

Université Saad DAHLAB - Blida

Département des Sciences Vétérinaires

Module Microbiologie Générale (2^e année)

Dr AKLOUL K.

CHAPITRE 1 LE MONDE MICROBIEN

1. INTRODUCTION

Les micro-organismes constituent un groupe de très petits êtres vivants caractérisés par une petite taille, une structure simple et l'invisibilité à l'œil nu. Les microbes ne peuvent être vus qu'à l'aide d'un microscope optique ou électronique.

La plupart des micro-organismes sont bénéfiques pour l'homme, pour l'animal et pour le végétal. Par exemple, ils jouent un rôle essentiel dans les grands processus biologiques de transformation des matières organique végétales et animales. Ils permettent la putréfaction des matières organiques

Les colibacilles existants dans l'intestin de l'homme peuvent fournir certaines substances nutritives, surtout la vitamine K. L'homme ne peut pas la synthétiser, les colibacilles sont la seule source de la vitamine K. Ils permettent la digestion des aliments (En l'absence de bactéries, les bovins, les ovins et les caprins ne pourraient digérer les fibres dures de cellulose végétale), ils protègent notre peau et nos muqueuses.

Sur le plan industriel, les bactéries jouent un rôle essentiel dans la fabrication du fromage, du yaourt (bactéries lactiques), du vinaigre (bactéries acétiques), etc.

Les moisissures ont un rôle important durant la phase d'affinage : les pénicilliums roqueforti, donne le bleu au roquefort, le penicillium camemberti le duvet blanc du camembert, moisissure noble du raisin...

Levures utiles : Saccharomyces cerevisiae. Elles fermentent les sucres en alcool et gaz carbonique. Ex : Bière, fabrication du pain

Les bactéries pathogènes peuvent agir de 2 manières différentes

- M.I.A : Maladies Infectieuses d'origine Alimentaire, dues au développement des bactéries dans l'organisme, après ingestion d'un aliment contaminé. Elles s'attaquent directement aux tissus.

T.I.A : Toxi infection Alimentaire ou intoxication : Les bactéries produisent, une toxine responsable de divers troubles (diarrhées, vomissement, fièvres, douleurs abdominales), parfois mortels : la neurotoxine botulique, par exemple, qui est 20 000 fois plus active que l'arsenic...

2. HISTORIQUE

Principales étapes et découvertes de la microbiologie.

Découvertes	Auteurs	Date
- Premier microscope	Van Leeuwenhoek	1715
- La fermentation alcoolique dans le traité élémentaire de chimie	Lavoisier	1789
- Utilisation de la vaccine pour se protéger de la variole	Jenner	1796
- Mise au point d'une technique utilisant la chaleur (« appertisation ») permettant la conservation des aliments	Nicolas Appert	1809
- Étude qualitative et quantitative de la fermentation alcoolique (complétant les études de Lavoisier)	Gay-Lussac	1815
- Nature biologique des fermentations	Cagniard-Latour (France) Schwann et Kützing (Allemagne)	1836
- L'asymétrie moléculaire (acide tartrique)	Pasteur	1846
- Agent de la maladie du charbon épidémique et rôle des micro-organismes dans la genèse des maladies	Rayer et Davaine	1850
- Fermentation lactique	Pasteur	1857
- Étude de la fermentation alcoolique	Pasteur	1858
- Mise en évidence des germes dans l'atmosphère	Pasteur	1859
- La fermentation butyrique - l'anaérobiose	Pasteur	1861
- Études sur le vinaigre	Pasteur	1861-64
- Antisepsie chirurgicale, aseptie	Lister	1865
- Étude sur le vin	Pasteur	1866
- Acides nucléiques	Mischer	1868
- Techniques de fixation et de coloration des bactéries	Koch	1875
- Étude sur la bière	Pasteur	1876
- Stérilisation par la chaleur humide sous pression (autoclave)	Pasteur et Chamberland	1877
- Spores, application aux méthodes de stérilisation		
- Tyndallisation	Tyndall	1877
- Choléra des poules, immunisation par des cultures atténuées	Pasteur	1880
- Vaccination anti-charbonneuse – expérience publique de Pouilly-le-Fort	Pasteur	1881
- Méthodes d'isolement sur milieu solide	Koch	1881
- Études sur le rouget du porc	Pasteur	1882
- <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Koch	1882
- Emploi de l'agar	Mme Hesse	1882
- <i>Vibrio cholerae</i>	Koch	1883
- Vaccination contre la rage	Pasteur	1884
- Méthode de coloration différentielle des bactéries	Gram	1884
- <i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Loeffler	1884
- <i>Salmonella typhi</i>	Gaffky	1884
- Staphylocoques et Streptocoques	Rosenbach	1884
- Application du traitement antirabique à l'homme	Pasteur	1885
- <i>E. coli</i>	Escherich	1885
- Boîte dite de Pétri	Petri	1887

Principales étapes et découvertes de la microbiologie (suite)

Découvertes	Auteurs	Date
- <i>Neisseria meningitidis</i>	Weichselbaum	1887
- Bactéries fixatrices de l'azote et symbiotiques des légumineuses	Beijerinck	1888
- <i>Clostridium tetani</i>	Kitasato	1889
- Bactéries nitrifiantes du sol, nature biologique de la nitrification	Winogradsky	1890
- <i>Clostridium perfringens</i>	Welch et Nuttall	1892
- <i>Yersinia pestis</i>	Yersin et Kitasato	1894
- Bactéries réductrices des sulfates	Beijerinck	1895
- Rôle des enzymes dans le pouvoir fermentaire	Buchner	1897
- <i>Clostridium botulinum</i>	Van Ermengen	1897
- Existence des virus	Beijerinck	1898
- <i>Shigella dysenteriae</i>	Shiga	1898
- Vaccin antitétanique		1914
- Les bactériophages	Twort	1915
- Vaccin contre la tuberculose BCG	Calmette et Guérin	1920
- Transformation des pneumocoques	Griffith	1928
- Les anatoxines	Ramon	1930
- Cristallisation du virus de la mosaïque du tabac	Stanley	1935
- Pénicilline : la reconnaissance de son rôle antibiotique et sa production industrielle	Florey, Chain, Heatley	1940-45
- L'ADN est le support des caractères génétiques	Avery, MacLeod, MacCarty	1944
- Recombinaisons génétiques	Lederberg et Tatum	1946
- Transduction	Zinder et Lederberg	1952
- Schéma général de la conformation spatiale de l'ADN	Watson et Crick	1953
- Théorie du code génétique	Gamow et par Watson et Crick	1954
- Publication des travaux sur « l'opéron lactose »	François Jacob et Jacques Monod	1961
- Structure en double hélice de l'ADN (Prix Nobel)	Crick et Watson	1962
- Travaux de l'École française de biologie moléculaire ; Institut Pasteur prix Nobel	Jacob, Monod et Lwoff	1965
- Théorie des gènes	Carlson	1966
- Mise au point des techniques de manipulation génétique	Cohen, Chang, Boyer, Helling	1973
- Expression d'un gène dans une bactérie		1974
- Vaccin contre l'hépatite B		1980
- Séquençage du génome du virus du SIDA		1984
- Séquençage du chromosome III de la levure		1991

3. Le monde microbien

En 1868, le biologiste Haeckel a eu l'idée de créer un troisième règne, celui des protistes. Dans ce règne on regroupe tous les organismes qui ne sont pas des animaux supérieurs ou des plantes supérieures. Les protistes regroupent les bactéries, les cyanobactéries, les protozoaires, les algues et les champignons. Les virus sont mis à part car ce ne sont pas des organismes cellulaires.

Les Protistes comprennent deux groupes fondamentalement distincts :

□ Certains ont une organisation cellulaire très semblable à celle des cellules des plantes supérieures et des animaux supérieurs. La membrane cytoplasmique se prolonge à l'intérieur du cytoplasme d'un réseau membranaire (R.E), lui-même en continuité avec une membrane nucléaire bien définie et entourant parfaitement le contenu du noyau.

Noyau complet, mitochondries, appareil de Golgi et chloroplastes dans le cas des cellules photosynthétiques. C'est le cas des algues, protozoaires et champignons microscopiques. On les appelle Eucaryotes et constituent le groupe des protistes supérieurs ;

□ Les autres microorganismes ont une organisation cellulaire beaucoup plus rudimentaire. La membrane cytoplasmique n'est pas prolongée à l'intérieur de la cellule par un réseau membranaire. Il n'y a pas de noyau vrai et pas de membrane nucléaire. L'appareil génétique est constitué d'un seul chromosome. Pas de mitochondries ni chloroplastes. Cette organisation caractérise les bactéries et les cyanobactéries. Ce sont des Procaryotes et on les appelle protistes inférieurs.

En 1937, après l'étude des divers groupes d'organismes vivants par rapport à leur unité structurale, la cellule, le protozoologiste Edouard Chatton propose les termes procaryote et eucaryote.

1) Les procaryotes ne possèdent pas de noyaux et possèdent un ADN circulaire ou linéaire, situé dans le cytoplasme et haploïde à l'état végétatif. Ils n'ont pas de cloisonnement cytoplasmique et leurs membranes ne possèdent pas de stérols mais sont doublées d'une couche de peptidoglycane formant la paroi cellulaire. La substance fondamentale du cytoplasme est appelé le cytosol qui est rigide chez les procaryotes, avec une absence de flux (ni exocytose, ni endocytose). Les procaryotes ne possèdent ni organites ni cytosquelette.

2) Les eucaryotes possèdent un noyau qui est l'organite le plus volumineux et qui est délimité par une double membrane appelée enveloppe nucléaire.

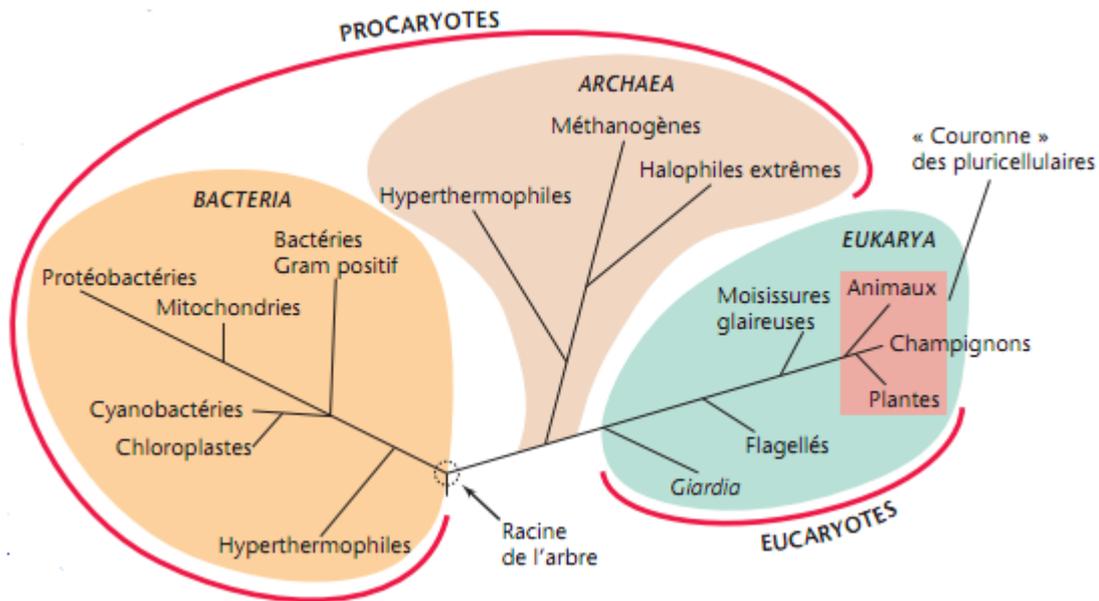
Les eucaryotes ont des cloisonnements cytoplasmiques permettant la formation des organites (noyau réticulum endoplasmique, appareil de golgi, lysosomes, peroxyosomes et vésicules), ces organites nagent dans le cytosol. Les membranes plasmiques ne sont pas doublées d'une paroi pour les animaux, mais doublées pour les végétaux (paroi pecto-cellulosique) et pour les champignons (paroi polysaccharidique) ; dans tous les cas il y a absence de peptidoglycane mais présence de stérols.

Principaux caractères des cellules eucaryotes et procaryotes.

Structure	Eucaryote	Procaryote
APPAREIL NUCLEAIRE		
Structure	Au repos une membrane nucléaire règle les échanges avec le cytoplasme	Pas de membrane nucléaire, le noyau est diffus dans le cytoplasme
Composition	ADN associé à des histones	ADN, pas d'histones
Génophores	Nucléaires, mitochondriales, chloroplastiques	Nucléaires, plasmidiques
Organisation	Plusieurs chromosomes, visibles au moment de la division	Chromosome circulaire enchevêtré (aspect fibrillaire)
Chromosomes	Forme et nombre variables caractéristiques de l'espèce	En général unique
Reproduction		
Type	Division binaire de la cellule	Division binaire de la cellule
Division nucléaire	Mitose (appareil mitotique)	amitotique
Reproduction sexuée	Par fusion de 2 cellules reproductrices	Rare et très variée
Fusion nucléaire	Formation d'un zygote diploïde à l'origine d'échanges génétiques	Conjugaison sans fusion cellulaire, transfert partiel de matériel génétique d'une cellule donatrice à une réceptrice
Division nucléaire réductrice	Possible méiose	Absente
CYTOPLASME		
Structure	Complexe par le réticulum endoplasmique	Pas de réticulum endoplasmique
Mouvement	Continuellement en état de cyclose	Pas de courants cytoplasmiques
Ribosomes	Très nombreux, libres (80 S) ou sur les systèmes membranaires internes	Très nombreux, libres (70 S)
Autres organites	Présents (mitochondries, golgi, lysosomes, etc.)	Absents
Respiration	Par des organites spécialisés : mitochondries	Enzymes localisées au niveau de la membrane cytoplasmique
Photosynthèse présence chez :	Algues	Cyanobactéries (ex. algues bleu-vert) et quelques bactéries photosynthétiques
Organites spécialisés	Chloroplastes	Pas de chloroplastes, présence de chromatophores ou de systèmes membranaires
PAROI		
Présence	Inconstante	Constante, quelquefois réduite
Rôle principal	Protection	Protection
Constitution	Réseau macromoléculaire. Pas de mucopeptide Algues vertes : cellulose Champignons : chitine	Réseau macromoléculaire muréine . Pas de muréine chez les Archéobactéries (composition variable)

En 1978, Carl Woese, propose la classification de tous les organismes (sur la base de l'organisation cellulaire et notamment par la comparaison des ARN ribosomiques) en 3 domaines : Les Bactéries, les Archaeobactéries et les Eucaryotes.

Les deux premières lignées sont constituées uniquement de cellules procaryotes, tandis que la troisième contient exclusivement des eucaryotes.



Caractéristiques des microorganismes

Les pathogènes varient en taille et en complexité biologique

	----- VIRUS	Procaryote BACTÉRIE	Eucaryote CHAMPIGNON	Eucaryote PROTOZOAIRE
Noyau	Aucun	Sans membrane	Vrai noyau	Vrai noyau
Chromosome	< 1	1	>1	>1
Acides nucléiques	ADN ou ARN	ADN + ARN	ADN + ARN	ADN + ARN
Mitose	Non	Non	Oui	Oui
ADN extrachromosomal	Non	Plasmides	Dans organelles	Dans organelles
Peptidoglycan (parois)	Non	Oui	Non	Non
Ribosomes	Non	70S	80S	80S
Mitochondries	Non	Non	Oui	Oui
Stérols membranaires	Non	Non	Oui	Oui
Métabolisme	Aucun	Autonome	Autonome	Complexe
Croissance sur milieu	Vivant	Synthétique	Synthétique	Difficile, synthétique
Dimensions	20-250 nm	0.5-5 µm	0.5 µm-mm	10 µm-mm
Multiplication	Assemblage dans cellule hôte	Fission binaire	Exospores et bourgeonnement	Complexe, cycles vitaux dans hôtes intermédiaires
Antimicrobiens	Antiviraux	Antibactériens	Antifongiques	Antiparasitaires

- Morphologie

- Dimensions :

Les plus grandes bactéries atteignent à peine une centaine de μm de longueur. La longueur d'une bactérie coliforme comme *Escherichia coli* (bâtonnet) peut être de 5 à 10 μm . Une goutte d'eau peut contenir plus d'un milliard de tels organismes. Les staphylocoques et les streptocoques qui sont des bactéries sphériques ont un diamètre variant entre 0,75 et 1,25 μm . Au plus fort grossissement du microscope optique (1000 à 1500X) les plus petites parmi les bactéries (*Rickettsies* et *Chlamidies*) sont à peine visibles.

- Forme

On distingue principalement des formes sphériques, cylindriques et spiralées.

. Une morphologie sphérique caractérise les coques qui peuvent être parfaitement sphériques (*Staphylococcus* sp.) ou présenter une face aplatie (*Neisseria gonorrhoeae*) ou légèrement ovoïdes (*Enterococcus* sp.), voire effilés en flamme de bougie (*Streptococcus pneumoniae*).

. Une morphologie cylindrique permet de définir des bacilles qui peuvent être droits ou incurvés ou ramifiés.

Les bacilles rectilignes peuvent avoir des extrémités arrondies (*Enterobacteriaceae*) rectangulaires (*Bacillus* sp.), une extrémité renflée (*Corynebacterium* sp.) ou posséder deux extrémités effilées (*Fusobacterium* sp.).

Les bacilles incurvés caractérisent certains genres comme les genres *Vibrio*, *Campylobacter* ou *Arcobacter*.

Les bacilles ramifiés (dont les ramifications peuvent être extrêmement discrètes et visibles uniquement à certains stades de la croissance) sont nombreux au sein de l'ordre des Actinomycetales.

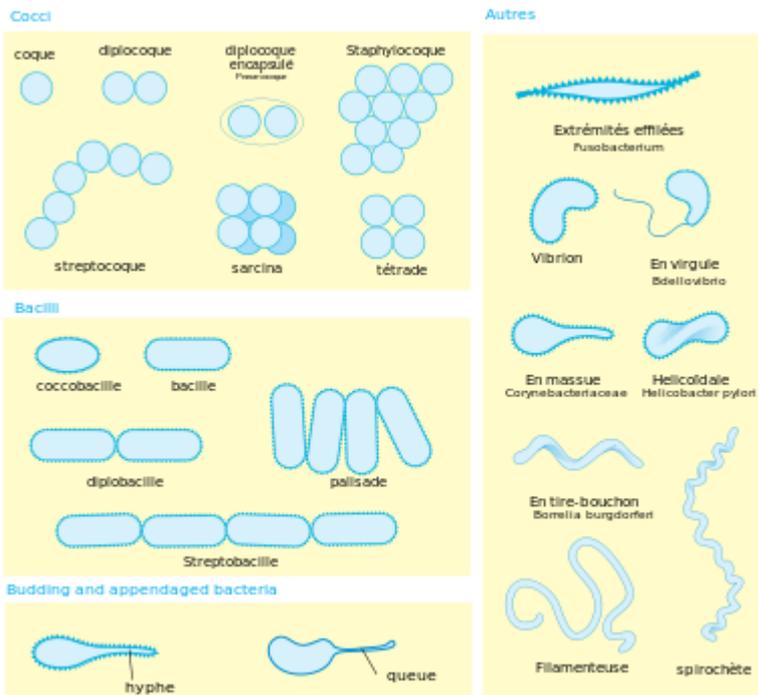
. Les formes spiralées caractérisent les Spirochaetales mais aussi d'autres genres comme les genres *Helicobacter*, *Spirillum*, *Aquaspirillum*...

Le mode de groupement, à condition de l'apprécier sur une culture jeune effectuée en milieu liquide et à condition de tenir compte de l'aspect prédominant, est également un élément important pour orienter le diagnostic. Les streptocoques, les entérocoques et les lactocoques forment typiquement des chaînes, les staphylocoques des amas asymétriques (grappes), les sarcines des amas cubiques réguliers, les corynébactéries des palissades ou des paquets d'épingles, les listéries des palissades ou des groupement en V ou en L...

Ces arrangements sont caractéristiques d'espèces, mais ne représentent qu'une tendance générale. Ils peuvent varier beaucoup selon les circonstances. Ainsi sur un frottis de streptocoques on peut aussi bien observer des amas de deux, quatre ou huit cocci, ainsi que des grappes, aussi bien que la forme en chaîne caractéristique.

MORPHOLOGIE BACTERIENNE

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 ●● bouts carrés ■■</p> <p>Coccobacille ●■ 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>



4. Nomenclature et Taxonomie

Les noms des microorganismes s'écrivent en latin et en caractères italiques ; le nom complet d'un microorganisme comprend un nom de genre et un nom d'espèce ; le nom de genre commence par une majuscule, pas le nom de l'espèce ; le nom de genre précède ce dernier ; quand on évoque différentes espèces d'un même genre, on écrit

"speciei pluralia" qui signifie "plusieurs espèces" (en abrégé "spp.") ; si on évoque une seule espèce (sans la nommer), on indique "species" (abrégé "sp.").

Classification binomiale: Genre et espèce (ex. *Staphylococcus aureus*)
(Livre de référence: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*)

• Appellation suivant la racine latine:

<i>Bacillus</i>	petit bâtonnet
<i>Lactobacillus</i>	petit bâtonnet du lait
<i>Sarcina</i>	en paquet

• Appellation suivant la racine grecque:

<i>Micrococcus</i>	petit grain
<i>Clostridium</i>	fuselé
<i>Corynebacterium</i>	bâtonnet en forme de massue

• Appellation en l'honneur de personnalités:

<i>Pasteurella</i>	Louis Pasteur, microbiologiste
<i>Erwinia</i>	Erwin F. Smith, biologiste
<i>Neisseria</i>	Albert Neisser (gonorrhée, 1879)

• Nom commun:

Gonocoque	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
Méningocoque	<i>Neisseria meningitidis</i>
Pneumocoque	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Entérocoque	<i>Enterococcus faecalis</i>

Comment classer les bactéries ?

La classification des bactéries repose sur plusieurs types d'observations et d'études. Les bactéries peuvent ainsi être classées et donc identifiées en fonction :

- de leur morphologie microscopique (bactérie de type coque, bacille, vibron ; isolés, par deux, en chaînettes...)
- de leur morphologie macroscopique (taille, forme, couleur... des colonies sur milieux de culture gélosés)
- de leur mobilité (mobilité ou immobilité à une température donnée)
- de la présence de spores (à l'état frais ou après coloration)
- du résultat de la coloration de Gram (coloration de Gram positive ou négative)
- de la température de croissance (4° C, 20° C, 30° C, 37° C...)
- du type respiratoire (aérobie, anaérobie strict, aéro-anaérobie facultatif, microaérophile..)
- des besoins nutritionnels (nécessité de substances particulière pour le développement)
- de la capacité à utiliser certaines sources de carbone ou d'azote (on parlera de **biotypes** ou **biovars**)

Une donnée importante pour la classification bactérienne est **le pourcentage en nucléotides G et C (% G + C Coefficient de Chargaff) de chaque génome**. Ainsi, deux espèces bactériennes proches auront des pourcentage en G et C voisins.

Les bactéries peuvent être classées selon leurs caractères :

- biochimiques (classification en biotypes ou biovars)
- antigéniques (classification en sérotypes ou sérovars)
- pathogéniques (classification en pathotypes ou pathovars)
- enzymatiques (classification en zymotypes ou zymovars)
- de sensibilité aux antibiotiques (classification en antibiotypes)
- de sensibilité aux bactériophages (classification en lysotypes ou lysovars)
- moléculaires : identification de l'ADN par ribotypie, hybridation ADN-ADN, hybridation ADN-ARN, séquençage de l'ARN ribosomique, etc