

minimanuel

Microbiologie

Cours + QCM/QROC

mini manuel

Microbiologie

Cours + QCM/QROC

3^e édition

Daniel Prieur

Professeur honoraire de Microbiologie
à l'université de Bretagne Occidentale, Brest.

Claire Geslin

Maître de conférences, HDR, en Microbiologie et Virologie
à l'université de Bretagne Occidentale, Brest.

Christopher Payan

Professeur de Microbiologie, UFR Médecine,
à l'université de Bretagne Occidentale, Brest.

DUNOD

Mise en pages de cette édition : Nord Compo

Le pictogramme qui figure ci-contre mérite une explication. Son objet est d'alerter le lecteur sur la menace que représente pour l'avenir de l'écrit, particulièrement dans le domaine de l'édition technique et universitaire, le développement massif du photocopillage.

Le Code de la propriété intellectuelle du 1^{er} juillet 1992 interdit en effet expressément la photocopie à usage collectif sans autorisation des ayants droit. Or, cette pratique s'est généralisée dans les établissements

d'enseignement supérieur, provoquant une baisse brutale des achats de livres et de revues, au point que la possibilité même pour

les auteurs de créer des œuvres nouvelles et de les faire éditer correctement est aujourd'hui menacée. Nous rappelons donc que toute reproduction, partielle ou totale, de la présente publication est interdite sans autorisation de l'auteur, de son éditeur ou du Centre français d'exploitation du droit de copie (CFC, 20, rue des Grands-Augustins, 75006 Paris).



© Dunod, Paris, 2011, 2015, 2020

11, rue Paul Bert, 92240 Malakoff
www.dunod.com

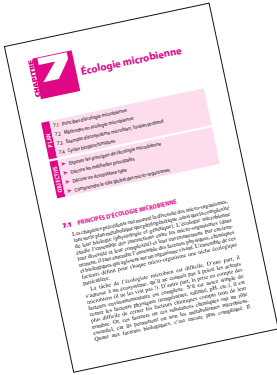
ISBN 978-2-10-081170-0

Le Code de la propriété intellectuelle n'autorisant, aux termes de l'article L. 122-5, 2° et 3° a), d'une part, que les « copies ou reproductions strictement réservées à l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective » et, d'autre part, que les analyses et les courtes citations dans un but d'exemple et d'illustration, « toute représentation ou reproduction intégrale ou partielle faite sans le consentement de l'auteur ou de ses ayants droit ou ayants cause est illicite » (art. L. 122-4).

Cette représentation ou reproduction, par quelque procédé que ce soit, constituerait donc une contrefaçon sanctionnée par les articles L. 335-2 et suivants du Code de la propriété intellectuelle.

Comment utiliser ce Mini-Manuel

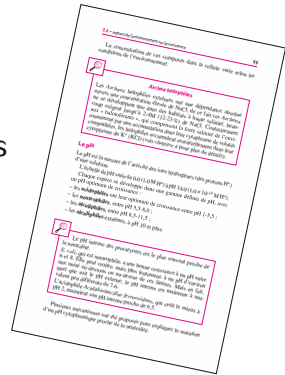
La page d'entrée de chapitre



Elle donne le plan du cours, ainsi qu'un rappel des objectifs pédagogiques du chapitre

Le cours

Le cours, concis et structuré, expose les notions importantes du programme



Les rubriques



Une erreur à éviter



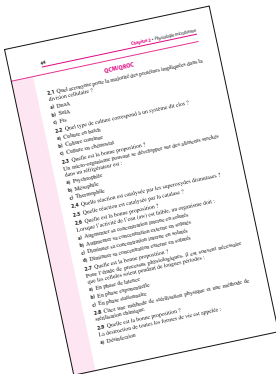
Un peu de méthode



Un exemple pour comprendre



Les points clés à retenir



Les exercices, QCM ou QROC

Ils sont proposés en fin de chapitre, avec leur solutions, pour se tester tout au long de l'année.

Table des matières

Avant-propos	XI
1 La cellule procaryote	1
1.1 Formes et dimensions	2
1.2 Membranes et parois	4
1.3 Inclusions	14
1.4 Les endospores	15
1.5 Mobilité cellulaire	17
1.6 Le matériel génétique	20
Points clefs	22
QCM/QROC	24
Solutions	25
2 Physiologie microbienne	27
2.1 Division cellulaire	27
2.2 Croissance des populations microbiennes	29
2.3 Mesure de la croissance microbienne	33
2.4 Impact de l'environnement sur la croissance	35
2.5 Contrôle de la croissance des micro-organismes	41
Points clefs	44
QCM/QROC	45
Solutions	46

3	Diversité métabolique	49
	3.1 Introduction	49
	3.2 Rappels et définitions	49
	3.3 Oxydo-réduction et conservation de l'énergie	51
	3.4 Les métabolismes phototrophes	53
	3.5 Les métabolismes chimiolithotrophes	57
	3.6 Les métabolismes chimio-organotrophes	64
	3.7 La fixation du CO ₂	68
	Points clefs	70
	QCM/QROC	72
	Solutions	73
4	Diversité des micro-organismes	75
	4.1 Introduction	75
	4.2 Méthodes d'étude de la diversité des Procaryotes	77
	4.3 Les <i>Bacteria</i>	81
	4.4 Les <i>Archaea</i>	97
	4.5 Les micro- <i>Eukarya</i>	104
	Points clefs	112
	QCM/QROC	114
	Solutions	115
5	Éléments génétiques mobiles	119
	5.1 Les plasmides	119
	5.2 Séquences d'insertion et transposons	126
	5.3 Les virus	128
	5.4 Les agents de transfert de gènes et vésicules membranaires	141

Points clefs	145
QCM/QROC	146
Solutions	147
6 Génétique bactérienne	149
6.1 Rappels	149
6.2 Les mutations	152
6.3 Les transferts de matériel génétique	159
6.4 Des systèmes de défense de l'hôte	171
Points clefs	174
QCM/QROC	175
Solutions	176
7 Écologie microbienne	179
7.1 Principes d'écologie microbienne	179
7.2 Méthodes en écologie microbienne	184
7.3 Exemple d'écosystème microbien : l'océan profond	190
7.4 Cycles biogéochimiques	196
Points clefs	202
QCM/QROC	203
Solutions	204
8 Microbiologie humaine	207
8.1 Introduction	207
8.2 Classification, structure et activité	209
8.3 Épidémiologie, habitat et réservoir	211
8.4 Physiopathologie	216
8.5 Réponse immunitaire et défense de l'hôte	220

8.6 Éléments diagnostiques	223
8.7 Prévention et approche thérapeutique	228
Points clefs	233
QCM/QROC	235
Solutions	236
Index	237

Avant-propos

Parmi les disciplines des Sciences du Vivant, la Microbiologie est sans doute la plus fascinante, mais aussi la plus complexe. Le dénominateur commun des organismes étudiés par les microbiologistes est leur petite taille, de l'ordre du micron, ce qui nécessite l'emploi d'une batterie de techniques destinées à amplifier le signal : microscopie, cultures, amplification de l'ADN. Pourtant, les micro-organismes, petits et invisibles, sont très nombreux : 1 million dans un centimètre cube d'eau, 1 milliard dans un gramme de sol, 10 à 100 milliards dans un gramme de contenu de tube digestif. Ils ont colonisé les premiers toute la biosphère, y compris dans des environnements extrêmes qu'ils sont les seuls à occuper.

Dans tous les Domaines du Vivant, *Eukarya*, *Bacteria* et *Archaea*, existent des micro-organismes. Les micro-*Eukarya*, unicellulaires, possèdent en fait les mêmes propriétés biologiques que leurs parents pluricellulaires que sont les champignons, les plantes et les animaux. Les grandes lois de la biochimie, de la génétique, de la biologie cellulaire s'appliquent à tous les représentants du Domaine, mais les petits, comme la levure, sont de merveilleux outils pour comprendre la biologie des plus grands. Dans les deux autres Domaines, *Bacteria* et *Archaea*, on ne rencontre que des micro-organismes. Mais pour chacun de ces Domaines, l'organisation cellulaire, la génétique, la physiologie sont différentes. Cependant, ces trois Domaines dérivent d'un ancêtre commun et possèdent quelques propriétés communes, comme le code génétique. Les virus, également étudiés par les microbiologistes, possèdent aussi le même code génétique, mais ils ne sont pas organisés sur le mode cellulaire, et leur biologie est à elle seule une discipline particulière.

La biologie des micro-organismes est donc extraordinairement diversifiée.

Les micro-organismes sont souvent associés aux maladies infectieuses et il est vrai que nombre de virus, *Bacteria* et micro-*Eukarya* sont des agents pathogènes redoutables : SIDA, grippe, choléra, fièvres hémorragiques, etc. Mais ce sont pourtant des auxiliaires indispensables. Sur terre, dans les océans, ils recyclent en permanence les éléments chimiques (carbone, azote, soufre, etc.) indispensables à la vie. Associés à certaines plantes, ils fixent l'azote atmosphérique.

Dans les tractus digestifs des animaux, ils contribuent à la digestion. Avant même qu'ils ne soient découverts, les micro-organismes ont été utilisés pour produire des boissons et des aliments fermentés : vinaigre, bière, vin, fromages, etc. Beaucoup produisent les antibiotiques utilisés en médecine. Ils contribuent aussi à extraire le cuivre et d'autres métaux des minerais, à épurer nos eaux usées, à fabriquer des produits comme l'éthanol. Leurs enzymes sont employées dans de nombreux procédés de l'industrie agro-alimentaire. Plus récemment, grâce aux techniques de l'ADN recombinant (d'ailleurs mises au point sur des micro-organismes), les micro-organismes génétiquement modifiés fabriquent de l'insuline, des enzymes pour l'industrie ou les laboratoires de recherche. Ils sont devenus des outils indispensables pour la recherche en biologie médicale, à l'origine par exemple de vecteurs pour la thérapie génique.

Traiter l'ensemble de la Microbiologie dans un mini-manuel est une tâche impossible. Cependant, le lecteur trouvera dans les chapitres qui suivent les principales clefs pour comprendre la discipline, et qui sait, faire le choix de devenir microbiologiste.

La cellule procaryote

PLAN

- 1.1 Formes et dimensions
- 1.2 Membranes et parois
- 1.3 Inclusions
- 1.4 Les endospores
- 1.5 Mobilité cellulaire
- 1.6 Le matériel génétique

OBJECTIFS

- Décrire la cellule procaryote.
- En présenter les caractères distinctifs.

L'organisation des cellules procaryotes est relativement simple (*figure 1.1*). Leurs principales caractéristiques sont présentées au cours de ce chapitre.

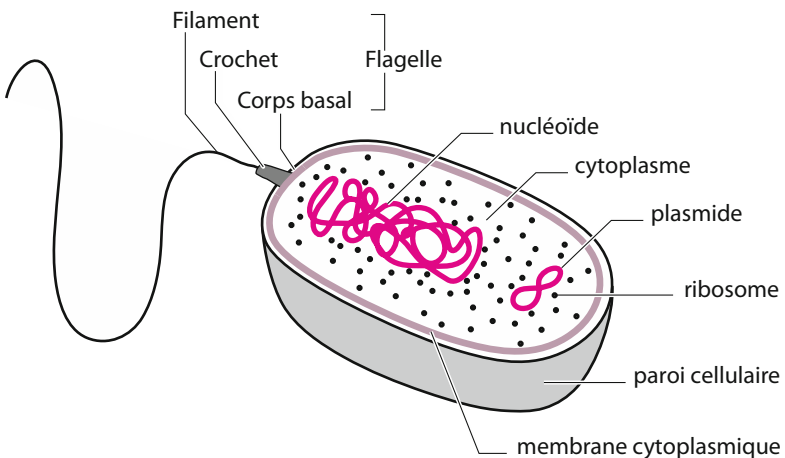


Figure 1.1 Organisation d'une cellule procaryote.

1.1 FORMES ET DIMENSIONS

Les cellules procaryotes présentent une variété de formes relativement limitée, que l'on regroupe en types morphologiques désignés par des termes spécifiques (*figure 1.2*).

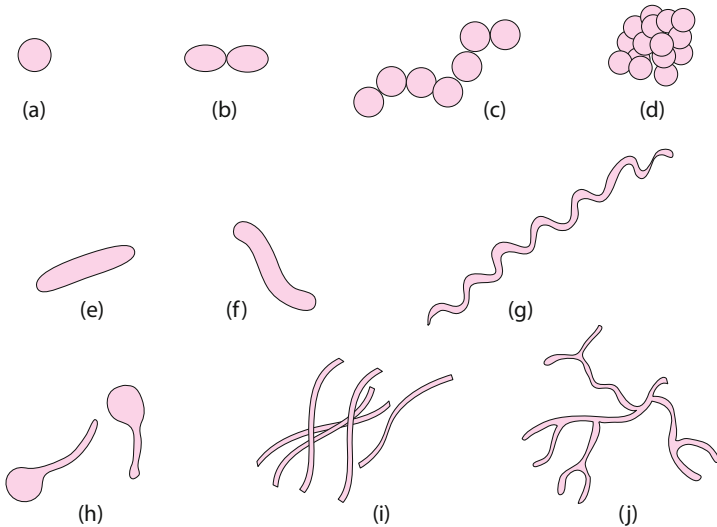


Figure 1.2 Types morphologiques de cellules procaryotes.

(a) coque, (b) diplocoque, (c) streptocoque, (d) staphylocoque, (e) bacille, (f) spirille, (g) spirochète, (h) formes bourgeonnante et pédonculées, (i) filaments, (j) filaments ramifiés.

Les cellules de forme sphérique, ou légèrement ovales, portent le nom de coques. Assemblées par deux, en chaînes, ou en amas irréguliers, elles portent alors les noms de diplocoques, streptocoques ou staphylocoques.

La forme cylindrique (plus ou moins allongée) est nommée bacille, ou parfois bâtonnet. Ces bacilles peuvent être incurvés (vibrions) ou spiralés (spirilles).

Certaines cellules de procaryotes présentent des morphologies particulières comme les spirochètes (en forme de tire-bouchon), ou possèdent des appendices (hyphes, pédoncules) parfois utilisés pour se fixer à un support. Certaines cellules en formes de bâtonnets allongés restent attachées par leurs extrémités, formant des filaments, parfois de grande taille, pouvant être entourés d'une gaine. Autour de ces morphologies de base, il existe de nombreuses formes intermédiaires, mais aussi des formes étranges, telles des étoiles ou des cercles.

La taille d'une cellule de procaryote est de l'ordre du micron (μm), mais il existe une grande disparité. Ainsi, pour les formes sphériques,

la bactérie pathogène *Mycoplasma pneumoniae* a un diamètre de 0,2 μm , la bactérie sulfo-oxydante *Thiovulum majus*, 18 μm , la dimension maximale connue étant observée pour une autre bactérie sulfo-oxydante, *Thiomargarita namibiensis*, dont certaines cellules mesurent jusque 750 μm . Pour les formes en bâtonnets, diamètres et longueurs varient considérablement. La bactérie « modèle », *Escherichia coli*, mesure 1 \times 2 μm , mais certaines espèces atteignent quelques centaines de microns. En ce qui concerne les filaments, ils forment souvent des amas très denses, parfois visibles à l'œil nu. De plus, selon l'état physiologique des cellules, par exemple en situation de carence nutritionnelle, la taille peut diminuer considérablement.



Observer les cellules procaryotes : les microscopes

La petite taille des cellules procaryotes nécessite l'emploi de microscopes pour les observer. Ces microscopes appartiennent à deux grandes familles : les microscopes optiques et les microscopes électroniques. Le microscope optique « classique », à fond clair, est utilisé essentiellement pour l'observation de la coloration de Gram (voir § 8.4, p. 216). La morphologie des cellules vivantes (le plus souvent non pigmentées) est mieux observée en microscopie à contraste de phase. D'emploi plus récent, le microscope à fluorescence permet l'observation de cellules produisant une fluorescence naturelle (bactéries photosynthétiques contenant de la chlorophylle) ou colorées par un fluorochrome plus ou moins spécifique. Le plus fort grossissement possible d'un microscope optique est de $\times 1\,500$. La limite de résolution est de 0,2 μm .

Les microscopes électroniques utilisent, au lieu des photons, des faisceaux d'électrons. Ils nécessitent une longue préparation des échantillons avant l'observation. Le microscope électronique à transmission permet d'observer les structures intracellulaires, avec une résolution possible de 0,2 nm. Le faisceau d'électrons traverse la préparation (sous forme de coupes ultra-fines de quelques dizaines de nm d'épaisseur). Selon leur densité, les structures rencontrées apparaissent plus ou moins foncées. Le microscope électronique à balayage permet, lui, d'observer les cellules entières (comme avec une loupe), avec des grossissements allant jusqu'à plus de $\times 100\,000$.

Dans les laboratoires de recherche, d'autres microscopes comme le microscope à force atomique, ou le microscope confocal à balayage laser, permettent l'observation en trois dimensions, avec une très grande résolution.

Cependant, les grandes tailles observées ne concernent que quelques espèces et, dans l'ensemble, les cellules procaryotes ont des dimensions nettement inférieures à celles des cellules eucaryotes qui se situent plutôt dans une fourchette allant de 2 à plus de 200 μm .

Une conséquence de cette petite taille est que le rapport surface/volume d'une petite cellule est plus élevé que pour les cellules de plus grande taille. Il en résulte proportionnellement davantage de possibilités d'échanges nutritionnels avec l'environnement, et donc des taux de division cellulaire plus élevés. Ceci conduit à des populations de cellules procaryotes élevées, de l'ordre de 10^5 à 10^6 cellules par millilitre d'eau ou 10^8 à 10^9 cellules par gramme de sol.

1.2 MEMBRANES ET PAROIS

Les organismes procaryotes sont essentiellement unicellulaires. La membrane cytoplasmique et la paroi qui délimitent la cellule assurent le contact et les échanges avec l'environnement, et sont essentielles aux fonctions cellulaires majeures comme le transport des nutriments ou l'intégrité cellulaire.

La membrane cytoplasmique

La membrane cytoplasmique entoure la cellule. C'est une structure fine de 8 nm d'épaisseur qui sépare le cytoplasme de son environnement. Une déchirure de la membrane provoque une fuite du contenu cellulaire et la mort de la cellule. Outre cette fonction protectrice, la membrane cytoplasmique constitue une barrière perméable qui permet, de manière sélective, l'entrée des nutriments et la sortie des déchets du métabolisme.

Composition chimique des membranes

La membrane cytoplasmique des procaryotes est constituée d'une double couche de phospholipides, comme toute membrane biologique. Ils sont constitués d'une tête hydrophile composée de phosphates de glycérol et d'une queue hydrophobe composée d'acides gras, liés au glycérol par des liaisons ester (*figure 1.3a*). La composition de ces acides gras varie selon l'espèce considérée, mais aussi son état physiologique. En solution aqueuse, les phospholipides forment spontanément une double couche, les acides gras (région hydrophobe) se trouvant à l'intérieur (*figure 1.4*).

Chez les Eucaryotes, la membrane est stabilisée par des stérols, composés absents chez les Procaryotes à l'exception des mycoplasmes et des bactéries méthanotrophes. Chez les Procaryotes du domaine des *Bacteria*, on trouve des hopanoïdes dans ce rôle stabilisateur.

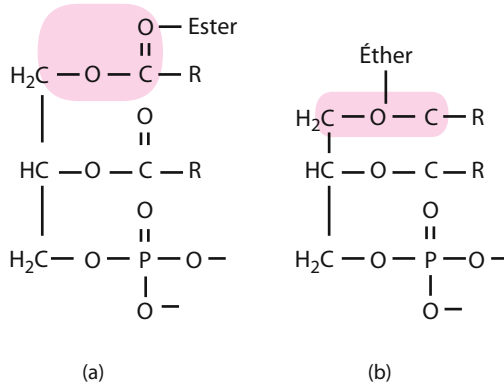
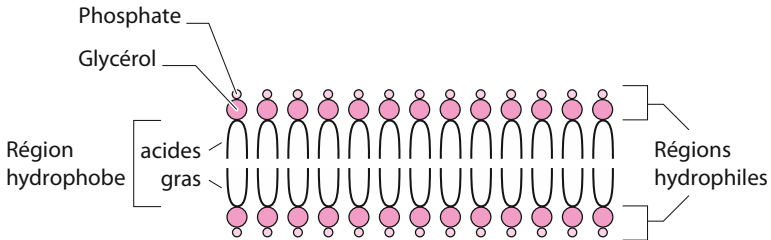


Figure 1.3 (a) Liaison ester ; (b) liaison éther.



Les procaryotes du domaine des *Archaea* possèdent des lipides membranaires différents. Les acides gras sont absents et remplacés par des unités répétitives à 5 atomes de carbone, l'isoprène. Ces chaînes d'isoprène sont reliées à la molécule de glycérol par des liaisons éther (figure 1.3b). Ces unités membranaires s'organisent également en double-couches. Cependant, chez certaines *Archaea*, les extrémités des chaînes lipidiques sont reliées entre elles par des liaisons covalentes, formant des molécules de tétraéther de glycérol. Il en résulte une structure en monocouche particulièrement résistante.

Les protéines membranaires

Les membranes cytoplasmiques contiennent également des protéines enchâssées dans la double couche de phospholipides. Certaines protéines membranaires traversent toute la membrane : elles sont en particulier impliquées dans le transport des nutriments vers l'intérieur de la cellule. D'autres protéines situées dans la membrane sont impliquées dans des processus énergétiques. Chez les bactéries Gram négatif, il existe des protéines périplasmiques, aux fonctions variées.

La représentation schématique d'une membrane cytoplasmique ne rend pas compte de sa fluidité réelle (*figure 1.5*).

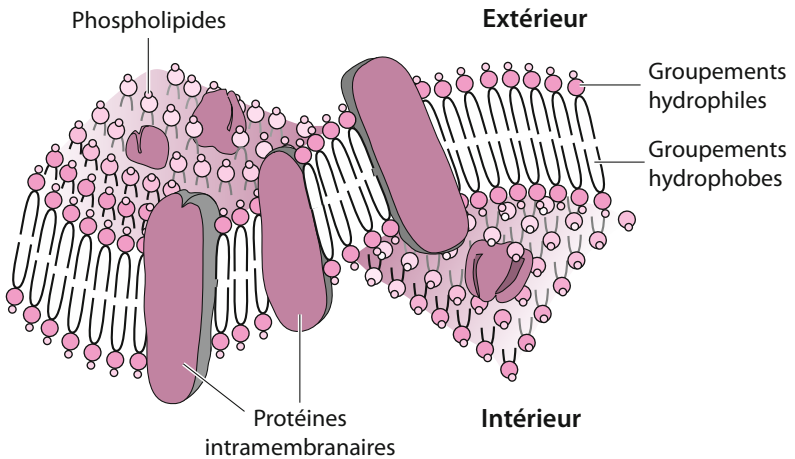


Figure 1.5 Structure de la membrane cytoplasmique.

Les différents constituants (lipides et protéines) possèdent une certaine mobilité, et les membranes ont une viscosité proche de celle de l'huile. Ces propriétés confèrent à la membrane cytoplasmique des fonctions vitales essentielles.

Le transport transmembranaire

La membrane cytoplasmique est une barrière perméable séparant le milieu intracellulaire de son environnement, mais permettant des échanges bidirectionnels. Elle est en outre le siège des processus de conservation de l'énergie (*chapitre 3*).

Perméabilité et protéines de transport

Le contenu cellulaire est une solution aqueuse de molécules variées : sels, sucres, acides aminés, nucléotides, vitamines, etc. En raison de la nature hydrophobe de la partie interne de la membrane cytoplasmique, seules de petites molécules hydrophobes peuvent la traverser, par simple diffusion. Un transport spécifique est nécessaire pour les molécules chargées ou les molécules hydrophiles. La molécule d'eau, en raison de sa petite taille, peut traverser la membrane cytoplasmique, bien que son passage soit facilité par des protéines de transport spécifiques nommées aquaporines.

Les composés chimiques ne pouvant pas diffuser au travers de la membrane sont pris en charge par des protéines de transport, qui

permettent l'entrée de ces composés contre des gradients de concentration, et leur accumulation dans la cellule à des concentrations supérieures à celles de l'environnement. Les systèmes de transport trans-membranaires possèdent deux caractéristiques essentielles. D'une part, ils sont saturés pour de faibles concentrations de substrats, ce qui aide les cellules à concentrer dans le cytoplasme des molécules très peu concentrées dans l'environnement. D'autre part, ces systèmes de transport sont très spécifiques : de nombreuses protéines ne transportent qu'une seule molécule, ou une classe de molécule. Le nombre des différentes protéines de transport dans la membrane est régulé par la cellule, en fonction de la concentration des nutriments dans l'environnement.

Systèmes de transport membranaires

Les transports transmembranaires s'effectuent selon trois processus : le transport simple, la translocation de groupe et le système ABC (figure 1.6).

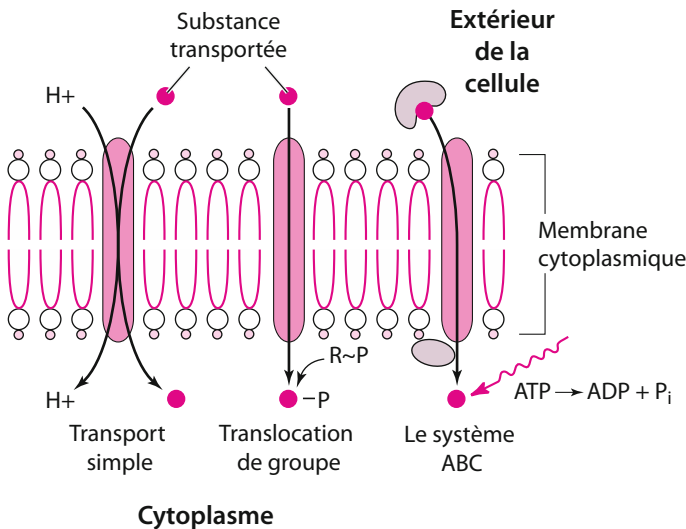


Figure 1.6 Les trois systèmes de transport.

Ces trois processus font intervenir des transporteurs de nature protéique regroupés en trois classes. Les uniports transportent une molécule dans une seule direction. Les symports transportent une substance, en même temps qu'une autre, et dans le même sens. Les antiports transportent une substance dans une direction et une autre simultanément dans le sens opposé (figure 1.7).

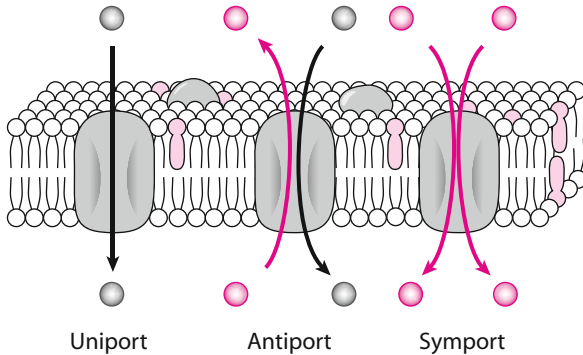


Figure 1.7 Structure des transporteurs membranaires.

Chez la bactérie *Escherichia coli*, le lactose est transporté selon le processus de transport simple grâce à une protéine symport, la perméase lac. C'est l'ion H^+ qui accompagne le lactose.

Dans le cas de la translocation de groupe, la molécule transportée est chimiquement modifiée au cours du transport trans-membranaire. L'exemple le plus étudié est le système phosphotransférase qui permet le transport de sucres comme le glucose chez *Escherichia coli*. Cinq protéines sont impliquées dans ce processus qui phosphoryle le sucre transporté. Ce processus requiert de l'énergie, qui est fournie par un composé riche en énergie, le phosphophénolpyruvate.

Le système ABC se rencontre essentiellement chez les bactéries Gram⁻, qui possèdent un espace périplasmique. De nombreux systèmes ont été décrits, intervenant dans le transport des sucres, des acides aminés, ou de nutriments inorganiques comme les phosphates, les sulfates ou les métaux. Ce système utilise des protéines trans-membranaires, des protéines liées au périplasmique et des protéines hydrolysant l'ATP. Le terme ABC signifie « ATP-binding-cassette », ou cassette de liaison à l'ATP. La protéine périplasmique se lie au substrat, la protéine trans-membranaire forme le canal par lequel transite le substrat, et la protéine hydrolysant l'ATP fournit l'énergie.

La paroi bactérienne

De nombreuses molécules en solution sont accumulées à l'intérieur de la cellule, à des pressions de l'ordre de 2 atmosphères. La paroi, située à l'extérieur de la membrane cytoplasmique, va permettre de contenir cette pression et contribuera à maintenir la morphologie et la rigidité de la cellule. Chez les *Bacteria*, il existe deux grands types de parois, que l'on rencontre chez les bactéries Gram⁺ et les bactéries Gram⁻