

MICROBIOLOGIE

Angélique FONTANA

1

Sommaire général

- ☞ **Histoire de la microbiologie**
- ☞ **Le monde microbien**
- ☞ **Les virus**
- ☞ **Les bactéries**
- ☞ **Les micromycètes**
- ☞ **Les protozoaires**
- ☞ **Les algues unicellulaires**
- ☞ **Croissance microbienne et numération des microorganismes**
- ☞ **Les besoins nutritionnels des microorganismes**
- ☞ **Ecologie microbienne du milieu naturel**
- ☞ **Les indices de contamination fécale : entérobactéries, entérocoques**
- ☞ **Contrôle microbiologique des eaux de boisson et des eaux récréatives**

2

Un peu d'histoire

Haute antiquité : Utilisation empirique
Fabrication du vin, du fromage

XVIIe siècle: **Van Leeuwenhoek** (1632-1723)

Inventeur du microscope

Grossissement 270

Description de **animalcules** dans de l'eau de rivière, des décoctions de foin ou de la salive



3

Un peu d'histoire

XIXe siècle :

Louis Pasteur (1822-1895)



Etude des fermentations

- “ La fermentation lactique en 1857
- “ Travaux sur les fermentations alcoolique, butyrique, acétique
- “ Découverte de la pasteurisation dans la continuité de la Méthode Appert en 1893 : Pasteur propose de chauffer le vin à 57 °C → destruction des microorganismes végétatifs → résolution du problème de sa conservation

4

Un peu d'histoire

XIXe siècle :

Louis Pasteur (1822-1895)



La génération spontanée

- “ Pasteur réfute les thèses en cours sur la « génération spontanée »
- “ À partir de 1859, Pasteur mène une lutte contre les partisans de la « génération spontanée »
- “ Après six ans de recherche Pasteur montre que la théorie « la vie pourrait apparaître à partir de rien, et les microbes être générés spontanément » est fausse

5

Un peu d'histoire

XIXe siècle :

Louis Pasteur (1822-1895)



Les vaccinations

- “ Contre le choléra des poules en 1879
- “ Contre le « charbon » (*Bacillus anthracis*) des moutons en 1881
- “ Contre la rage de 1881 à 1885

6

Un peu d'histoire

XIXe siècle :

Louis Pasteur (1822-1895)



La bactériologie médicale

Antisepsie et asepsie : Théorie et méthode du chirurgien anglais Joseph Lister en 1867 se rattachant explicitement aux travaux de Pasteur

Collaboration avec R. Koch et C. Davaine sur l'origine microbienne d'une maladie transmissible à l'homme (« charbon des moutons »)

7

Un peu d'histoire

Robert Koch



“ Isolement du bacille de la tuberculose en 1882 (culture *in vitro* et inoculation de la maladie chez les animaux avec la souche cultivée)

“ Bacille de Koch : *Mycobacterium tuberculosis*

“ →Utilisation des mesures d'hygiène pour lutter contre la transmission de la maladie.

8

Un peu d'histoire

Robert Koch

- “ Découverte du *Vibrio cholerae*
- “ Met en évidence le rôle de l'eau dans la transmission de la maladie
- “ Technique de fixation de coloration des bactéries
- “ Méthode d'isolement sur milieu solide



9

Un peu d'histoire

La période moderne

1944 : Avery, McLeod et McCarty

ADN : support des caractères héréditaires de la cellule

1946 : Lederberg et Tatum

Recombinaison génétique

1953 : Watson et Crick

Structure de l'ADN, 1962 Structure de la double hélice

1966 : Nirenberg

Signification du code génétique



Watson et Crick

10

Terminologie, classification

Taxonomie : science du classement des individus (systématique), Linné 1753

Les échelons hiérarchiques sont :

règne,
 embranchement,
 classe,
 ordre,
 famille,

Terminaison :

- « ales » pour l'ordre
- « aceae » pour la famille
- « us », « er » masculin, « a » féminin pour le genre et l'espèce

Domaine Ex : *Bacteria*
 Règne *Prokaryotae*
 Phylum
 Classe *Schizomycetes*
 Ordre *Micrococcales*
 Famille *Micrococcaceae*
 Genre *Staphylococcus*
 Espèce *S. aureus*

Theobroma cacao L.

11

Terminologie, classification

Procaryotes et Eucaryotes



Procaryote (du latin *pro*, « avant » et du grec *caryon*, « noyau ») : être vivant unicellulaire dont la structure cellulaire ne comporte pas de noyau et très rarement des organites

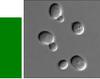
Eucaryote (du grec *eu*, « bien » et *caryon*, « noyau ») : être vivant unicellulaire ou multicellulaire dont les cellules possèdent un noyau et des organites (mitochondries, réticulum endoplasmique, appareil de Golgi, ribosomes, peroxyosomes, chloroplastes et vacuoles chez les plantes)

12

Terminologie, classification

Les 6 règnes du monde vivant

- " Eubactéries Procaryotes unicellulaires
- " Archéobactéries ou Archaea Procaryotes unicellulaires
- " Protistes Eucaryotes unicellulaires
- " Champignons Eucaryotes multicellulaires
- " Végétaux Eucaryotes multicellulaires
- " Animaux Eucaryotes multicellulaires

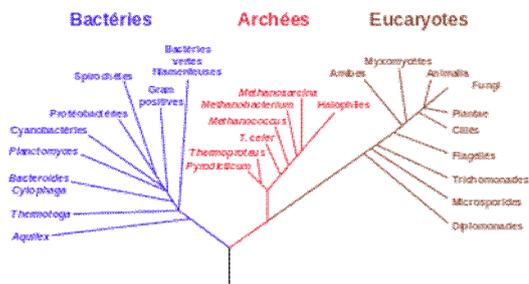


Monde microbien

13

Terminologie, classification

Arbre phylogénétique de la vie



14

Les types trophiques

- “ Phototrophes
 - Photolithotrophes
 - Photoorganotrophes

- “ Chimiotrophes
 - Chimiolithotrophes
 - Chimioorganotrophes

15

Les types trophiques

- “ **Phototrophes** : réduction du CO_2 ,
photosynthétiques

- Bactéries sulfureuses vertes
- Bactéries sulfureuses pourpres
- Bactéries non sulfureuses vertes
- Bactéries non sulfureuses pourpres

- Cyanobactéries

16

Les types trophiques

“ Chimiotrophes :

Les bactéries chimiotrophes tirent toutes leur énergie de l'oxydation de composés organiques ou inorganiques.

Selon la nature du donneur d'hydrogène et celle de l'accepteur d'hydrogène :

➤ Les bactéries lithotrophes aérobies :

accepteur final d'hydrogène : oxygène.

seule source de carbone : dioxyde de carbone

généralement bactéries vivant dans les sols

rôle fondamental dans les cycles biogéochimiques

17

Les types trophiques

Bactéries nitrifiantes :

Les *Nitrosomonas* oxydent l'azote ammoniacal en nitrites

Les *Nitrobacter* oxydent les nitrites en nitrates

Bactéries oxydant le soufre :

Beggiatoa et *Thiothrix*, bactéries très proches des cyanobactéries, mais non photosynthétiques

Thiobacillus, petits bacilles Gram négatifs, pouvant supporter des pH extrêmement acides

Bactéries du fer et du manganèse :

bactéries filamenteuses engainées (*Sphaerotilus*, *Leptothrix*)

genre *Galionella* (bactéries pédonculées)

certains *Thiobacillus*

18

Les types trophiques

➤ Les bactéries lithotrophes anaérobies :

L'accepteur d'électrons chez ces bactéries n'est pas l'oxygène, mais les nitrates, carbonates, sulfates

Les donneurs d'électrons sont l'hydrogène sulfuré, les sulfures, les thiosulfates, ou l'hydrogène

19

Les types trophiques

Bactéries réduisant les nitrates :

Beaucoup d'entérobactéries dont *E. coli*,

Bactéries du genre *Pseudomonas*

Nombreux *Bacillus*.

Mais dénitrification complète (libération de N₂) par un petit nombre d'espèces (*Thiobacillus denitrificans*)

Bactéries réduisant les sulfates :

Desulfovibrio desulfuricans réduit les sulfates en sulfures, puis en hydrogène sulfuré

Bactéries réduisant les carbonates :

quatre genres de bactéries méthanogènes :

Methanobacterium, *Methanobacillus*, *Methanococcus* et *Methanosarcina*.

20

Les types trophiques

➤ Les bactéries organotrophes anaérobies :

L'accepteur final d'électrons : nitrates, sulfates et carbonates.

➤ Les bactéries organotrophes aérobies :

Le donneur d'hydrogène est un composé organique, l'accepteur, l'oxygène.

21

Les types trophiques

Les fermentations:

Produit final de l'oxydation des composés organiques
→ dioxyde de carbone

Certaines bactéries déficitaires en certaines enzymes
→ accumulation de différents acides intermédiaires
(fumarique, citrique, oxalique, acétique)

22

Les types trophiques

➤ Les fermentations:

L'accepteur final d'hydrogène est un composé organique.

fermentation alcoolique

fermentation acides mixtes

fermentation homolactique

fermentation hétérolactique

fermentation acétique

Les fermentations des bactéries anaérobies strictes :

fermentation butyrique

fermentation acétonobutylique

fermentation propionique

23

Microbiologie et Microorganismes

➤ Microbiologie : étude des microorganismes

➤ Microorganismes : ensemble très disparate d'êtres vivants de petite taille, le plus souvent invisibles à l'œil nu, excepté lorsqu'ils se regroupent en colonies

➤ Microorganismes : les plus répandus des êtres vivants jouant un rôle écologique et sanitaire fondamental

➤ Un gramme de terre agricole : $2,5 \cdot 10^6$ bactéries, $5 \cdot 10^4$ algues, $4 \cdot 10^5$ champignons et $3 \cdot 10^4$ protozoaires

➤ Un millilitre d'eau de mer : 10^9 virus et 10^7 à 10^{10} bactéries et jusqu'à 10^{15} cyanobactéries

24

Microbiologie et Microorganismes

Groupes	Organisation	Subdivisions	Exemples
Prions	Protéines sans matériel génétique	Aucune	Agent de la maladie de la vache folle
Virus	Matériel génétique (ARN ou ADN) dans une capsidie protéique	Virus à ADN Virus à ARN	Varicelle Grippe
Bactéries	Procaryotes unicellulaires	Archéobactéries Eubactéries	Bactéries des sources sulfureuses Staphylocoque doré <i>Escherichia coli</i>
Protistes	Eucaryotes unicellulaires	Levures Moisissures Algues Protozoaires	Chlorelle Levure de bière Amibe, Paramécie

25

Microorganismes : Prions

Prion : protéine anormale dans le cerveau des animaux (agent de la ESB chez les bovins)

➤ Transmissible à l'homme : maladie de Creutzfeld-Jakob

➤ Dégénérescence du système nerveux central : le prion transforme les protéines saines en protéines responsables de la maladie

26

Microorganismes : Virus

Virus : caractéristiques

- Très petites particules : 15 à 250 nm au maximum

- Acellulaires mais possédant du matériel génétique : entre le vivant et le non vivant

- Parasites obligatoires des cellules vivantes

- Forme libre : virion

27

Microorganismes : Virus

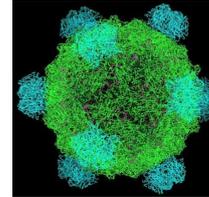
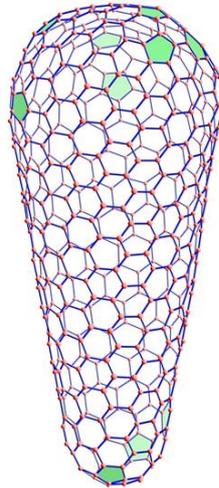
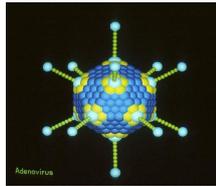
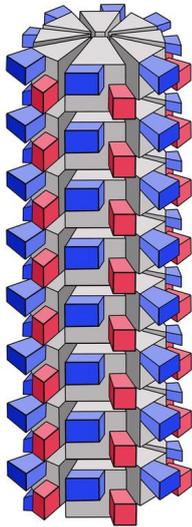
Virus : structure

- Nucléocapside : ADN ou ARN (circulaire ou linéaire ; mono ou bicaténaire) dans une capsidie protéique (protomères)
- 4 types principaux de capsides
 - ~ Icosaédriques : 20 faces triangulaires équilatérales et 12 sommets *Poliovirus*
 - ~ Hélicoïdales : cylindre protéique creux (rigide ou flexible) *Mosaïque du tabac*
 - ~ Enveloppées : double couche membranaire (spicules ; sphérique) *SIDA*
 - ~ Complexes : symétrie intermédiaire (queues ; parois multicouches) *Rage Ebola*

28

Microorganismes : Virus

Symmetrie eines konischen Viruskapsids (HIV-1)



29

Microorganismes : Virus

Virus : 3 types de cycles biologiques

- Lytique : envahissement de la cellule hôte, reproduction, dispersion après lyse cellulaire (une centaine de virions en 20 min)
- Lysogène : combinaison du matériel génétique du prophage avec celui de la cellule hôte, dormance jusqu'au déclenchement d'un cycle lytique (stimuli)
- A libération continue : reproduction et libération continue ininterrompue sans lyse cellulaire
grippe, rougeole, oreillons, rage

30

Microorganismes : Virus

Virus : à ADN

- Incorporation dans le génome cellulaire et fonctionnement exclusif au profit du virus

- Infections latentes ou chroniques : hépatite B, herpès (latence dans les ganglions), varicelle (zona)

31

Microorganismes : Virus

Virus : 3 types de virus à ARN

- ARN viral sert d'ARN messager *Poliovirus*

- ARN viral recopié en ADN qui s'intègre au génome cellulaire *SIDA*

- ARN viral transcrit en ARN complémentaire qui sert d'ARN messager *Grippe*

32

Microorganismes : Virus

Virus : importance sanitaire

- *Bactériophages* : spécifiques des bactéries ; redoutés en industrie fromagère (inhibition de la fermentation lactique)

- Transmis à l'homme par des aliments ou de l'eau contaminés : *Hépatite A*, *virus de Norwalk*, *Rotavirus* (60 à 70 % des gastro-entérites dans les pays tempérés), *virus de la grippe aviaire*

33

Microorganismes : Virus

Virus : importance sanitaire

Gastro-entérites infectieuses virales nombreuses mais 2-5% des TIAC seulement

Transmises par l'eau, les coquillages crus, les légumes souillés, les manipulations

- “ Norovirus : gastro-entérite hivernale, sûrement plusieurs 10000 cas par an en France

- “ Hépatite A : environ 50 cas par an, 1 ou 2 morts

- “ Poliovirus, Rotavirus

34

Microorganismes : Virus

Virus : spécificité et rôle

- Attachement des protéines virales avec des récepteurs spécifiques de la surface de la cellule hôte :
 - ”Poliomyélite → cellules nerveuses
 - ”Grippe → cellules des voies respiratoires
 - ”Bactériophages
 - ”Baculovirus

- Rôle dans l'évolution des cellules vivantes en incorporant et transportant des gènes d'une cellule-hôte à une autre

- Contrôle des populations de bactéries marines donc des cycles biogéochimiques marins

35

Microorganismes : Prokaryotes

La cellule procaryote :

- Pas de noyau séparant l'appareil nucléaire
- Organites en nombre réduit : ribosomes, inclusions
- Cils et pili : visibles au microscope électronique

Reproduction :

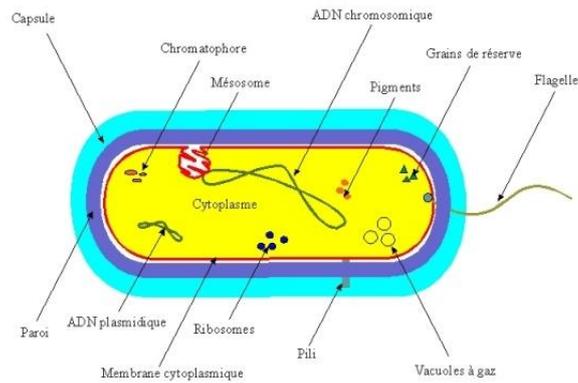
Division binaire de la cellule

36

Microorganismes : Bactéries

Bactéries : procaryotes unicellulaires

cellule bactérienne



37

Microorganismes : Bactéries

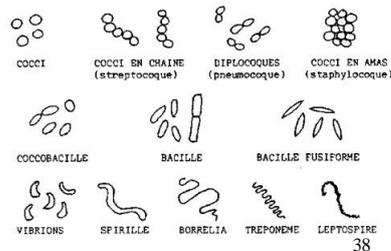


Bactéries : morphologie

3 formes principales:

- Sphérique : coques de 1 à 2µm de diamètre
- Bâtonnet : bacilles de 1 à 10 µm, parfois incurvés (vibron)
- Spiralée : chez les tréponèmes, spirochètes, leptospires

- D'autres formes existent :
pédunculées (*Caulobacter*),
filamenteuses (bactéries ferrugineuses, *Sphaerotilus*),
mycéliennes (mycobactéries) ou
nettement ramifiées (actinomycètes)



38

Microorganismes : Bactéries

Bactéries : éléments constants

- La paroi
- La membrane cytoplasmique
- Le cytoplasme
- L'appareil nucléaire
- Les plasmides

39

Microorganismes : Bactéries

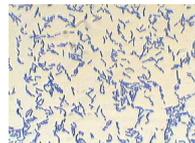
Bactéries : la paroi bactérienne

La **coloration de Gram** doit son nom au bactériologiste danois Hans Christian Gram qui mis au point le protocole en 1884. C'est une coloration qui permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne et d'utiliser ces propriétés pour les distinguer et les classer. Son avantage est de donner une information rapide sur les bactéries présentes dans un produit ou un milieu tant sur le type que sur la forme.

Des bactéries à Gram - (*Escherichia coli*)



Des bactéries à Gram + : *Bacillus subtilis*

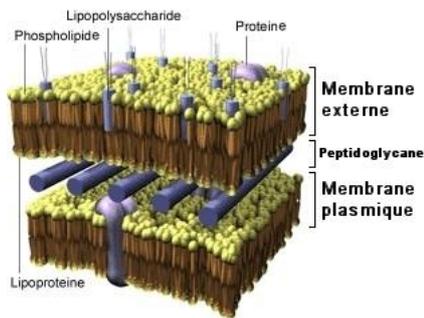


40

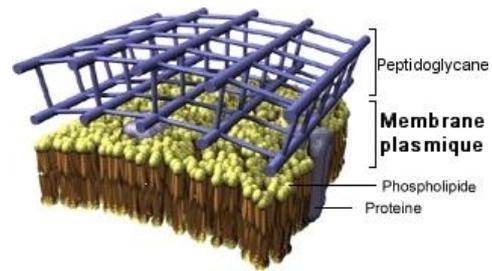
Microorganismes : Bactéries

Bactéries : la paroi bactérienne

GRAM -



GRAM +



41

Microorganismes : Bactéries

Bactéries : la paroi bactérienne

Paroi des Gram+ (protéique) colorée en violet (ex : *Bacillus cereus*)

Paroi des Gram- (lipidique) colorée en rose (ex : *Escherichia coli*)

Ces différences de coloration et les différences de formes (bacille ou cocci) sont à l'origine de la classification des bactéries.

Certaines bactéries restent insensibles à cette coloration, c'est le cas, entre autre, des Mollicutes, ou appelés Ténéricutes, l'une des trois grandes classes d'Eubactéries (Gracilicutes, Firmicutes, Ténéricutes). En effet, ces bactéries sont dépourvues de membrane externe (et donc devraient être des Gram +) mais elles apparaissent Gram - car elles sont également dépourvues de paroi.

42

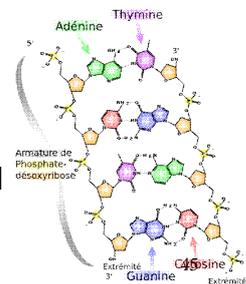
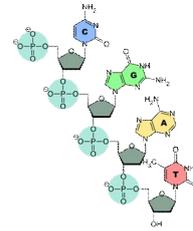
Microorganismes : Bactéries

Bactéries : l'appareil nucléaire,
nucléotide procaryote, génophore

Pas dans un noyau

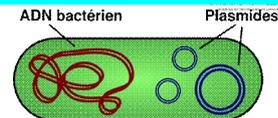
Double brin d'ADN généralement circulaire de
environ 5×10^6
paires de bases et dont plusieurs copies coexistent
+ ARN (messager)
+ protéines (de transcription)

Relations avec les mésosomes où nombreux
sites enzymatiques liés à la réplication de l'ADN



Microorganismes : Bactéries

Bactéries : les plasmides



Petits fragments d'ADN extrachromosomiques capables
d'autoréplication

Certains peuvent s'intégrer au génophore et lui conférer leurs
propriétés

De résistance aux antibiotiques ou aux métaux lourds
(antiseptiques)

De synthèse de bactériocines (bactéricides)

De synthèse de toxines et facteurs d'adhérence : STEC (Shiga
Toxine Escherichia Coli) (*E. coli* O157 : H7) (colites
hémorragiques et syndrome hémolytique et urémique)

Microorganismes : Bactéries

Bactéries : éléments inconstants

➤ La capsule

- “ substances organiques visqueuses
- “ protège la bactérie de la dessiccation, de la phagocytose par chimiotactisme négatif, de la fixation des bactériophages
- “ support de nombreux antigènes
- “ joue un rôle dans l'adhérence aux cellules de l'hôte
- “ contribue à la résistance des biofilms,
- “ protège les bactéries des UV, des désinfectants médicaux ou domestiques et industriels tels que l'eau de Javel
- “ pneumocoques capsulés pathogènes



47

Microorganismes : Bactéries

Bactéries : éléments inconstants

➤ Les cils, flagelles et pili : visibles au microscope électronique ; pour l'adhésion aux interfaces, facteur de virulence

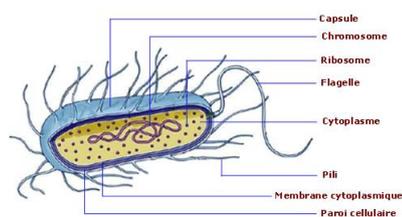
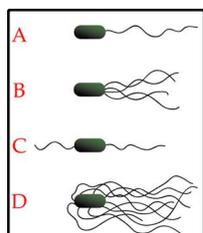


Figure 1 : Structure d'une cellule procaryote (bactérie)

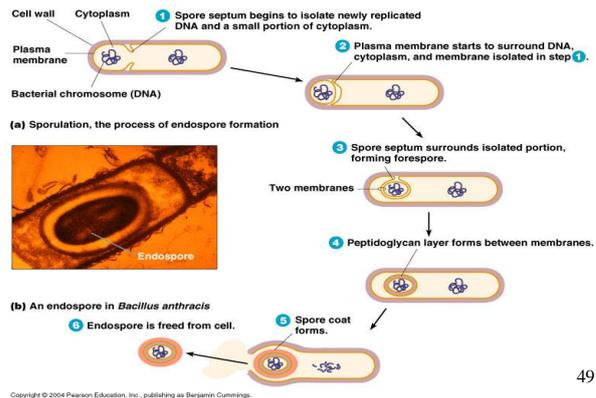
48

Microorganismes : Bactéries

Bactéries : éléments inconstants

➤ La spore bactérienne

Processus de sporulation



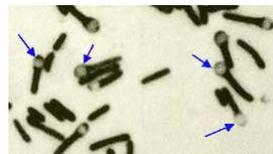
49

Microorganismes : Bactéries

Bactéries : éléments inconstants

➤ La spore bactérienne

Les propriétés des spores :



-La thermorésistance

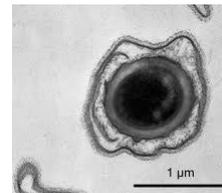
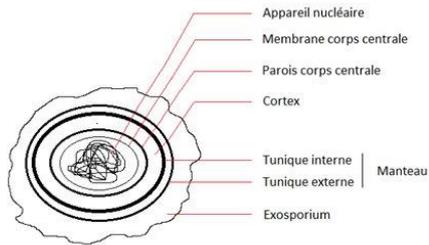
-La résistance aux agents physicochimiques :
Rayon X, UV, les ultras pressions

50

Microorganismes : Bactéries

Bactéries : éléments inconstants

➤ La spore bactérienne



1 µm

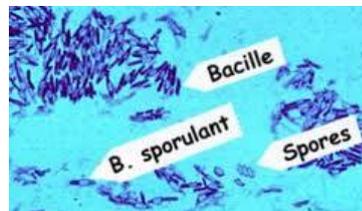
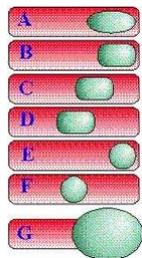
15 % d'eau au lieu de 80 % dans les cellules végétatives

51

Microorganismes : Bactéries

Bactéries : éléments inconstants

➤ La spore bactérienne



52

Microorganismes : Legionella (pneumophila)

Les légionelles et l'eau

Bactéries bacilles gram .
naturellement présentes dans l'eau et dans les boues
→ maladie respiratoire, la légionellose

Présentes dans les réseaux d'eau et notamment d'eau chaude sanitaire, les installations de climatisation, les tours aéroréfrigérantes: eau stagnante entre 20 et 60°C (fonds de cumulus), biofilms, protozoaires (amibes)

Inhalation de aérosols d'eau contaminée par Legionella → maladie

53

Microorganismes : Cyanobactéries

Bactéries photosynthétiques oxygéniques

Système photosynthétique proche de celui des eucaryotes

Phycocyanine → apparaissent bleu-vert

Phycoérythrine → rouge-brun

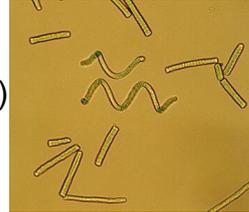
Fixation de l'azote atmosphérique : grâce aux hétérocystes qui se forment dans les trichomes quand il y a déficit d'azote
→ glutamine



54

Microorganismes : Cyanobactéries

Principaux ordres des Cyanophyceae :
Nostocales (Anabaena, Nostoc, Calothrix))
Chroococcales (Synechococcus, Gloeobacter))
Oscillatoriales (Spirulina, Oscillatoria))
Stigonematales (Stigonema, Fischerella))



Très tolérantes / conditions extrêmes, présentes dans tous les milieux terrestres et aquatiques : cyanobactéries thermophiles vivant dans des eaux à 75°C, glaces polaires, déserts

Apparues il y a environ 4 milliards d'années → formations géologiques, les stromatolithes (colonies fixées capables de produire du calcaire)

55

Microorganismes : Cyanobactéries

À l'origine des formes actuelles de vie sur Terre par leur production d'oxygène et contribution au premier puits biologique de carbone



Anabaena et Anacystis → fleurs d'eau dans les lacs et étangs eutrophes → croissance des bactéries chimiotrophes → asphyxie des poissons

Oscillatoria très résistante à la pollution organique sert d'indicateur

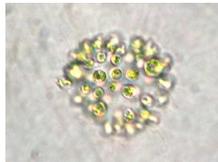
56

Microorganismes : Cyanobactéries

Production possibles de **endotoxines** potentiellement dangereuses pour l'homme et les animaux.

Principaux genres connus pour produire des cyanotoxines :
Anabaena, Aphanizomenon, Cyndrospermopsis, Microcystis,
Nodularia, Oscillatoria, Planktothrix

→ eau de réservoirs alimentés par des fleuves ou de l'eau pluviale contaminée par des cyanobactéries toxiques (de plus en plus fréquent depuis les années 1970)



57

Microorganismes : Cyanobactéries

Lichens

Symbiose entre un **champignon** hétérotrophe et des cellules microscopiques possédant de la chlorophylle (algue verte ou **cyanobactérie**)

Indicateurs de pollution atmosphérique car sensibles au SO₂ et O₃ et métaux lourds qui s'accumulent



58

Microorganismes : Archaea

1977, Woese et Fox : ARN 16S différents chez les Archeae

Caractéristiques cellulaires très diverses, tous les types trophiques, beaucoup sont thermophiles

Se développent souvent dans des environnements extrêmes

3 grands groupes : méthanogènes, halophiles, thermophiles

59

Microorganismes : Archaea

Le genre Halobacterium, dans des environnements salins, tels que les lacs salés (Grand Lac Salé de l'Utah), le littoral marin, les marais salants, la Mer morte, avec des concentrations en sel jusqu'à 25 %.

Pyrococcus, Methanopyrus, Thermococcus, Sulfolobus, Pyrodictium : exemples d'archées hyperthermophiles (température optimale de croissance > 80 °C)

Méthanogènes des marais → gaz des marais (Poitevin par exemple). Egalement dans le tube digestif des ruminants (Methanomicrobium, Methanosarcina), des termites ou des humains

60

Microorganismes : Archaea

Comparaison eubactéries/archéobactéries

Constitutions de la membrane et de la paroi cellulaire différentes

ARN polymérase proches des eucaryotes pour les Archaea

Enzymes et protéines intervenant dans la réplication de l'ADN sont homologues chez les eucaryotes et chez les Archaea mais ont des séquences en acides aminés très différentes chez les bactéries.