

*UE Pharmacie - Microbiologie*

# Le monde Microbien : Partie 2 : **La vie des microbes**

Professeur Emmanuel DROUET

Année universitaire 2011/2012

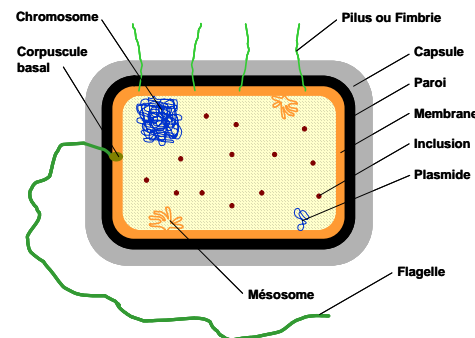
Université Joseph Fourier de Grenoble - Tous droits réservés.

# Chapitre 5 : La cellule microbienne

- Généralités
- Paroi bactérienne et membranes
- Cas particulier des archéobactéries
- La cellule eucaryote

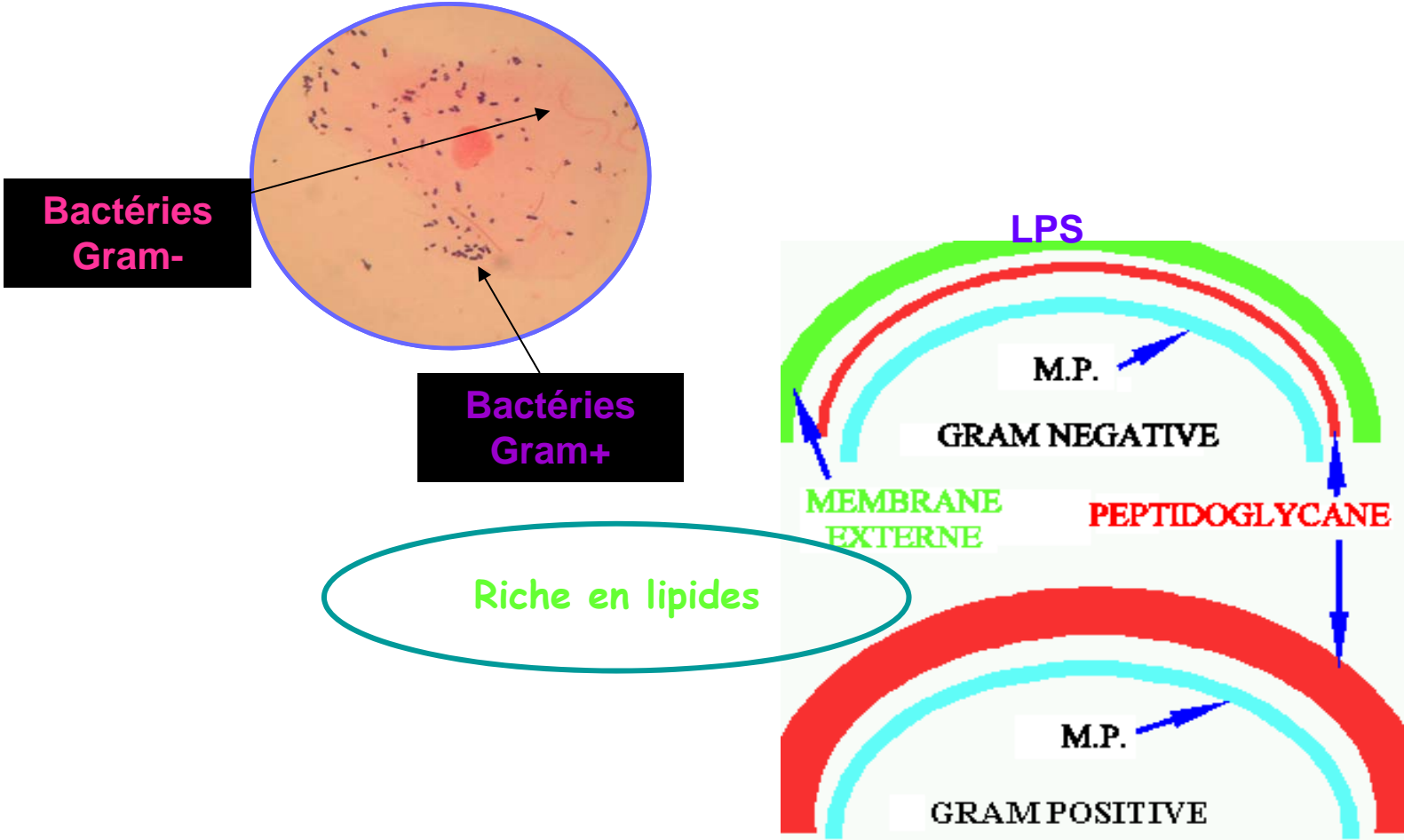
# Les structures bactériennes

- **Membrane cytoplasmique**
- **Matériel génétique**
- **Ribosomes**
- **Cytoplasme**
- **Paroi cellulaire**
- **Capsule**
- **Flagelles**
- **Pilis**
- **Pilis sexuels**
- **Barrière perméable, sélective, transport des éléments nutritifs (perméase), localisation de plusieurs processus métaboliques**
- **Un seul chromosome ADN formé de deux brins d'ADN**
- **Localisation cytoplasmique Synthèse protéique**
- **Localisation du matériel génétique, réplication de l'ADN, ribosome synthèse protéique**
- **Protection de la membrane cytoplasmique Propriétés antigéniques Propriétés structurales**
- **Résistance à la phagocytose**
- **Mobilité**
- **Adhésion aux muqueuses (cellules)**
- **Transfert de matériel génétique**



# La paroi bactérienne

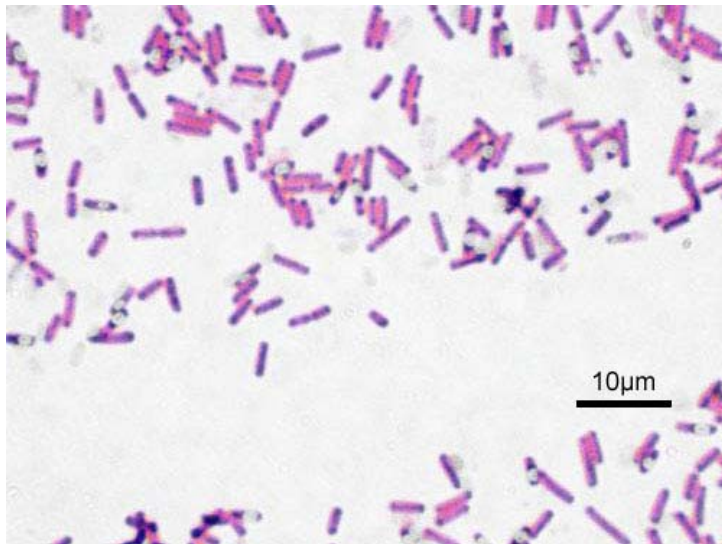
## La coloration de Gram



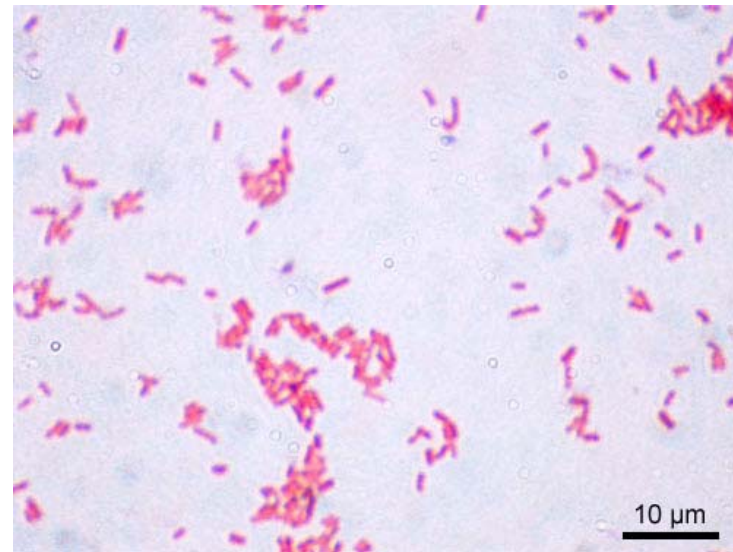
# Coloration de Gram

**Les bactéries Gram-positif  
(ou Gram positives)**

**Les bactéries Gram-négatif  
(ou Gram négatives)**

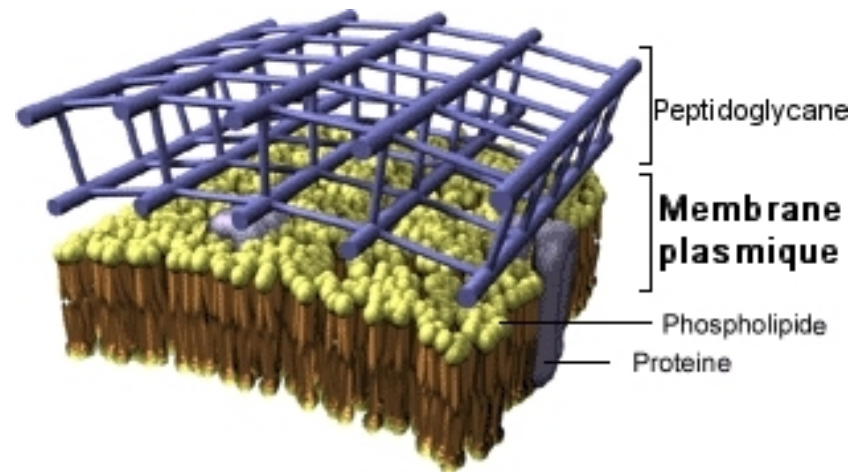
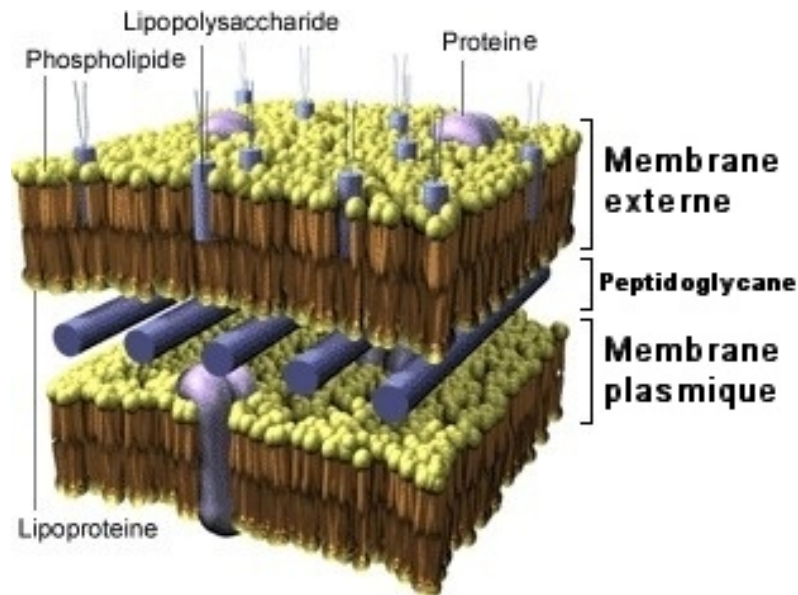


*Bacillus subtilis*



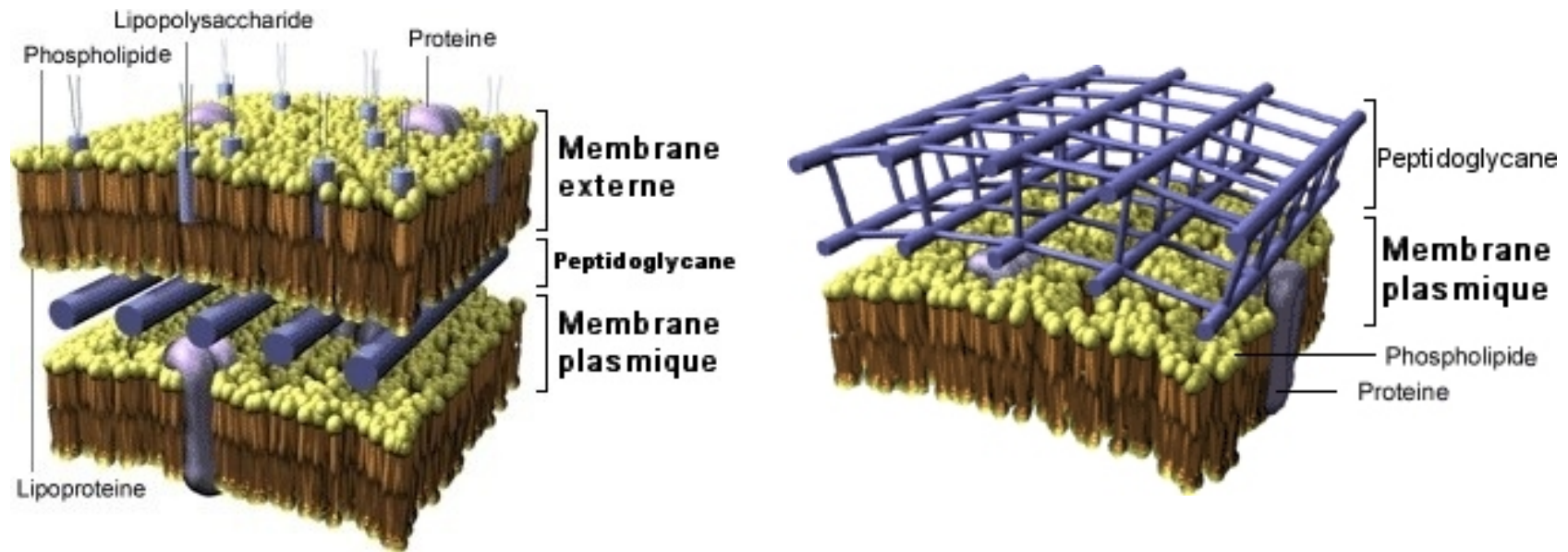
*Escherichia coli*

# Paroi des bactéries à Gram – versus Gram +



- Paroi épaisse
- Composant majeur : peptidoglycane ou muréine → plusieurs couches

# Paroi des bactéries à Gram – versus Gram +

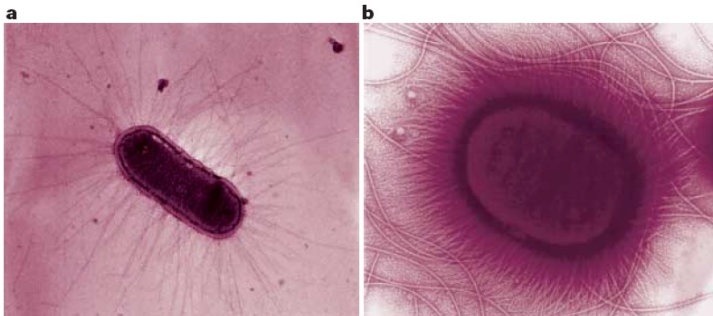


- **Paroi fine : peptidoglycane beaucoup plus fin**
- **Structure particulière : la membrane externe** (située à l'extérieur de la paroi)
- ✓ **Structure à deux feuillets**
- ✓ **Feuillet externe : LIPOPOLYSACCHARIDE ou LPS ou ENDOTOXINE**

# Les pili

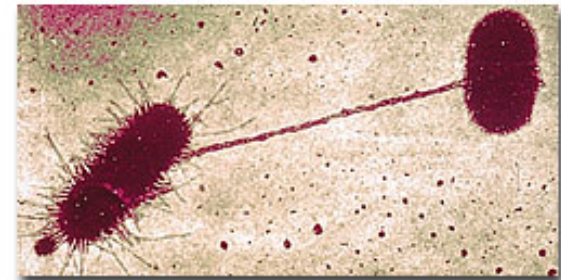
- **Pilis communs = fimbriae (frange)**

- courts
- Rôle dans l'adhésion = facteur de virulence
- Codés par le chromosome ou les plasmides



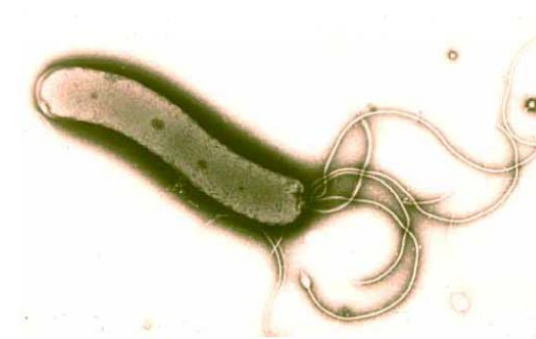
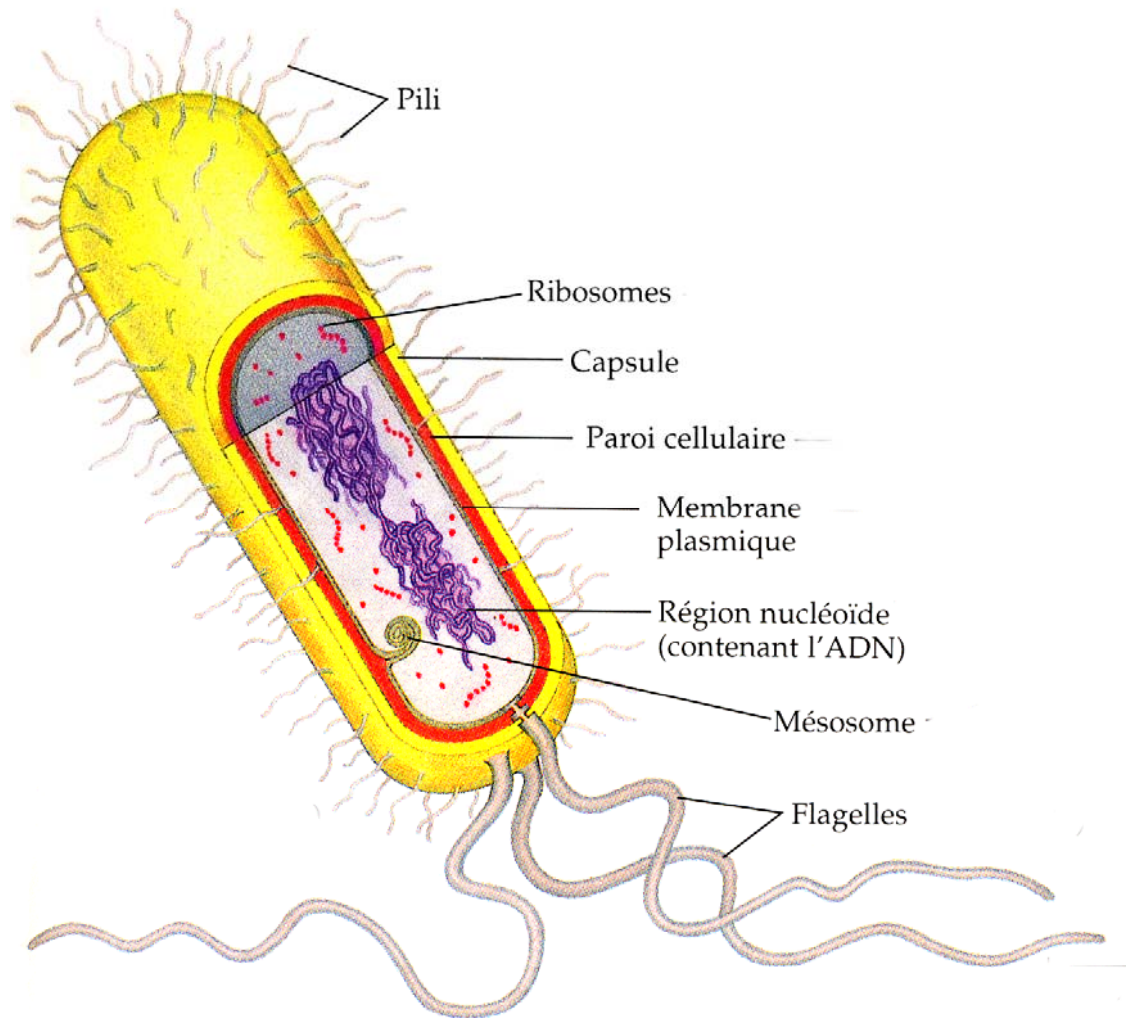
- **Pilis sexuels**

- Plus longs
- Rôle dans l'échange d'ADN (plasmide)
- Codés par des plasmides





# Les flagelles

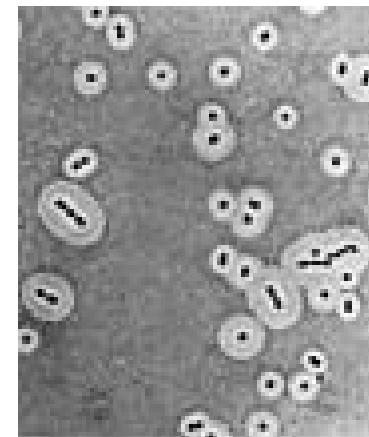
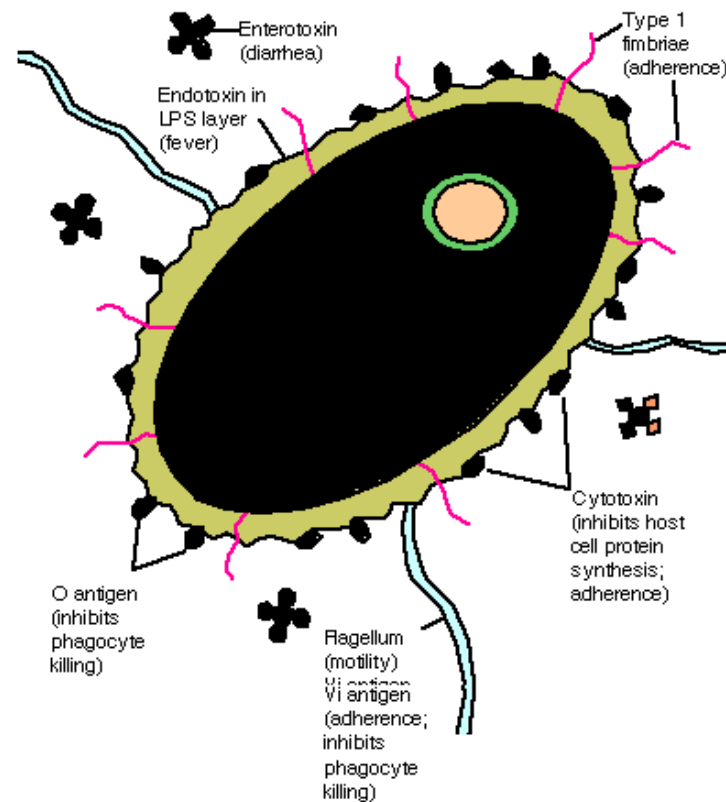


# Pouvoir pathogène des bactéries

Pouvoir toxigène  
Bactéries Gram-positif

Pouvoir de colonisation et  
de multiplication (pili,  
flagelles)

Résistance à la phagocytose  
(capsule)



# La cellule eucaryote

## Organismes eucaryotes unicellulaires: PROTISTES

### Étapes clés de leur origine :

- « L'incroyable symbiose » ... : acquisition de certains organites par endosymbiose
- Apparition d'une surface cellulaire flexible,
- Apparition d'une enveloppe cellulaire,
- Apparition de vésicules digestives,

- Symbiose = Vie en commun de deux organismes différents ou symbiontes
- Endosymbiose = Vie d'un organisme à l'intérieur d'une cellule dans une association stable et souvent symbiotique

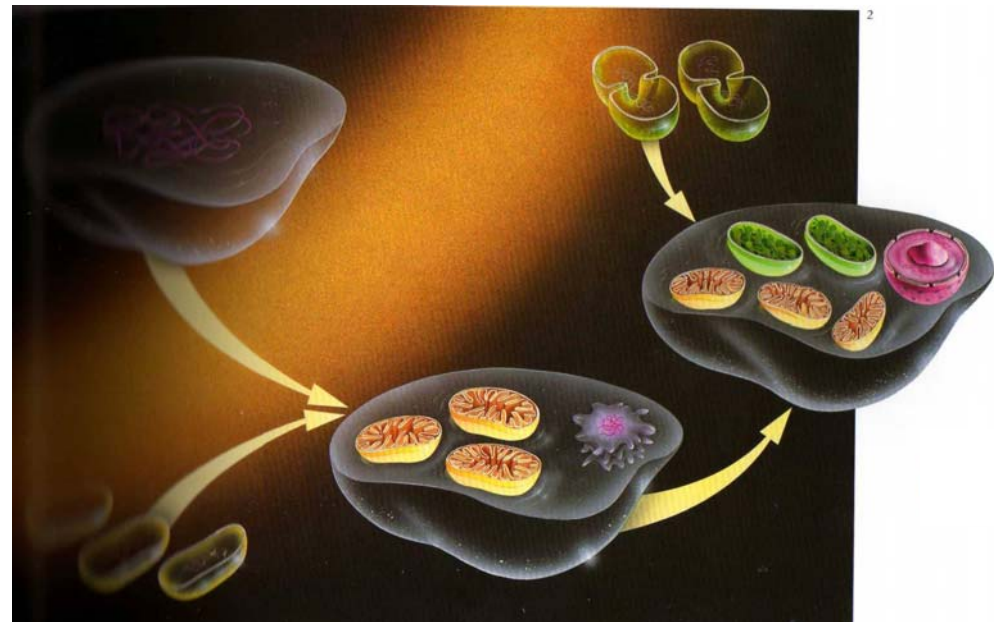
# Tous les PROTISTES sont des Eucaryotes et ont évolué à partir des Procaryotes

## Schéma de l'origine de la cellule Eucaryote: théorie « symbiote »

1. Une grosse cellule amiboïde procaryote incapable de respirer, phagocyte de petites cellules procaryotes aérobies, capables de transformer le glucose en  $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ .

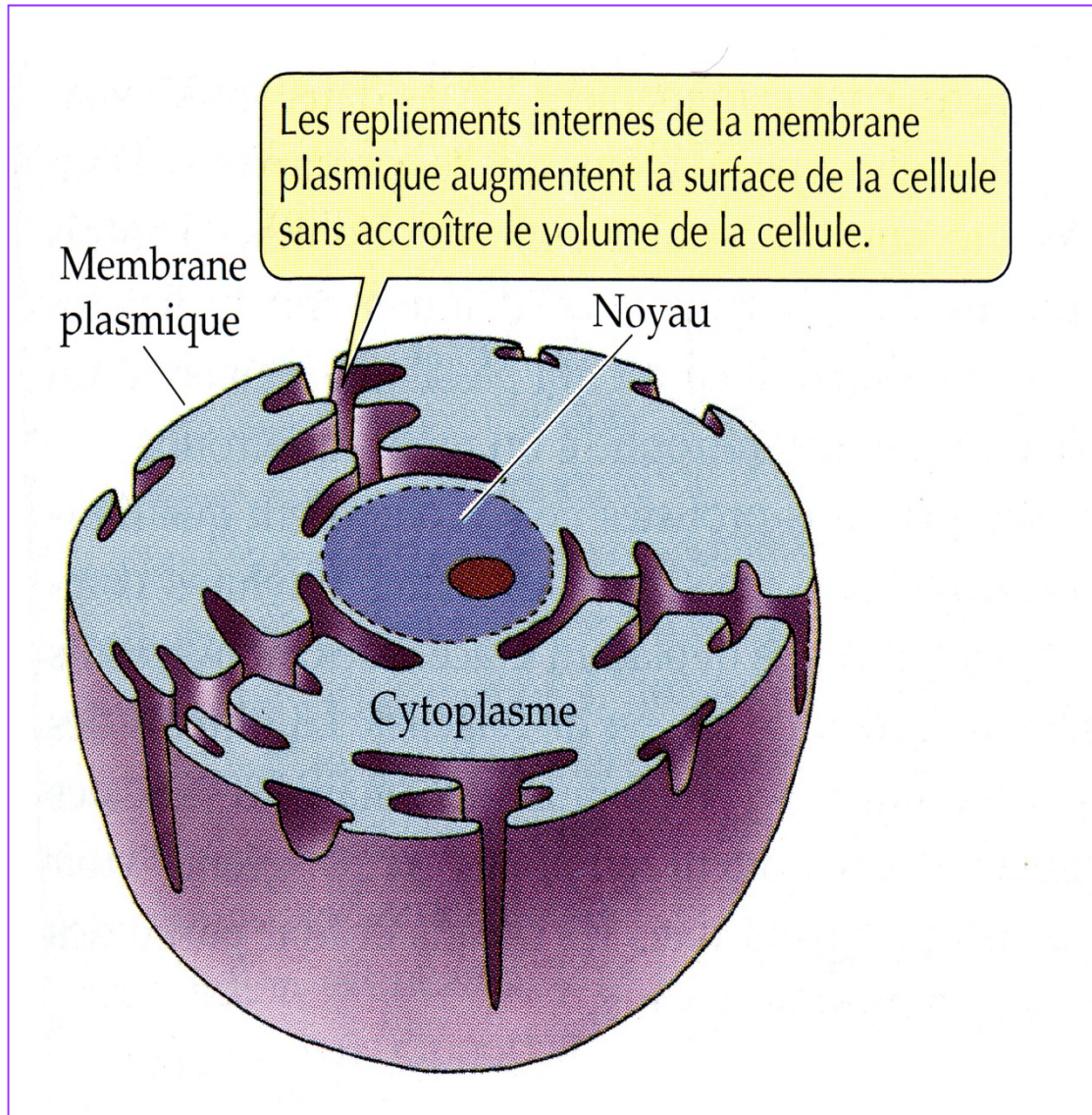
2. Les petites cellules continuent de fonctionner à l'intérieur de leur prédateur : → « symbiose mutualiste ».

3. Celles-ci se spécialisent et avec le temps deviennent des mitochondries → « *grand rendez-vous de l'histoire* »



4. Nouvelle incorporation de cellules procaryotes, capables de photosynthèse (proches des cyanobactéries actuelles) → chloroplastes des cellules végétales.

## - Apparition d'une surface cellulaire flexible

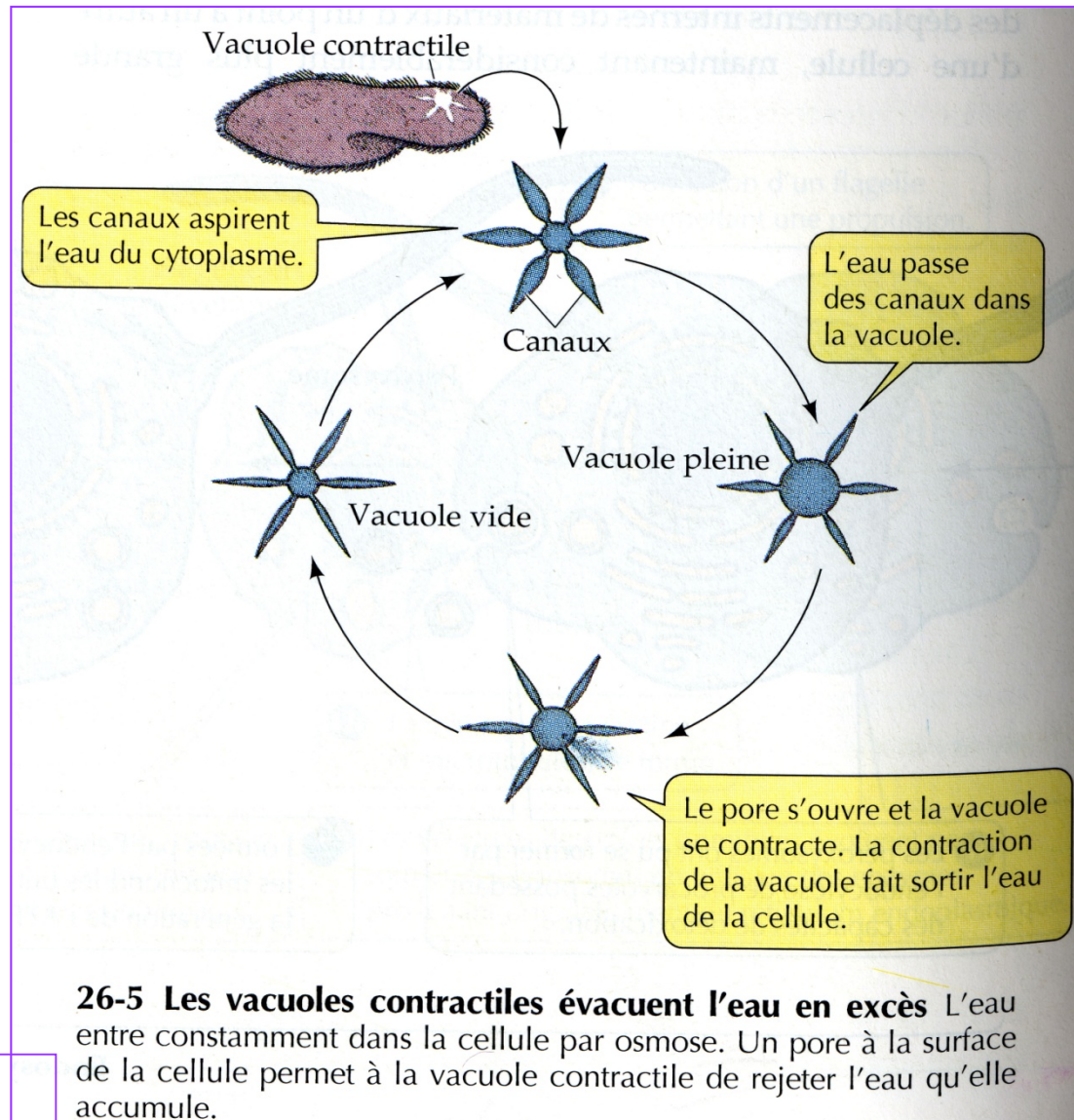


- Perte de la paroi cellulaire solide de la cel. procaryote
- Apparition d'une surface cellulaire souple : membrane plasmique
- Taille microscopique de la cellule : les invaginations accroissent la surface cellulaire
  - Permet les échanges de matériaux avec l'environnement
  - Permet la nutrition par endocytose (inclusion de particules)

- Apparition de systèmes de régulation osmotique flexible
- vacuole contractile.

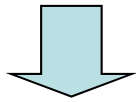
- Aide la cellule à survivre dans des environnements aquatiques hypo-osmotiques.
- Potentiel hydrique inférieur à celui de leur environnement en eau douce : prennent constamment de l'eau par osmose ➤ **nécessité d'éliminer l'eau en excès.**

Exemple de la Paramécie



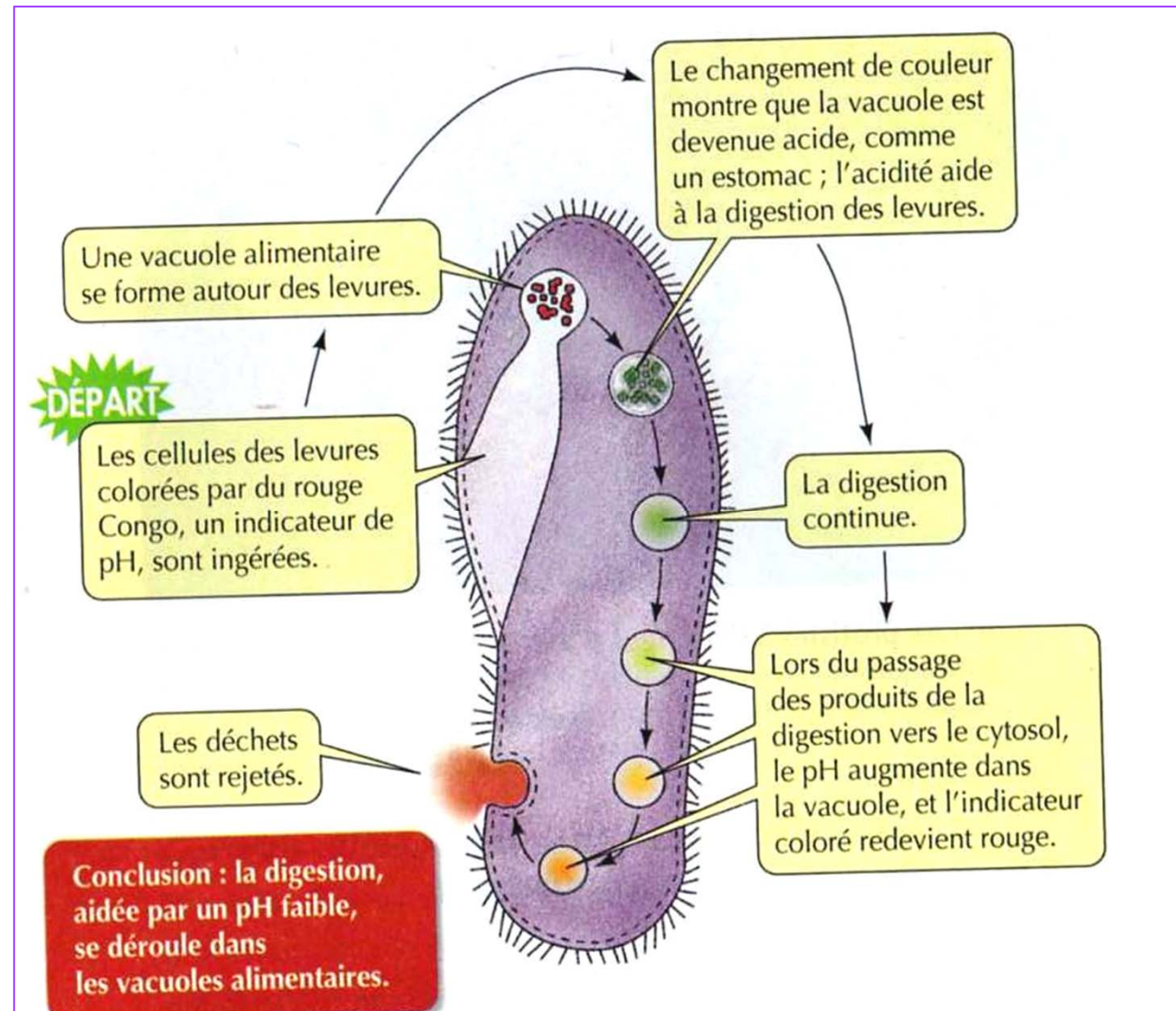
- Apparition de vacuoles nutritives.

**Ingestion de particules de nourriture solides : digestion a l'intérieur de vacuoles alimentaires responsables la nutrition et de l'excrétion**



**Hétérotrophie par ingestion**

Exemple de la  
Paramécie ingérant  
des levures.



**Au total :**

→ Cellule des Protistes : totipotente (multipotente)

Une cellule unique remplit à elle seule toutes les fonctions vitales :

{  
nutrition,  
respiration,  
excrétion,  
locomotion,  
régulation osmotique,  
reproduction.



## **Très grande diversité : variété des plans d'organisation**

→ Classification en trois phylums, basée fondamentalement sur leur locomotion (cils, flagelles, pseudopodes).

## **Mode de vie très varié :**

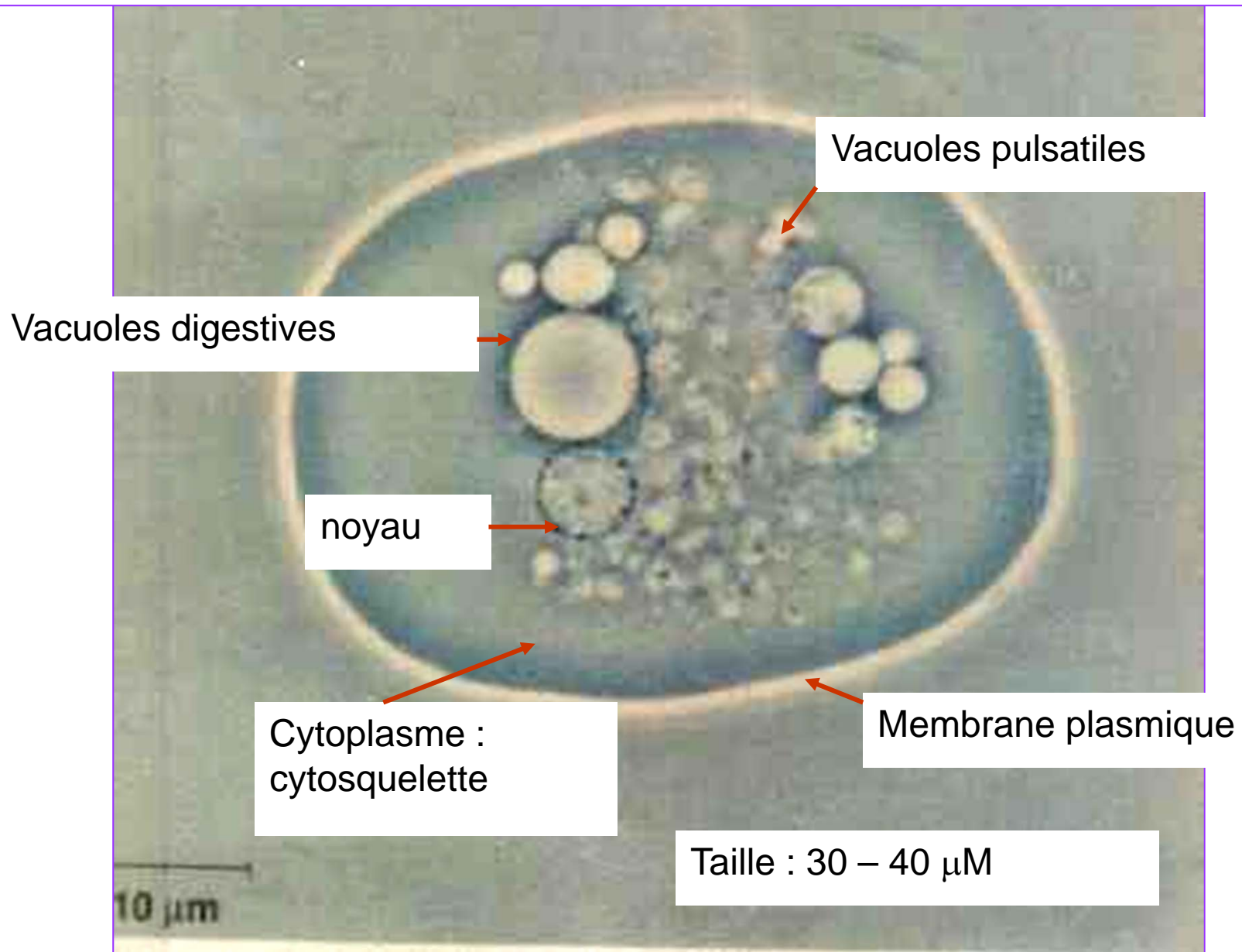
Organismes libres, symbiotes, parasites

→ Intérêt de nombreux protistes en pathologie humaine et vétérinaire.

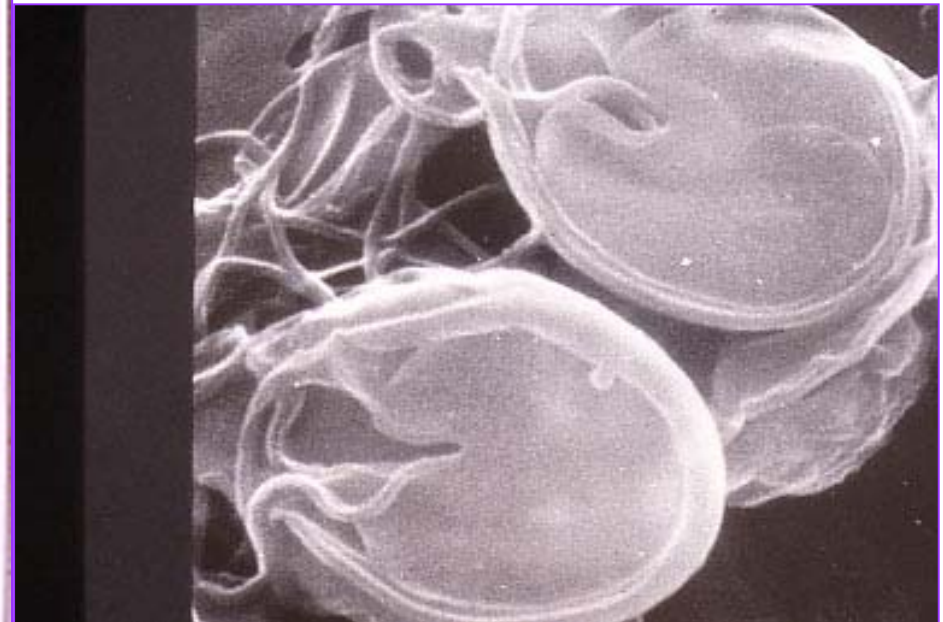
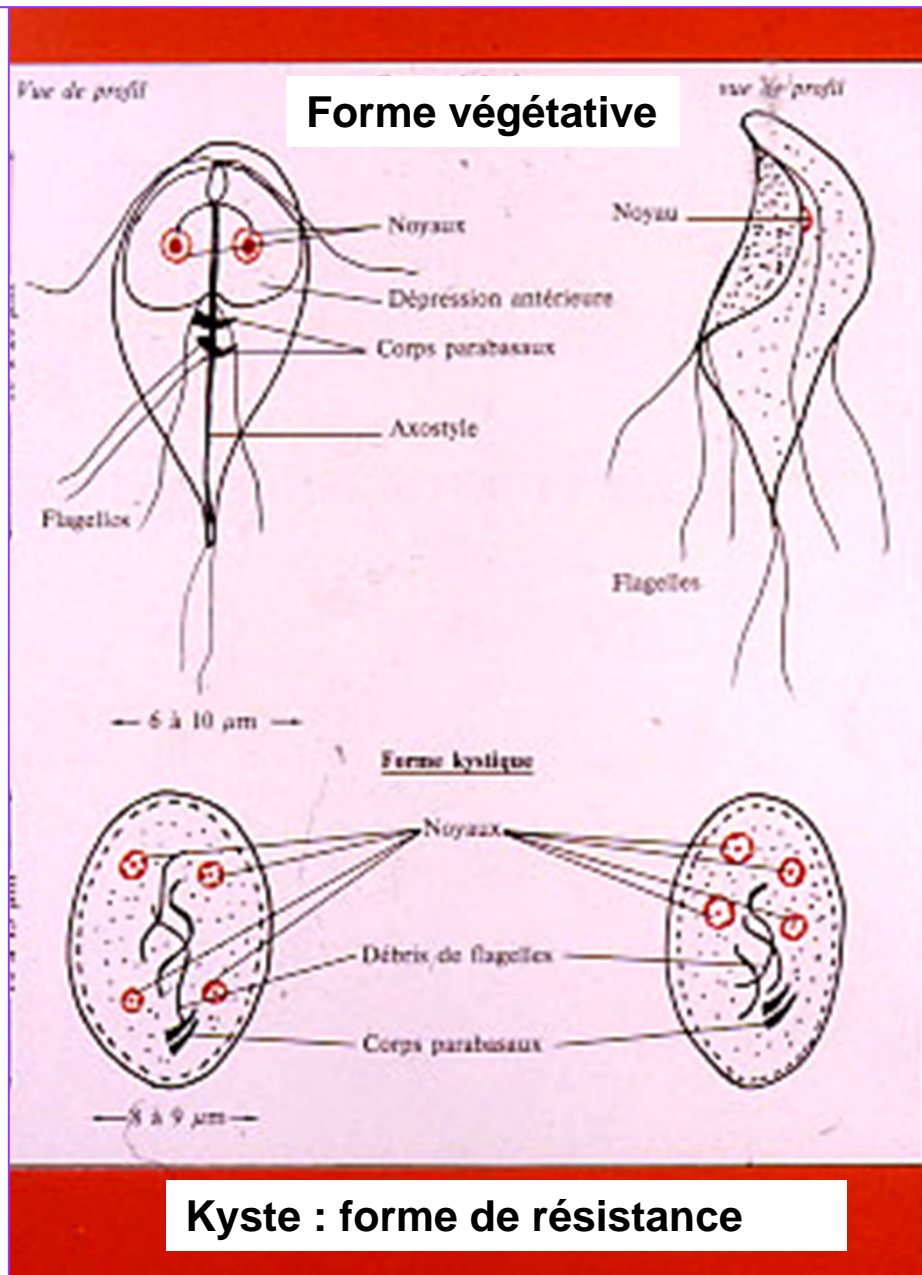
# Classification des protistes

Phylums	SS Phylum, Caractéristiques	Exemples
Flagelles et/ou pseudopodes SARCO- MASTIGOPHORA	Sarcodina : → pseudopodes Mastigophora : → flagelles	Amibes  <i>Giardia</i> Trypanosome
Cils, 2 noyaux CILIOPHORA	Ciliés holotriches	Paramécie
Pas de locomotion complexe apical APICOMPLEXA	Sporozoa reproduction sexuée	<i>Plasmodium</i>

**Exemple type de Protozoaire Sarcodina : *Entamoeba histolytica* , amibe pathogène pour l'homme**

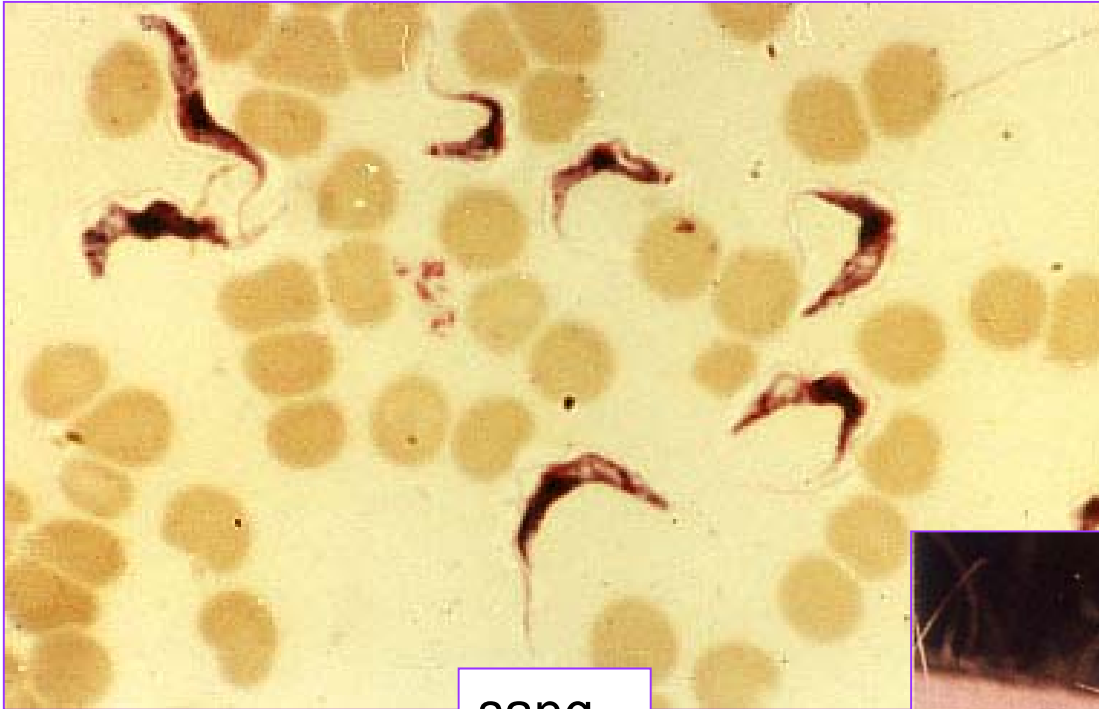


**Exemple de Protozoaire flagellé (tube digestif) Mastigophora *Giardia intestinalis***  
**, pathogène pour l'homme**



**Forme végétative :**  
**microscopie à balayage**

Exemple de Protozoaire flagellé (sang) **Mastigophora** :  
*Trypanosoma brucei* : « *Maladie du Sommeil* »

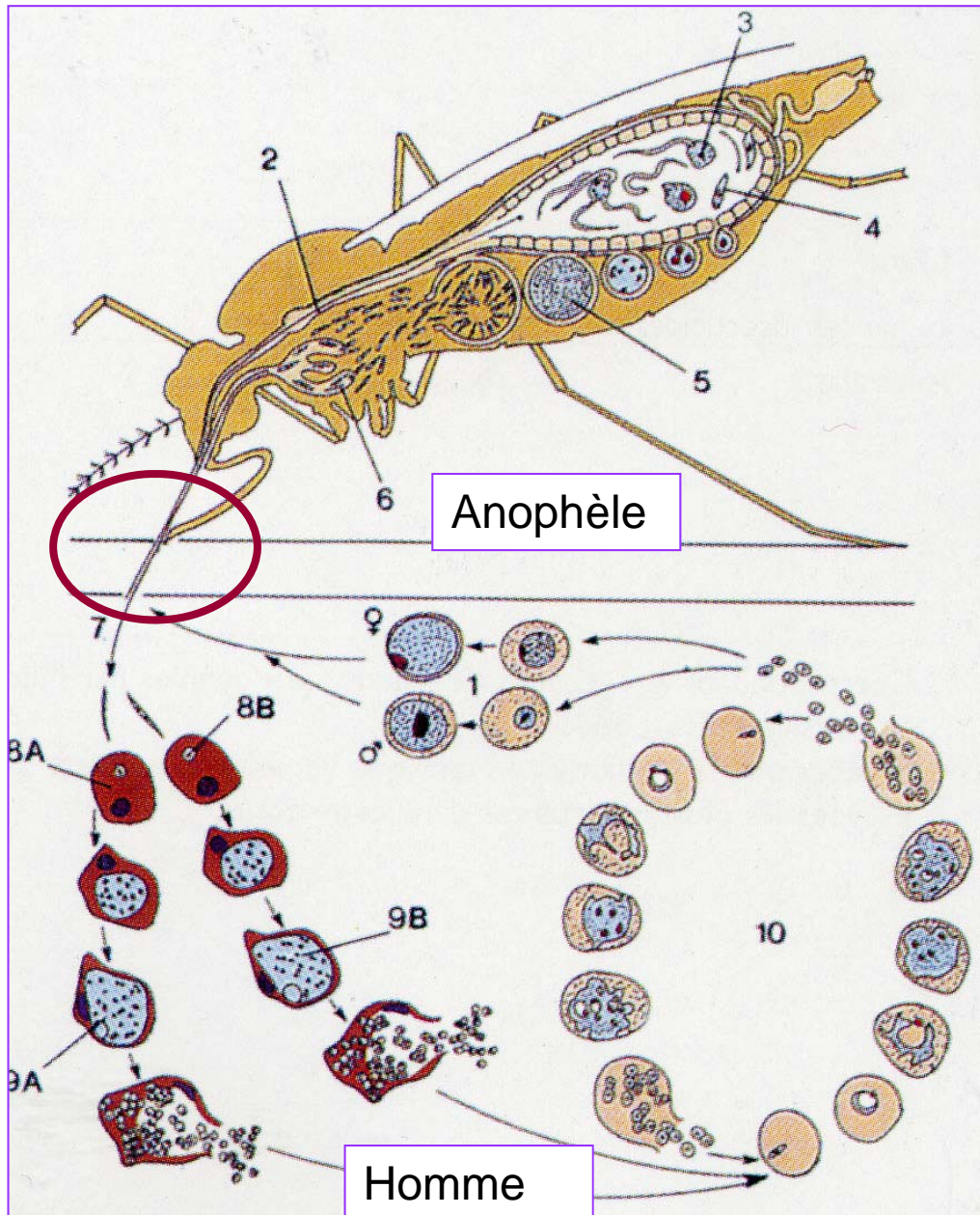


sang



Vecteur : Glossine ou Mouche Tsé-tsé

## APICOMPLEXA, Sporozoa. Cycles asexué et sexué

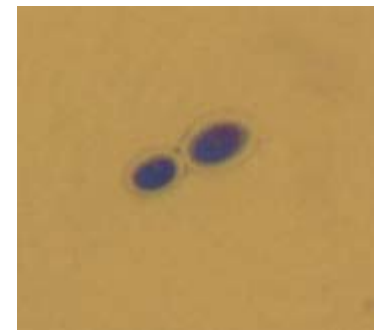
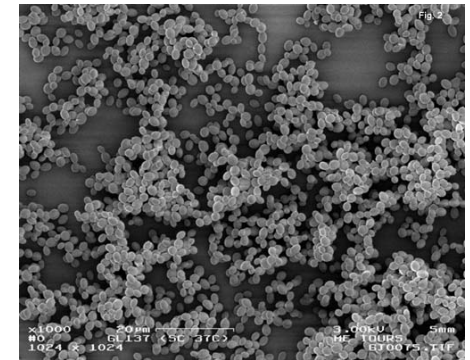


***Plasmodium falciparum*: un des agents du paludisme humain.**

- Transmis par piqûre d'un moustique infecté (2-6).
- Homme : cycle hépatique (8-9) puis sanguin : GR (10).
- 5 000 cas importés en France /an
- La plus grande endémie parasitaire au plan mondial : 2-3 millions de morts/an (jeunes enfants)

# Champignons levuriformes

- Paroi cellulaire entourant la membrane plasmique et protégeant la levure des agressions physico-chimiques du milieu extérieur.
- Membrane cytoplasmique composée principalement de phospholipides double couche (partie hydrophile à l'extérieur et partie lipophile à l'intérieur). Elle contient aussi de nombreux complexes protéiques intrinsèques et extrinsèques dont les rôles sont variés, par exemple des enzymes appelées protéases mènent les transports de substances du milieu extérieur vers le milieu intracellulaire et/ou inversement avec ou non transformation du substrat durant le passage.
- Noyau contenant l'information génétique du génome chromosomique de la levure.
- Mitochondries jouant un rôle important dans la respiration aérobie de la levure et la production d'ATP.



*Candida albicans*

# Matériel génétique des levures

- **Chromosomes** : les levures sont des organismes eucaryotes et possèdent un noyau avec des chromosomes linéaires. Chez les saccharomyces, les chromosomes sont au nombre de 16 simples ou 16 paires selon la forme haploïde ou diploïde de la cellule. Il existe des gènes de structure à information continue comme chez les bactéries et des gènes à information discontinue (introns et exons) comme chez les organismes supérieurs. Par ailleurs, les gènes de régulation sont spécifiques des levures.
- **Plasmides** : à côté des chromosomes, il existe dans le noyau des petites molécules d'ADN circulaire d'environ 6 000 paires de bases, les plasmides, présents entre 50 et 100 exemplaires par cellule. Ces plasmides sont autorépliquables et autotransférables sans affecter la viabilité de la cellule. Ils portent l'information génétique de quelques caractères non essentiels à la viabilité de la levure. Ils ont un rôle considérable dans toutes les opérations de génie génétique.
- **ADN mitochondrial** : chaque mitochondrie renferme plusieurs molécules circulaires d'ADN qui portent l'information de certaines enzymes de la chaîne respiratoire.



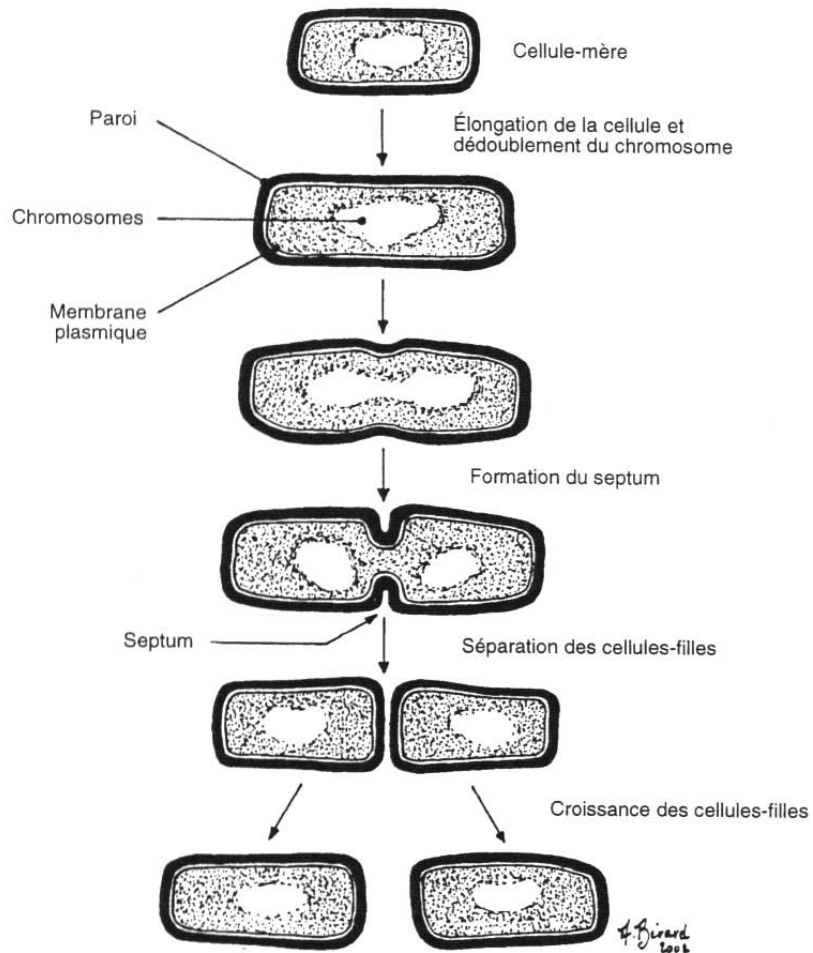
# Reproduction sexuée

- Les ascomycètes (*Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*) qui se reproduisent par un processus sexué dans un asque résultant de la transformation d'une cellule après méiose.
- Les basidiomycètes (*Cryptococcus*) qui réalisent une reproduction sexuée avec formation de basidiospores sur une baside.

# Chapitre 6 : Le mode de vie des bactéries

- Notion de croissance bactérienne
  - Les paramètres de la croissance
  - Exigence des bactéries
- Sexualité des bactéries

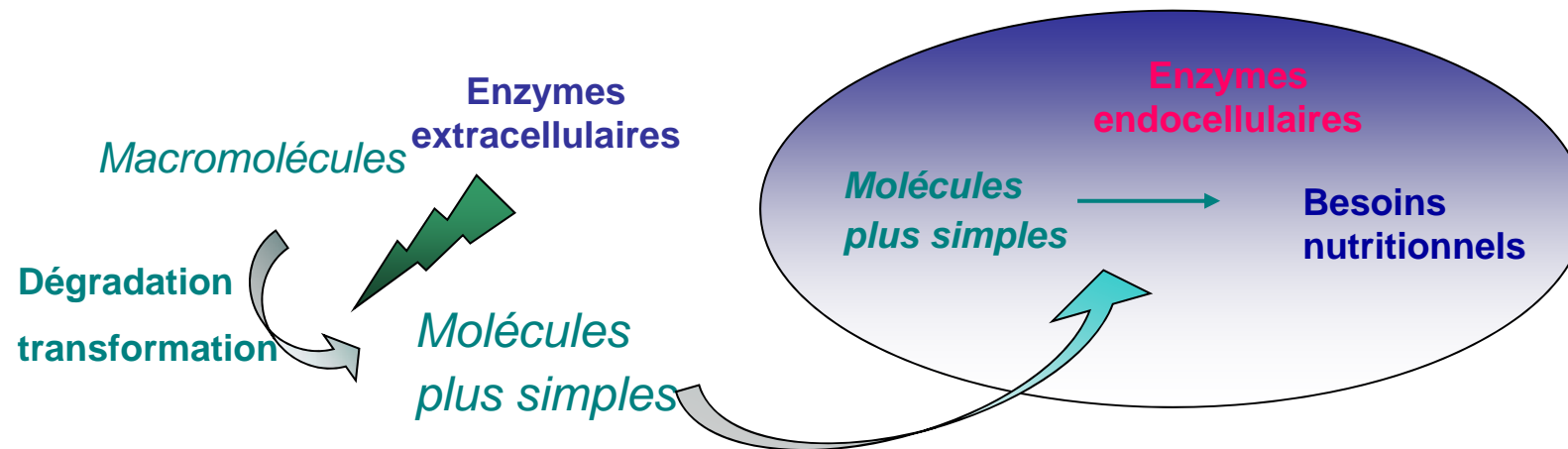
# Croissance et division cellulaire



# Croissance et reproduction

1. **La croissance bactérienne consiste en une augmentation de la masse et de ses parties constituantes**
2. **Masse = « croissance »**
3. **Parties constituantes = « reproduction »**

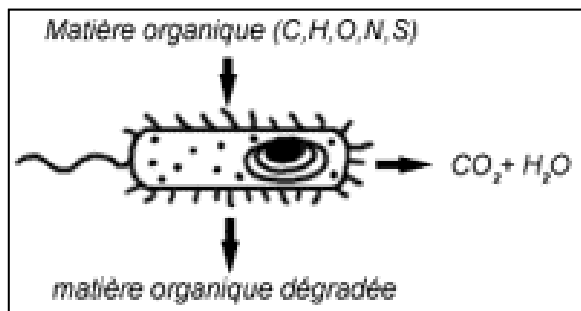
# Nutrition et croissance bactérienne



# Conditions de croissance

- Energie
  - Lumineuse (espèces photosynthétiques)
  - Chimique (espèces chimiotrophes)
- Eau
- Conditions physicochimiques
  - Température
  - pH
  - Oxygène

# Exigences nutritives



## • Sources de carbone

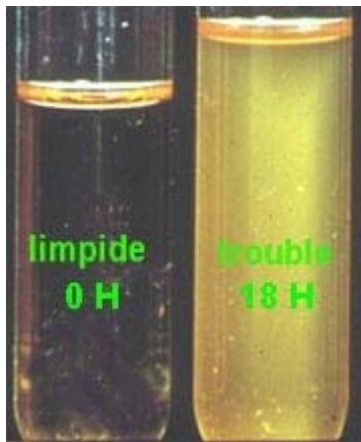
Autotrophe : CO<sub>2</sub> (dvpt en milieu minéral)

Hétérotrophe : composé organique

- Prototrophe : peut synthétiser tous ces constituant sur un milieu minimum ex : *E. Coli*
- Auxotrophe vis-à-vis d'une substance : a besoin d'un nutriment donné pour sa croissance

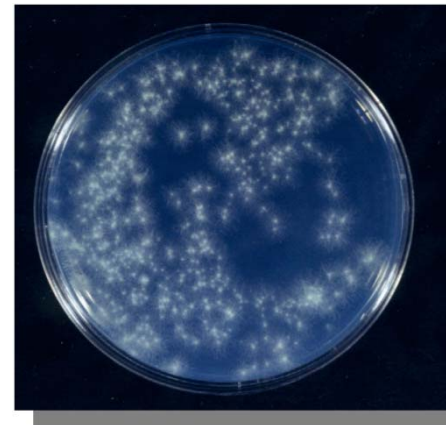
# Milieux de culture

## 1) Culture en milieu liquide



- *Utilisée pour des culture monomicrobiennes*
- *Les bactéries peuvent se déplacer librement*  
*par diffusion*  
*ou par locomotion*
- *Formation d'un trouble*

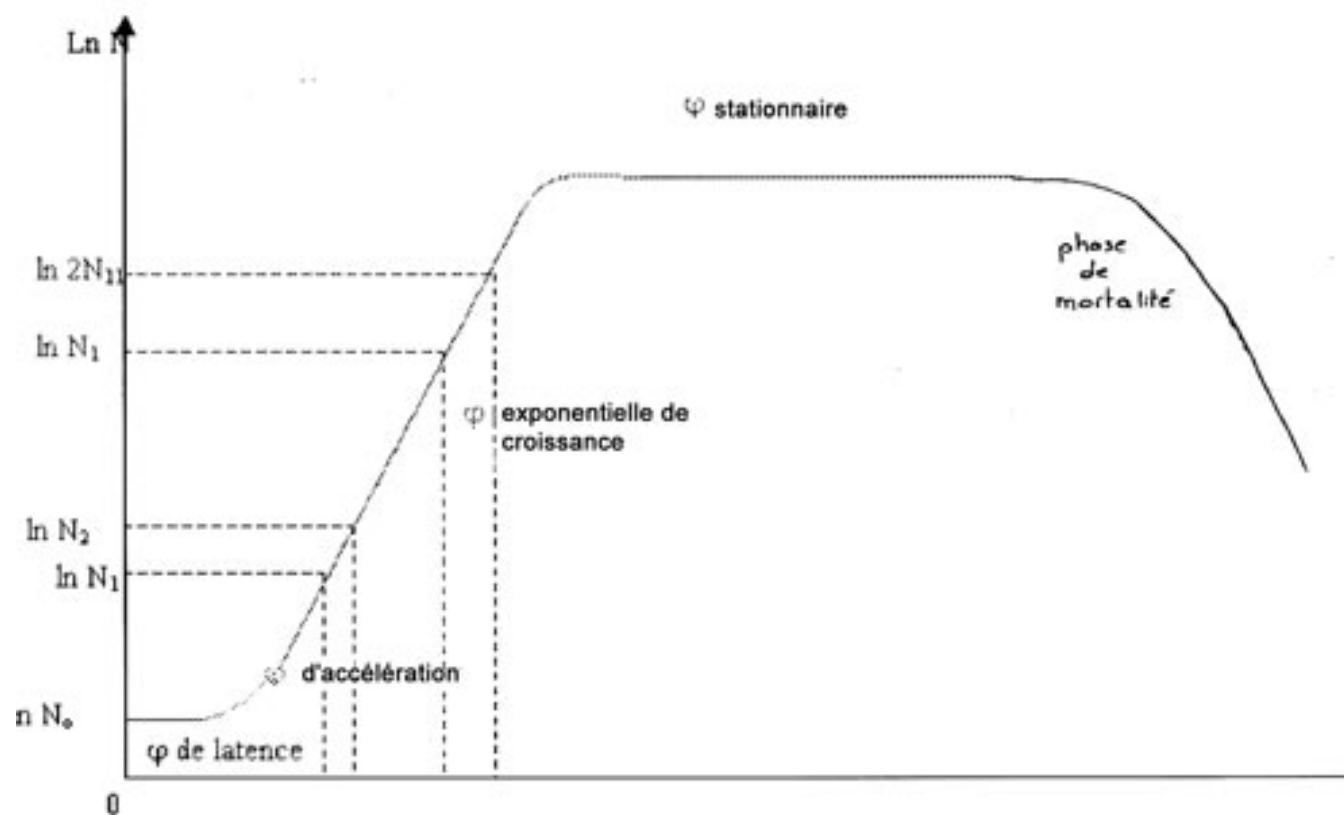
## 2) Culture en milieu solide (agarose)



- *Les bactéries donnent naissance à une population de bactéries formant une colonie, chaque colonie est un clone*



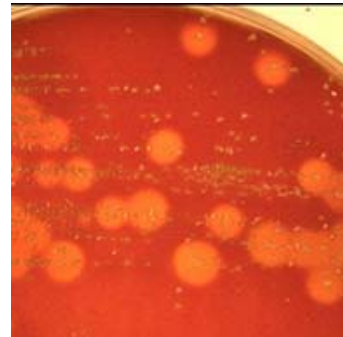
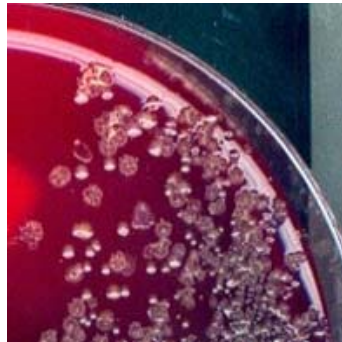
# Etude dynamique de la croissance



# Croissance de bactéries exigeantes

## Aspect des colonies

Milieu  
enrichi  
au sang



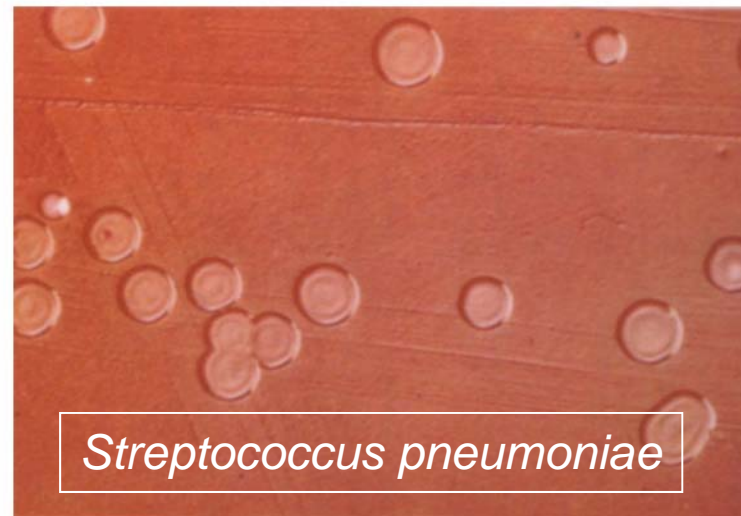
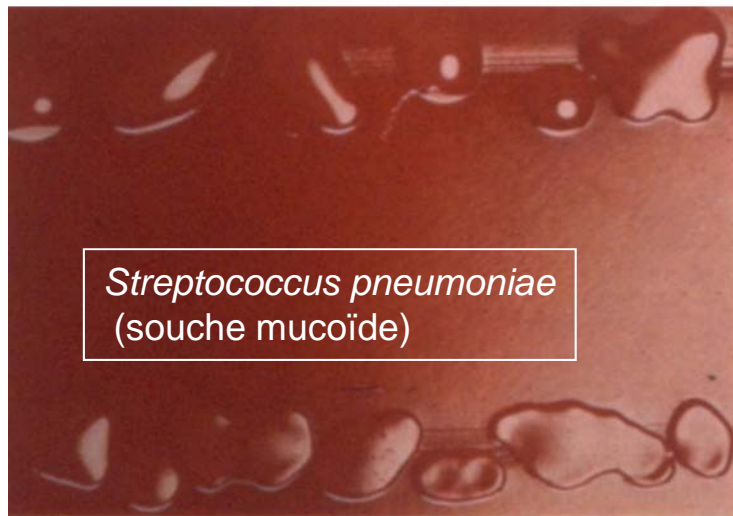
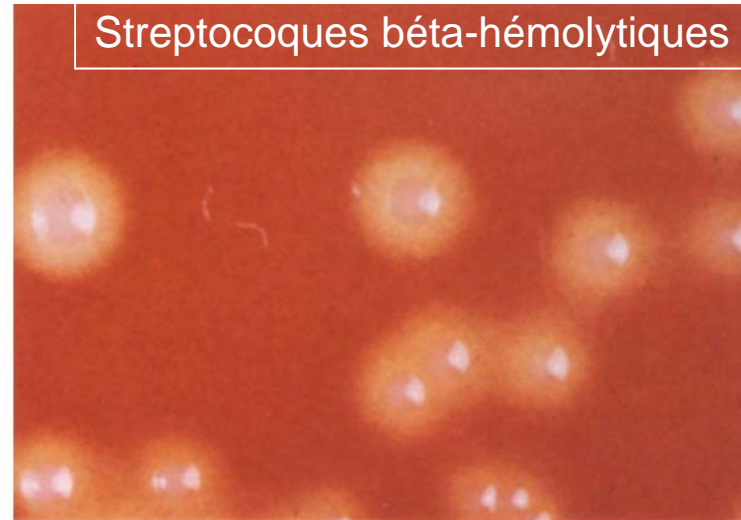
colonies hémolytiques

Culture sur  
gélose  
chocolat



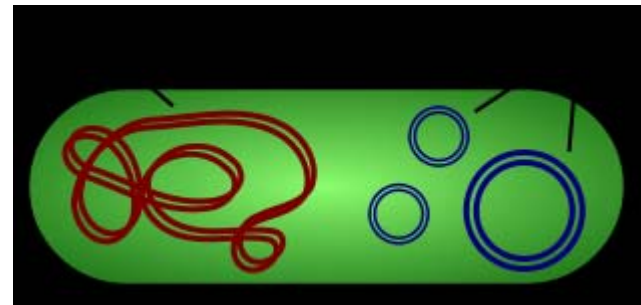
*Haemophilus influenzae*

# Croissance de bactéries exigeantes



# Transfert de matériel génétique

- Mécanismes conduisant au transfert d'une information génétique dans une bactérie sous la forme d'un fragment d'ADN d'une autre origine:
  - Transformation
  - Conjugaison
  - Transduction



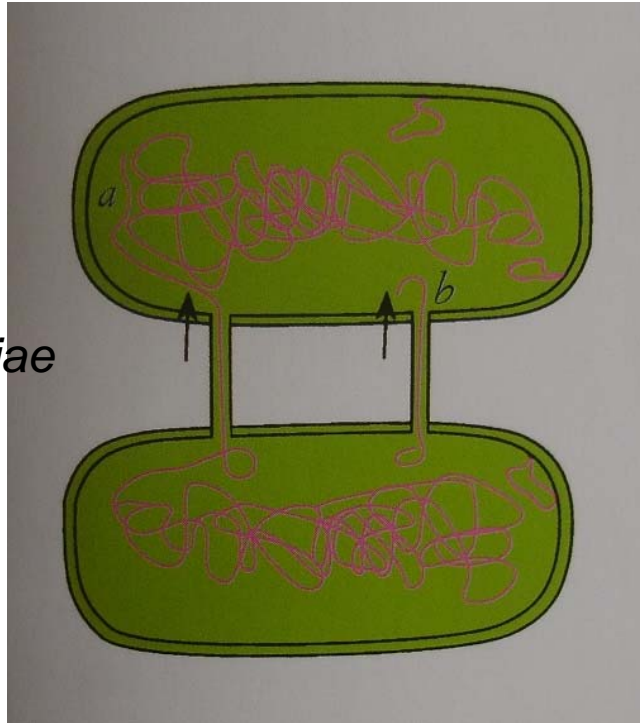
# Transfert de matériel génétique

## Transformation

**Naturelle**

(état de compétence)

*Bacillus subtilis*  
*Haemophilus influenzae*  
*Streptococcus pneumoniae*  
*Neisseria*



**Induite**

(traitement chimique)

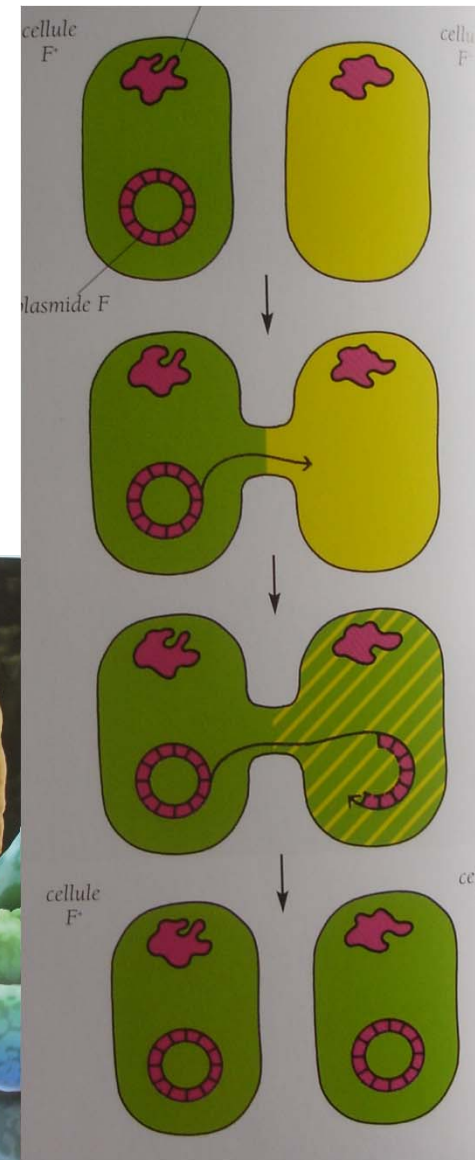
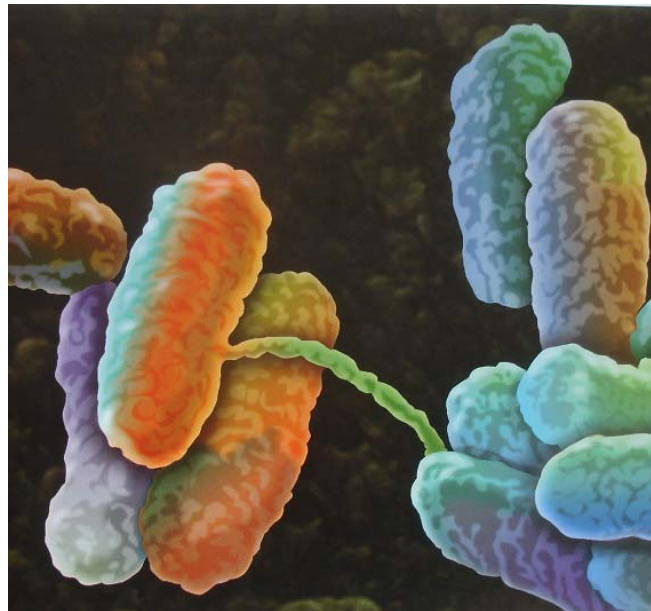
*Escherichia coli*

Transfert d'ADN libre (bicaténaire,  $5 \cdot 10^6$  daltons), en solution, entre 2 bactéries  
Transfert naturel (actif et spécifique) ou artificiel (transfert passif et non spécifique)

# Transfert de matériel génétique Conjugaison

Transfert de matériel génétique (total ou partiel)  
“à sens unique” entre une bactérie “mâle” (F+) et  
Une bactérie “femelle” (F-)

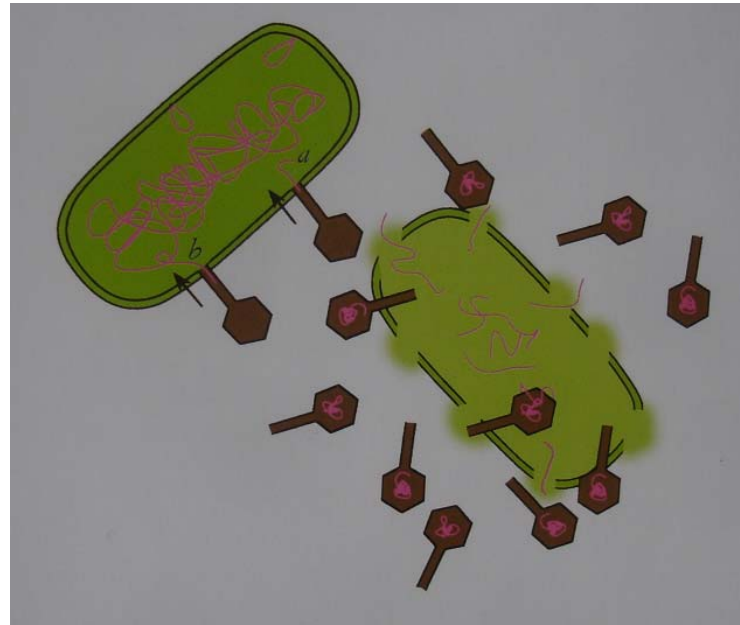
Présence du plasmide F: synthèse de pili sexuels



# Transfert de matériel génétique

## Transduction

Transfert de gènes bactériens d'une bactérie donatrice vers une bactérie réceptrice  
Par l'intermédiaire d'un bactériophage ou "phage transducteur")



**Transduction généralisée ou non spécifique**

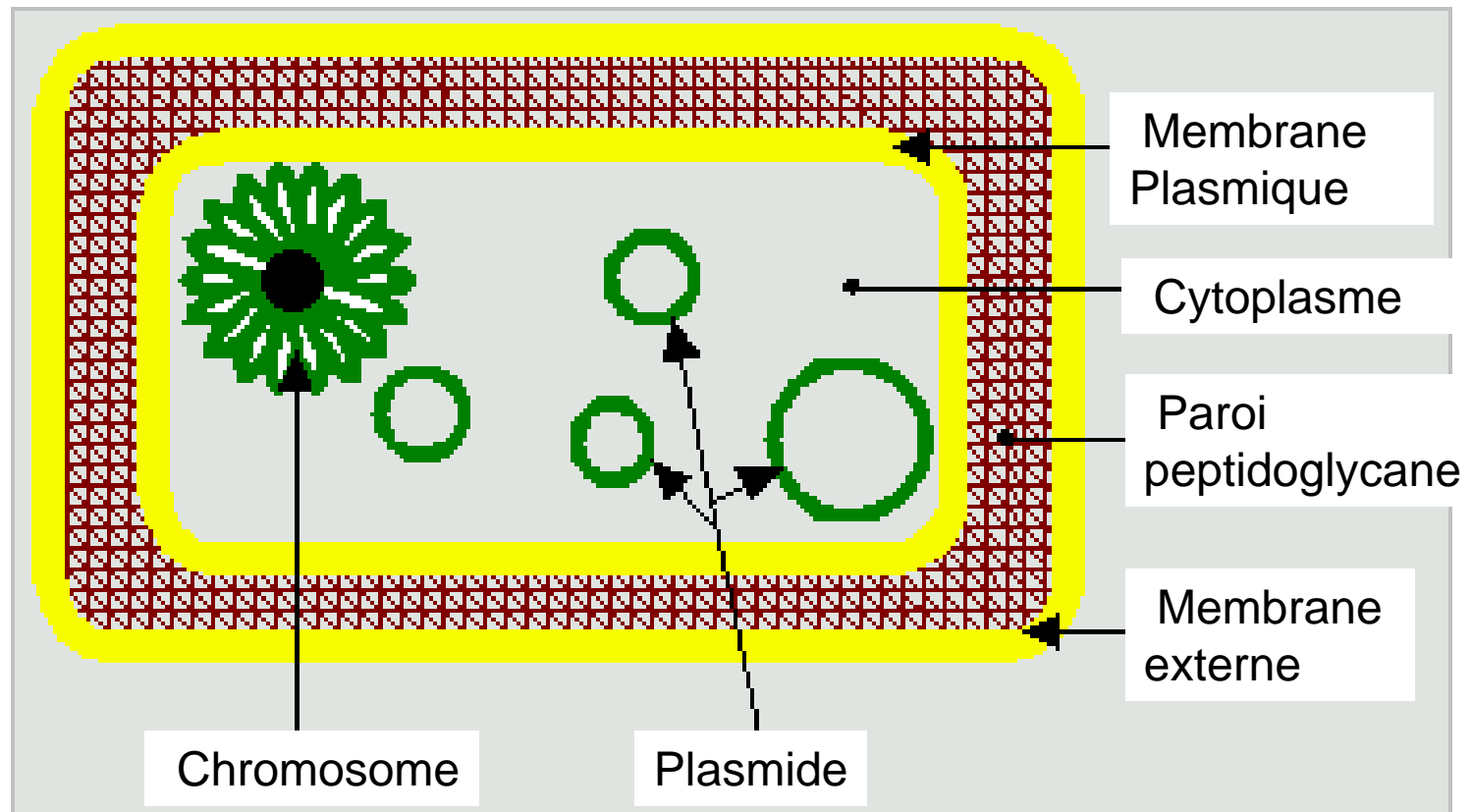
**Transduction spécialisée ou spécifique**

(n'importe quelle région d'un chromosome  
bactérien

# Chapitre 7 : Génétique microbienne et génomique

- Bactéries
  - Le génome est constitué d'ADN: chromosomique et extra-chromosomique (plasmidique)
- Virus
  - Le génome peut être soit de l'ADN soit de l'ARN

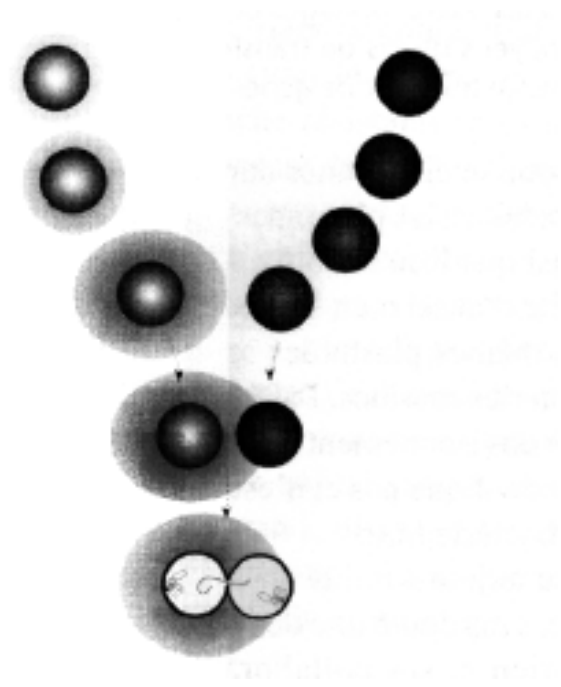




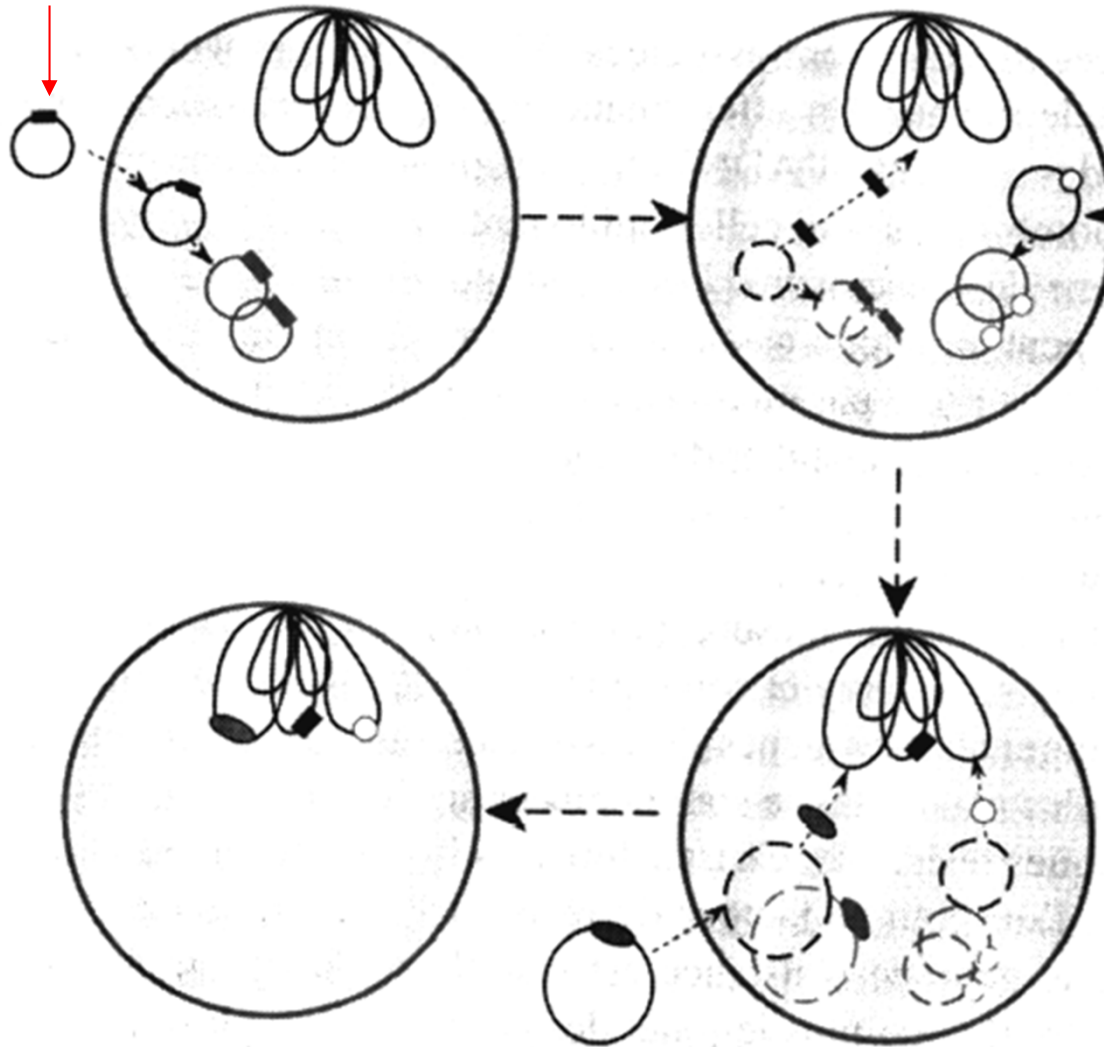
**Chromosome (1 chromosome/bactérie)**  
**Plasmide (100 à 1000 copies/bactéries)**  
**(applications en clonage moléculaire)**

# Echanges génétiques et apparition de la résistance aux antibiotiques

- Ce mécanisme peut être transmis à **d'autres bactéries vivant dans le voisinage d'une bactérie résistante**



Gène de résistance: transposons

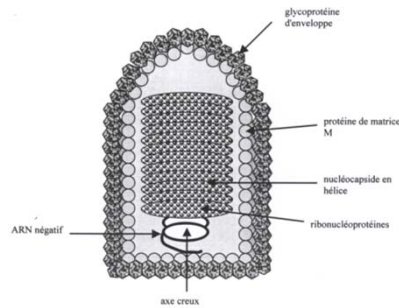


**Les transposons** sont des éléments génétiques mobiles (cf séquences d'insertion) codant pour des fonctions qui vont conférer à la bactérie qui les porte, un phénotype particulier (ex une résistance à un antibiotique)

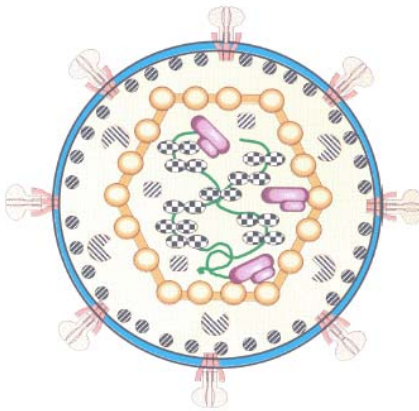
Ce mécanisme est héréditaire : une bactérie le transmet à sa descendance.

C'est ainsi que des bactéries qui vivent sur notre corps (commensales) deviennent elles aussi résistantes.

# Les génomes viraux



A.



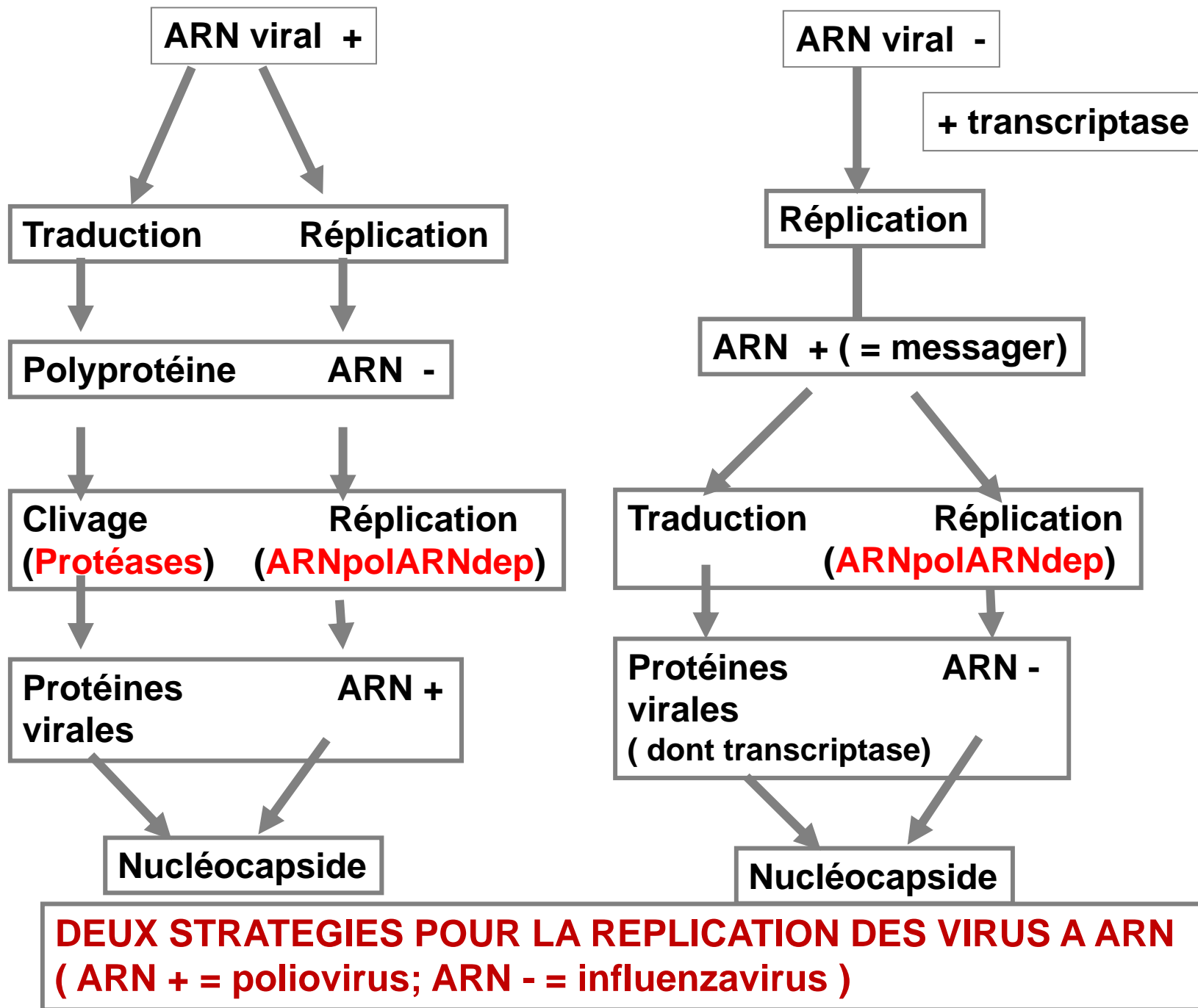
- Le génome des virus est constitué d'un seul type d'acide nucléique : de l'ADN ou de l'ARN, soit sous forme monocaténaire ou bicaténaire, soit linéaire ou circulaire, soit en une seule molécule ou en plusieurs segments.
- Le génome viral est haploïde c'est à dire qu'il n'existe qu'une seule copie de chaque gène à l'exception du génome des rétrovirus qui contient deux molécules identiques d'ARN (génome diploïde).
- Selon la taille du génome le nombre de gènes peut aller de 4 à plus de 200 gènes codant pour autant de protéines. Celles-ci sont des protéines structurales constitutives du virus et des protéines non structurales qui interviendront lors du cycle de multiplication intracellulaire du virus mais ne sont pas incorporées dans le virion.

# Virus à ADN – Virus à ARN

- **Virus ADN** : génome généralement bicaténaire (sf les *Parvoviridae*). La taille du génome s'échelonne entre 3,2 kpb pour le virus de l'hépatite B (VHB) à 375 kpb pour les Poxvirus des insectes.
- Il est généralement linéaire mais il y a des exceptions: par exemple celui du VHB, est circulaire et partiellement bicaténaire .
- La constitution des génomes de grande taille est complexe: certains contiennent des séquences répétitives, internes ou aux extrémités du génome, des régions codantes appelées cadres de lecture ouverts (*ORF* soit "*Open Reading Frame*") et des régions non codantes qui interviendront dans le déroulement du cycle de réplication.
- Enfin certains génomes sous la forme circulaire ont la capacité de s'intégrer dans le génome de la cellule hôte ( VHB, virus Epstein-Barr).
- **Les virus ARN**: génome généralement monocaténaire (sf les *Reoviridae*). La taille du génome varie de 1,7 kb (3,5 kb pour la coliphage) à 27 kb pour les *Réoviridae*.
- L'ARN est habituellement linéaire. Certains virus ont un génome segmenté comme les *Orthomyxoviridae* (virus de la grippe) à 7 ou 8 fragments ou les *Bunyaviridae* à 3 segments. Cette structure fragmentée de l'ARN favorise les recombinaisons et réassortiments génétiques entre des souches différentes: conséquences sur l'épidémiologie d'une infection par exemple celle de la grippe.
- Sur le plan structural, les génomes linéaires et monocaténaires diffèrent entre eux par leurs extrémités 5' et 3'. L'extrémité 5' peut être soit libre soit coiffée ou liée à une protéine. L'extrémité 3' peut être soit libre soit polyadénylée. Comme dans les virus à ADN, certains contiennent des séquences répétitives, des régions codantes et non codantes.

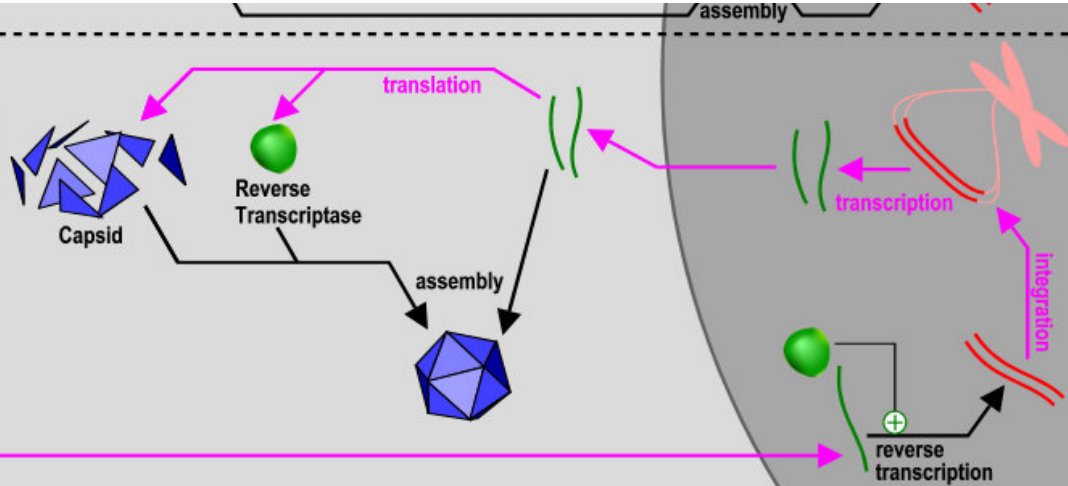
# Polarité des génomes virus à ARN

- L'ARN viral simple brin se présente sous forme soit d'ARN de polarité positive (ARN+) soit d'ARN de polarité négative (ARN-).
- **L'ARN+** a le même sens qu'un ARNm, il se comporte comme un messenger et peut être traduit directement en protéines virales par la cellule. Dans ce cas le génome viral est directement infectieux.
- **L'ARN-**, de polarité anti-messenger doit être transcrit au préalable en ARNm par une ARN polymérase associée au virion. Dans ce cas le génome n'est pas directement infectieux.



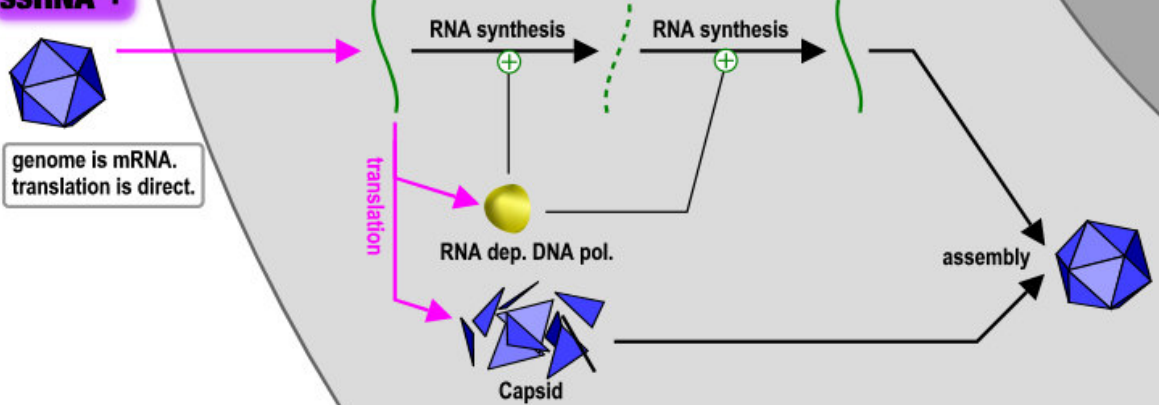
### Retroviruses

retroviruses must carry a reverse transcriptase to make DNA out of the RNA.



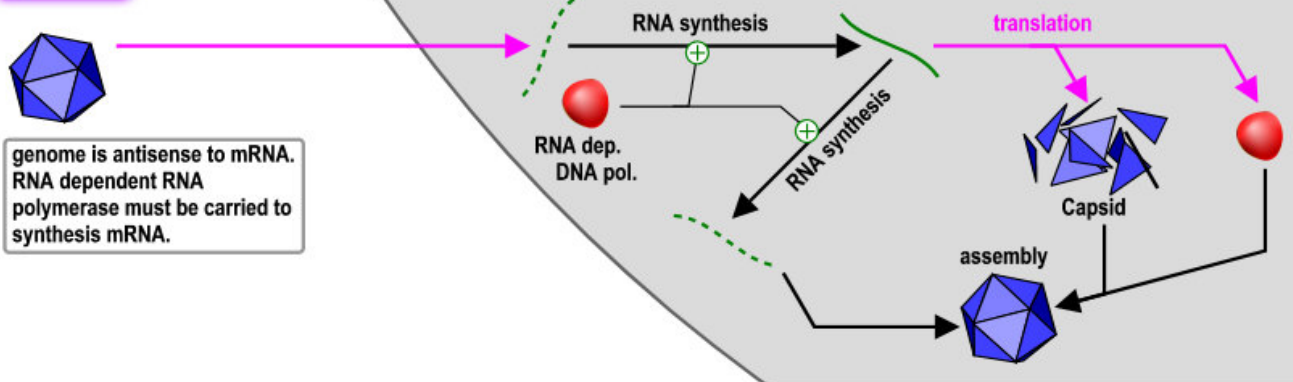
### ssRNA +

genome is mRNA. translation is direct.



### ssRNA -

genome is antisense to mRNA. RNA dependent RNA polymerase must be carried to synthesis mRNA.





# Variabilité génétique des virus

- Nature et génération des virus mutants
  - Fidélité des enzymes de réplication virale
  - Processivité des enzymes de réplication virale
- Sélection et capacité répllicative des virus mutants

# Exemple de virus hautement variable :

## Le VIH

- **Le virus du SIDA présente une incroyable variabilité génétique.** Cet art de se transformer « à volonté » lui permet de se maintenir et d'échapper à nos défenses immunitaires
- Il existe deux types principaux : le VIH1 et le VIH2
  - **VIH-1 PANDEMIQUE** (Groupe M (« majority ») Groupe N (« non M /non O », *Cameroun*) Groupe O (« outlier », *Cameroun, Gabon, Guinée Eq.*
  - **VIH-2: NON PANDEMIQUE**

## Groupe Majeur M



- Dix sous-types génétiquement proches, mais distincts
- Ces sous-groupes se sont créés avec la progression de l'épidémie à travers le monde. Leur distribution varie en fonction des régions

Groupe Majeur M

A

B

C

D

E

F

G

H

I

J



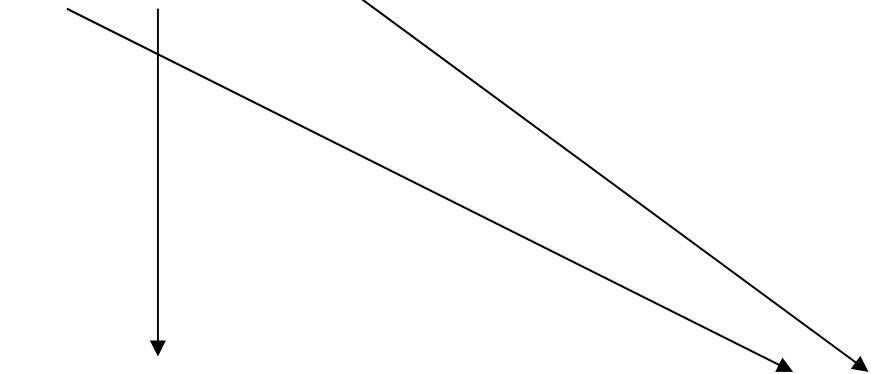
Europe et Amérique du Nord

Groupe Majeur M

A B C D E F G H I J

Europe et Amérique du Nord

Afrique



## La variabilité du VIH ne s'arrête pas là

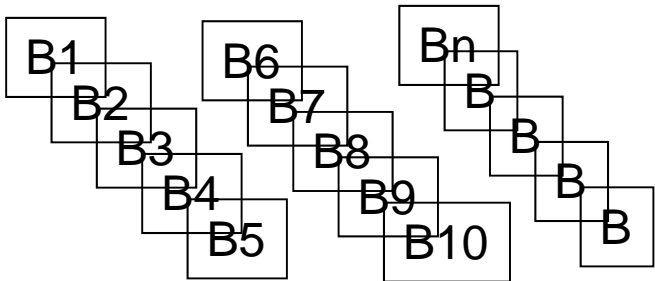
- Alors que le virus se réplique chez le malade, des erreurs de copie ont lieu (une mutation par copie)
- Ces erreurs conduisent à la genèse de variants d'autant plus nombreux que la réplication virale est intense (**environ mille milliards de virus infectent une seule personne**)

Groupe Majeur M

A B C D E F G H I J



Europe et Amérique du Nord



# Notion de quasi-espèces

- Ces milliards de virus ont tous un « petit quelque chose » de différent du à une erreur de copie
- Il s'en trouvera un pour **résister aux attaques du système immunitaire et/ou au traitement**

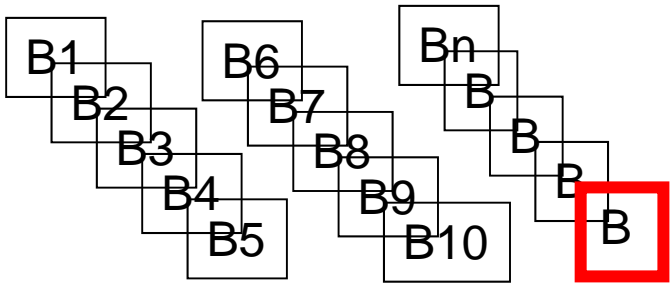


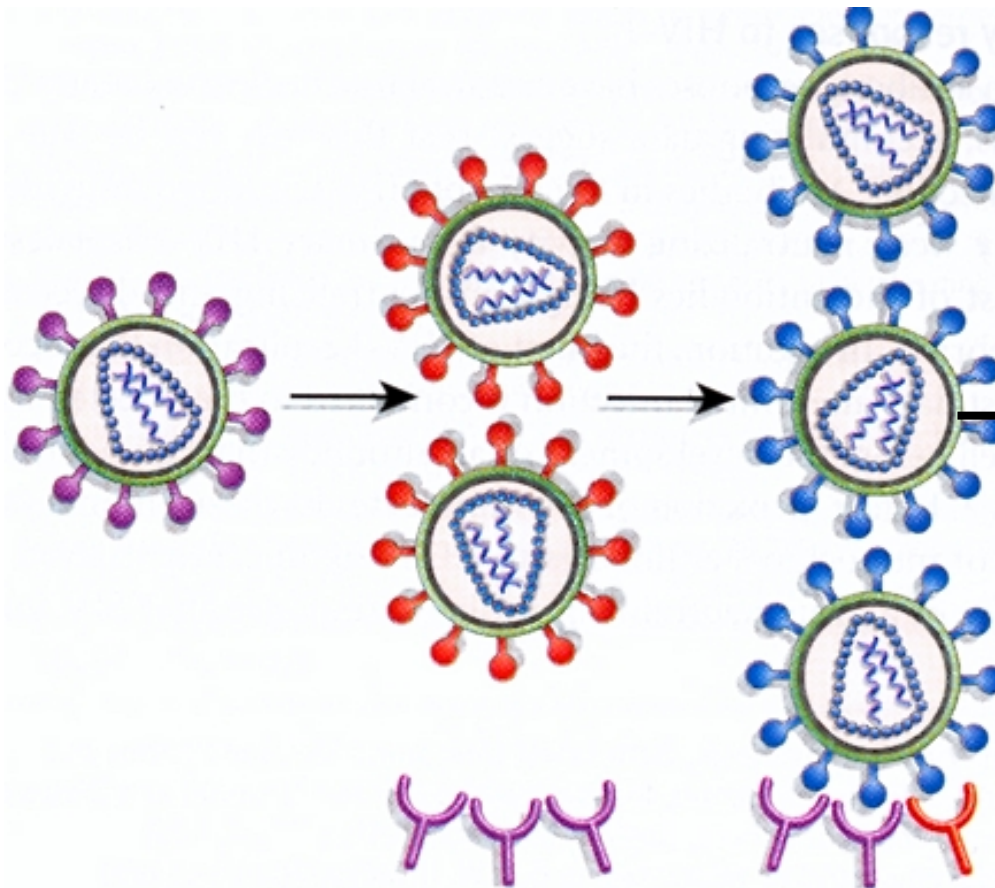
Groupe Majeur M

A B C D E F G H I J



Europe et Amérique du Nord

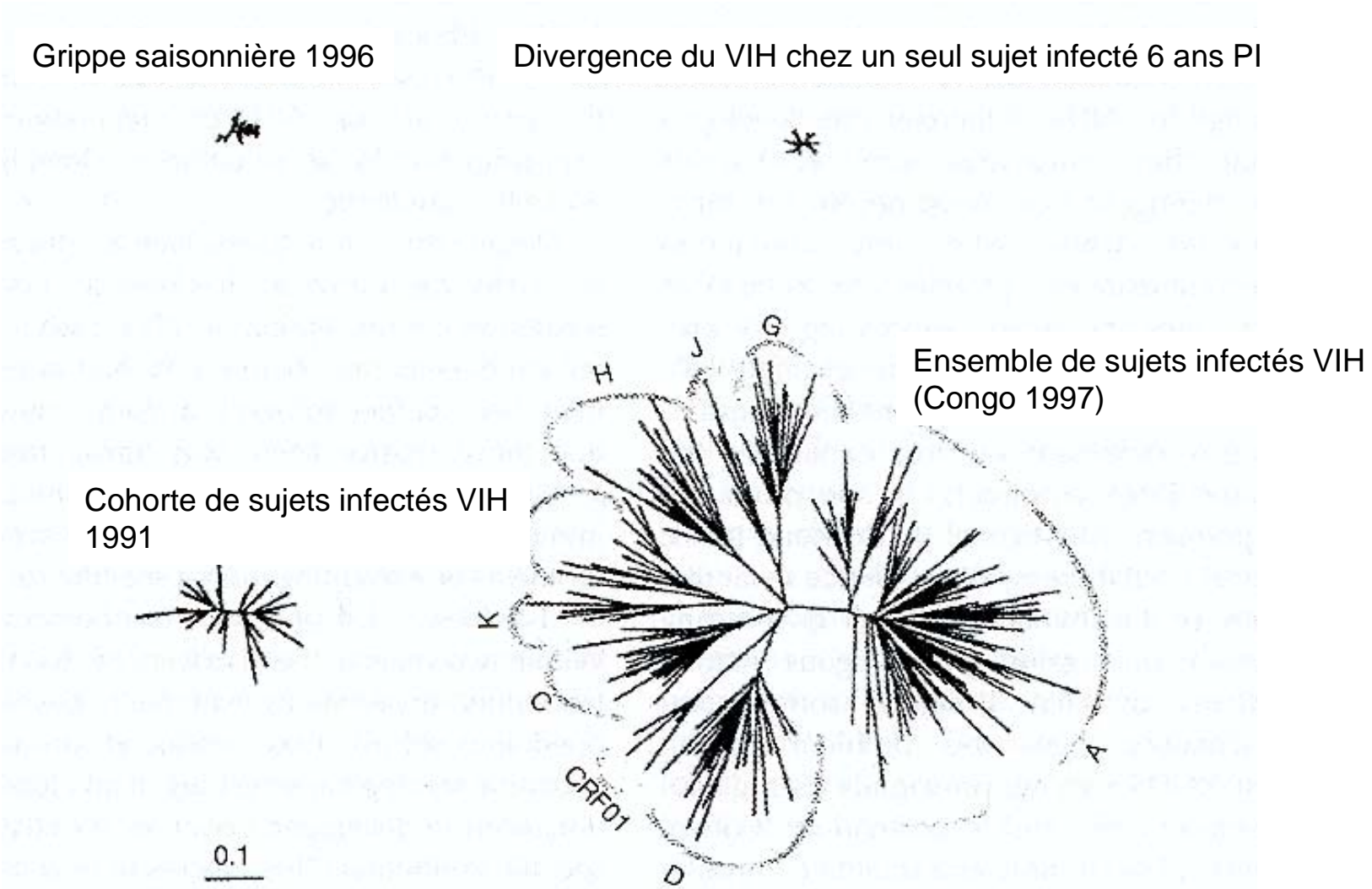




Echappement vis-à-vis des anticorps neutralisants: Le virus échappe à la réponse humorale en générant de nouveaux variants non reconnus par les anticorps initiaux

**Source de copies futures (échappement viral)**

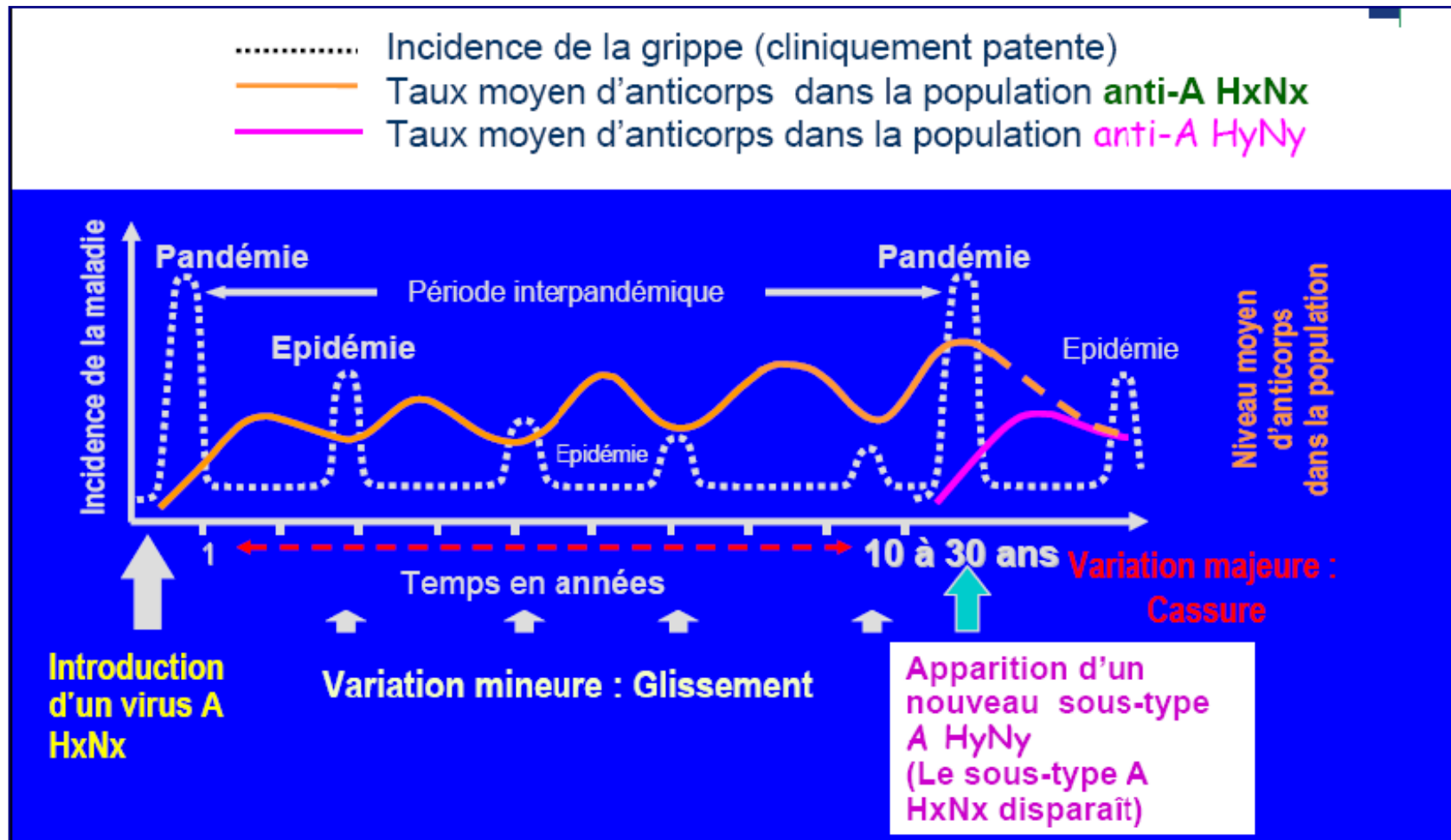
# Divergence des souches de VIH



# Les Variations Antigéniques des Virus Influenza Humains

	<b>Cassures</b>	<b>Glissements</b>
<b>Types</b>	<b>Type A</b>	<b>Types A et B</b>
Mécanismes	Réassortiment de gènes (virus animaux) Changements majeurs des gènes de NA et HA	Mutations ponctuelles Dérives antigéniques progressives
Modifications antigéniques	<b><i>Majeures</i></b>	<b><i>Mineures</i></b>
<b>Conséquences</b>		
Taxonomiques	Apparition de nouveaux sous-types A	Apparition de nouveaux variants
Immunitaires	Pas ou peu d'immunité croisée entre deux sous-types A	Immunité croisée entre deux variants consécutifs
Épidémiologiques	<b><i>Pandémies</i></b>	<b><i>Épidémies annuelles</i></b>

# Épidémiologie de la Grippe



# Mentions légales

L'ensemble de cette œuvre relève des législations française et internationale sur le droit d'auteur et la propriété intellectuelle, littéraire et artistique ou toute autre loi applicable.

Tous les droits de reproduction, adaptation, transformation, transcription ou traduction de tout ou partie sont réservés pour les textes ainsi que pour l'ensemble des documents iconographiques, photographiques, vidéos et sonores.

Cette œuvre est interdite à la vente ou à la location. Sa diffusion, duplication, mise à disposition du public (sous quelque forme ou support que ce soit), mise en réseau, partielles ou totales, sont strictement réservées à l'université Joseph Fourier (UJF) Grenoble 1 et ses affiliés.

L'utilisation de ce document est strictement réservée à l'usage privé des étudiants inscrits à l'Université Joseph Fourier (UJF) Grenoble 1, et non destinée à une utilisation collective, gratuite ou payante.