méthode des stries



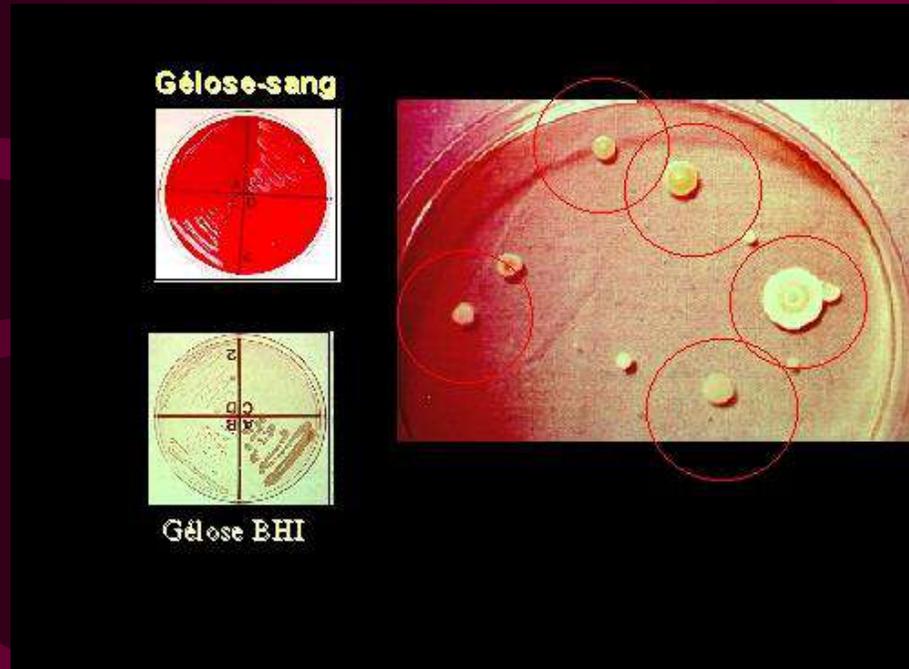
Technique des stries



Aspect des colonies (macroscopie)



Aspect des colonies



II-La croissance des microorganismes

① Définition de la Croissance

Généralement c'est l'accroissement de tous les composants d'un organisme.

Chez les organismes pluricellulaires, il y a augmentation de taille.

Chez les bactéries augmentation du nombre de cellules.

Cet accroissement est donc synonyme d'une multiplication bactérienne.

Chez *Escherichia coli*, toutes les 20 min environ, 1 bactérie donne naissance à 2 bactéries identiques

C'est l'augmentation coordonnée des différents constituants cellulaires mais c'est aussi la division de la cellule en deux cellules filles identiques. La croissance comprend en fait croissance + reproduction.

II Croissance et cycle cellulaire

La croissance d'une bactérie implique la croissance coordonnée des constituants cellulaires. Ceci se fait dans un ordre précis déterminé.

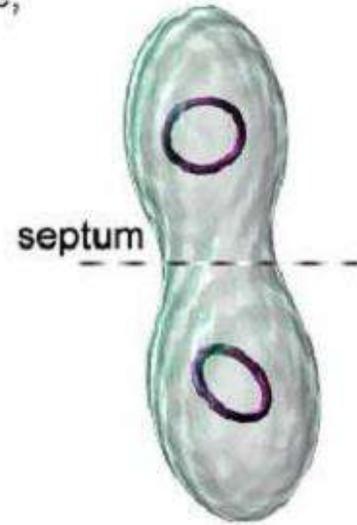
Ex : Escherichia Coli

À partir d'une certaine taille,
le plasmide se réplique

Plasmide



Allongement cellulaire
(création de membrane +
réplication des constituants)



Séparation au
niveau du septum

C'est le cycle cellulaire ou le cycle de division cellulaire. Il dure pendant le temps de génération ou le temps de doublement.

Ex : Pour E. Coli, le temps de génération est de 20 minutes.

A. Mesure de la croissance bactérienne

1) Dénombrement des cellules

La croissance est liée au nombre de cellules. On peut le déterminer par :

- q Comptage total
- q Dénombrement des cellules viables ou UFC (Unités Formant Vivant)

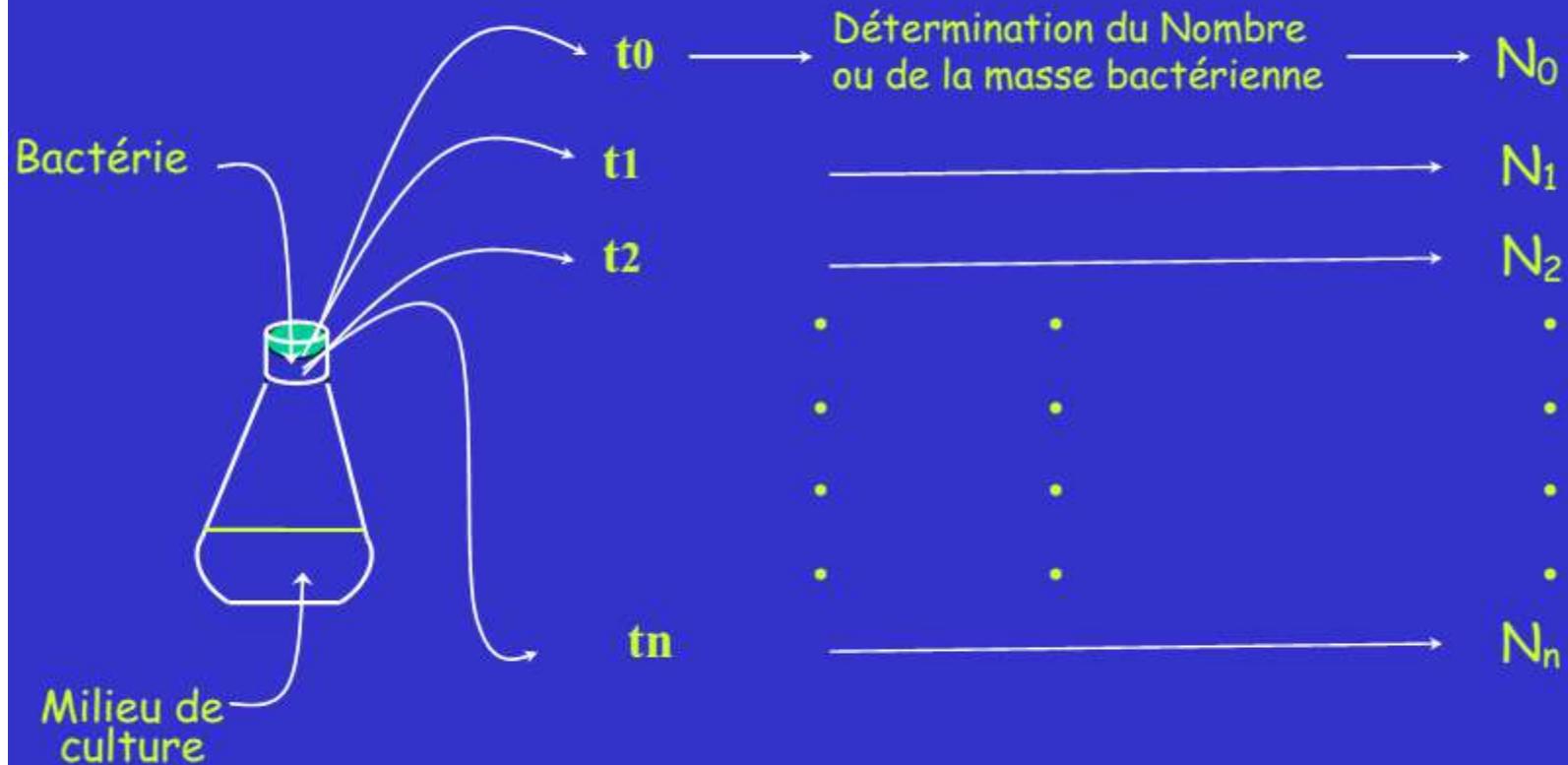
| Méthodes pour le comptage total :

z Utilisation de la cellule de Thoma :

- Injection d'un petit volume entre la lamelle et l'espace
- Comptage au microscope du nombre de cellules par carreaux puis conversion en unité de volume.

② Méthodes de mesure de la croissance

1- Principe



N.B. Durant la croissance la $T^{\circ}C$ et l'aération doivent être respectées

2-1. Mesure du nombre de cellules

➤ **Nombre de cellules totales**

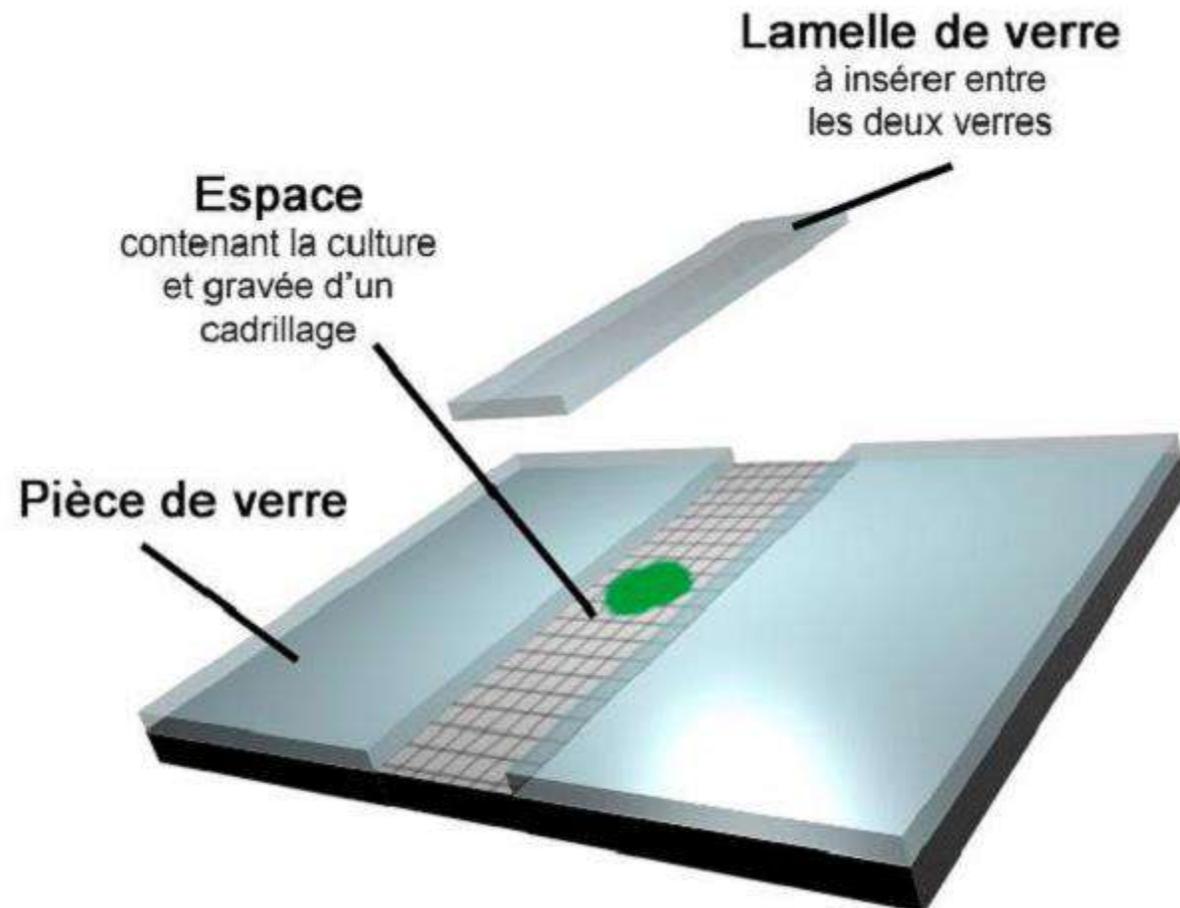
- ✓ Cellule de Thomas
- ✓ Dispositif électronique (Compteur Coulter)

➤ **Nombre de cellules viables**

- ✓ Sur milieu solide
- ✓ Sur milieu liquide

2-2. Mesure de la masse

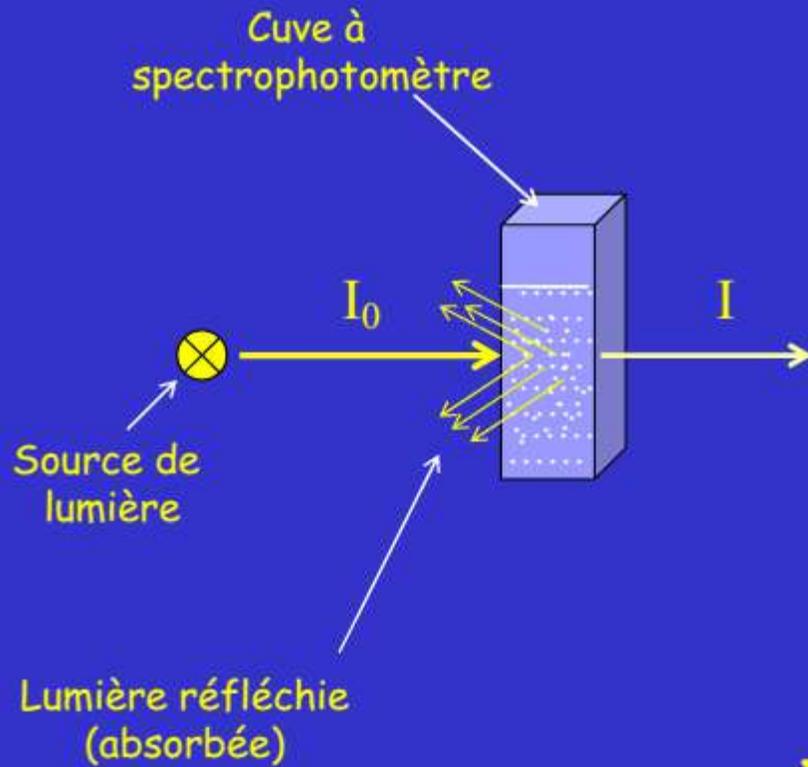
- **Mesure du poids sec:** (P. frais d'1 bact.= $1,5 \cdot 10^{-12}$ g)
- **Dosage de l'azote total** (14% du poids sec).
- **La turbidimétrie:** consiste à mesurer le trouble bactérien.



La turbidimétrie

Une suspension cellulaire, traversée par un rayon lumineux, disperse la lumière (absorbe) et la quantité transmise est réduite par rapport à la quantité émise.

Ceci est mesuré à l'aide d'un spectrophotomètre.



$I < I_0$

Toute suspension bactérienne obéit à la **Loi de Beer Lambert** :

$$D.O = \log I_0 / I = \Sigma l C = K C$$

Σ = constante d'absorbance

l = distance traversée par le rayon (1 cm)

Σ et l sont constantes, donc **DO** proportionnelle à **C**

La longueur d'onde utilisée pour la suspension bactérienne est comprise entre 550 et 660 nm (**spectre d'absorbance**).

③ Constantes et expression de la croissance

La croissance d'une bactérie est définie par 2 constantes:

➤ *Le temps de génération*

C'est le temps qui sépare 2 divisions successives (= temps nécessaire au doublement de la population).

$$G = t/n$$

t = temps de croissance (connu) et n = nombre de divisions

Ex. chez *E. coli* : $G = 20$ min

➤ *Le taux de croissance*

C'est le nombre de divisions par unité de temps.

$$\mu = n/t \quad \text{donc} \quad \mu = 1/G$$

μ est exprimé en nombre de divisions/unité de temps

Ex. chez *E. coli* : $\mu = 3$ div/h

④ Expression mathématique de la croissance

Temps

nombre de Bactéries

$$\begin{array}{l} t_0 \longrightarrow N_0 = 1N_0 \longrightarrow 2^0 N_0 \\ t_1 \longrightarrow N_1 = 2N_0 \longrightarrow 2^1 N_0 \\ t_2 \longrightarrow N_2 = 2 \times 2 \times N_0 \longrightarrow 2^2 N_0 \\ t_3 \longrightarrow N_3 = 2 \times 2 \times 2 \times N_0 \longrightarrow 2^3 N_0 \\ t_4 \longrightarrow N_4 = 2 \times 2 \times 2 \times 2 \times N_0 \longrightarrow 2^4 N_0 \\ \vdots \\ \vdots \\ t_n \longrightarrow N_n = \underbrace{2 \times 2 \times 2 \times 2 \times \dots}_{n \text{ fois}} N_0 \longrightarrow 2^n N_0 \end{array}$$

(n = nombre divisions et N_0 = nombre de bactéries à t_0)

$$N = 2^n N_0 \text{ (avec } \mu = n/t \text{ et } n = \mu t \text{) donc } N = 2^{\mu t} N_0$$

⑤ Représentation graphique de la Courbe de croissance

La croissance bactérienne est représentée par un graphe :

$$N = f(t) \quad \text{ou} \quad DO = f(t) \quad \text{ou} \quad \text{autres}$$

☞ *Représentation arithmétique:* $N = f(t)$

A t_0 correspond N_0 (ordre 10^5 à 10^6)

A t_1 correspond $N_1 = 2N_0$ ($2 \cdot 10^5$ à $2 \cdot 10^6$) avec $t_1 - t_0 = G$

A t_2 correspond $N_2 = 4N_0$ ($4 \cdot 10^5$ à $4 \cdot 10^6$) avec $t_2 - t_1 = G$

Courbe:

Nombre élevés posent un problème pour une échelle arithmétique

↳ Expression logarithmique

$$N = 2^n N_0 \text{ (avec } \mu = n/t \text{ et } n = \mu t) \text{ donc } N = 2^{\mu t} N_0$$



$$\log N = \log 2^n N_0 \Rightarrow (n = \mu t) \Rightarrow \log N = \log 2^{\mu t} N_0$$

$$\Rightarrow \log N = \log 2^{\mu t} + \log N_0 \Rightarrow \log N = \boxed{\mu} \boxed{t} \boxed{\log 2} + \boxed{\log N_0}$$

$$y = a x + b \quad \leftarrow \text{Équation d'une droite} \quad \leftarrow \text{Constante}$$



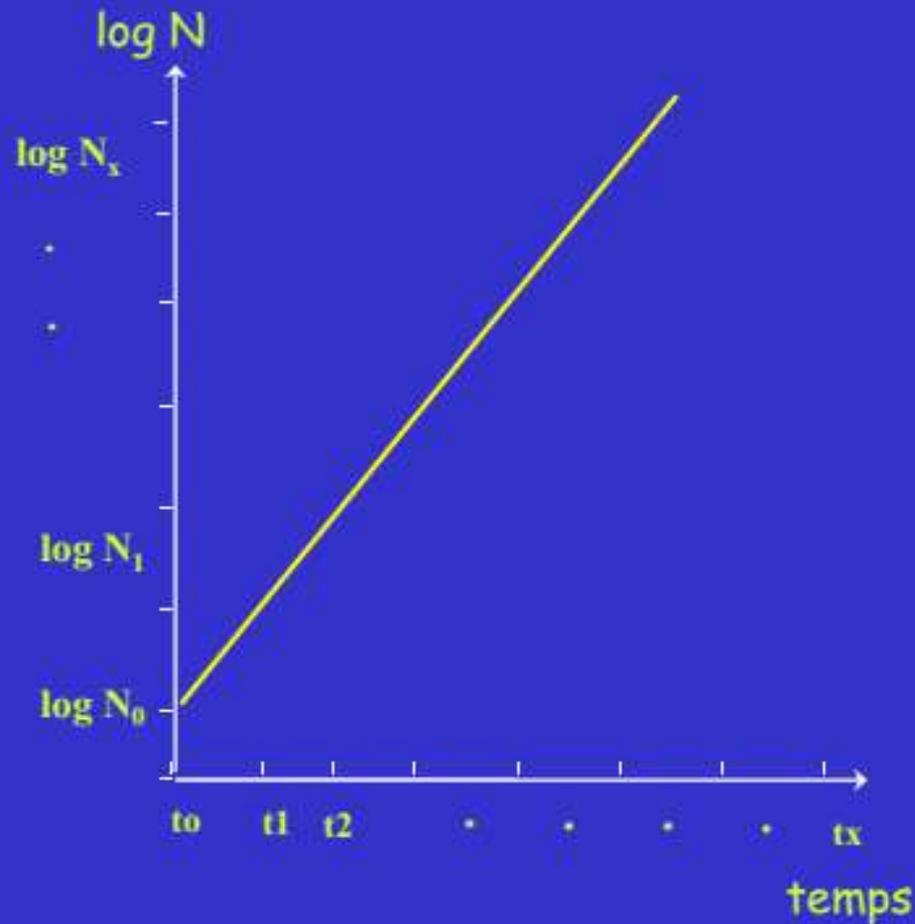
$$\text{Pente de la droite: } P = a = \mu \log 2 \Rightarrow \mu = P / \log 2$$

$$\mu = \frac{\log N - \log N_0}{t \log 2}$$

↳ Représentation logarithmique

Courbe: $\log N = f(\text{temps})$

Echelle
logarithmique



Echelle
arithmétique



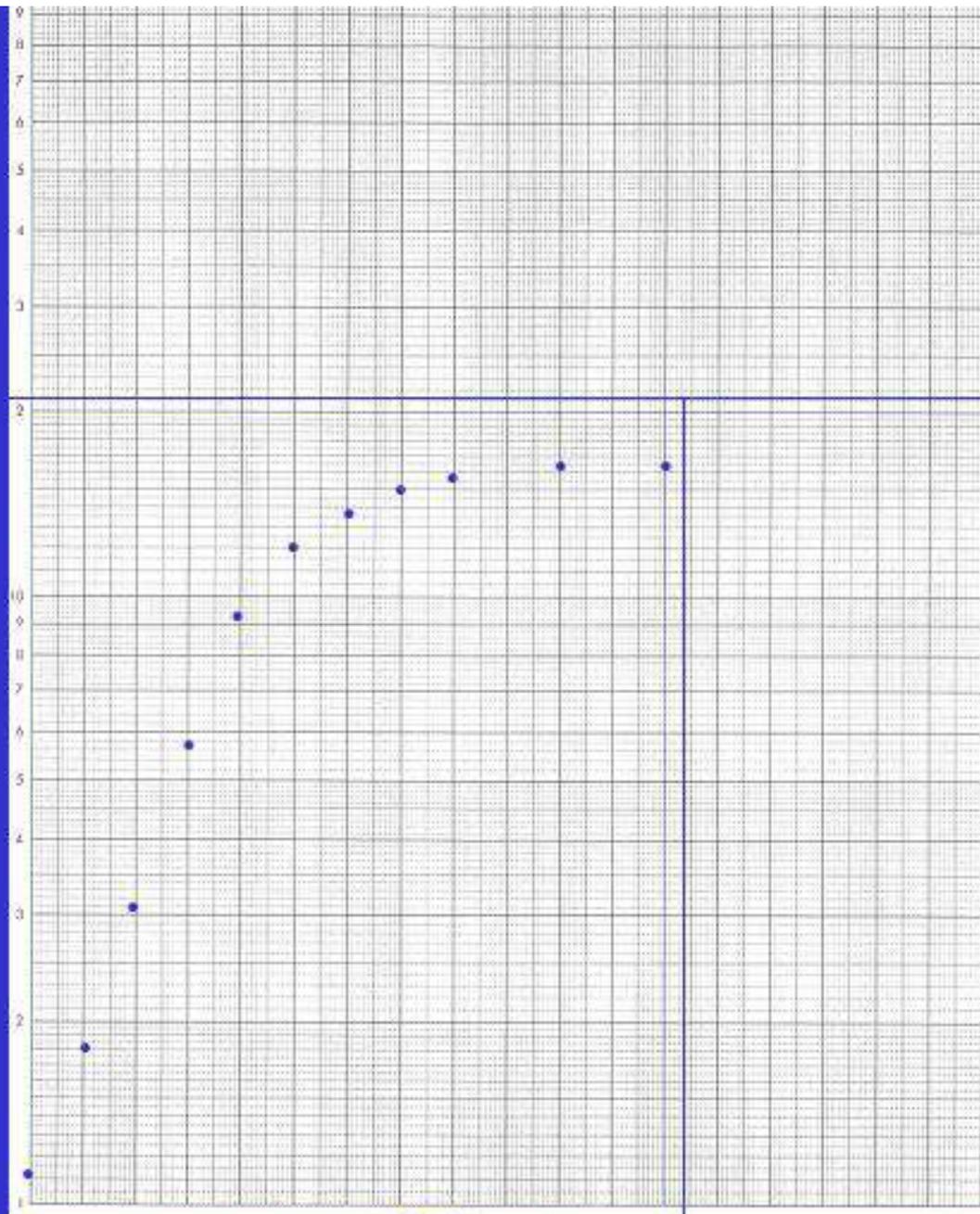
⊗ Tracer la courbe sur un papier semi-logarithmique

Log N



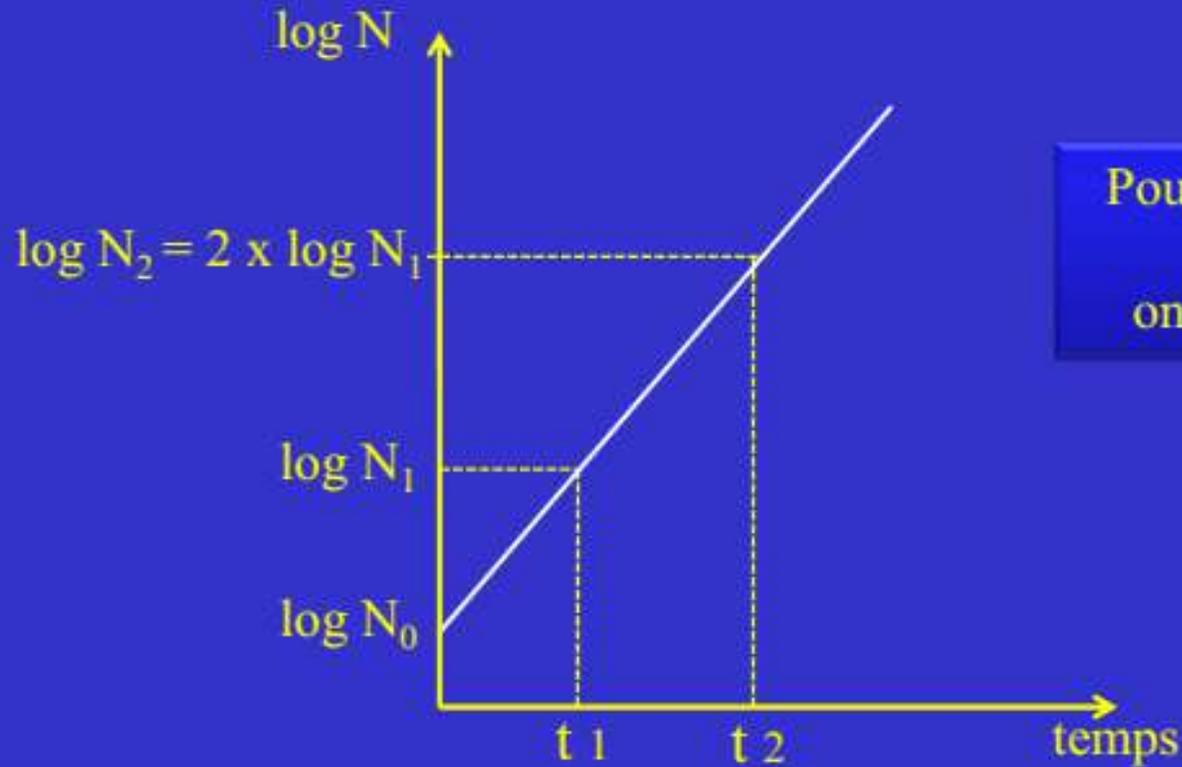
Log 10⁹

Log 10⁸



Temps en heure (H)	Nombre bactéries ml
0	1,1 10 ⁸
5	1,8 10 ⁸
10	3,1 10 ⁸
15	5,4 10 ⁸
20	9,2 10 ⁸
25	1,2 10 ⁹
30	1,4 10 ⁹
35	1,55 10 ⁹
40	1,6 10 ⁹
50	1,65 10 ⁹
60	1,65 10 ⁹

⑥ Détermination théorique des paramètres



Pour G, prendre $N_2 = 2 N_1$

on a alors $G = t_2 - t_1$

Pour calculer μ :

$\mu =$

$$\frac{\log N_2 - \log N_1}{(t_2 - t_1) \log 2}$$

Ou

$$\mu = 1/G$$

Eviter de prendre en considération le N_0 .

✿ *La croissance n'est pas toujours exponentielle.*

Justification:

E. coli, à 37°C, *G* est de 20 min

$$\mu = 1/G = 1/20 = 0,05 \text{ div / min} = 3 \text{ div / heure}$$

Après 48 heures de croissance exponentielle et si on part au to d'une seule bactérie ($N_0 = 1$):

$$\text{Log } N = \mu t \log 2 + \log N_0 \quad \text{Log } N = 3 \times 48 \times 0,301 = 43,344$$

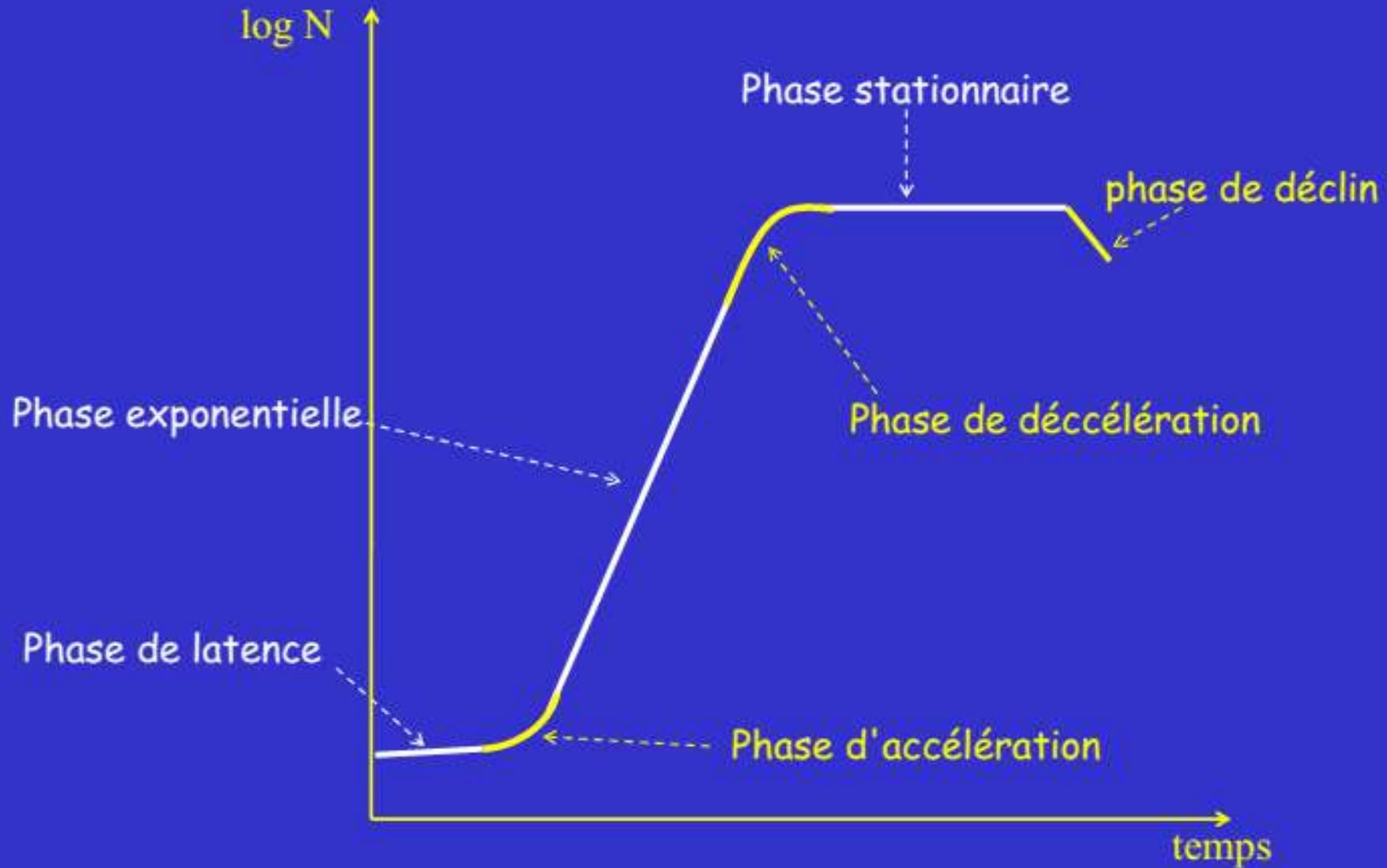
Le nombre de bactéries est: $N = 2,2 \cdot 10^{43}$ bactéries.

Le poids 1 bactérie = $1,5 \cdot 10^{-12}$ g

la masse bactérienne = $3,3 \cdot 10^{31}$ g soit $3,3 \cdot 10^{25}$ tonnes

(poids de la terre = $5 \cdot 10^{21}$ tonnes)

⑦ Les phases de croissance



☞ *La phase de latence*

➤ Pas de croissance, $N_0 = \text{Constant}$ et donc :

$$\mu = 0$$

Causes:

- L'âge des bactéries
- La composition du milieu de culture

☞ *La phase d'accélération*

➤ Début de croissance, le nombre bactérien augmente

$$\mu > 0$$

Causes:

début d'adaptation des bactéries au milieu

☞ *La phase exponentielle*

- C'est la phase physiologique idéale pour la croissance
- Le temps de génération **G est minimal**
- Le taux de croissance **$\mu > 0$, maximal et constant**
- Sur papier semi logarithmique: **phase exponentielle = droite**
(relation proportionnelle entre le log N et le temps).

$$\text{Log } N = \mu t \log 2 + \log N_0$$

(équation d'une droite: $Y = ax + b$)

- La phase exponentielle dure généralement quelques heures.

☞ *La phase de ralentissement*

- **Taux de croissance** μ diminue
- L'augmentation de N dans le temps est plus faible que durant la phase exponentielle,
- Le milieu devient moins favorable à la croissance.

☞ *La phase stationnaire*

- Il n'y a plus de croissance: $\mu = 0$
- **Nombre de cellules viables est constant:**

Equilibre entre cellules qui meurent et celles qui apparaissent ou même nombre de cellules viables sans division ni disparition.

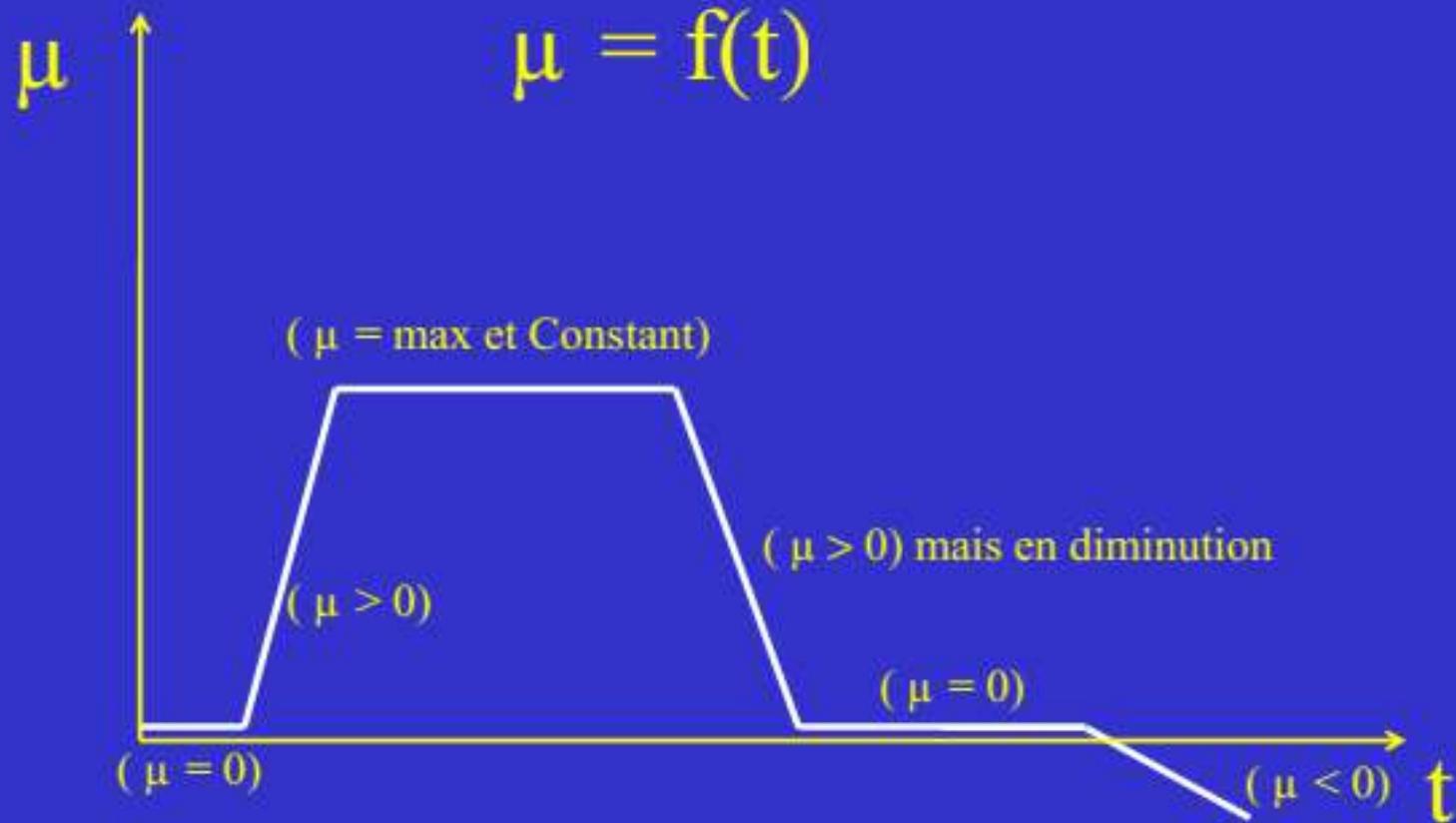
Causes:

- ✓ l'épuisement du milieu de culture,
- ✓ l'accumulation de métabolites toxiques,
- ✓ l'évolution défavorable des conditions physico-chimiques

↳ *La phase de déclin*

- Le taux de croissance est négatif ($\mu < 0$).
- Les bactéries ne se divisent plus, beaucoup meurent et certaines sont lysées
- Cette phase est visible ou pas selon la méthode d'étude:
nb bactéries viables (toujours) / turbidimétrie (si lyse)

⑧ Variation de μ pendant les phases de croissance

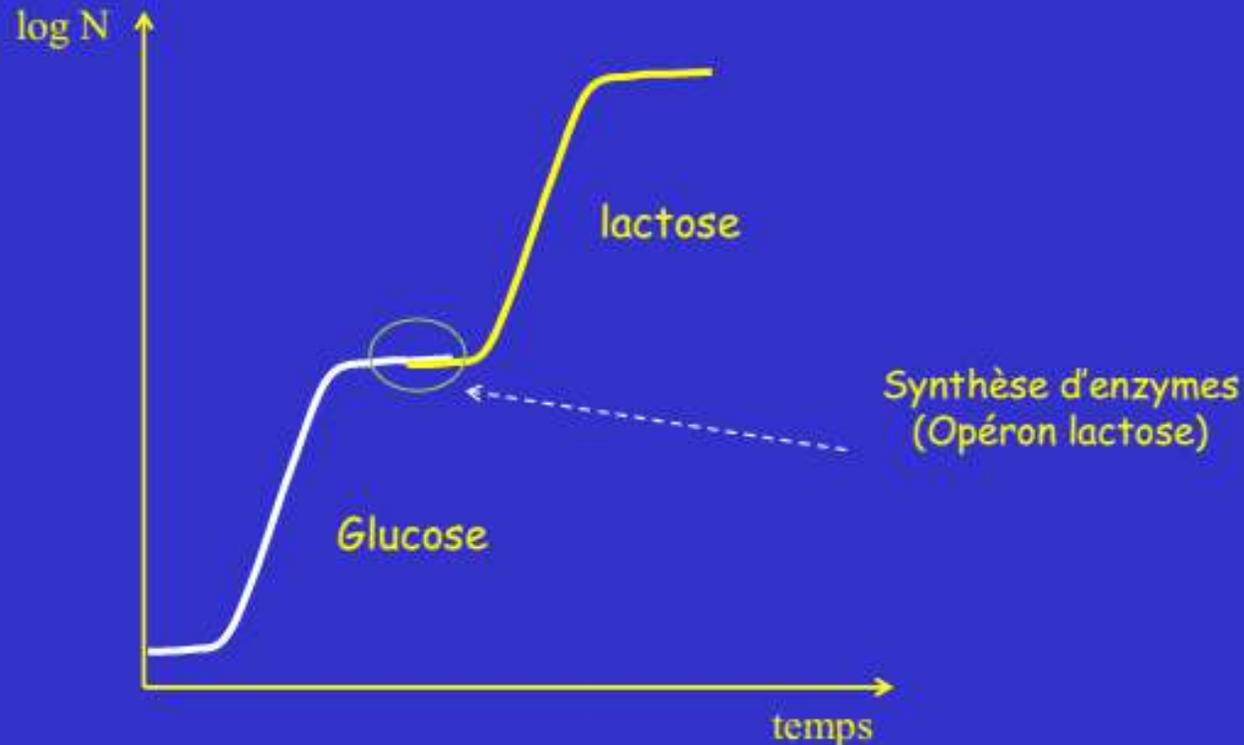


⑨ Cas particuliers de croissance

9.1. Cas de la diauxie

Croissance dans 1 milieu synthétique en présence de 2 substrats carbonés.

Exemple: croissance d'*E. coli* en présence de glucose et de lactose

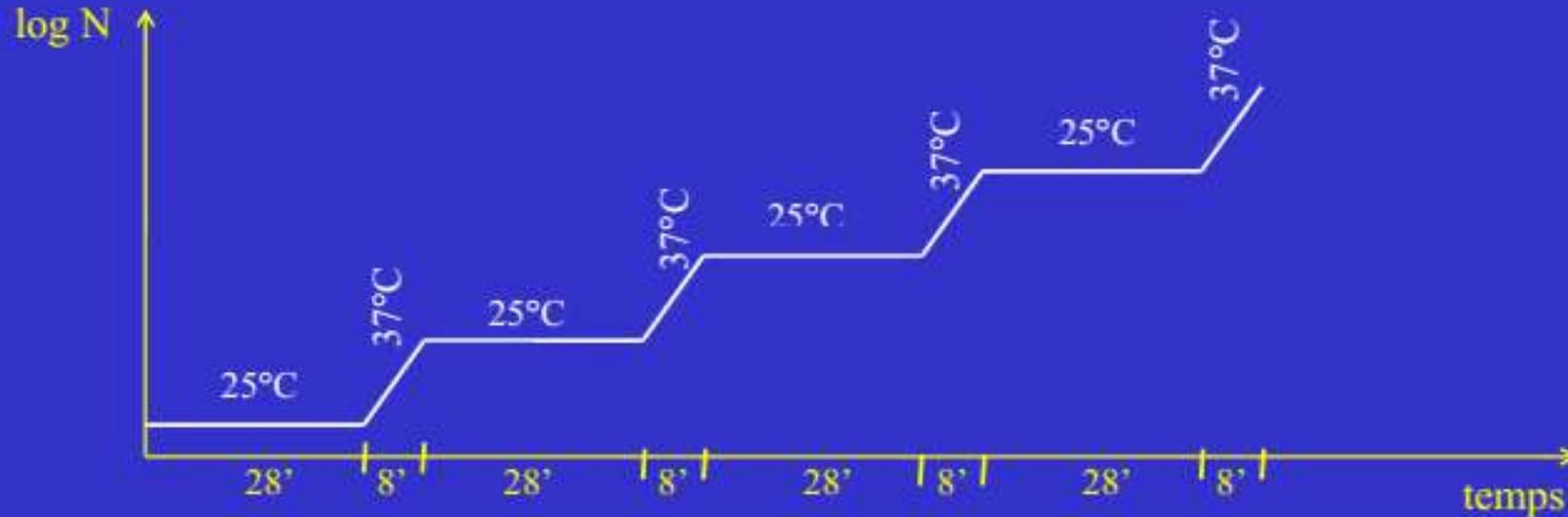


Courbe de croissance diphasique (diauxie)

9.2. Croissance synchrone

On peut amener les bactéries à se diviser au même moment, ce qui donnerait une croissance synchrone.

Par choc thermique chez *Salmonella typhimurium* : les bactéries sont incubées alternativement à une température de 25°C pendant 28 min, puis à 37°C pendant 8 min



La courbe montre une série de paliers successifs correspondant chacun à un doublement

9.3. Croissance continue

Dans les conditions habituelles de croissance, la phase exponentielle ne peut durer que quelques heures.

Expérimentalement, on peut maintenir une culture en croissance exponentielle pendant plusieurs heures voir plusieurs jours.

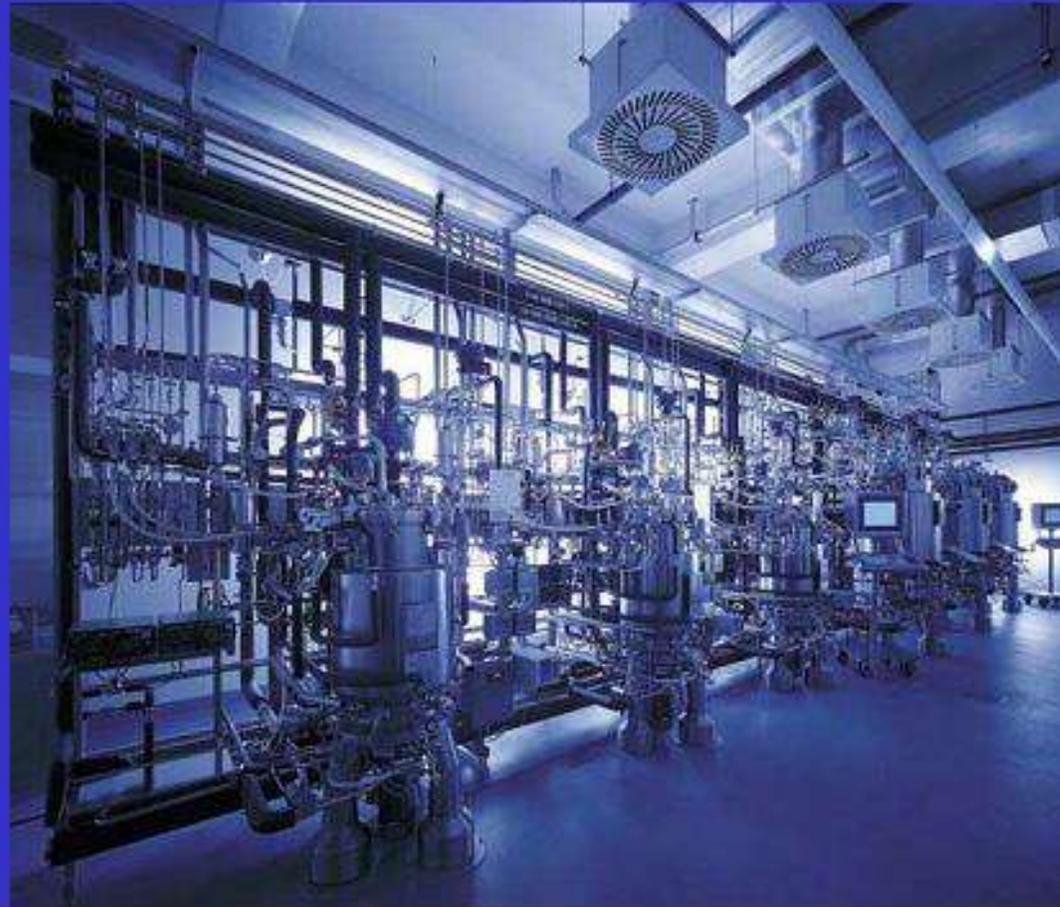
Pour cela, il faut renouveler constamment le milieu de culture tout en éliminant les produits résultant du métabolisme cellulaire.

C'est le principe des fermenteurs industriels.

Fermenteur de laboratoire



Fermenteurs industriels



10.2. Facteurs physico-chimiques:

☛ Effet du pH sur la croissance

La majorité des bactéries prolifèrent en milieux neutres ou légèrement alcalins. (tampons /exp: K_2HPO_4 et KH_2PO_4).

Il existe des bactéries présentant des tolérances particulières au pH:

Certaines exigent des **pH bas**: on parle de bactéries **acidophiles**
cas de *Thiobacillus thiooxydans* qui a un pH optimal de l'ordre de 2

Inversement, les bactéries qui exigent un **pH élevé** sont dites des **basophiles** exp: *Vibrio* a un pH optimal de 9

Les bactéries ne se développant qu'au voisinage de la neutralité sont dites **neutrophiles**.

☛ Effet de la température sur la croissance

Les limites de température entre lesquelles les organismes vivants peuvent **croître** sont:

- 5°C : point de congélation de l'eau dans les cellules vivantes
- + 80°C : thermolabilité des protéines et des acides nucléiques

Selon la température optimale de développement, on distingue:

Types	T° min	T° opt	T° max
Psychrophiles	-15°C	+ 10°C	+ 20°C
Mésophiles	5 à 10°C	30 à 37°C	40 à 43°C
Thermophiles	40°C	42 à 55°C	60 à 80°C

A 37°C: *G* de *E. coli* est de 20 mn, A 42°C: *G* devient 50 mn

☛ Effet de la pression osmotique sur la croissance

La bactérie accumule dans le cytoplasme une concentration élevée en substrats



$$PO_{int} > PO_{ext}$$

Si forte augmentation de l'osmolarité du milieu extracellulaire

→ risque d'efflux d'eau → plasmolyse



inhibition de processus vitaux: biosynthèse de macromolécules, réplication de l'ADN etc... : arrêt de croissance,

pour éviter cela, la bactérie doit ajuster sa pression osmotique interne à une valeur supérieure à celle du milieu externe,

C'est l'osmorégulation: accumulation de K^+ , d'acides aminés, sucres etc...

Selon ce pouvoir d'osmorégulation, on distingue 4 groupes de bactéries

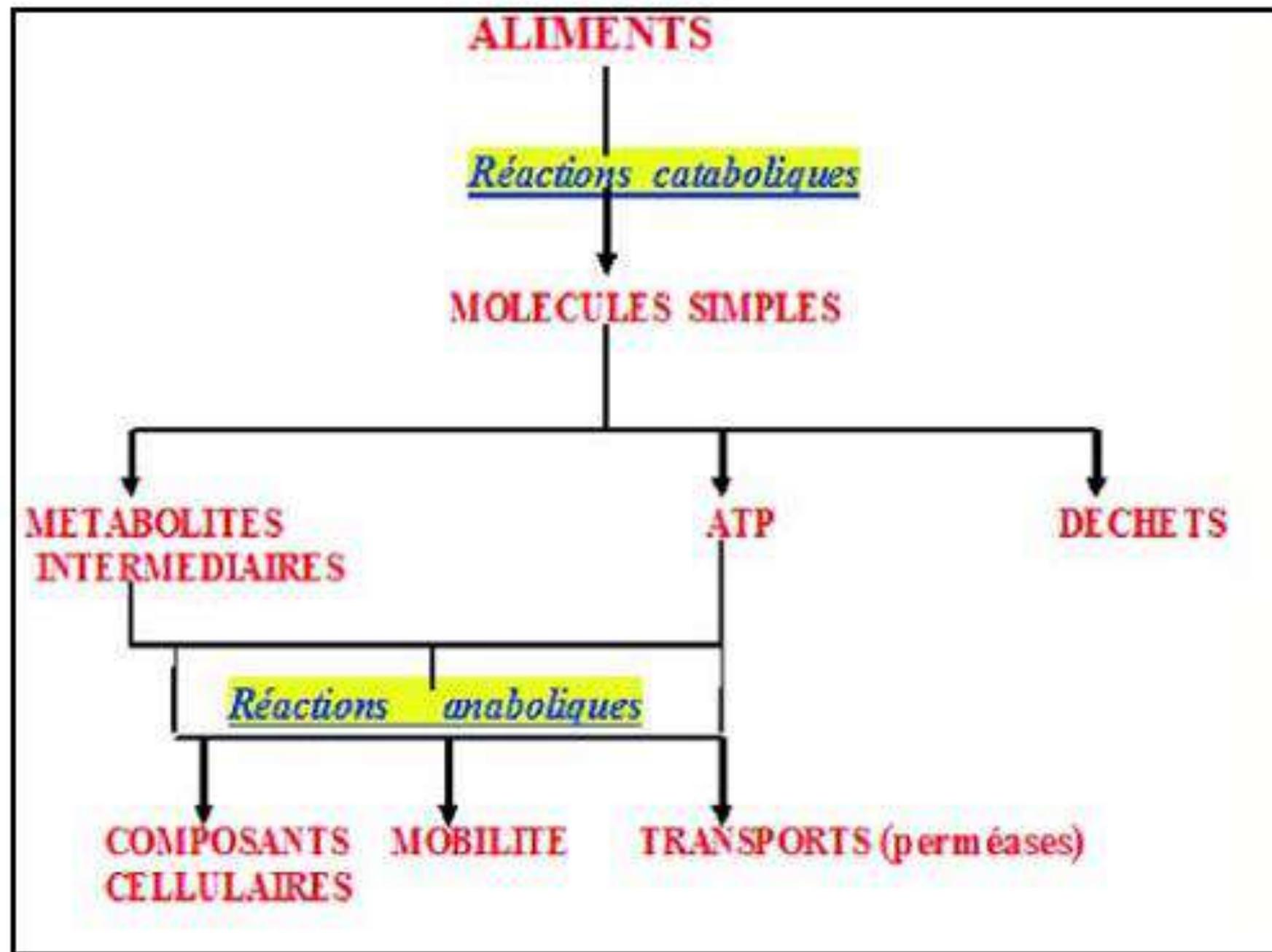
Groupe	Exemple	[NaCl] tolérée
Non Halophiles	<i>E. coli</i>	0 à 4 %
Halophiles	<i>Pseudomonas marina</i>	0,2 à 5 %
Halophiles modérés	<i>Pediococcus halophilus</i>	2,3 à 20,5 %
Halophiles extrêmes	<i>Halobacterium</i>	5 à 36 %

III- Le métabolisme microbien

1. Définitions

Le métabolisme bactérien = ensemble des réactions chimiques•
(**cataboliques et anaboliques**) qui se produisent au niveau d'une cellule bactérienne•

- * Ces réactions assurent l'élaboration des constituants bactériens et leur fonctionnement
- * L'étude du métabolisme bactérien permet de définir des **caractères d'identification biochimique** qui représentent des critères essentiels dans la classification (ou **Taxonomie**) bactérienne.



* **Les réactions cataboliques** permettent à la bactérie de **convertir les aliments** mis à sa disposition (Protéines , Lipides , Polysaccharides) **en molécules organiques simples** ou **en métabolites intermédiaires** , avec **production d'énergie** sous forme de liaison phosphate (ATP)

* **Les réactions anaboliques** sont les **voies de biosynthèse** que la bactérie emprunte à partir de ces **molécules simples** pour synthétiser des **macromolécules** intervenant dans la structure et le fonctionnement bactérien . **L'énergie (ATP) utilisée dans ces biosynthèses provient du catabolisme** .

2. Enzymes bactériennes

Le déroulement de toutes ces réactions nécessite l'intervention de catalyseurs appelés **Enzymes**.

Enzymes exocellulaires ou exoenzymes	Enzymes endocellulaires ou endoenzymes
<ul style="list-style-type: none">- sont sécrétées dans le milieu extérieur- permettent la dégradation des macromolécules (ex : amylase, caseinase)- responsables du pouvoir pathogène (coagulase, ADNase, exotoxines)	<ul style="list-style-type: none">- sont en solution dans le cytoplasme- participent au métabolisme intermédiaire de la cellule (ex : B-galactosidase, enzymes de la glycolyse, etc.).

3. Métabolisme énergétique

3-1 Généralités

Pour satisfaire leur besoin en énergie, deux voies principales s'offrent aux bactéries

A. Phototrophie

- C'est la photosynthèse bactérienne (**chromatophores avec bactériochlorophylle**)
- Caractérise les bactéries phototrophes (photosynthétiques)
- **La différence avec la photosynthèse des végétaux supérieurs :**
 - ne libère jamais d'oxygène libre,
 - les donneurs d'électrons sont soit de l'hydrogène, soufre, **jamais l'eau** comme chez les plantes
- Conduit à la libération d'ATP aux dépens d'ADP et de phosphate inorganique

La réaction caractéristique de ce phénomène est :



DH₂ = donneur d'électrons

Selon la nature chimique de DH₂ on distingue deux types trophiques :

- DH₂ minéral → **photolithotrophie.**
- DH₂ organique → **photoorganotrophie.**

B. Chimiotrophie

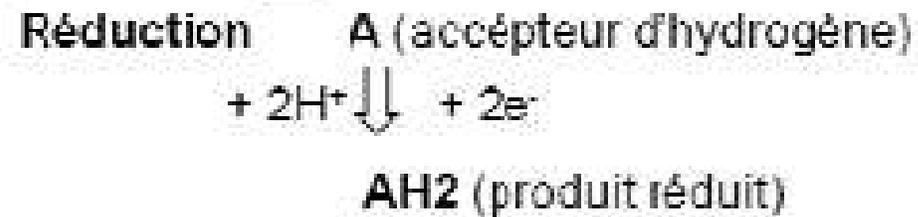
- La plupart des bactéries sont chimiotrophes.
- L'énergie est tirée de la dégradation d'un **composé chimique (organique ou inorganique)**
- Le métabolisme général comporte trois étapes :
 - * digestion des macromolécules en molécules simples à l'extérieur de la cellule (glucides → Glucose)
 - * dégradation des molécules simples pour donner des **métabolites intermédiaires** (pyruvate, acétylCoA) et de **l'énergie** (ATP)
 - * dégradation totale des métabolites intermédiaires en CO₂ et H₂O avec une grande production d'énergie (ATP)

- Les réactions chimiques énergétiques sont essentiellement des **réactions d'oxydo-réduction**.

- Un donneur d'hydrogène (DH_2) est oxydé en D avec libération d'énergie, c'est une **oxydation**.

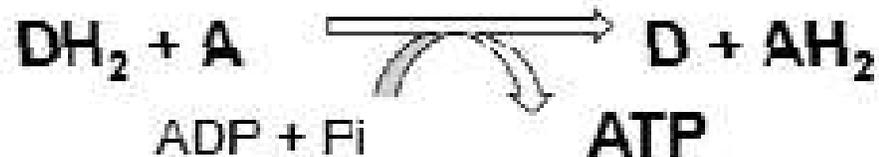


- Un accepteur d'hydrogène A est réduit en AH_2 , c'est une **réduction**.



- ces réactions sont couplées

Somme



Nature du donneur d'hydrogène DH2

Le composé organique (DH2) peut être :

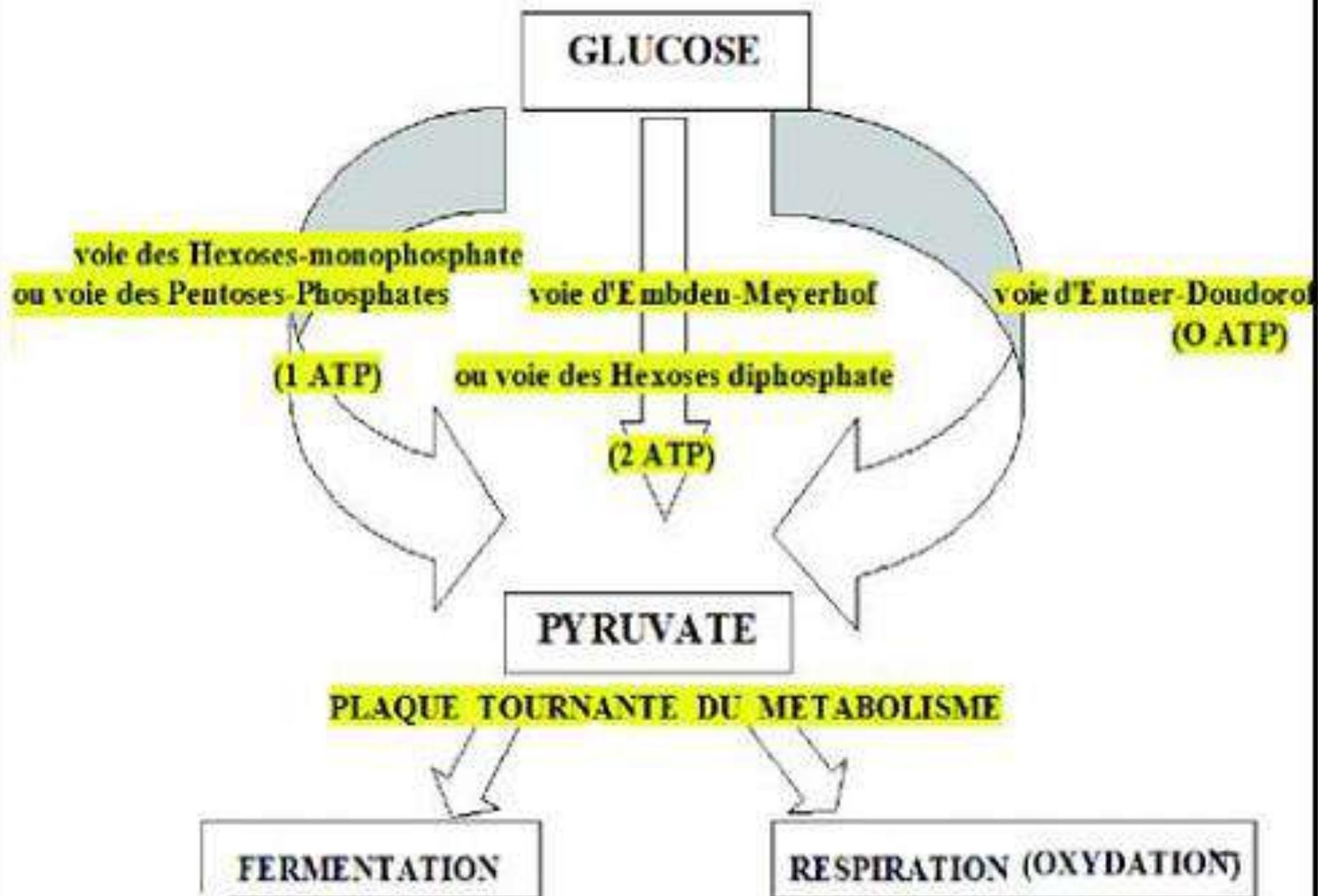
- un hydrate de carbone (surtout le glucose) source la plus importante d'énergie
- un acide aminé
- un acide gras
- un alcane
- une base purique ou pyrimidique

3-2. Voies du métabolisme intermédiaire

Il existe 3 principales voies enzymatiques , à localisation cytoplasmique , qui oxydent le glucose en **acide pyruvique** (= **plaque tournante du métabolisme**)

- La **voie d'embden-Meyerhof** ou **voie des Hexoses-Diphosphates** , voie comparable à la voie de la glycolyse des êtres supérieurs . Elle aboutit à la production de 2 moles d'ATP par mole de glucose.
- La **voie des Hexoses-Monophosphates** ou **voie des Pentoses-Phosphates** ou **Shunt oxydatif** ou **cycle de Dickens-Horecker** . Elle produit 1 mole d'ATP par mole de glucose.
- La **voie du 2-céto-3-déoxy-gluconate** ou **voie d'Entner-Doudoroff** est assez propre aux microorganismes . Elle ne produit pas d'ATP.

Exemple du métabolisme du Glucose



3.3. Types métaboliques

Selon la nature de l'accepteur d'hydrogène, on distingue **2 types métaboliques** :

Respiration		Fermentation
Respiration aérobie Si * A = oxygène	Respiration anaérobie Si *A = composé inorganique oxygéné (nitrates, sulfates, carbonates, etc) Ou *A = composé organique non fermentescible (fumarate, acétate, etc)	* A = molécule organique fermentescible (sucre, acides organique, acide aminé, purine, pyrimidine, etc)

La Respiration

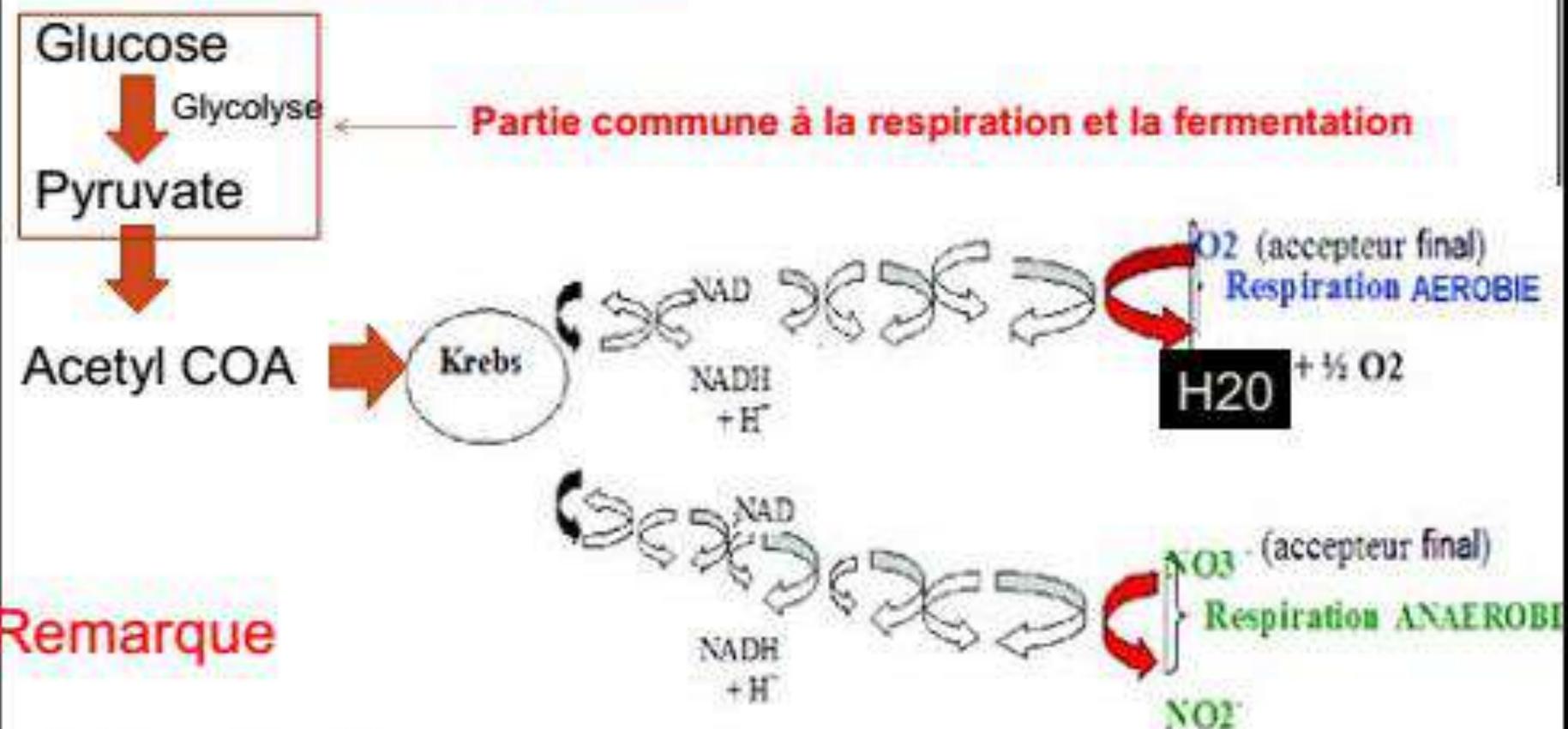
La Respiration est l'ensemble des voies métaboliques au cours desquelles :

- l'accepteur d'électrons et d' H^+ dans les réactions redox est soit l'**oxygène moléculaire** (Respiration aérobie) ou des **composés oxygénés inorganiques ou organiques non fermentescibles** (Respiration anaérobie).
- Ces voies sont liées à la membrane cytoplasmique de la bactérie (**présence d'une chaîne respiratoire membranaire**).
- L'énergie est produite par **phosphorylation oxydative** et libérée par paliers via une chaîne de transfert d'électrons ;
- Le **bilan énergétique est élevé**.



3.3.1. La respiration

Schéma général de la respiration



Remarque

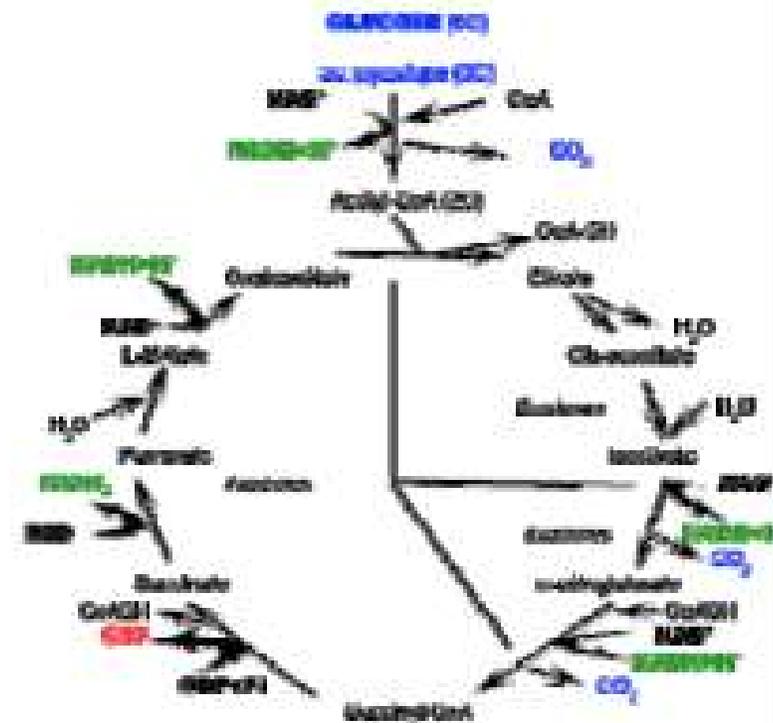
Le Pyruvate est le point d'aboutissement ultime de toutes les voies de dégradation du Glucose et des voies d'oxydation de nombreux acides aminés. Il est transformé en Acetyl-CoA par décarboxylation oxydative.

Le cycle de Krebs

* L'Acetyl-CoA réagit avec l'acide oxaloacétique pour former de l'acide citrique .

Il s'en suit une succession de réactions d'oxydation et de décarboxylation , avec réductions de NAD en NADH2 couplées aux réactions d'oxydation .

* Du point de vue énergétique , chaque tour de cycle de Krebs produit une molécule d'ATP par molécule d'acide pyruvique oxydée et des coenzymes réduits supplémentaires (4 NADH+H⁺ et 1 FADH₂).



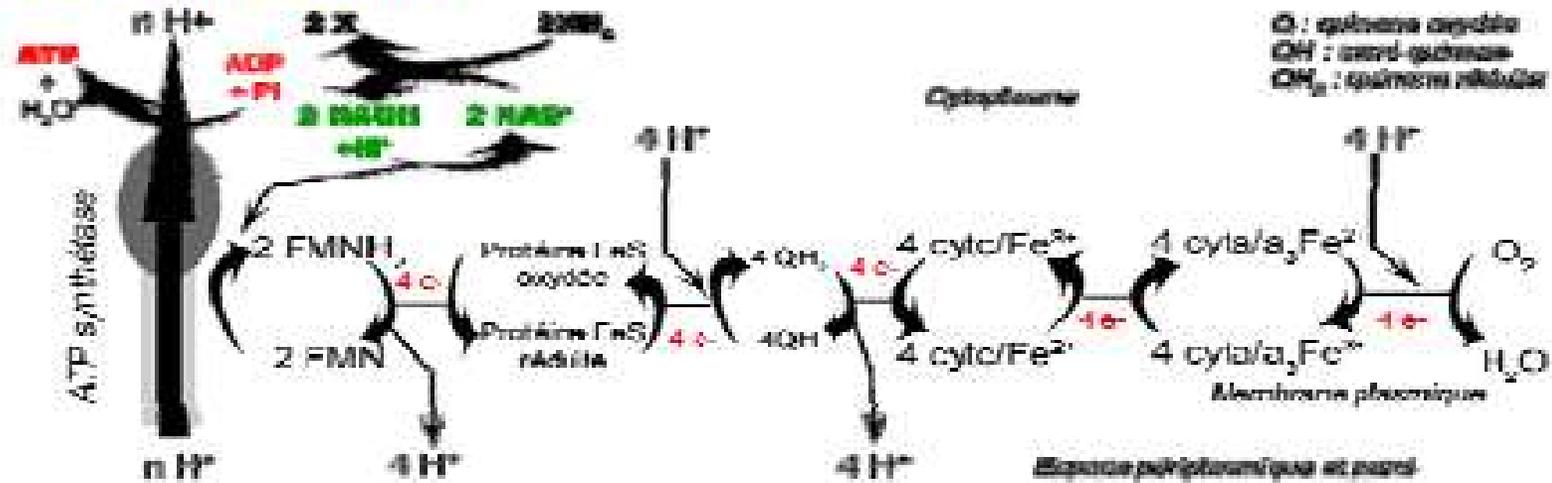
Devenir des coenzymes réduits produits par le cycle de Krebs

Tous les coenzymes réduits (4 $\text{NADH}+\text{H}^+$ et 1 FADH_2) produits sont réoxydés au niveau d'une chaîne respiratoire permettant une production supplémentaire d'ATP par phosphorylation oxydative.

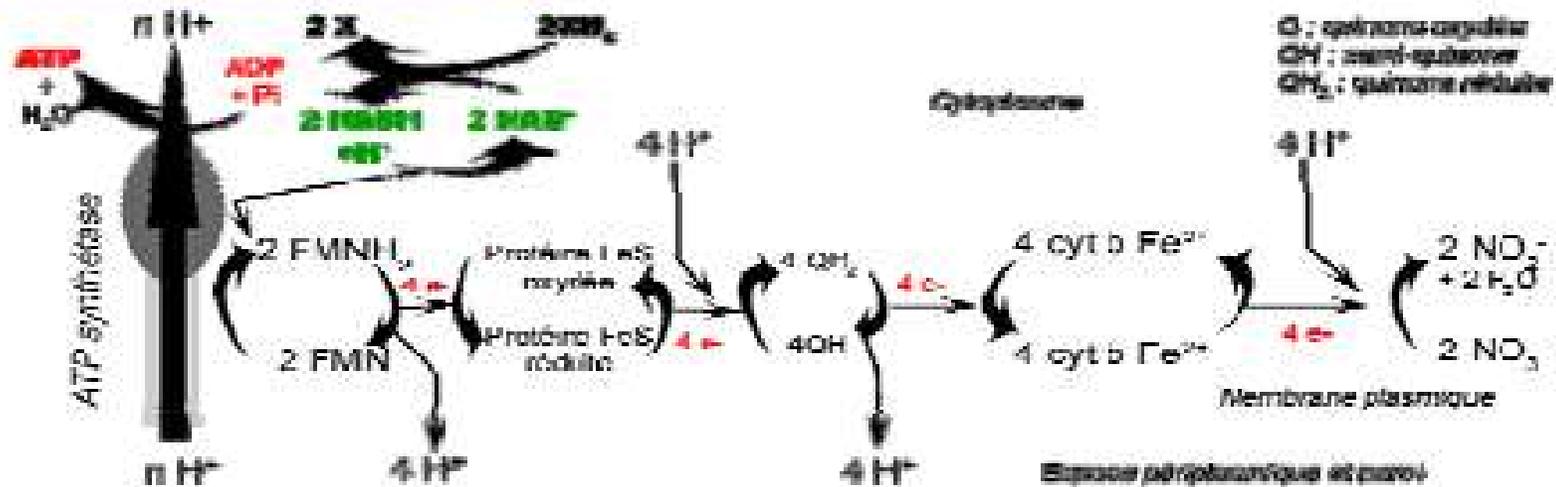
Phosphorylation oxydative et chaîne respiratoire

- C'est un processus essentiel de transfert d'énergie.
- l'énergie est fournie à partir du **transfert du flux d'électrons libérés par les catabolites du métabolisme intermédiaire à l'oxygène.**
- L'énergie est fournie par l'oxydation des atomes d'hydrogène (somme protons plus électrons) récupérés des coenzymes réduits (NADH, H⁺, FADH₂).
- De l'eau est produite à partir de l'hydrogène et de l'oxygène, au terme de la chaîne des réactions d'oxydoréduction dénommée **chaîne respiratoire.**

Respiration aérobie



Respiration anaérobie



Constituants de la chaîne respiratoire

- * une chaîne d'oxydoréduction transportant protons et électrons des coenzymes réduits vers l'oxygène (C'est la **chaîne cytochromique** de transfert des électrons)
- * un mécanisme de **phosphorylation** assurant la synthèse d'ATP à partir de l'ADP catalysé par l'**ATP synthétase**

La respiration se fait donc en 2 étapes :

- 1) **Le cycle tricarboxylique de Krebs** , avec libération de CO₂ par oxydation couplée à la réduction de 3 NAD⁺ et de 1 FAD⁺ par tour de cycle .
- 2) **La chaîne respiratoire** avec coenzymes de déshydrogénases ,
Quinones et Cytochromes

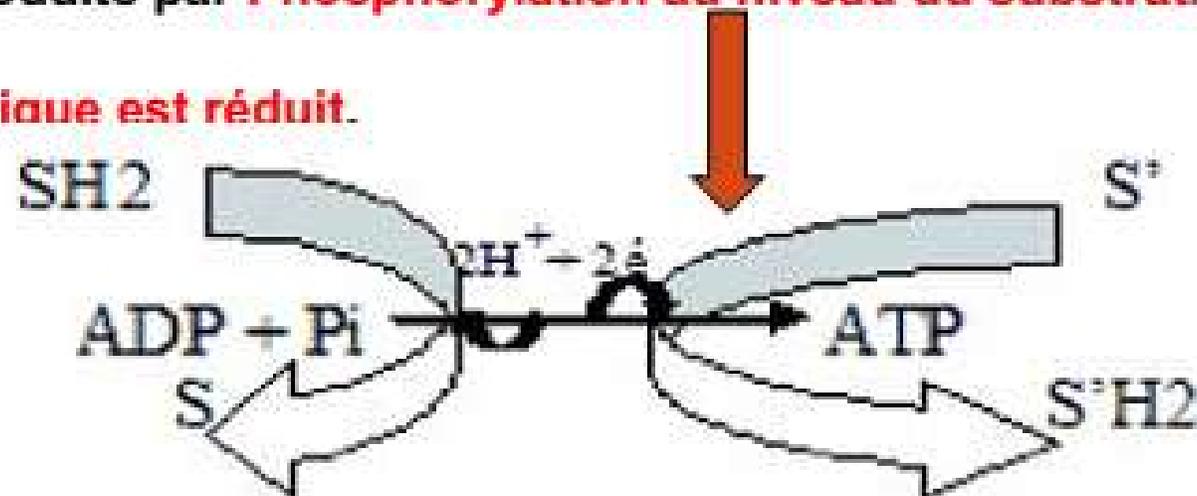
Selon l'accepteur final d'électrons et d'H₂ , on peut distinguer :

- 1) Dans la respiration aérobie , l'accepteur final est l'O₂
- 2) Dans la respiration anaérobie , l'accepteur final est un composé inorganique ou ionique (NO₃⁻ , fumarate)

La fermentation

La fermentation a été définie par Pasteur comme la
« **vie sans air** »;

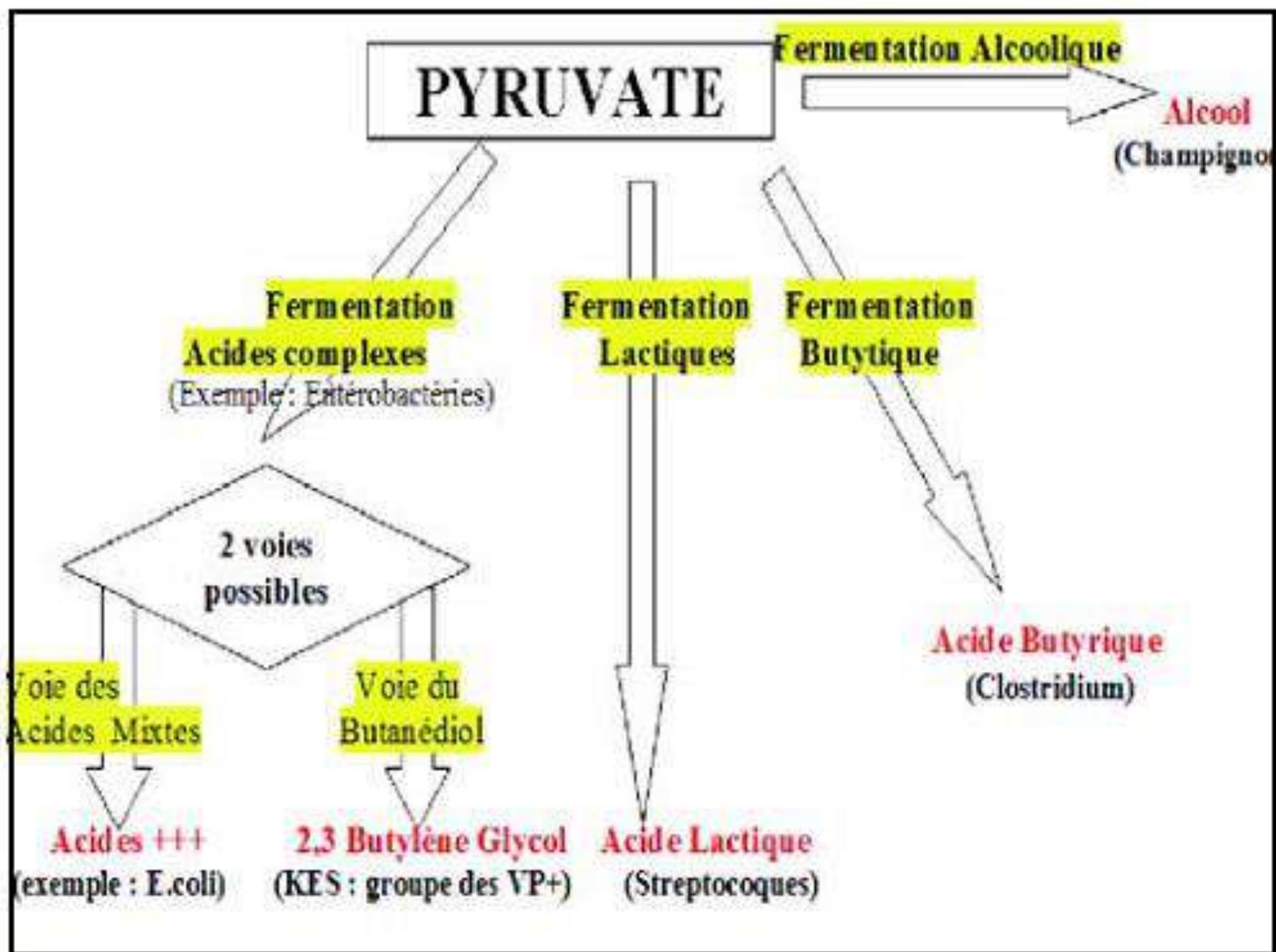
- C'est une oxydation biologique au cours de laquelle l'accepteur final d' H_2 et d' e^- = composé organique fermentescible.
- Elle se déroule dans des conditions d'anaérobiose
- Les voies fermentaires se déroulent au sein du cytoplasme bactérien.
- L'énergie est produite par Phosphorylation au niveau du substrat.
- Le bilan énergétique est réduit.



- la dégradation des molécules nutritives n'est pas aussi poussée que pour la respiration.
- Il y a moins d'ATP formé dans le cytoplasme.
- Mais par contre il y a apparition de nouveaux produits qui s'accumulent
- Selon les bactéries, ces produits vont être différents et vont caractériser des espèces dites "**fermentaires**".

Fermentation du Glucose

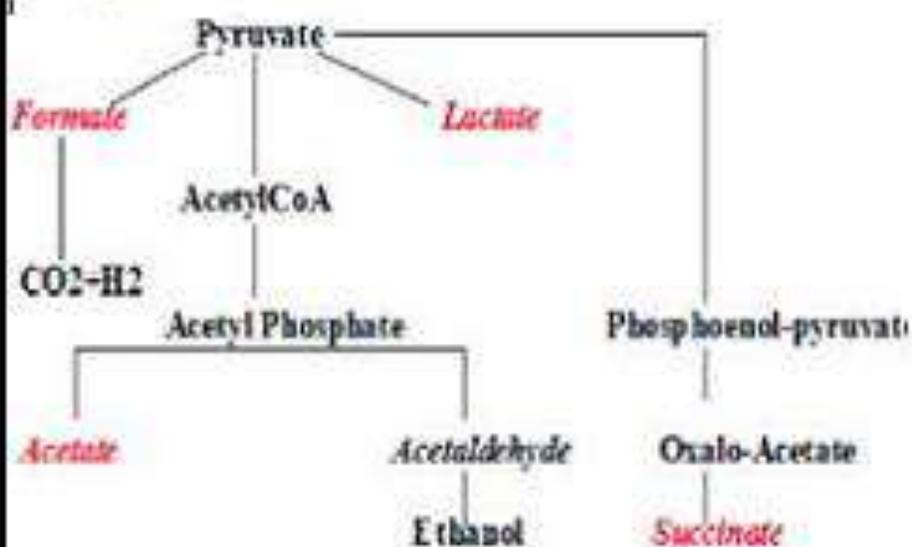
- **La première étape comporte les différentes voies du métabolisme intermédiaire qui aboutissent au Pyruvate .**
- **Puis viennent les réactions de réduction du Pyruvate qui différentient les bactéries fermentaires car elles conduisent à des produits finaux divers , soit uniques soit plus souvent mélangés .**
- **selon la nature des produits finaux de fermentation, On distingue plusieurs types de fermentation :**



* la fermentation Acides complexes

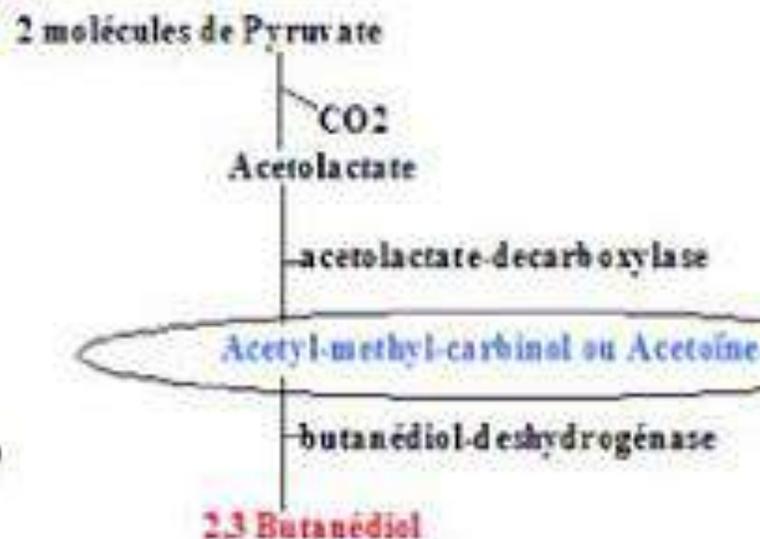
C'est le type de fermentation le plus répandu chez les bactéries.
Elle peut se présenter sous 2 formes possibles:

- fermentation Acide Mixte :
caractéristique des Enterobactéries
VP(-)



L'accumulation d'Acides dans le milieu de culture aboutit à un pH final bas.

- fermentation butanédiolique :



Caractéristique des Enterobacteries
VP+ , *Listeria monocytogenes*, la
plupart des *Vibrio* et *Aeromonas* Ces
bactéries possèdent, à côté du mode de
fermentation Acides Mixtes, une
voie fermentaire particulière, dite
Butanédiolique ou Butylène glycolique

Fermentation lactique

On distingue 3 modèles:

- **Fermentation Homolactique** : retrouvée chez les **Streptocoques** : C'est une fermentation sans production de gaz et s'accompagnant d'une diminution importante du pH du milieu
- **Fermentation Hétérolactique**: retrouvée chez les **Lactobacilles**, Comprend une production importante de CO₂ et un pH bas
- **Fermentation Aceto-lactique**: retrouvée chez des bactéries du genre **Bifidobacterium** , s'accompagne de la production d'un **mélange d'acide lactique et acétique**.

Fermentation Alcoolique:

C'est une fermentation retrouvée chez les champignons et les cellules végétales

Fermentation Butyrique :

Elle aboutit à l'Acetate , le Butyrate, H₂ et CO₂ et qui est retrouvée chez les Clostridies dits Saccharolytiques

ELEMENTS NUTRITIFS

Dégradation

RESPIRATION

FERMENTATION

Bactéries Aérobie

Bactéries Anaérobies

Présence d'Oxygène

Chaîne Respiratoire

Accepteur final d'électron

O_2

Absence d'oxygène

Chaîne Respiratoire

Accepteur final d'électron

différent de O_2

élément minéral

élément organique

Absence de O_2

Pas de Chaîne respiratoire

peu d'ATP

Synthèse d'ATP

Synthèse d'ATP

NOUVEAUX PRODUITS

ENERGIE

Chapitre VI: Génétique bactérienne

I- Définitions

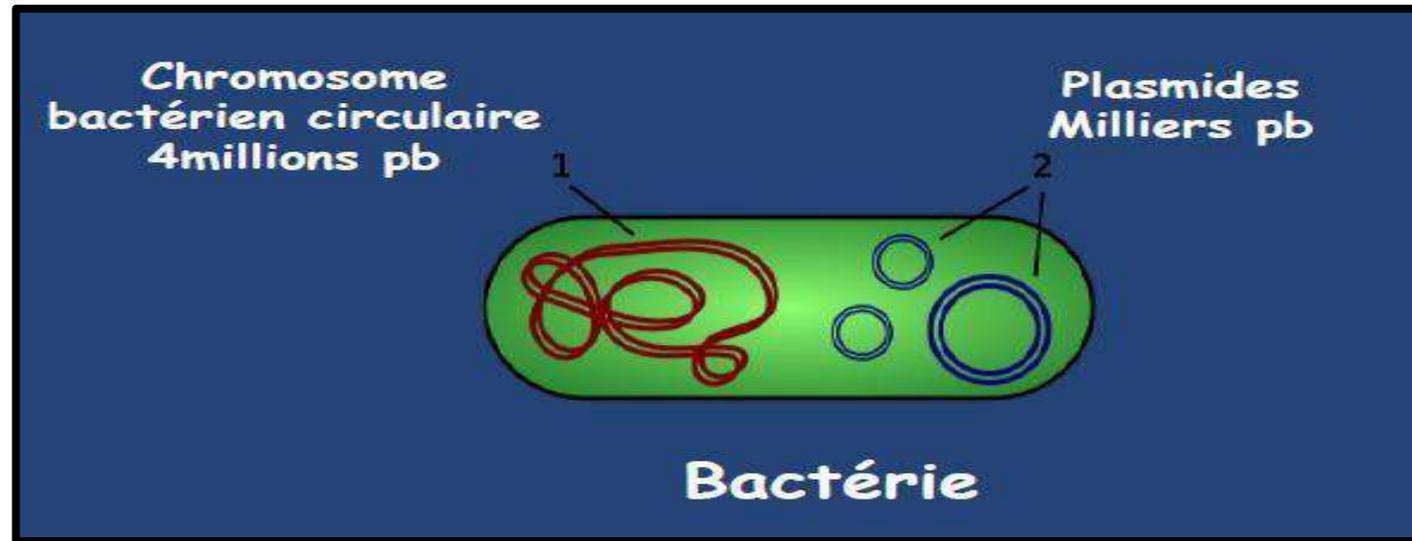
+ La **génétique bactérienne** est la science de l'**hérédité** et de la **variabilité** chez les bactéries.

+ **Génome bactérien** (= somme des gènes d'une bactérie) est le support matériel de l'hérédité.



Gène: est l'unité fonctionnelle de l'information génétique.

I-1. Génome bactérien



✳ Ce **chromosome** est circulaire, composé de **deux chaînes polynucléotidiques** et porte les gènes essentiels à la croissance.

✳ Les **plasmides** sont des molécules **d'ADN bicaténaire, circulaires** et **cytoplasmiques**, de petite taille (5 à 4000 fois plus petit que le chromosome), se répliquant d'une manière autonome (indépendamment du chromosome) et non indispensables au métabolisme normal de la cellule-hôte.

✳ Les plasmides peuvent conférer certains avantages aux bactéries, comme la résistance à des antibiotiques ou des facteurs de virulence.

I-1. Génome bactérien

- **Génotype**: toutes les informations génétiques codées par le génome bactérien.
- **Phénotype**: somme des caractères observés après **l'interaction** du **génotype** avec **l'environnement**.

I-2. Hérité et variations génétiques



Variabilité génotypique

- Changement soudain, transmis aux descendants, produit par deux mécanismes:

Mutations

Transfert d'ADN provenant d'un donneur étranger (par **transformation**, **conjugaison**, ou par **transduction**).



Variabilité phénotypique

- Induite par l'interaction du génome avec les facteurs de l'environnement :

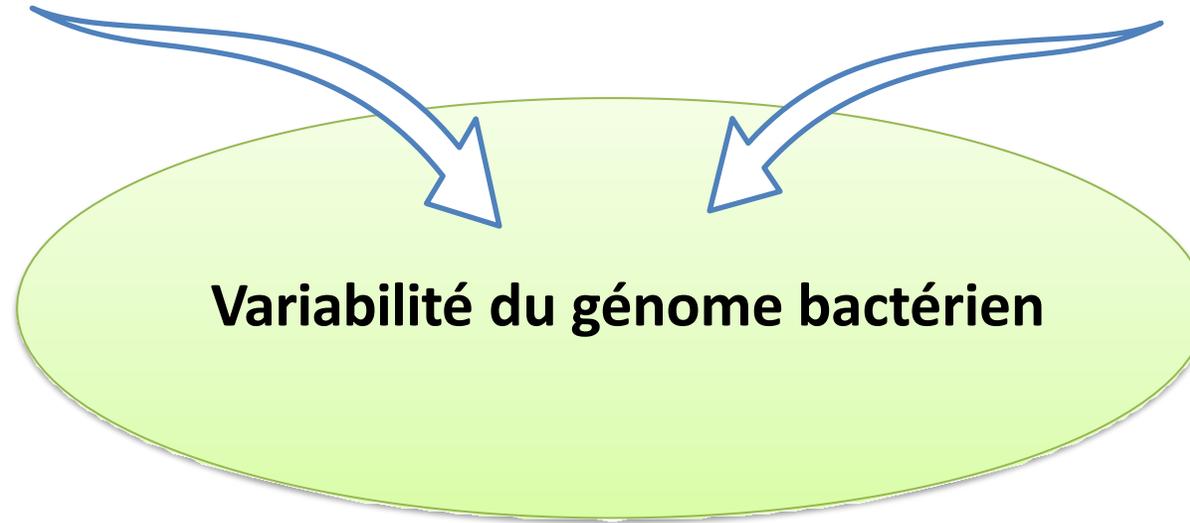
Est réversible et n'est pas héréditaire;

Est basée sur le contrôle de la transcription du gène et de la traduction d'ARNm dans la synthèse protéique par l'induction ou répression de ces gènes.

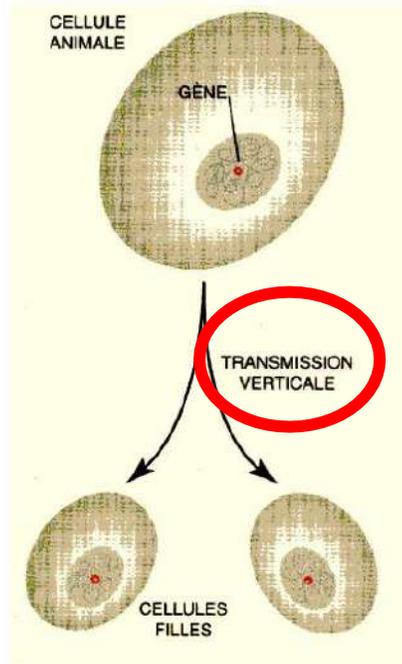
I-2. Hérité et variations génétiques

mutations

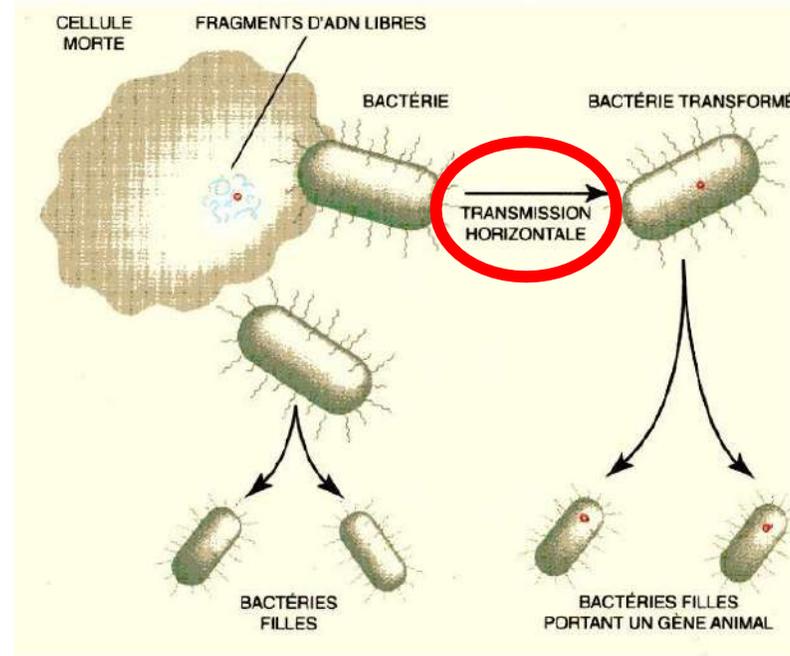
transferts horizontaux de gènes



Dans la nature, il existe deux moyens pour les microorganismes de transférer le patrimoine génétique :



Transfert vertical de gènes



Transfert horizontal de gènes

- le transfert « vertical » de gènes qui se fait entre un « parent » et sa descendance.
- le transfert « horizontal » de gènes qui a lieu entre deux organismes 'distincts'.

II- MUTATIONS

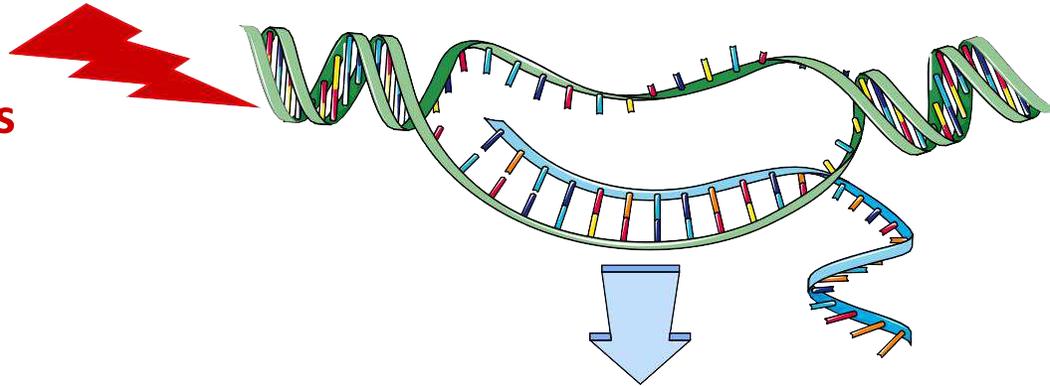
II- Mutations

Stabilité caractères héréditaires

SI MAINTIEN

Intégrité génome bactérien

agressions
physiques
et chimiques



Altération ADN

Systèmes enzymatiques de réparation

réparation par :

- excision-resynthèse,
- recombinaison
- SOS

Si la réparation échoue ⇒ **mutations** événements **rares, héréditaires**

apparition de **mutants**

= cellules différentes du type sauvage par un ou plusieurs caractères permettant leur sélection.

ex : marqueur **d'auxotrophie** ou **résistance à un antibiotique**

II-1. Définition



La mutation est un changement:

Spontané ou **provoqué** par un **agent mutagène**, **Héréditaire**
(stable),

Brusque (discontinu), **Rare** (10^{-6} à 10^{-9}),

Indépendant dans les caractères d'une bactérie,

Lié à une **modification du génome bactérien** (ADN).



Cette modification se traduit par l'apparition d'un
nouveau **caractère transmissible à la descendance**.

II-2. Caractères des mutations

1. Spontanéité (hasard) ou induction

- Les mutations spontanées apparaissent sans exposition à des agents extrêmes.

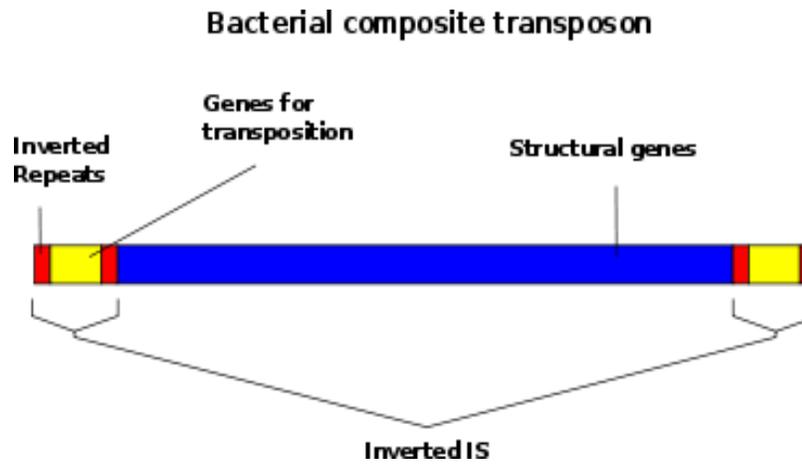
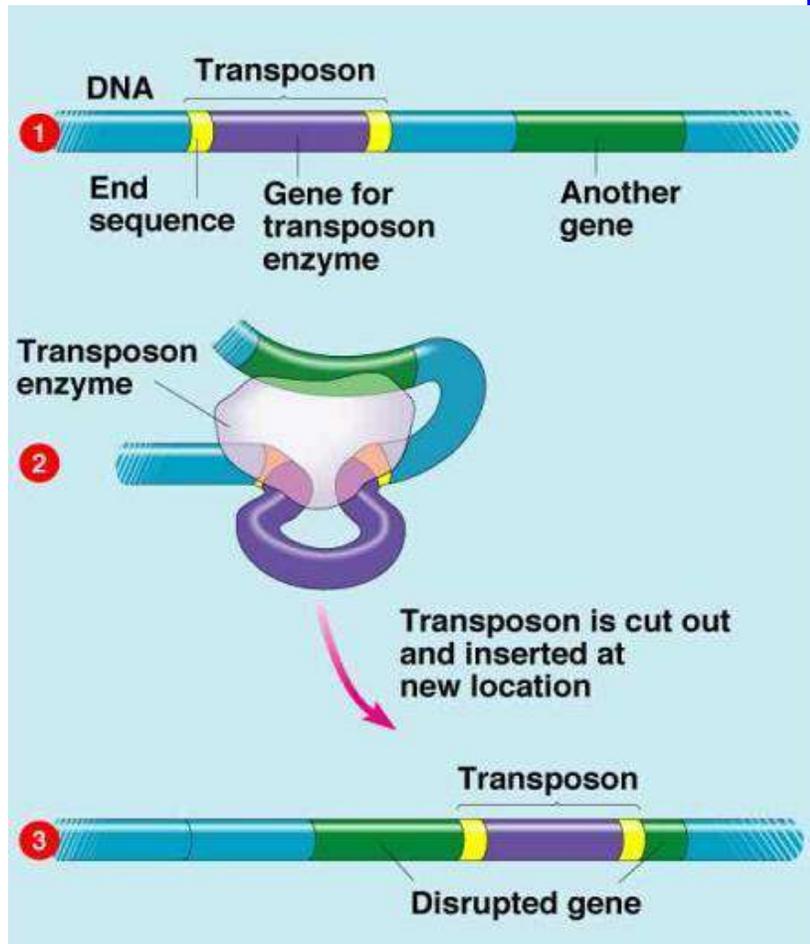
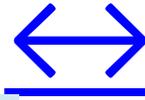
Cette classe de mutation peut résulter d'erreurs dans la réplication d'ADN ou de l'action d'éléments mobiles, comme les transposons. ↔

- Tout agent qui endommage directement l'ADN, modifie sa chimie ou interfère en quelque façon avec son fonctionnement, induira des mutations.

Ces agents dits 'mutagènes' augmentent la fréquence des mutations ($3 \cdot 10^{-4}$).

Ils peuvent être physiques (lumière UV, rayons X) ou chimiques (analogue de base: 5-bromouracile ; agent d'intercalation: orange d'acridine). ↔

Transposon



II-2. Caractères des mutations

2. Discontinuité

- La mutation est un **phénomène discontinu** encore appelé du «tout ou rien ».
- 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**.

3. Stabilité

- Dans une population de bactéries sensibles à la streptomycine, quelques cellules sont résistantes.
- La nouvelle propriété acquise est transmise de génération en génération: le mutant résistant à la streptomycine peut être cultivé de multiples fois sur un milieu sans streptomycine en conservant son nouveau caractère.
- On dit que la mutation est un **phénomène héréditaire et stable**.

II-2. Caractères des mutations

4. Rareté

- 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.
- On définit ce phénomène par le **taux de mutation**, qui est la **probabilité pour une bactérie de muter pendant le temps d'une génération.**

Le taux de mutation est de l'ordre de 10^{-6} à 10^{-9} .

- Le taux de mutation ne doit pas être confondu avec la **fréquence des mutants**, qui est la **proportion de mutants trouvés dans une culture à un moment donné.**

II-2. Caractères des mutations

5. Spécificité et indépendance

- En général, les mutations sont **spécifiques** d'un caractère déterminé.
- Cependant, elles sont **indépendantes**, c'est-à-dire qu'une mutation ne modifie pas l'aptitude d'une bactérie à subir une autre mutation affectant un autre caractère.

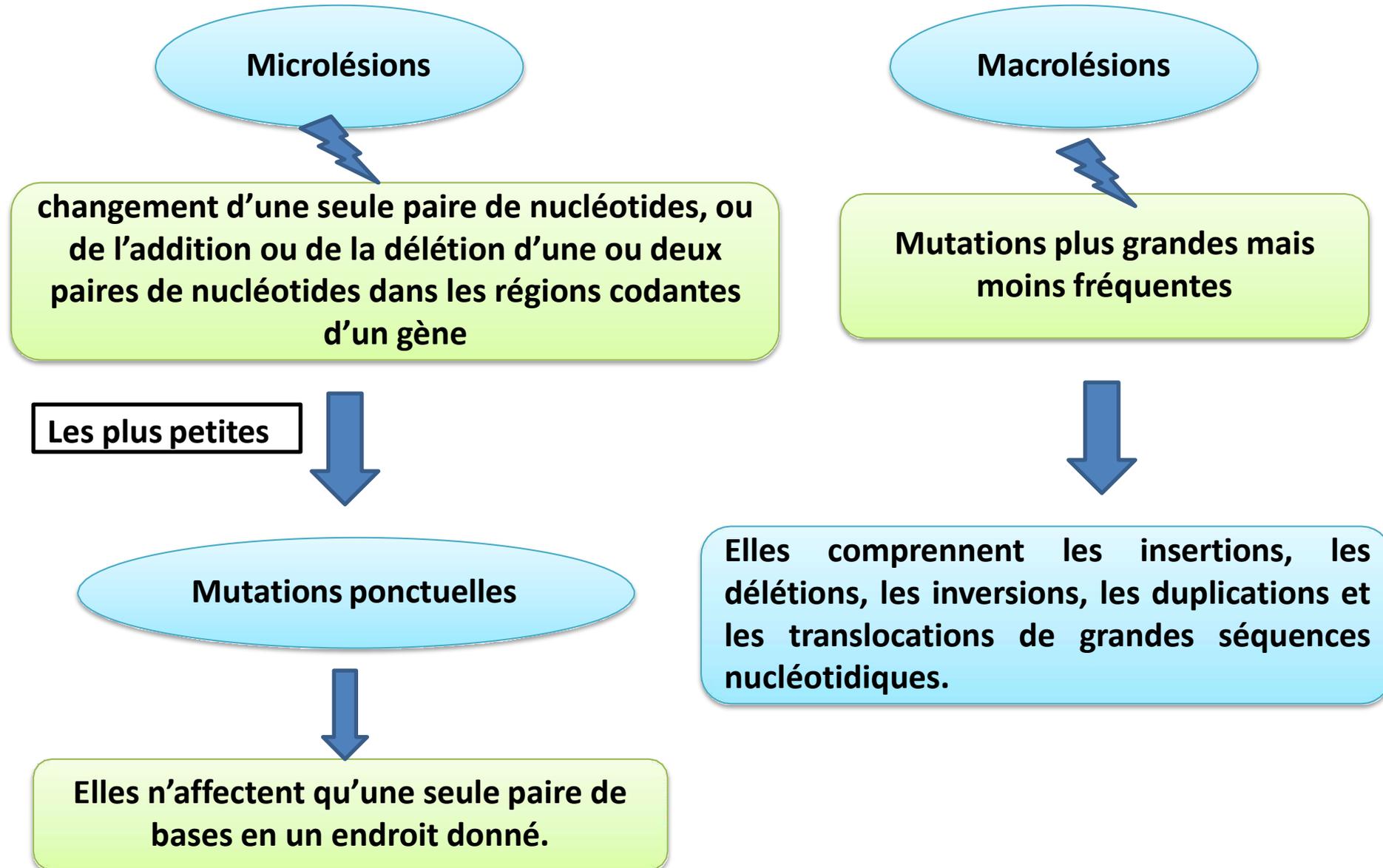
- **Exemple**: *Escherichia coli* : lac⁺ his⁺

Mutation lac⁺ --> lac⁻ ; taux= 10⁻⁷

Mutation his⁺ --> his⁻ ; taux= 10⁻⁶

Probabilité d'avoir une **double mutation** lac⁺his⁺ --> **lac⁻his⁻**
10⁻⁷ x 10⁻⁶ = 10⁻¹³

II-3. Types des mutations



II-3. Types des mutations

A- Mutations ponctuelles

.1. Microdélétion : Il s'agit de la **perte** d'une paire de bases.

2. Microinsertion (Microaddition) : Il s'agit du **gain** d'une paire de bases.

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 (A, T) par une purine ou d'une pyrimidine (C, G) par une pyrimidine.

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

II-3. Types des mutations

B. Macrolésions

- Il s'agit de mutations qui affectent une séquence de bases.

On distingue plusieurs catégories:

1. 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.

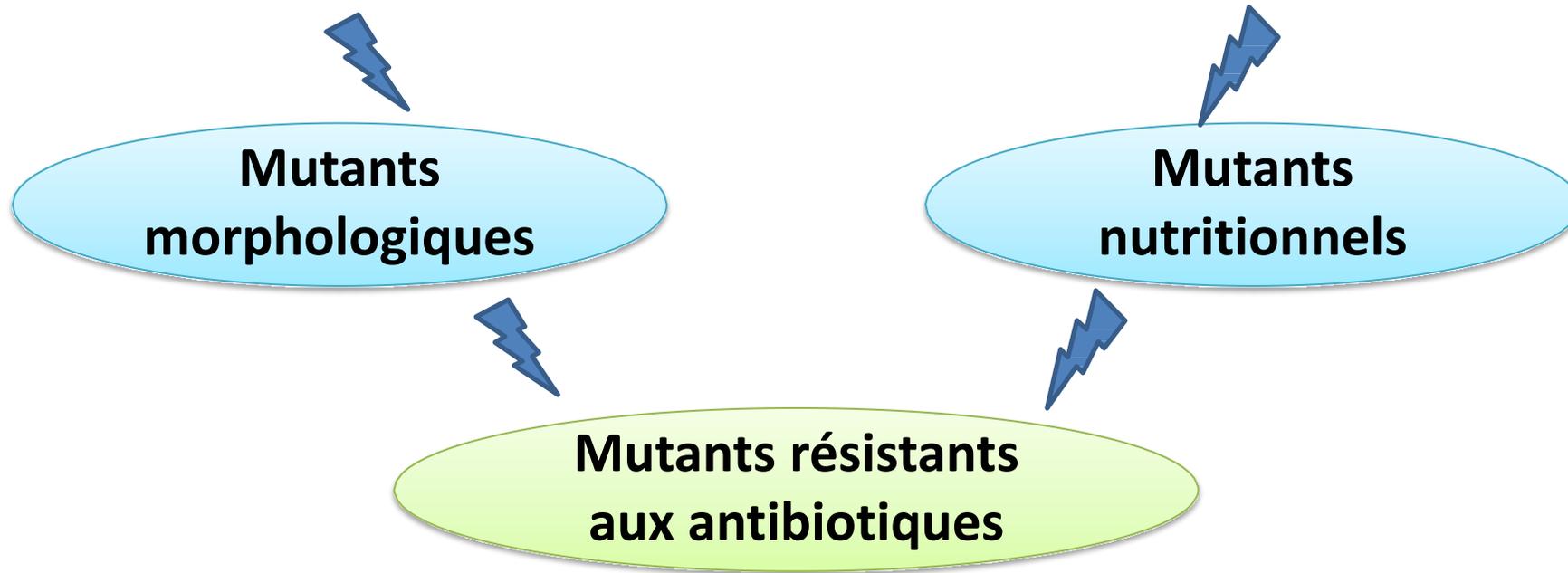
2. Duplication : un segment d'ADN est présent en double.

3. Délétion : perte d'un fragment

l'ADN

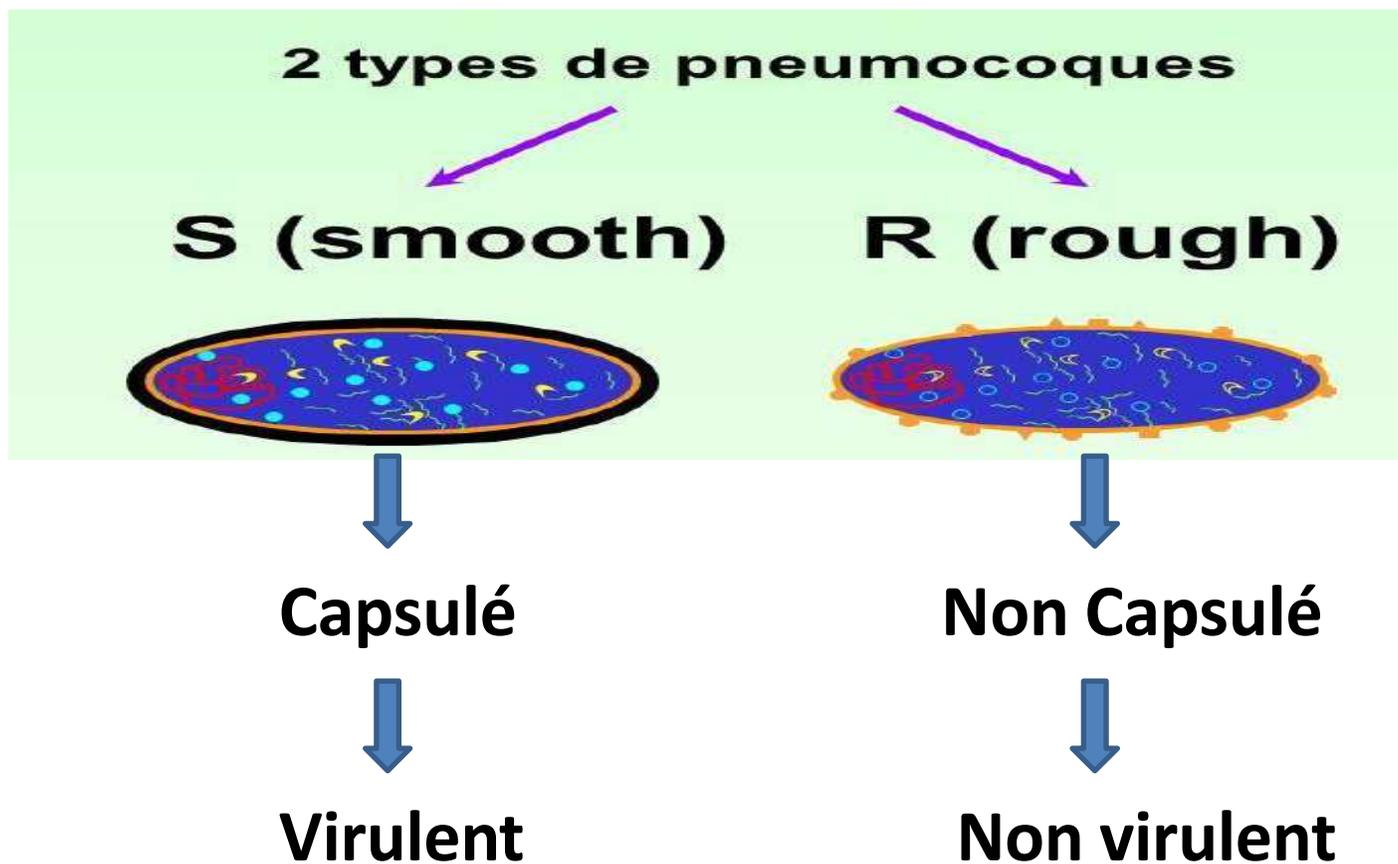
II-2. Types de mutants

Les mutants sont des cellules différentes du type sauvage par un ou plusieurs caractères permettant leur sélection



II.2.a. Mutants morphologiques

- Les changements intéressent les **capsules**, **flagelles**, la **paroi**, les **pilli**, les **cils**, les **dimensions de la cellule**, etc.
- Exemple : le pneumocoque capsulé S est virulent. Un mutant de pneumocoque non capsulé de type R perd sa virulence;



II.2.b. Mutants nutritionnels

- ❏ Ce sont des mutants qui acquièrent ou perdent un caractère biochimique (fermentation d'un sucre, dégradation d'un acide aminé, etc.)[↔](#).
- ❏ Les mutants auxotrophes forment un des groupes les plus étudiés. Ces mutants dits déficients, exigent la présence dans le milieu de culture d'un ou plusieurs facteurs de croissance que n'exigent pas leurs parents, les prototrophes.

II.2.b. Mutants nutritionnels

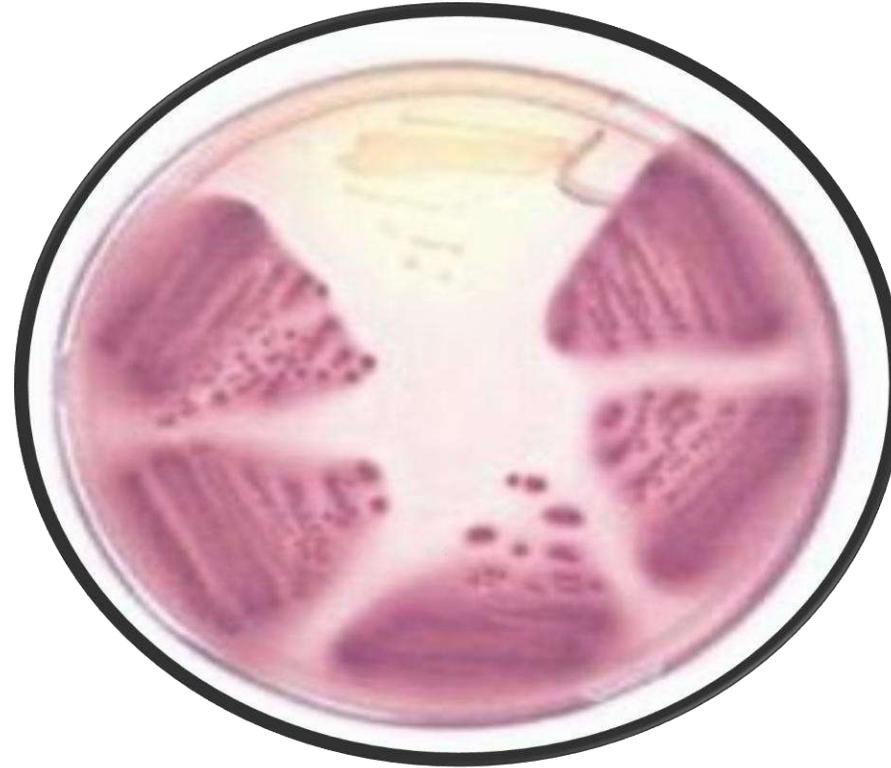


Figure **II.2.b** : des bactéries de **type sauvage** capables d'utiliser du lactose comme source d'énergie (lac^+) se colorent en rouge en présence du colorant indicateur. Les cellules non colorées sont des **mutants (auxotrophes)** incapables de métaboliser le lactose (lac^-).↔

Les types sauvages et les mutants



Les bactéries de type sauvage sont **prototrophes**: elles peuvent former des colonies sur un **milieu minimum**, un substrat qui ne contient que des sels inorganiques, une source de carbone pour l'énergie et de l'eau. Les clones (individus d'une colonie descendant tous d'un ancêtre génétique commun) mutants peuvent être identifiés parce qu'ils sont **auxotrophes**: ils ne poussent pas tant que le milieu ne contient pas un ou plusieurs nutriments spécifiques. De plus, les organismes de **type sauvage** sont sensibles à certains inhibiteurs tels que la streptomycine, tandis que des **mutants** résistants peuvent former des colonies malgré la présence de substances inhibitrices.

7-1 TABLE Some Genotypic Symbols Used in Bacterial Genetics

Symbol	Character or phenotype associated with symbol
<i>bio</i> ⁻	Requires biotin added as a supplement to minimal medium
<i>arg</i> ⁻	Requires arginine added as a supplement to minimal medium
<i>met</i> ⁻	Requires methionine added as a supplement to minimal medium
<i>lac</i> ⁻	Cannot utilize lactose as a carbon source
<i>gal</i> ⁻	Cannot utilize galactose as a carbon source
<i>str</i> ^r	Resistant to the antibiotic streptomycin
<i>str</i> ^s	Sensitive to the antibiotic streptomycin

Note: Minimal medium is the basic synthetic medium for bacterial growth without nutrient supplements.

II.2.b. Mutants nutritionnels

Tableau 1: quelques symboles génétiques utilisés en génétique bactérienne

Symbole	Caractère ou phénotype associé au symbole
<i>bio</i> ⁻	A besoin de biotine en plus du milieu minimum
<i>arg</i>	A besoin d'arginine en plus du milieu minimum
<i>met</i>	A besoin de méthionine en plus du milieu minimum
<i>lac</i> ⁻	Ne peut utiliser le lactose comme source de carbone
<i>gal</i> ⁻	Ne peut utiliser le galactose comme source de carbone
<i>str</i> ^r	Résistant à l'antibiotique streptomycine
<i>str</i> ^s	Sensible à l'antibiotique streptomycine

Note: le milieu minimum est le milieu synthétique élémentaire qui permet la croissance des bactéries sans addition de nutriments.

II.2.c. Mutants résistants aux antibiotiques

- Les antibiotiques sont des substances naturelles, synthétiques ou semi-synthétiques qui inhibent (effet bactériostatique) ou tuent (effet bactéricide) les bactéries.

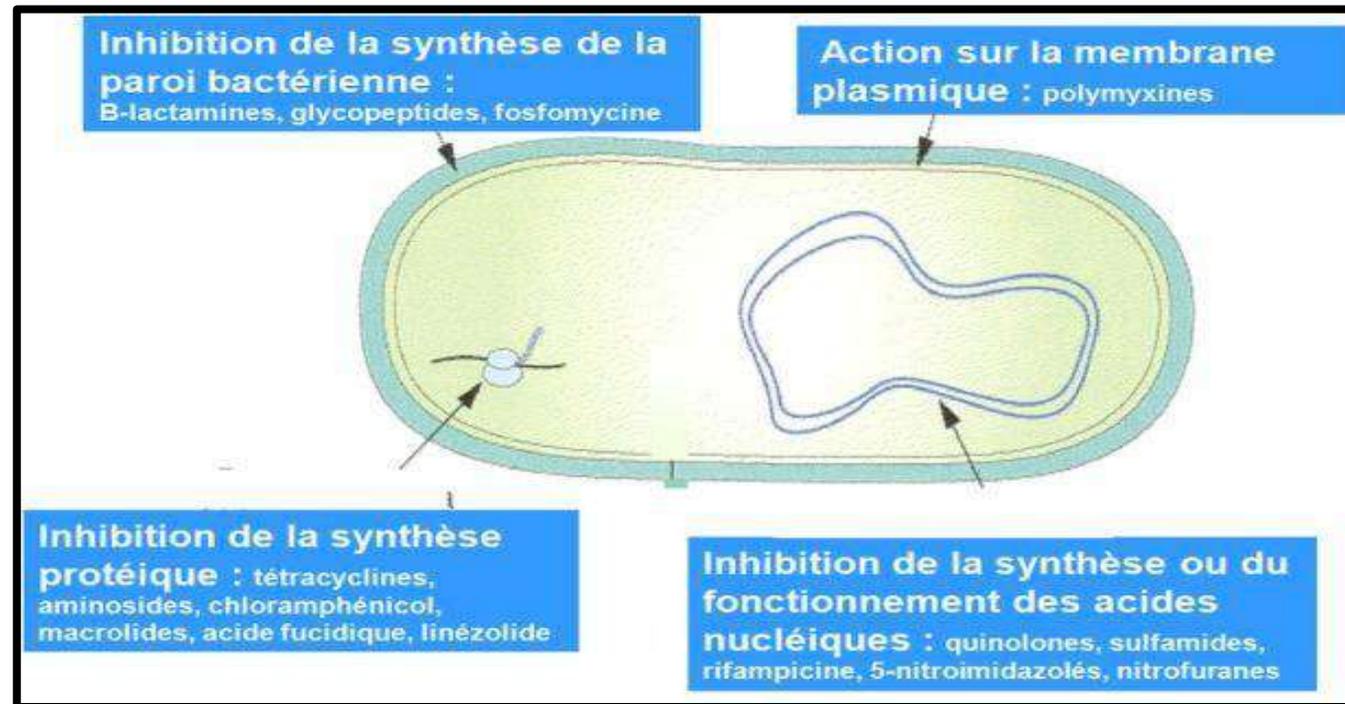


Figure II.2.c : Modes d'action des antibiotiques

II.2.c. Mutants résistants aux antibiotiques

Bactéries deviennent résistantes aux antibiotiques

Mutations
chromosomiques

Acquisition de nvx gènes lors de
transferts génétiques

1. En devenant imperméables à l'antibiotique ;
2. En modifiant le site d'attachement de l'antibiotique (ex: au niveau des ribosomes).
3. Par exportation active grâce à des transporteurs membranaires appelés pompes d'efflux.
4. Par synthèse d'enzymes dégradant l'antibiotique (ex.: β -lactamases) ou le modifiant, le rendant ainsi inactif (ex: acétylases ou glycosylases).

II.2.c. Mutants résistants aux antibiotiques

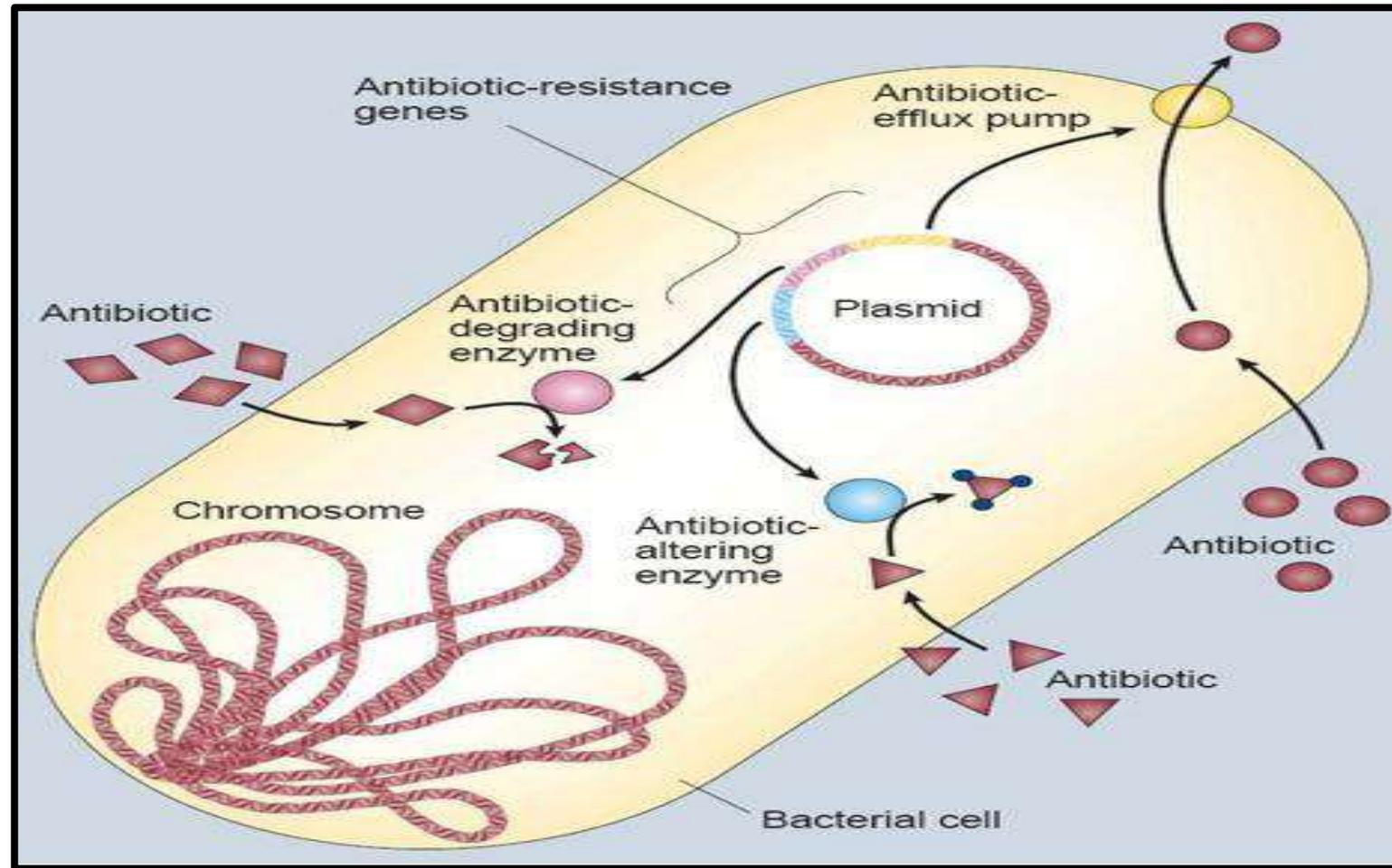


Figure II.2.c : mécanismes de résistance aux antibiotiques

III. Variations génétiques par transfert de matériel génétique

III. Variations génétiques par transfert de matériel

génétique ↔

- Trois principaux mécanismes d'échange génétiques chez les bactéries:

1. Transformation

Bactérie + ADN libre

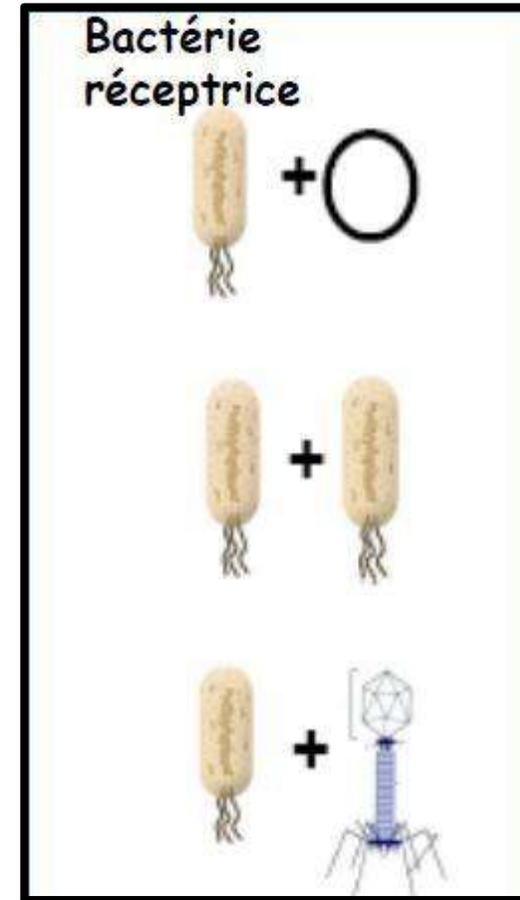
2. Conjugaison

Bactérie + Bactérie

3. Transduction

Bactérie + Bactériophage

- **Exogénote**: matériel génétique transféré
- **Endogénote**: matériel génétique propre



III. 1. Transformation

III.1.a. Définition

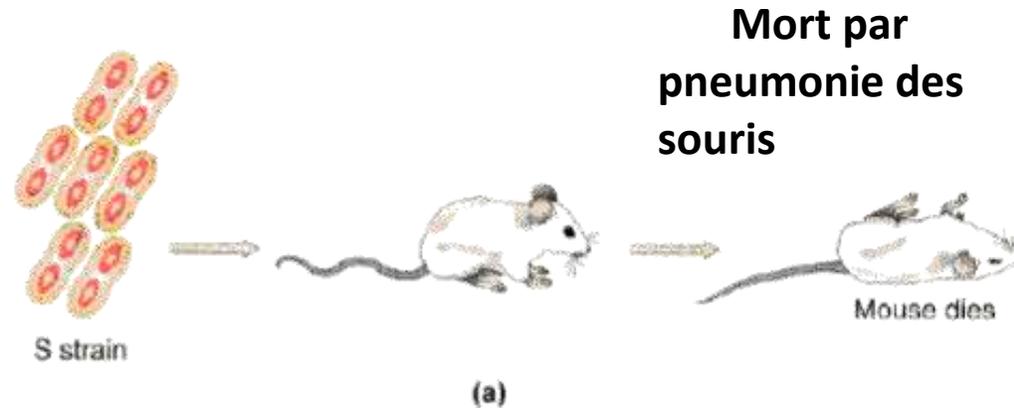
- Transfert génétique au cours duquel **un fragment d'ADN bicaténaire, libre et nu** est **capté** par une **bactérie réceptrice compétente** avant d'être éventuellement **intégré au chromosome.**



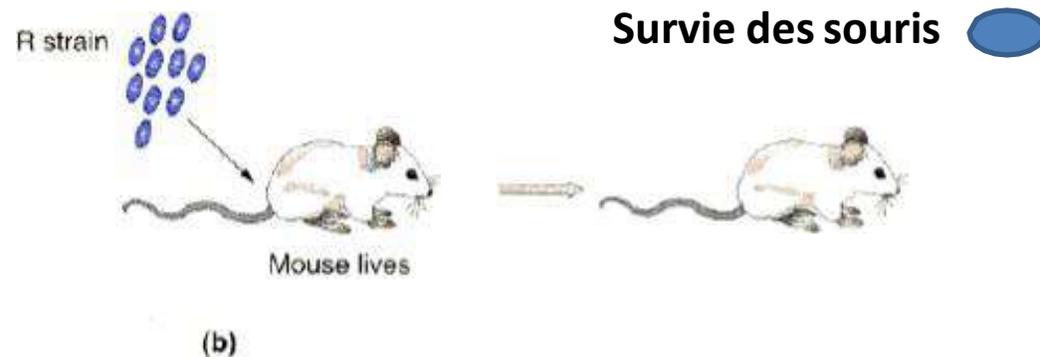
III.1.b. Découverte de la transformation

En 1928, Griffith ⇒ travaille sur le **transfert** de la **virulence de la bactérie** pathogène *Streptococcus pneumoniae*.

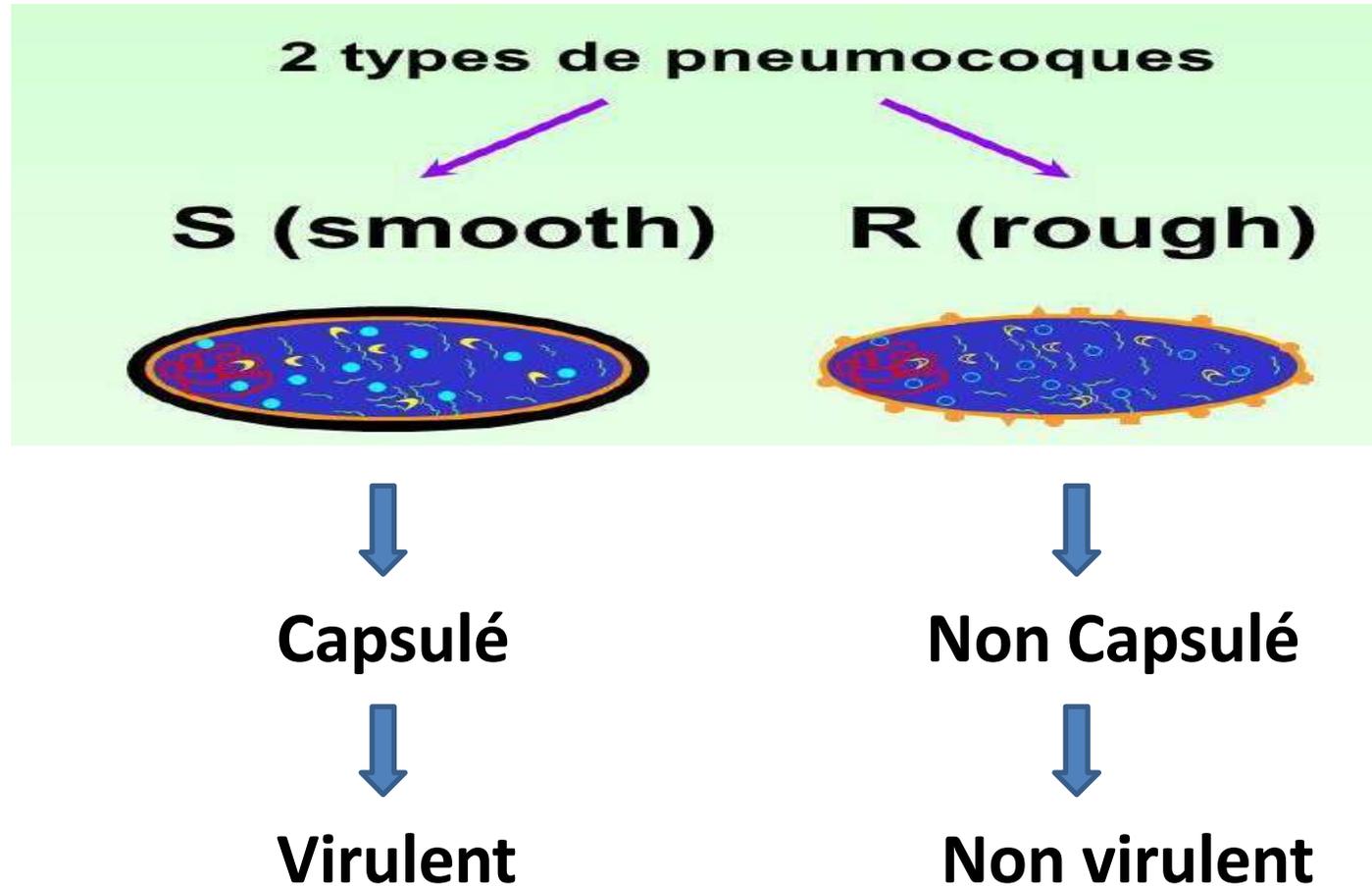
Injection de pneumocoques de souche **S virulentes capsulées** et qui forment des colonies d'**aspect lisse** dites « **Smooth** »



Injection de pneumocoques de souche **R non virulentes** dépourvues de capsule et qui forment des colonies d'**aspect rugueux** dites « **Rough** »



le pneumocoque capsulé S est virulent. Un mutant de pneumocoque non capsulé de type R perd sa virulence; ●

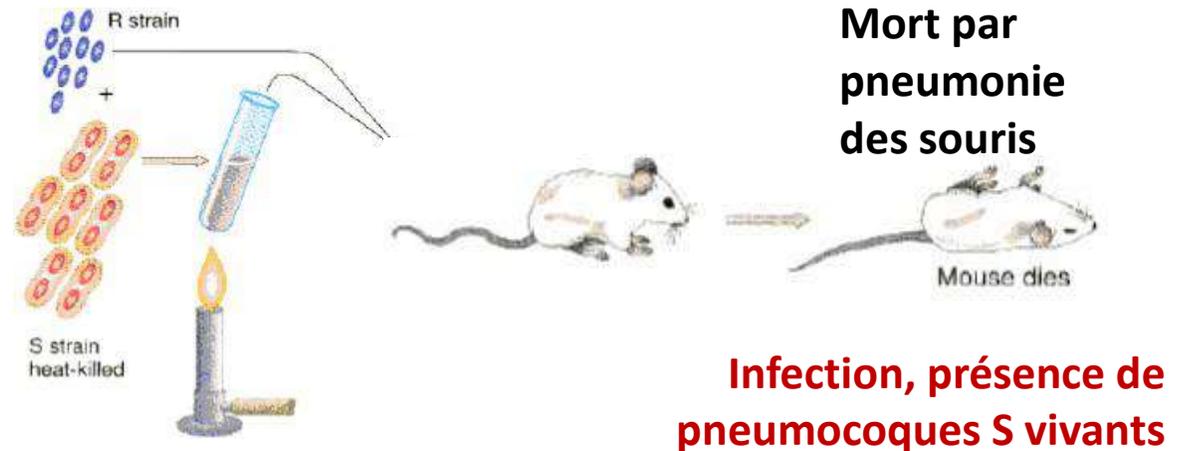


III.1.b. Découverte de la transformation

injection de pneumocoques de souche **S tués par la chaleur**



injection de pneumocoques de souche **S tués par la chaleur** et de souche **R vivantes non virulentes dépourvues de capsule**



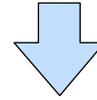
Griffith donna le nom de transformation à ce changement de bactéries non virulentes en bactéries virulentes pathogènes.

Quel est l'agent responsable de cette transformation??

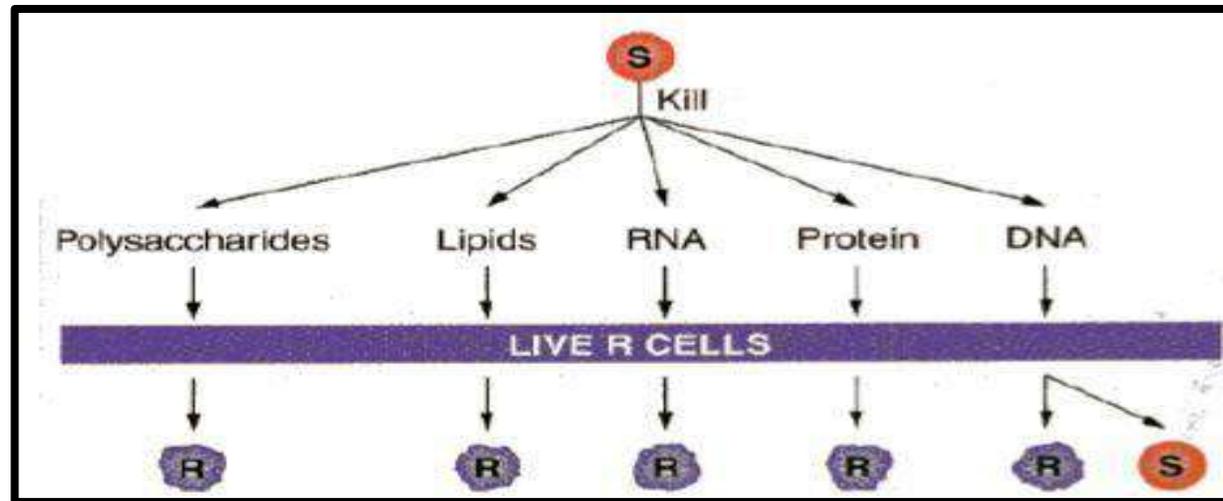
III.1.c. Découverte du Principe transformant

Par la suite, **Avery** et **MacCarty** ⇒ identifient le constituant responsable de la transformation et l'appela « principe transformant »

1.préparation d'extraits de pneumocoques virulents



2.mélange des pneumocoques R non virulents avec les extraits traités et observation



- Seul l'ADN est capable de changer les cellules R en cellules S
- L'ADN est donc le porteur de l'information génétique requise pour la transformation ou conversion du caractère R en S.
- Le « principe transformant » est constitué d'ADN

III.1.d. Conditions de la transformation

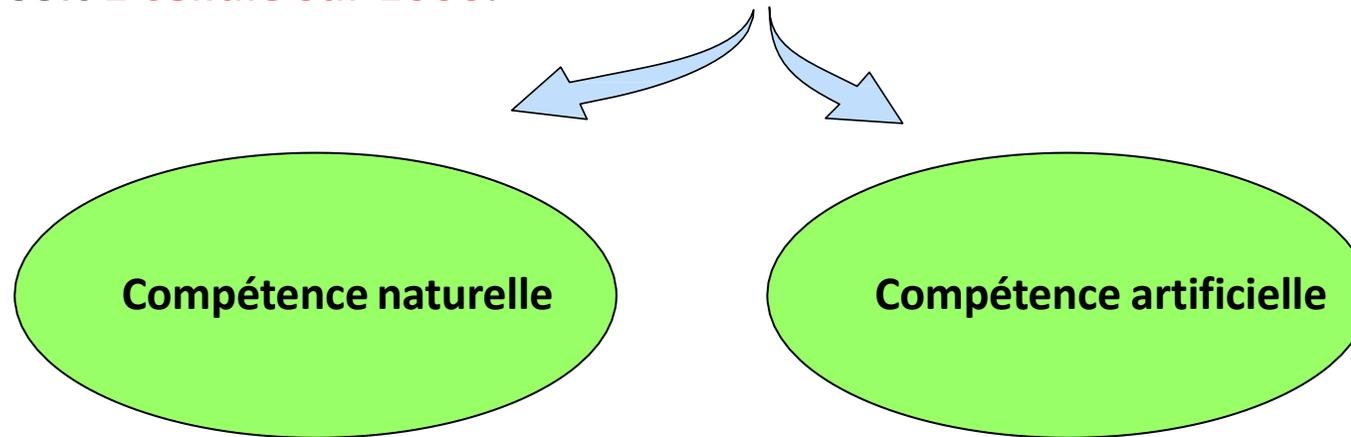
la transformation dépend :

- ✚ 1) d'une part des bactéries et de leur aptitude à recevoir de l'ADN :
notion de compétence;
- ✚ 2) d'autre part de l'ADN transformant et de ses propriétés.

III.1.d. Conditions de la transformation

1. Développement de la compétence de la cellule réceptrice

- ❖ L'ADN ne peut pénétrer que dans des cellules dites **compétentes**.
- ❖ L'acquisition de la compétence se produit à une **fréquence faible** de l'ordre de 10^{-3} soit **1 cellule sur 1000**.



Compétence naturelle

Bactéries naturellement
compétentes

Bacillus subtilis, Gram +
Streptococcus spp, Gram +
Haemophilus influenzae, Gram -
Neisseria spp, Gram-

Elles ont la capacité de capturer l'ADN libre présent dans l'environnement.

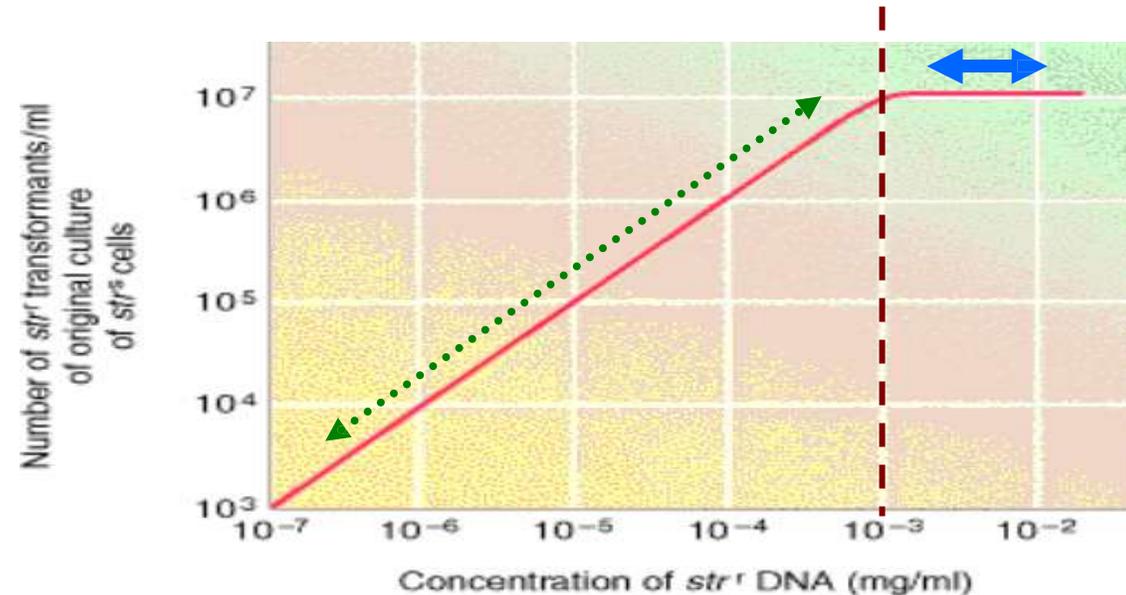
⇒ Chaque espèce se transforme selon des procédés particuliers :

ex: le pneumocoque exige de l'albumine et un pH de 7,6

III.1.d. Conditions de la transformation

2. Les propriétés de l'ADN transformant

- Il doit être **bicaténaire** : double brin, **libre** et **nu**.
- Sa **taille et sa concentration jouent un rôle important** (1/300ème du génome)



- ❑ Le nombre de bactéries transformées augmente proportionnellement à la quantité d'ADN jusqu'à une **concentration de 10^{-3} mg/mL**, puis, au delà, on passe un **seuil de saturation**.
- ❑ Les cellules n'incorporent donc qu'un nombre limité de particules transformantes.

III.1.e. Etapes de la transformation

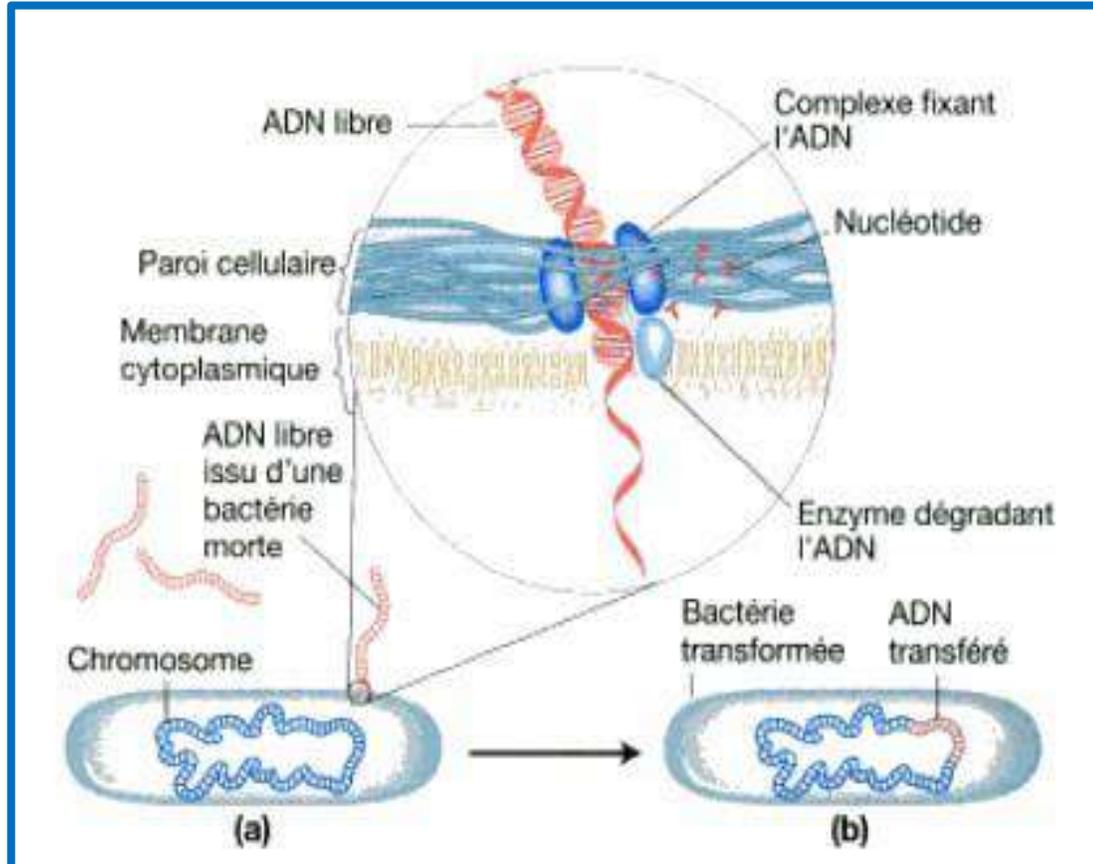


Figure III.2: une bactérie au cours de la transformation

1. Apparition de l'état de compétence;
2. Fixation de l'ADN à la surface de la bactérie;
3. Pénétration de l'ADN dans la bactérie;
4. La phase d'intégration par Recombinaison ??

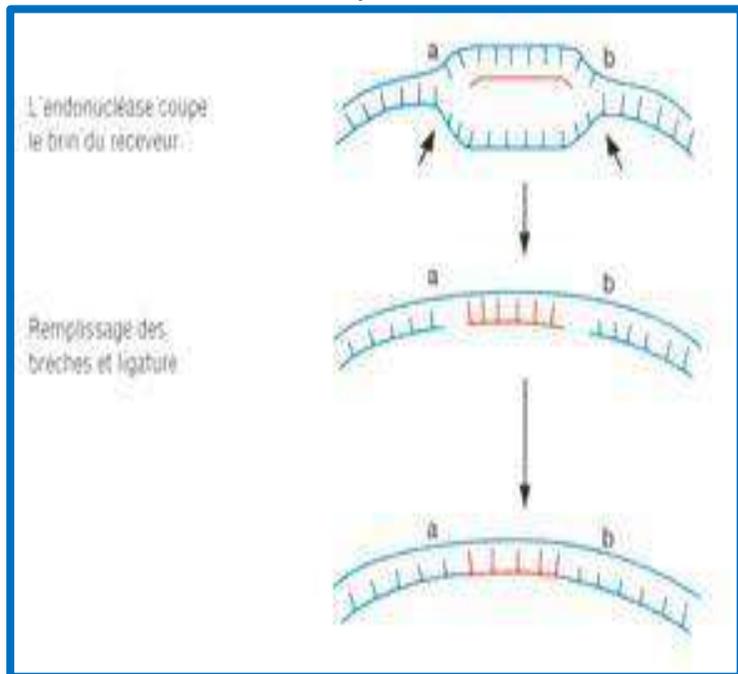
a) absorbe de l'ADN libéré par une bactérie 'morte ou vivante'. Au fur et à mesure de l'entrée de l'ADN au niveau des complexes de fixation à la surface de la bactérie (agrandissement), des enzymes dégradent l'un des brins en nucléotides ; un dérivé de l'autre brin peut être intégré dans le chromosome bactérien (b).

Phase d'intégration par recombinaison

Phase d'éclipse = recherche d'une zone d'intégration au chromosome (séquence similaire)

Si il la trouve : **l'ADN exogène est intégré par recombinaison à l'endogène**

Si il ne la trouve pas : **l'ADN est détruit ou bien dilué** au cours des divisions cellulaires ultérieures : **transformation avortée**

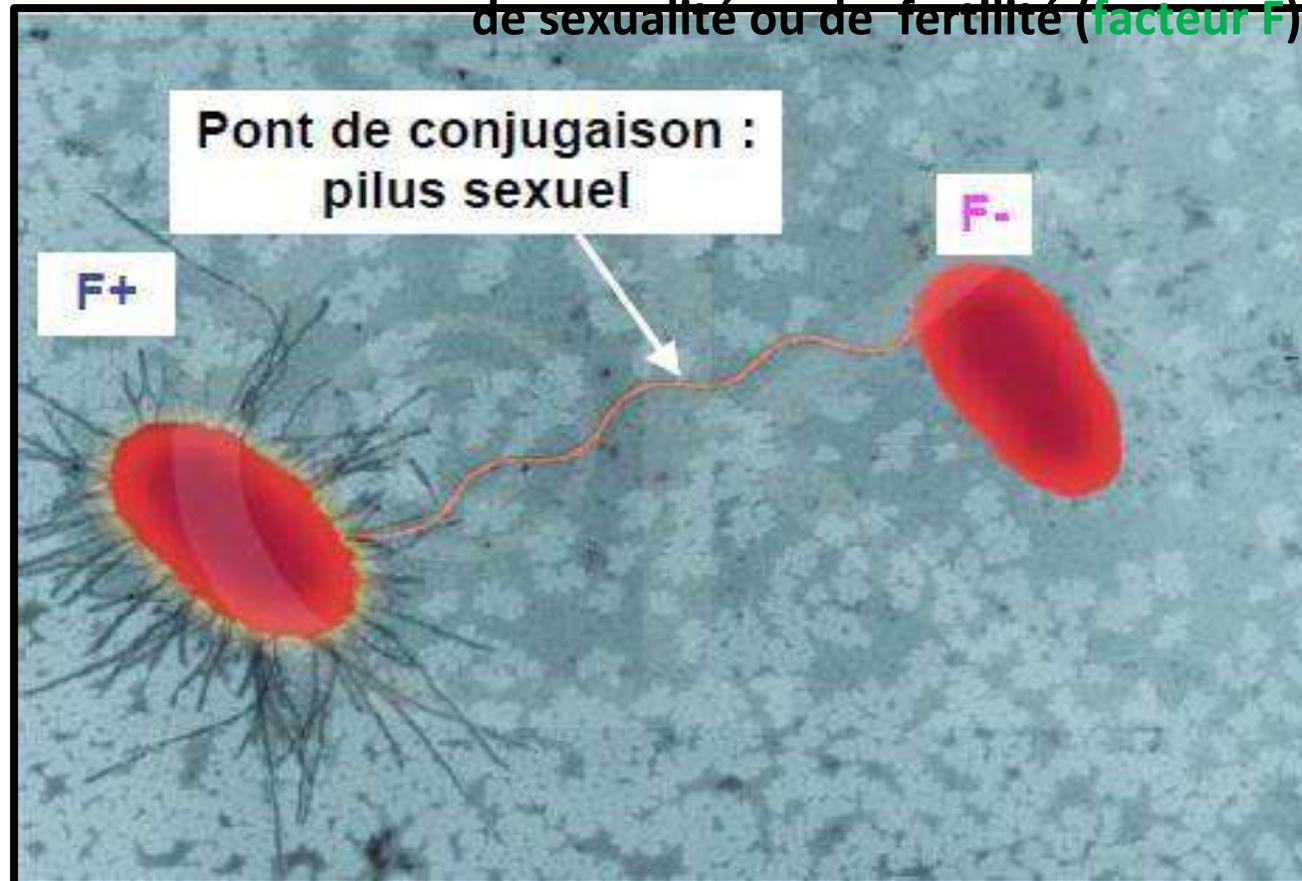


La transformation peut alors se traduire par la **modification d'un caractère de la bactérie réceptrice.**

III. 2. Conjugaison

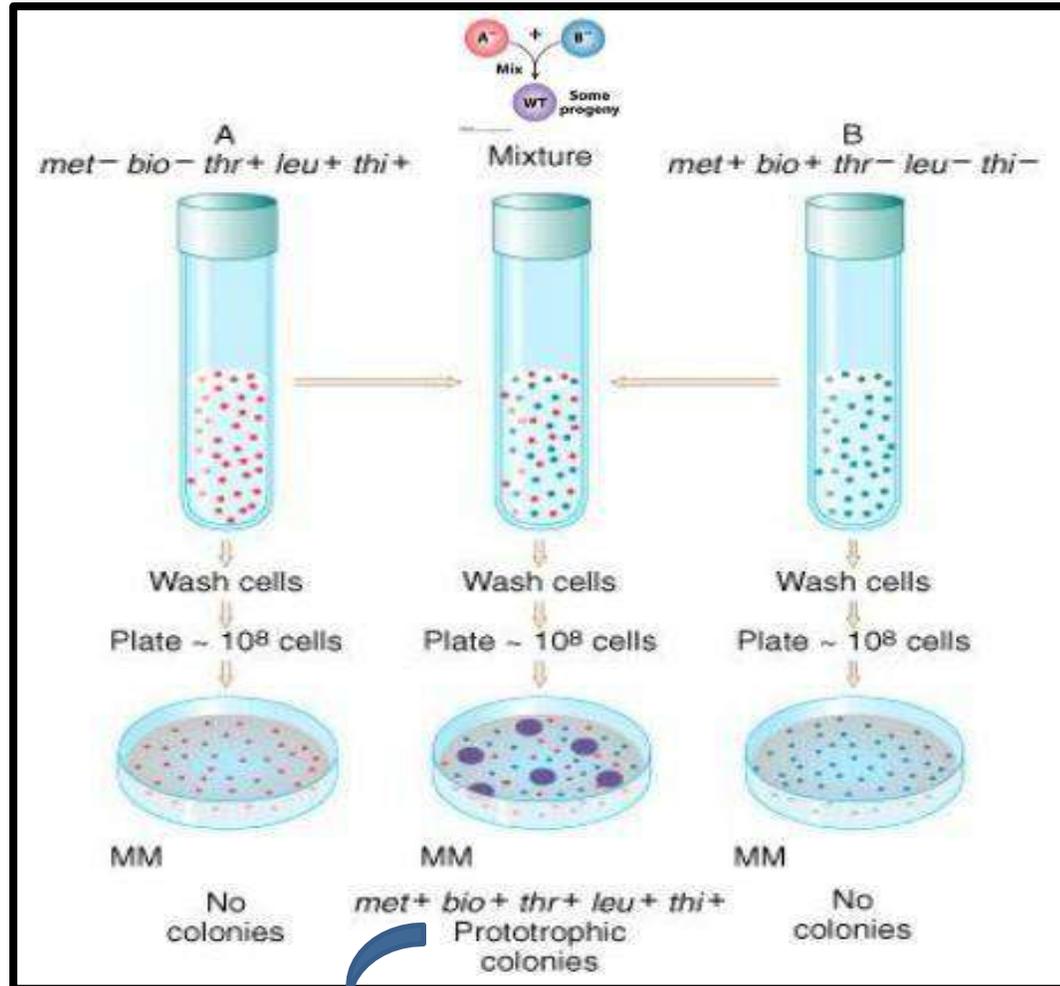
III.2.a. Définition

La conjugaison est un transfert d'ADN entre une bactérie donatrice et une bactérie réceptrice, qui nécessite le contact et l'appariement entre les bactéries, et repose sur la présence dans la bactérie donatrice ou mâle d'un facteur de sexualité ou de fertilité (**facteur F**).



III.2.b. Mise en évidence de la conjugaison

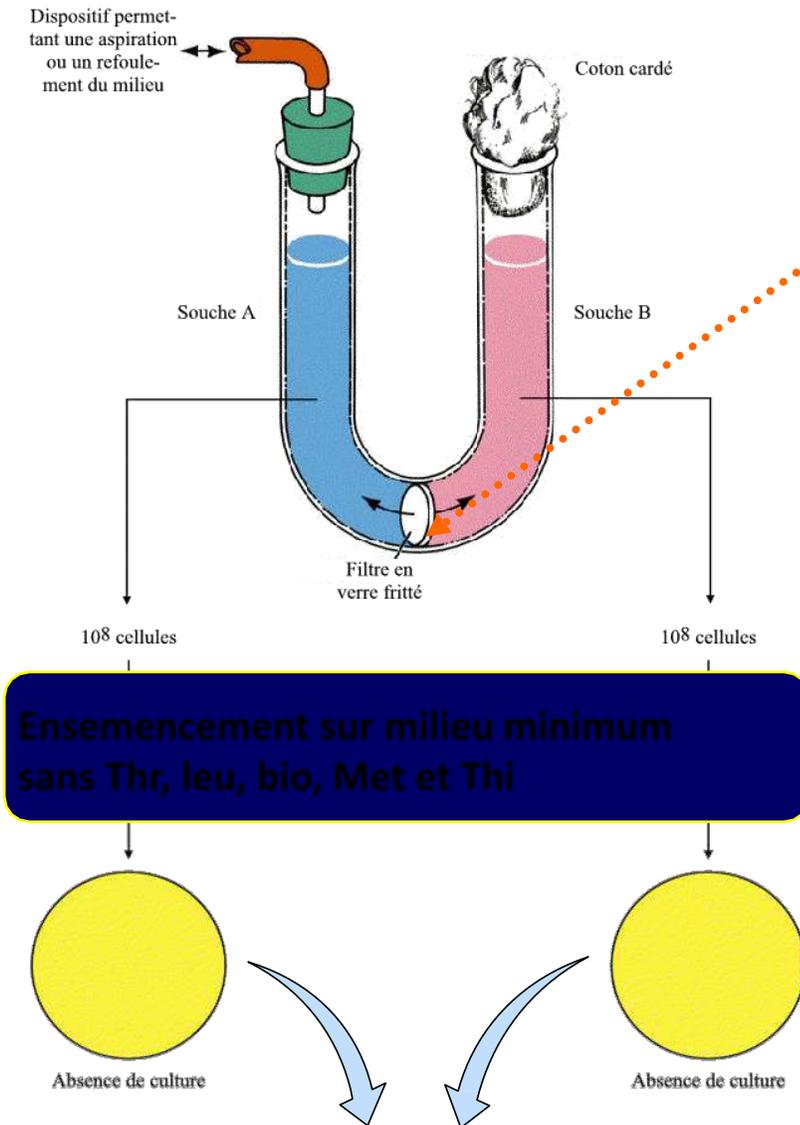
En 1946, Lederberg et Tatum \Rightarrow mènent une expérience sur 2 souches mutantes poly-auxotrophes d'*E.coli* K12



- 1 colonie pour $\cong 10^8$ bactéries ensemencées \Rightarrow pas du à une mutation spontanée ;
- Il y a eu un transfert de matériel génétique entre les deux souches et recombinaison entre les gènes parentaux.

Recombinants

Bernard Davis ⇒ a utilisé : l'expérience du tube en U



un tube en U séparé à la base par une **membrane en verre poreuse** (0.22µm)

empêche un contact direct entre les souches
laisse passer les substances solubles (ADN libre, nutriments)

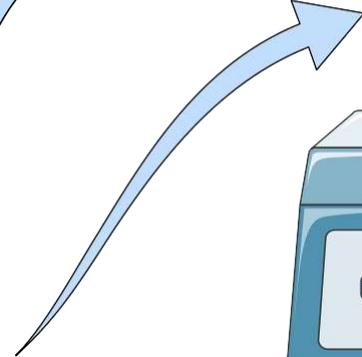
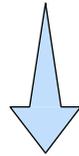
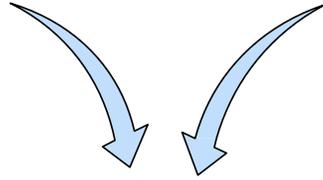
Les souches A et B sont placées chacune dans une branche du tube, puis le milieu est aspiré et refoulé plusieurs fois
Ensemencement sur milieu minimum sans Thr, leu, bio, Met et Thi

Il y a donc **nécessité d'un contact direct entre les souches A et B** pour qu'il y est transfert du **matériel génétique**

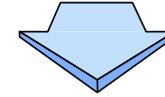
Aucune bactérie prototrophe

souche A

souche B



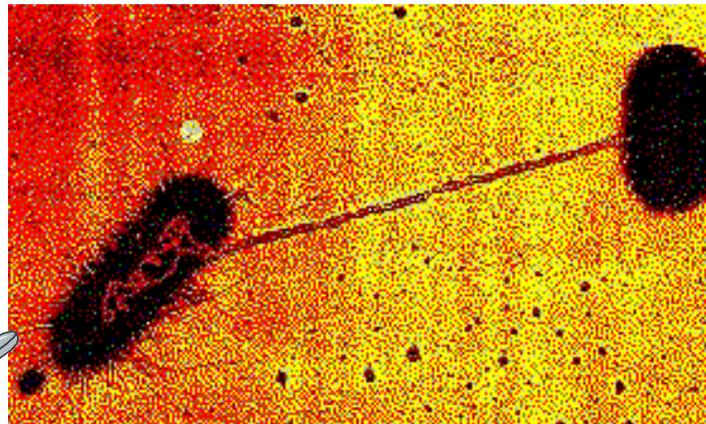
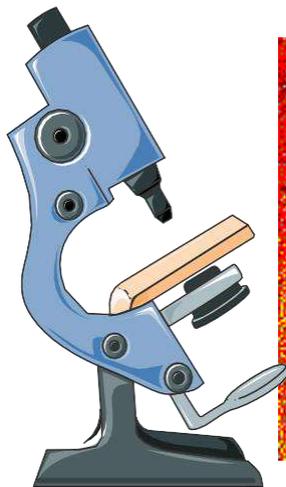
agitation vigoureusement



L'agitation rompt le contact

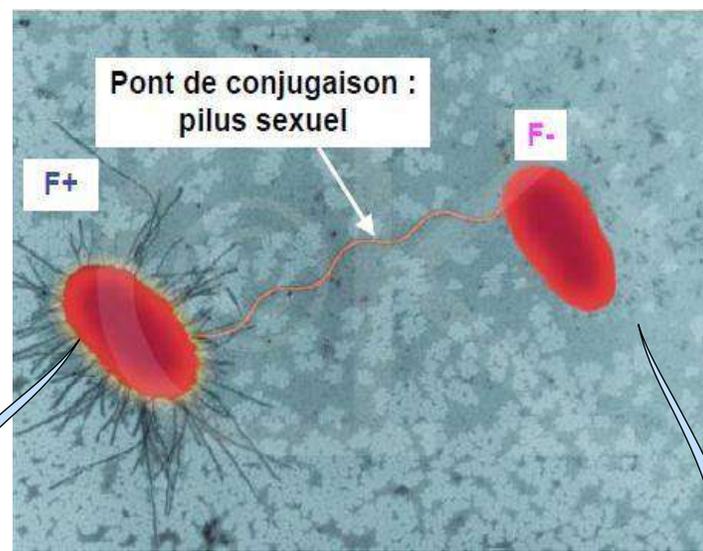
Aucune bactérie prototrophe

Au microscope électronique, on observe le phénomène :



il y a contact direct entre les deux bactéries,

un **pont cytoplasmique** est établi entre les bactéries conjuguantes grâce au **pili sexuel**



bactéries donatrices de gènes = F+
possèdent un **facteur de fertilité**
ou **facteur F (bactérie mâle)**

bactéries réceptrices de gènes = F-
car dépourvues de facteur F (**bactérie**
femelle)

- le transfert génétique est **unidirectionnel** (polarisé); il se fait toujours de F+ vers F-.
- Donc, Les souches parentales F+ et F- n'ont pas le même comportement lors du croisement.
- Elles ne jouent pas le même rôle, d'où la notion d'une **différentiation sexuelle**.

III.2.c. Le facteur F

Le facteur F = gros **plasmide conjugatif** (94 500 pb) qui contrôle :

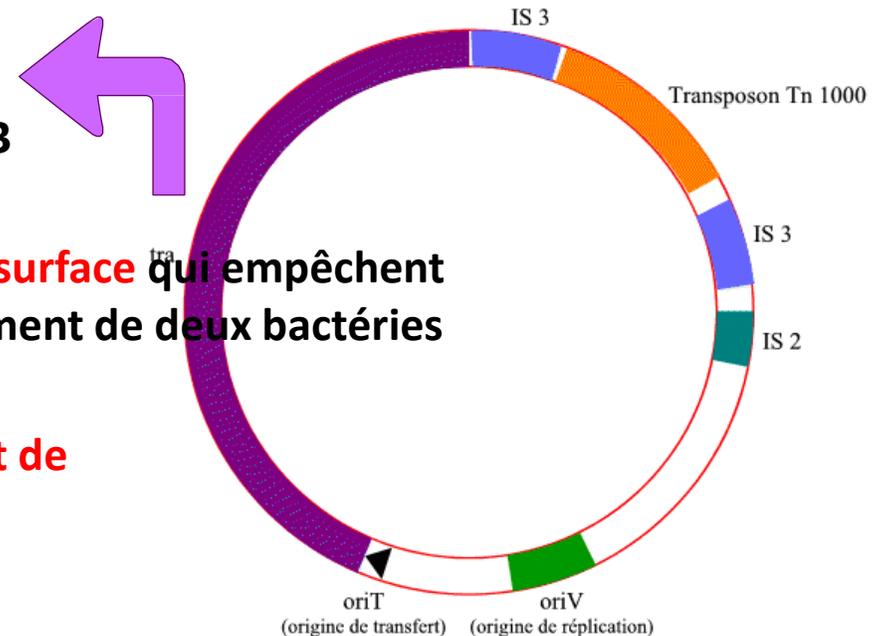
- sa propre **réplication**,
- son **nombre de copies**,
- son **transfert**

Les nombreux gènes gouvernant le transfert sont situés dans l'**opéron tra** :

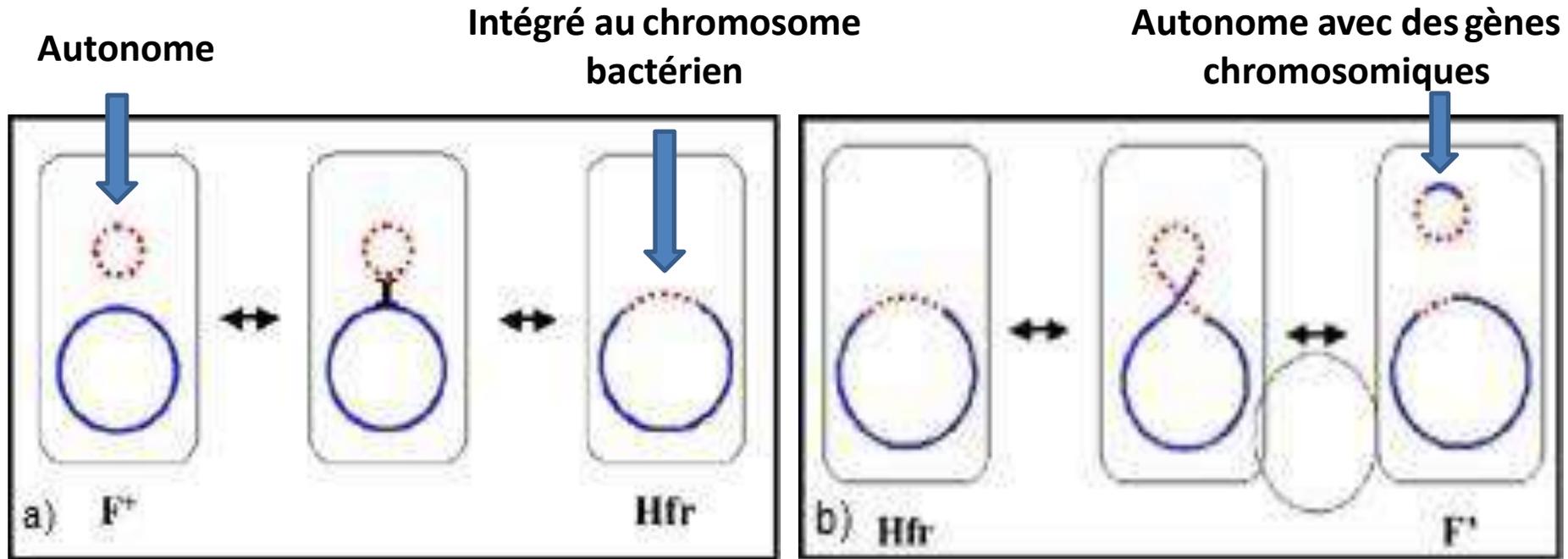
-Des gènes codent la **synthèse de pili sexuels** (2-3 pilis par F+)

-Des gènes codent des **protéines d'exclusion de surface** qui empêchent l'attachement des pili sexuels et donc l'appariement de deux bactéries F+.

-Des gènes permettent la **synthèse et le transfert de l'ADN**.



III.2.d. Etats physiologiques du facteur F



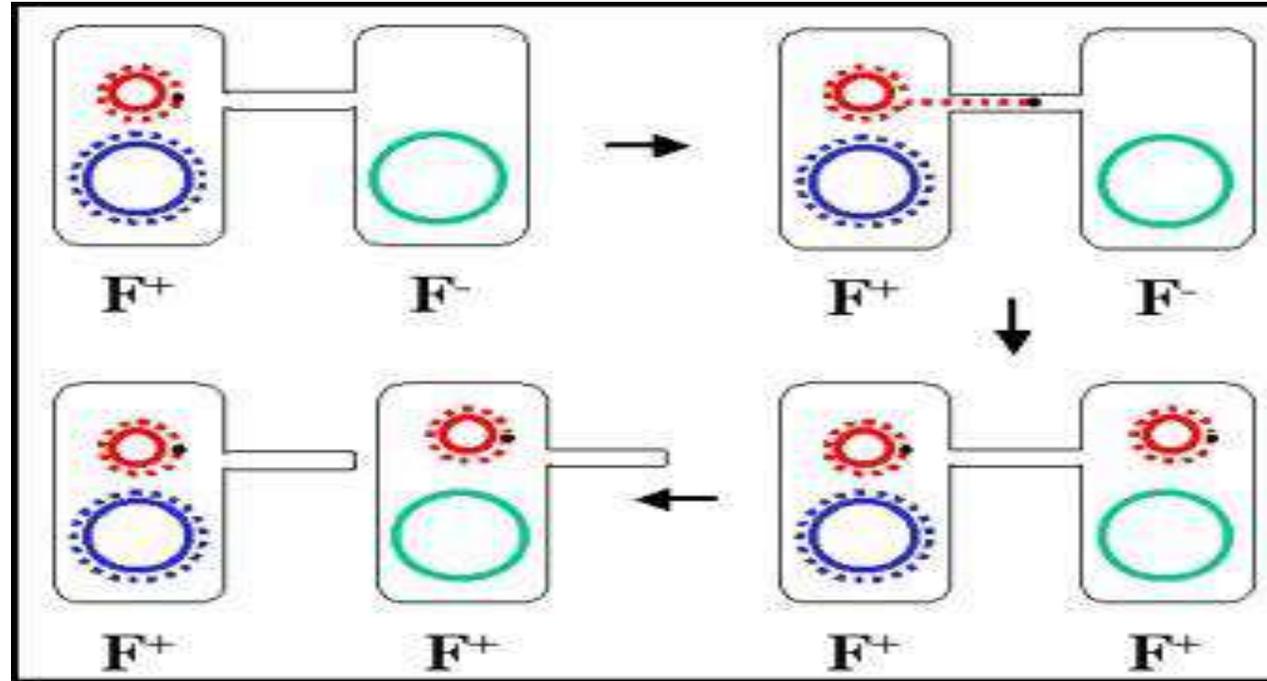
1. Conjugaison entre bactéries F⁺ et F⁻

2. Conjugaison entre bactéries Hfr et F⁻

3. Conjugaison entre bactéries F' et F⁻

1. Conjugaison entre bactéries F+ et F-

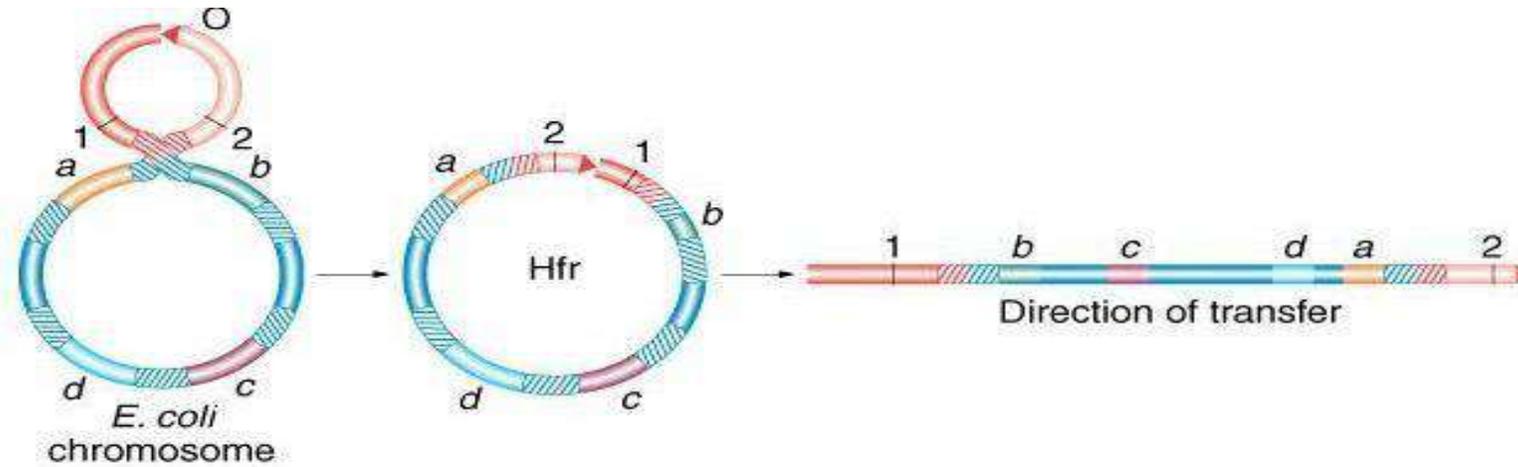
1. Conjugaison entre bactéries F+ et F-



1. Union F+/F- grâce aux **pili sexuels** et création d'un **pont cytoplasmique** Permettant le **transfert de l'ADN**.
2. L'ADN plasmidique est entaillé à un site spécifique appelé origine de transfert et est répliqué par un mécanisme de « cercle roulant ».
3. Un ADN simple brin passe dans le pont de conjugaison et entre dans le receveur où le second brin est synthétisé.
4. Le receveur devient F+, le donneur reste F+ .

2. Conjugaison entre bactéries Hfr et F-

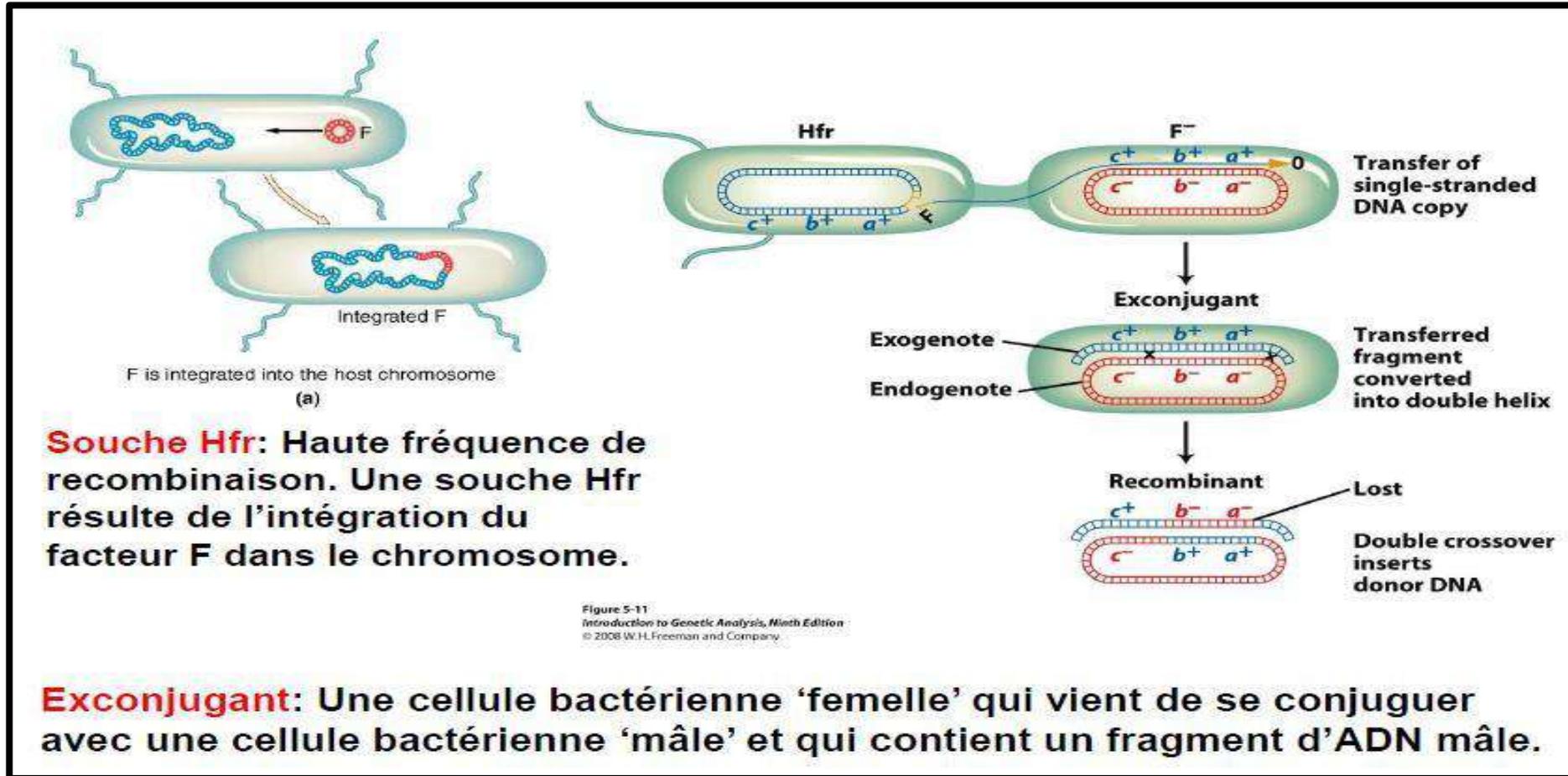
Formation d'une bactérie Hfr



✘ Les bactéries Hfr dérivent de bactéries F+, le **facteur F n'est plus autonome**, il est **intégré au chromosome bactérien**, on parle **d'épisome**.

✘ Hfr pour **Haute fréquence de recombinaison** car elles sont capables de transférer des marqueurs chromosomiques avec une fréquence **1000 fois plus importante**.

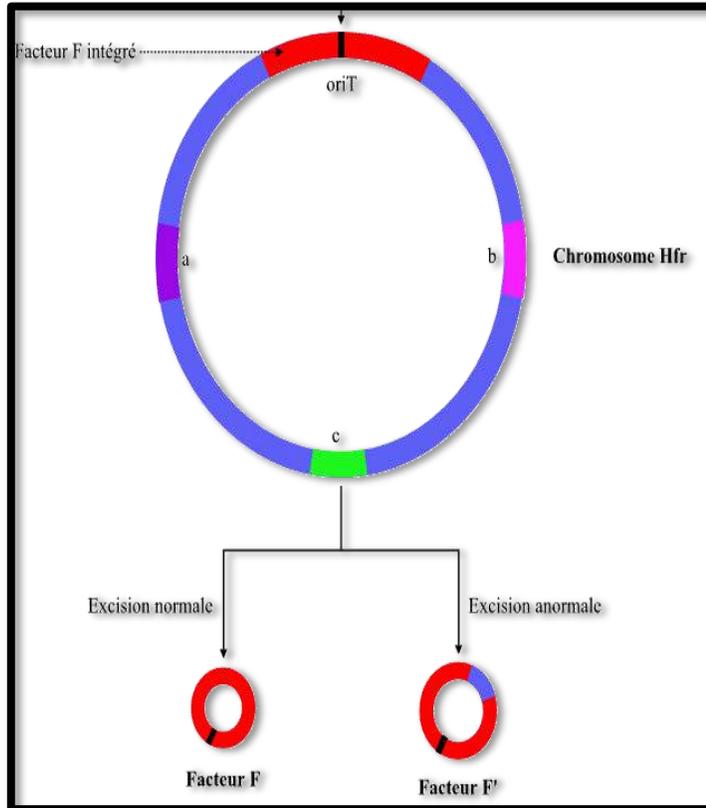
2. Conjugaison entre bactéries Hfr et F- ●



- sans interruption, durée transfert 120 minutes, très rare, interruptions fréquentes.
- Le receveur reste F-, le donneur reste Hfr et il y a une forte fréquence de transfert de gènes chromosomiques du donneur.

3. Conjugaison entre bactéries F' et F-

Le facteur F'



- ◆ Intégration du facteur F dans chromosome = **événement réversible**, le **facteur F peut retrouver son indépendance**.

- ◆ 2 possibilités lors de l'excision :

- Excision correcte

- **Excision incorrecte => le facteur F emporte avec lui une fraction du chromosome**

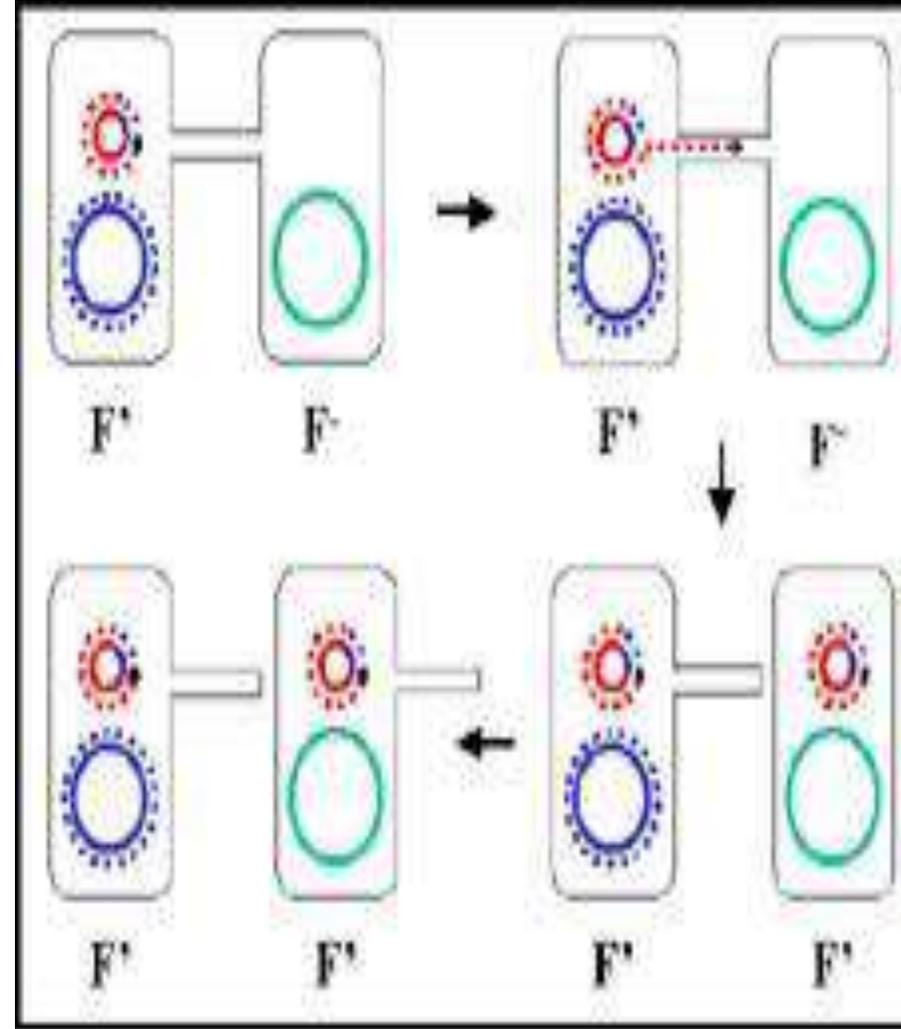
- ◆ Le facteur F possède alors toute **l'information génétique nécessaire à la conjugaison** et en plus, il porte **un ou quelques marqueurs chromosomiques**.

- ◆ Un facteur F ainsi modifié est appelé **facteur sexuel de substitution : F'**.

excision normale ou anormale du facteur F

3. Conjugaison entre bactéries F' et F-

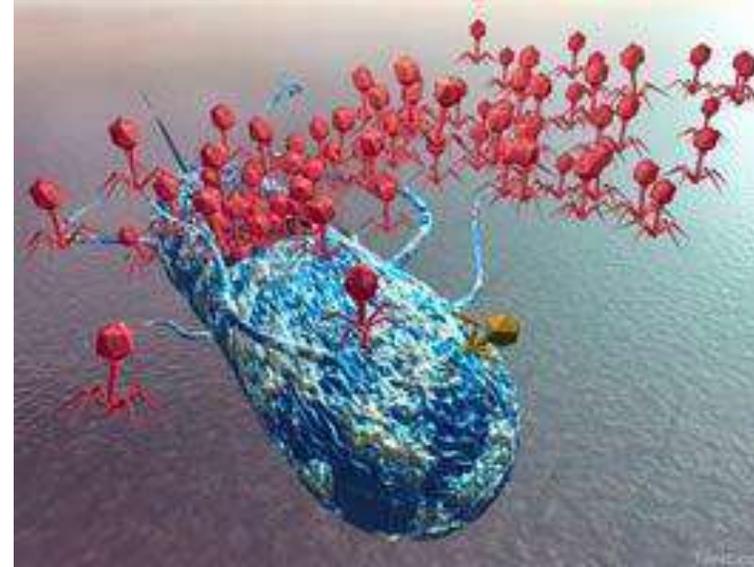
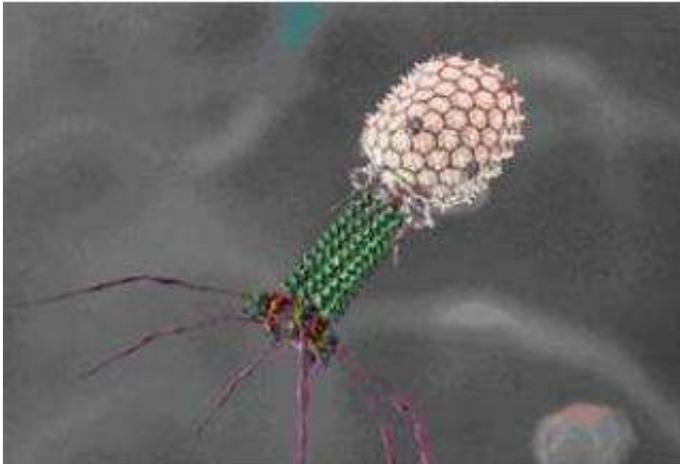
- i) Formation de paire
- ii) Transfert d'ADN : Ce processus est similaire au croisement F+ x F-. Cependant, comme le F' porte quelques gènes chromosomiques ils seront aussi transférés.
- iii) Le F- devient F', le F' reste F'



III.3. Transduction

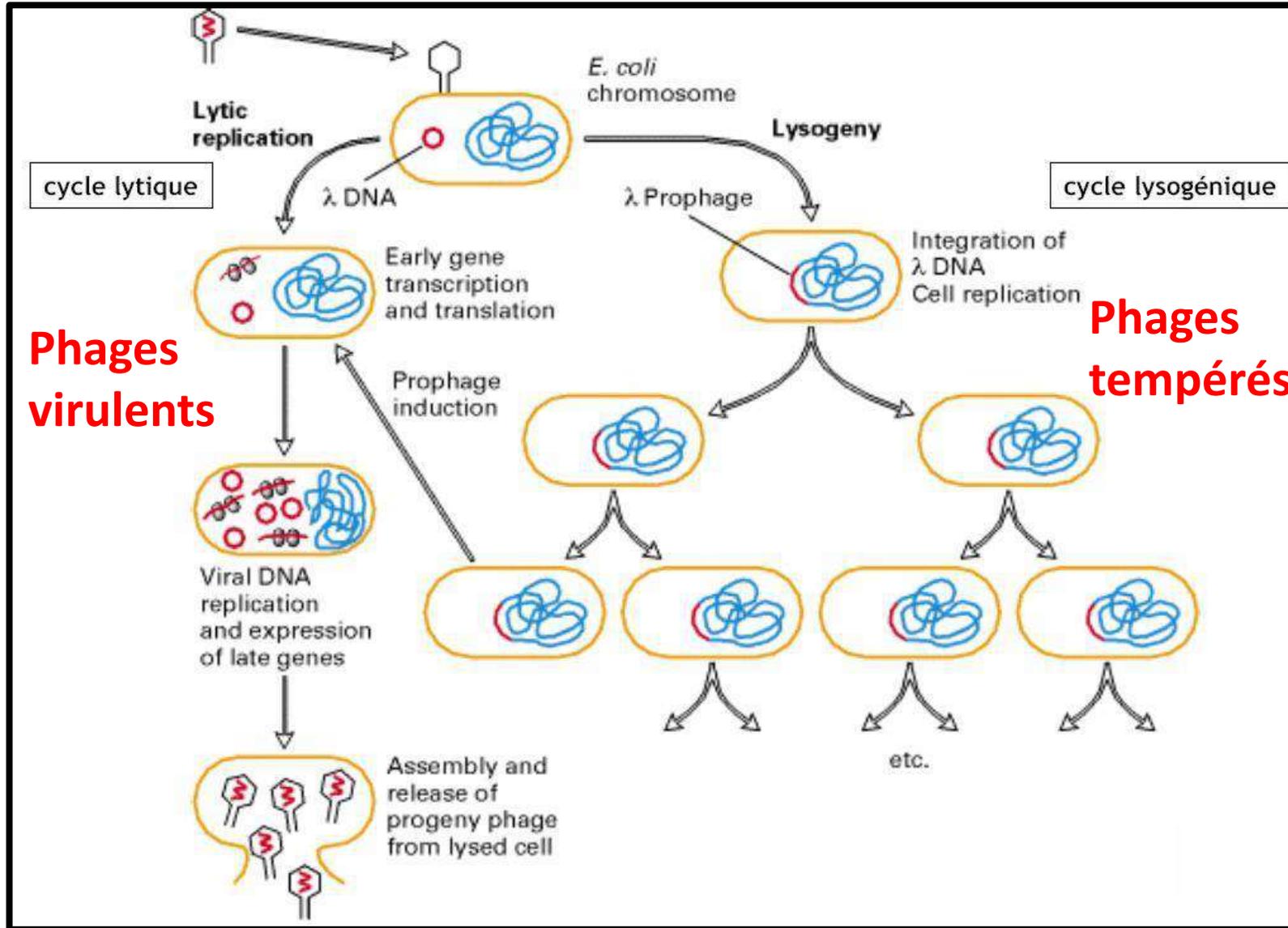
III.3.a. Définition

La transduction est le transfert d'information génétique à partir d'un donneur vers un receveur via un bactériophage, dit transducteur.



- Dans la plupart des cas, le transfert de gènes a lieu entre des membres de la même famille de bactéries.
- Cependant, si un phage particulier possède une large gamme d'hôtes alors le transfert entre espèces peut avoir lieu.

III.3.b. Phages virulents et tempérés



■ La transduction résulte d'une **erreur d'encapsidation** :

Lors de l'assemblage des virions **un fragment de génome bactérien est encapsidé à la place de l'ADN viral.**

Le phage devient **transducteur**, il est libéré lors de la lyse de la bactérie et pourra injecté de l'ADN bactérien dans une autre bactérie.

Selon les bactériophages, la transduction est un phénomène:

1. généralisé

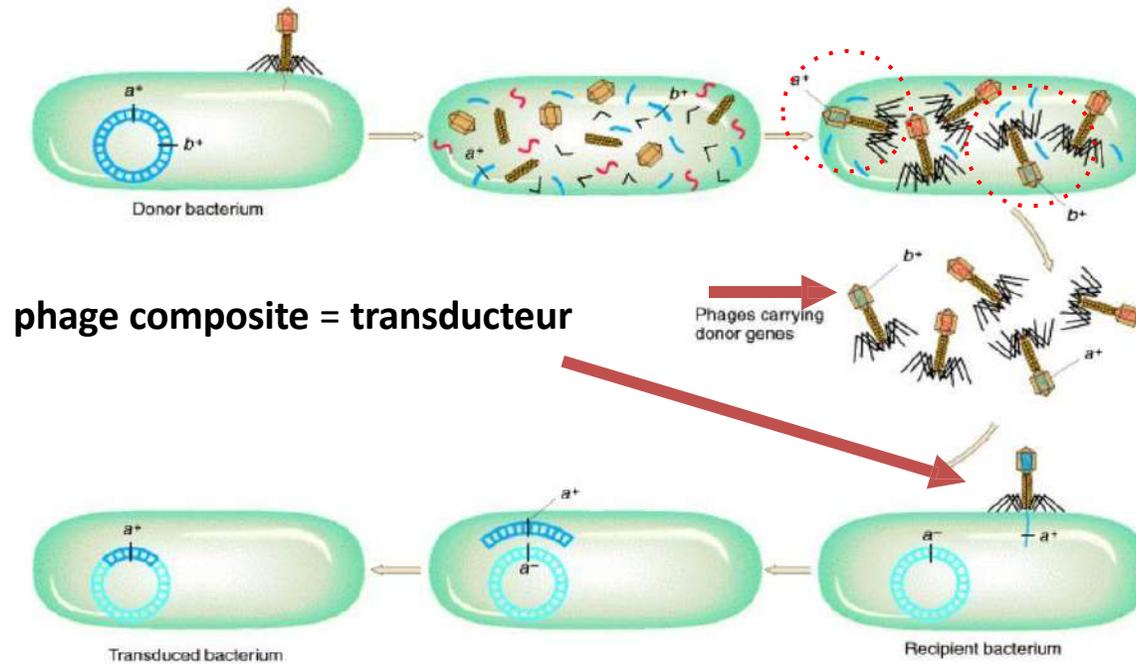
n'importe quel gène bactérien est susceptible d'être transféré à une bactérie réceptrice

2. Spécialisé
restreint, localisé

le transfert ne concerne que quelques gènes bactériens dont la nature est variable selon le bactériophage

.1. La transduction généralisée

■ Elle est assurée par les **phages virulents**, qui au cours du **cycle lytique** encapsident par erreur et de façon aléatoire des fragments d'ADN de la bactérie.



phage composite = transducteur

ex de phages transducteurs :
phage T4 et **P1** chez *E.coli* et le
phage P22 chez *Salmonella*
Typhimurium.

■ Il se forme alors un **phage composite** appelé **transducteur** qui peut infecter une nouvelle bactérie et lui transmettre un fragment de l'ADN de la bactérie précédemment lysée.

■ Dans la cellule réceptrice un évènement de recombinaison homologue qui substitue l'ADN du donneur à l'ADN du receveur peut avoir lieu.

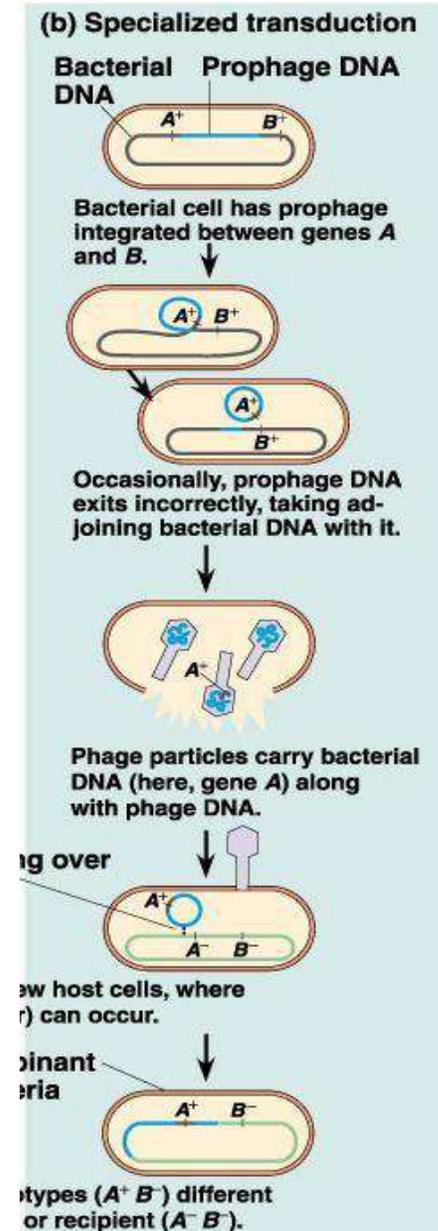
.2. La transduction spécialisée ou restreinte

■ Elle est assurée par les phages **tempérés** qui **s'insèrent toujours au même endroit** sur le chromosome bactérien. ★

■ Et qui au cours du passage d'un cycle lysogénique à un cycle lytique, peuvent se détacher du chromosome bactérien.

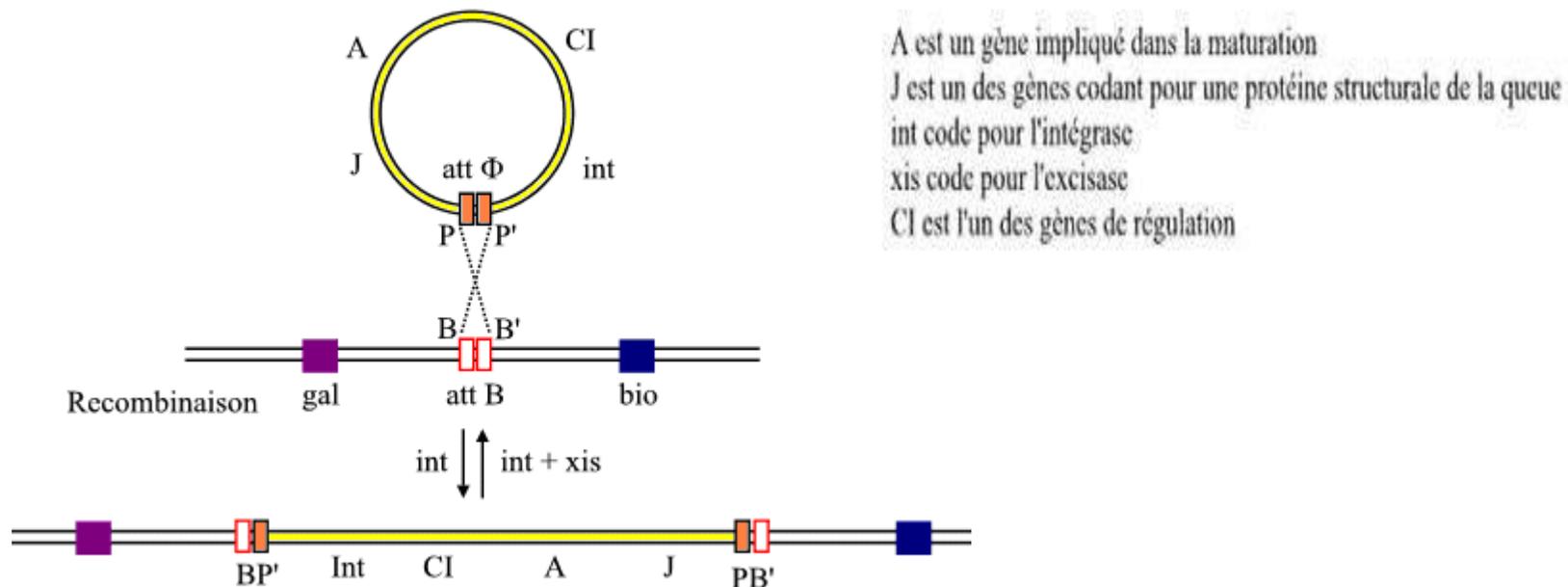
■ Pendant l'excision des phages, une erreur peut se produire quand une partie de l'ADN de l'hôte est excisée avec celui du phage.

■ La transduction spécialisée se limite aux gènes qui délimitent l'ADN phagique inséré dans le chromosome bactérien et se sont toujours ces mêmes gènes qui sont transmis à de nouvelles bactéries transduites.



Le cas le plus connu de la transduction localisée est provoqué par le phage lambda de *E.coli*.

Il possède un site d'attachement correspondant à un site d'intégration situé entre les locus **gal** (nécessaire à l'utilisation du galactose) et le locus **bio** (assure la synthèse de la biotine). ★



augmentation de la taille du génome dans cette région

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

