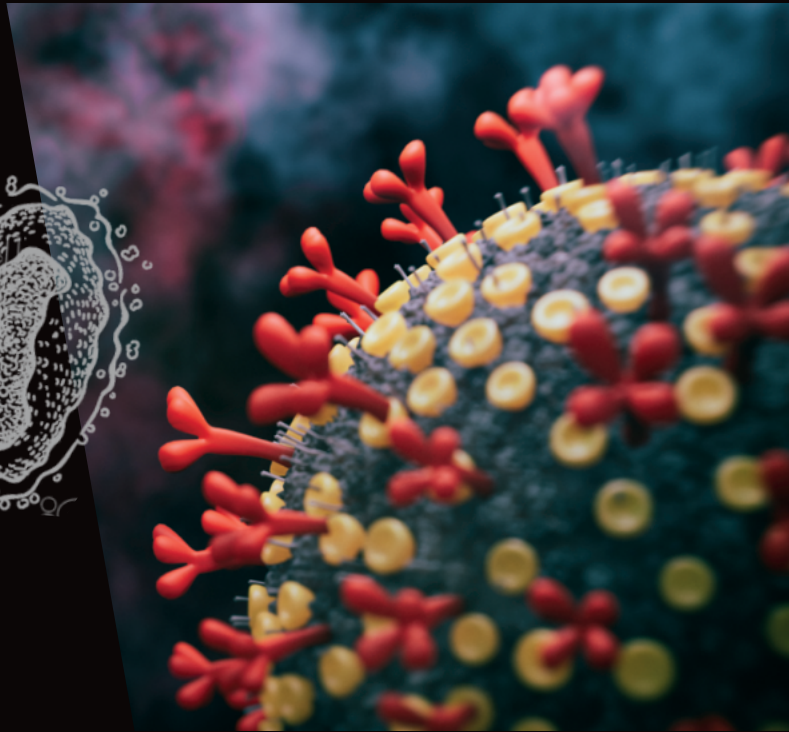


WILLEY | SANDMAN | WOOD

Microbiologie de Prescott

Traduction de V. Boutin, J.-P. Joseleau
et R. Perraud

6^e édition



Microbiologie de Prescott

**Extrait du catalogue
De Boeck Supérieur**

ARCHAMBAUD, CLAVÉ, GROSJEAN, PASQUIER, Bactériologie et virologie pratique, 4^e éd.

GRIFFITHS, WESSLER, LEWONTIN, CARROLL, Introduction à l'analyse génétique, 6^e éd.

JANEWAY, MURPHY, WEAVER, Immunobiologie, 4^e éd.

PRATT & CORNELLY, Biochimie, 3^e éd.

MURRAY, BENDER, BOTHAM, KENNELLY, RODWELL, WEIL, Biochimie de Harper, 5^e éd.

RAVEN, JOHNSON, MASON, LOSOS, DUNCAN, Biologie, 6^e éd.

RAVEN, EVERT, EICHHORN, Biologie végétale, 3^e éd.

SILVERSTEIN, WEBSTER, KIEMLE, Identification spectrométrique de composés organiques, 3^e éd.

VOET & VOET, Biochimie, 3^e éd.

VOLLHARDT & SCHORE, Traité de chimie organique, 5^e éd.

Willey | Sandman | Wood

Microbiologie de Prescott

6^e édition

Traduction de V. Boutin, J.-P. Joseleau et R. Perraud

Ouvrage original

Prescott's Microbiology, 12^e Edition, Wiley, Sandman, Wood, 2023. Original edition copyright (2017) by McGraw-Hill Education. All rights reserved. The French edition copyright (2018) by De Boeck Supérieur. All rights reserved.

Pour toute information sur notre fonds et les nouveautés dans votre domaine de spécialisation,
consultez notre site web : www.deboecksuperieur.com

© De Boeck Supérieur s.a., 2023
Rue du Bosquet, 7, B-1348 Louvain-la-Neuve

6^e édition

Tous droits réservés pour tous pays.

Il est interdit, sauf accord préalable et écrit de l'éditeur, de reproduire (notamment par photocopie) partiellement ou totalement le présent ouvrage, de le stocker dans une banque de données ou de le communiquer au public, sous quelque forme et de quelque manière que ce soit.

Dépôt légal :
Bibliothèque nationale, Paris : octobre 2023
Bibliothèque royale de Belgique, Bruxelles : 2023/13647/163

ISBN 978-2-8073-5144-8

À propos des auteurs VII

Partie 1 Introduction à la microbiologie

1	La microbiologie et l'évolution des micro-organismes	1
2	La microscopie	23
3	La structure de la cellule bactérienne	44
4	La structure de la cellule archéenne	80
5	La structure de la cellule eucaryote	91
6	Les virus et les autres agents infectieux acellulaires	109

Partie 2 La nutrition, la croissance et le contrôle des micro-organismes

7	La croissance des bactéries et des archées	127
8	Le contrôle des micro-organismes dans l'environnement	162
9	La chimiothérapie antimicrobienne	179

Partie 3 Le métabolisme microbien

10	Introduction au métabolisme	201
11	Le catabolisme : libération et conservation de l'énergie	219
12	L'anabolisme : l'utilisation de l'énergie dans la biosynthèse	255

Partie 4 La biologie moléculaire et la génétique microbiennes

13	Le génome bactérien : la réplication et l'expression	277
14	Régulation des processus cellulaires	310
15	Réplication et expression du génome des eucaryotes et des archées	336
16	Les mécanismes de la variation génétique	353
17	Les technologies de l'ADN microbien	377
18	La génomique microbienne	397

Partie 5 La diversité du monde microbien

19	Les Archées	419
20	Les bactéries à Gram négatif non protéobactériennes	433
21	Les protéobactéries	455
22	Les bactéries Gram-positives	479
23	Les protistes	498

24	Les champignons ou fungi	518
25	Les virus	532

Partie 6 Écologie et symbiose

26	L'exploration des micro-organismes dans les écosystèmes	556
27	Les interactions microbiennes	571
28	Recyclage biogéochimique et changement climatique global	584
29	Les micro-organismes des écosystèmes marins et d'eau douce	599
30	Les micro-organismes des écosystèmes terrestres	617

Partie 7 Pathogénicité et réponse de l'hôte

31	La résistance innée de l'hôte	636
32	L'immunité adaptative	663
33	L'écosystème Homme-micro-organisme	696
34	L'infection et la pathogénicité	714

Partie 8 Les maladies microbiennes, leur détection et leurs contrôles

35	L'épidémiologie et la microbiologie en santé publique	730
36	La microbiologie et l'immunologie cliniques	750
37	Les maladies humaines dues aux virus et aux prions	769
38	Les maladies humaines dues aux bactéries	801
39	Les maladies humaines dues aux champignons et aux protistes	845

Partie 9 Microbiologie appliquée

40	La microbiologie des aliments	871
41	La biotechnologie et la microbiologie industrielle	887
42	La microbiologie environnementale appliquée	898

Annexe I Revue de la chimie des molécules biologiques A-1

Annexe 2 Les voies métaboliques principales A-2

Glossaire G-1

Index I-1

Une approche moderne de la microbiologie

L'évolution comme cadre

Elle est introduite immédiatement, dès le chapitre 1 et sert de thème dominant tout au long de l'ouvrage. Elle permet de réunir les concepts microbiologiques et offre un cadre sur lequel les étudiants peuvent construire leurs connaissances.

Une introduction au monde microbien entier

Elle concerne les chapitres 3 à 6. Les chapitres séparés sur la structure et le fonctionnement des bactéries et des archées sont suivis d'une introduction sur les cellules eucaryotes et les virus.

Une large couverture de l'écologie microbienne

L'importance et la nature multidisciplinaire de l'écologie microbienne sont démontrées par le contenu qui va du changement climatique global au microbiome humain.

34.4 Les oligéites à l'hôte 725

détection des foyers de pathogénicité dans un génome microbien est expliquée dans le chapitre 18. **44** Les micro-organismes utilisent des mécanismes autres que la mutation pour créer de la variabilité génétique (section 16.4). La génomique comparative (section 18.7).

Les toxines sont des poisons biologiques

Une **toxine** (du latin *venenosus*, poison) est une substance qui altère le métabolisme normal des cellules hôtes avec des effets nuisibles pour l'hôte. La **toxigénicité** est la capacité du pathogène à produire des toxines et les **intoxications** sont des maladies qui résultent d'une toxine spécifique produite par le pathogène. Les intoxications ne nécessitent pas la présence du pathogène en croissance active, mais juste de sa toxine, comme dans le cas du botulisme. Les bactéries produisent deux types de toxines structuralement différentes : les **exotoxines** (des protéines) et les **endotoxines** (des lipopolysaccharides) – et certains champignons produisent des mycotoxines puissantes.

Les exotoxines

Les **exotoxines** sont des protéines solubles, thermolabiles (inactivées entre 60 et 80 °C), habituellement libérées dans les tissus de l'hôte au fur et à mesure que la bactérie pathogène se métabolise. Les exotoxines voyagent souvent du site de l'infection vers d'autres tissus du corps ou vers d'autres cellules cibles où elles exercent leur effet (figure 34.7). Les exotoxines sont souvent codées par des gènes portés par des plasmides ou des prophages à l'intérieur de certaines bactéries. Elles sont associées à des maladies spécifiques et portent généralement le nom de la maladie qu'elles induisent (ex. la toxine diphtérique). Certaines sont classées parmi les substances les plus létales connues – toxiques à des concentrations de l'ordre du nanogramme par kilo corporel (ex. la toxine botulique).

Les exotoxines exercent leur activité biologique par des mécanismes spécifiques et sont classées soit par leur mécanisme d'action (ex., une cytotoxine tue des cellules) soit par leur structure protéique. Un type structural fréquent est la **toxine AB**, dont le nom vient du fait qu'elle a deux sous-unités distinctes, un composant « A » (pour « actif ») et un composant « B » (pour « binding »). La portion B de la toxine se fixe à un récepteur de la cellule hôte et déclenche l'endocytose. C'est donc la sous-unité B qui détermine le type cellulaire infecté. Une fois internalisée, les composants A et B se dissocient l'un de l'autre. Le composant A, qui agit comme une enzyme, est maintenant libre de catalyser une réaction qui provoque la toxicité pour la cellule hôte (figure 34.7a). Les toxines AB agissent sur les cellules par différents mécanismes. De nombreuses sous-unités A ont une activité ADP-ribosylante, qui catalyse le transfert d'adénosine diphosphate et de ribose depuis le NAD⁺ de l'hôte sur des molécules cibles de l'hôte (voir figure 10.7). Certaines exotoxines, regroupées par leur mécanisme d'action, ont la capacité de rompre les membranes. Les toxines formant des canaux (pores) sont un exemple de ce type fonctionnel d'exotoxine (figure 34.7b). Elles déstabilisent l'intégrité de la membrane, ce qui provoque la lyse de la cellule hôte. Les propriétés générales de plusieurs exotoxines sont présentées dans le tableau 34.4. En tant que protéines, les toxines sont facilement reconnues par le système immunitaire de l'hôte qui produit des anticorps anticorps reconnaissant et fixant leur toxine cible pour les inactiver et les éliminer.

Figure 34.7 Deux exemples de mécanismes impliquant des exotoxines. (a) La sous-unité B de la cytotoxine diphtérique AB se lie au récepteur cellulaire dans un puits recouvert de clathrine. La toxine induit une endocytose. 3. Le changement de pH à l'intérieur de l'endosome provoque la séparation des sous-unités. On appelle parfois CBE, un endosome où la séparation a lieu (pour « Compartment of Uncoupling of Receptor and Ligand »). 4. La sous-unité B est recyclée. 5. La sous-unité A active de la toxine bloque la synthèse protéique en ajoutant un ADP-ribose au facteur d'élongation EF-2, ce qui entraîne la mort cellulaire. (b) Ici, une toxine formant des canaux (pores), comme l'hemolysine produite par *S. aureus*, s'insère dans la membrane de la cellule hôte, en formant un canal (ou un pore). Des tentacules zones membranaires engendrent un changement d'orientation, au fur et à mesure que l'eau entre dans la cellule et que le contenu du cytoplasme en sort. Le résultat de cette toxine est la lyse de la cellule.

Le SARS-CoV-2 et l'impact du COVID-19

La virologie du SARS-CoV-2 et la pathobiologie du COVID-19 sont présentées aux étudiants respectivement dans les chapitres 25 et 37. Tout au long du texte, la pertinence des concepts face à la pandémie est donnée dans des encadrés faciles à repérer.

Sommaire

À propos des auteurs vii

Partie 1 Introduction à la microbiologie

1	La microbiologie et l'évolution des micro-organismes	1
2	La microscopie	23
3	La structure de la cellule bactérienne	44
4	La structure de la cellule archéenne	80
5	La structure de la cellule eucaryote	91
6	Les virus et les autres agents infectieux acellulaires	109

Partie 2 La nutrition, la croissance et le contrôle des micro-organismes

7	La croissance des bactéries et des archées	127
8	Le contrôle des micro-organismes dans l'environnement	162
9	La chimiothérapie antimicrobienne	179

Partie 3 Le métabolisme microbien

10	Introduction au métabolisme	201
11	Le catabolisme : libération et conservation de l'énergie	219
12	L'anabolisme : utilisation de l'énergie dans la biosynthèse	255

Partie 4 La biologie moléculaire et la génétique microbiennes

13	Le génome bactérien : la réplication et l'expression	277
14	Régulation des processus cellulaires	310
15	Réplication et expression du génome des eucaryotes et des archées	336
16	Les mécanismes de la variation génétique	359
17	Les technologies de l'ADN microbien	377
18	La génomique microbienne	397

Partie 5 La diversité du monde microbien

19	Les Archées	419
20	Les bactéries à Gram négatif non protéobactériennes	433
21	Les protéobactéries	455
22	Les bactéries Gram-positives	479
23	Les protistes	498

Partie 6 Écologie et symbiose

24	Les champignons ou fungi	518
25	Les virus	532
26	L'exploration des micro-organismes dans les écosystèmes	556
27	Les interactions microbiennes	571
28	Recyclage biogéochimique et changement climatique global	584
29	Les micro-organismes des écosystèmes marins et d'eau douce	599
30	Les micro-organismes des écosystèmes terrestres	617

Partie 7 Pathogénicité et réponse de l'hôte

31	La résistance innée de l'hôte	636
32	L'immunité adaptative	663
33	L'écosystème Homme-micro-organisme	696
34	L'infection et la pathogénicité	714

Partie 8 Les maladies microbiennes, leur détection et leurs contrôles

35	L'épidémiologie et la microbiologie en santé publique	730
36	La microbiologie et l'immunologie cliniques	750
37	Les maladies humaines dues aux virus et aux prions	769
38	Les maladies humaines dues aux bactéries	801
39	Les maladies humaines dues aux champignons et aux protistes	845

Partie 9 Microbiologie appliquée

40	La microbiologie des aliments	871
41	La biotechnologie et la microbiologie industrielle	887
42	La microbiologie environnementale appliquée	898

Annexe 1 Revue de la chimie des molécules biologiques A-1

Annexe 2 Les voies métaboliques principales A-2

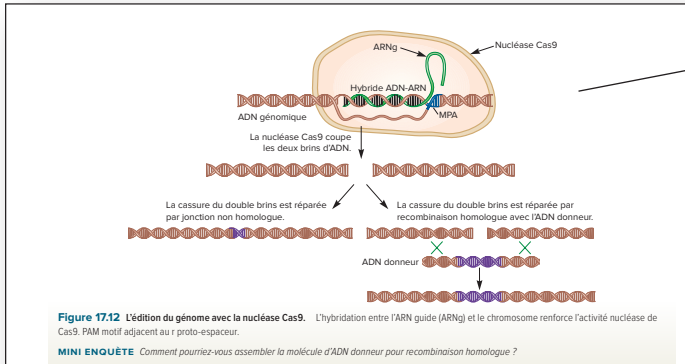
Glossaire	G-1
Index	I-1

La microbiologie et l'immunologie moléculaires

Cette 6^e édition française a été actualisée en génétique, en biotechnologie, en génomique et métagénomique, en immunologie et sur le microbiome humain. Une description mise à jour de l'immunité, avec plus de détails sur les liaisons innées et adaptatives, aide les étudiants à saisir la complexité et la spécificité des réponses immunitaires. Le microbiome et son impact sur l'homéostasie humaine sont introduits au chapitre 33, L'écosystème Micro-organisme-Homme.

Figure 25.19 Réplication et sortie du virus. (1) La réplication virale a lieu dans des vésicules cytoplasmiques à double membrane qui protègent le génome et concentrent les ribonucleotides précurseurs. (2) Les protéines structurales sont synthétisées dans le réticulum endoplasmique. (3) La protéine de la nucléocapside en association avec le génome à brin d'ARN positif est enveloppée par des membranes pour former les vésicules cytoplasmiques (4) qui sortent de la cellule par exocytose.

Une approche moderne de la microbiologie



L'édition du génome. Dans ce processus, l'ADN génomique peut être directement modifié et les modes opératoires sont suffisamment généraux pour être utilisés pour n'importe quelle cellule dans laquelle de l'ADN peut être introduit et exprimé. **Les réponses aux infections virales (section 14.6)**

Come les enzymes de restriction, Cas9 est une endonucléase qui coupe les deux brins d'un ADN cible. Cependant, à la différence des enzymes de restriction, qui reconnaissent quatre à huit paires de bases par contact entre l'ADN et le site actif de l'enzyme, Cas9 est une ribonucléoprotéine constituée d'un polypeptide et d'un **ARN guide (ARNg)**. La reconnaissance de l'ADN cible pour la coupure se produit par hybridation d'environ 20 bases entre l'ARNg et sa séquence complémentaire ADN dans le génome (figure 17.12). Une seconde courte série de bases, le **motif adjacent au protoespacer (PAM, pour protospacer adjacent motif)**, est localisé tout à côté de la région hybridante sur le brin opposé de l'ADN.

Chez les micro-organismes, le locus CRISPR est la source de l'ARNg (voir figure 14.26), et la nucléase Cas9 protège la cellule d'une attaque virale. Les séquences dans le locus CRISPR dérivent principalement d'éléments génétiques mobiles (bactériophages et plasmides), de sorte que la nucléase Cas9 d'une cellule microbienne cible spécifiquement l'ADN étranger pour le détruire. L'extrême spécificité conférée par l'ARNg est la clé de l'édition du génome car chaque séquence cible de 20 bases n'apparaît qu'une seule fois quel que soit le génome. À l'inverse, une enzyme de restriction qui reconnaît quelques nucléotides coupera le génome, en moyenne, toutes les quelques mille bases.

Des enzymes Cas9 peuvent être synthétisées pour porter des ARNg avec des séquences spécifiques de nucléotides, et programmer ainsi la séquence de reconnaissance pour la nucléase. L'ARNg dirige Cas9 à s'hybrider avec un site défini dans le génome, ce qui en fait le mécanisme le plus précis disponible pour le ciblage et le découpage de l'ADN. Chez les eucaryotes, tous dépourvus du système CRISPR/Cas, le processus d'édition commence par l'introduction des deux composants de l'endonucléase Cas9, l'apoenzyme et l'ARNg, dans la cellule hôte. Ces molécules peuvent être ajoutées directement, ou peuvent être ajoutées sous forme d'ADN cloné régulé par un promoteur inducible. Dans ce dernier cas, après induction, le complexe Cas9-ARNg s'assemble et remplit sa fonction de découpage.

La figure 17.12 illustre la façon dont Cas9 reconnaît et hydrolyse une séquence d'ADN spécifique. Une partie de l'ARNg sort de l'enzyme, disponible pour l'hybridation. Après avoir localisé son complément, l'ARNg induit un changement conformationnel dans la partie protéique de la nucléase Cas9, qui hydrolyse alors les liaisons phosphodiester dans les deux brins d'ADN, laissant des bouts francs. Dans le cas le plus simple, un point de mutation se produit alors que la cellule tente de réparer le dommage. Certaines bactéries et archées et tous les eucaryotes ont un **système de jonction non-homologue (S/NH)** pour abouter les deux morceaux du chromosome. Si la réparation recrée la séquence originale, celle-ci est sensible à l'action de coupage de Cas9. En conséquence, des réparations imparfaites avec une délétion ou insertion de quelques paires de bases se produisent typiquement. La conséquence est habituellement une mutation du cadre de lecture dans le gène qui résulte en une

La microbiologie du 21^e siècle

La *Microbiologie* de Prescott est un livre précurseur grâce à des textes consacrés à l'ingénierie du génome par CRISPR, au changement climatique global et aux piles à combustible microbiennes. Pour plus de détails, voir les chapitres 17, 28 et 42.

La métagénomique et le microbiome humain

La couverture élargie de la métagénomique et son importance dans la compréhension du rôle des micro-organismes dans tous les milieux et dans l'exploration des symbiotes des invertébrés et des humains apparaissent partout dans le texte. Le Chapitre 33, l'écosystème Micro-organisme – Homme, explore le microbiome humain et son rôle dans la santé et la maladie.

La sécurité au laboratoire

En reflétant les recommandations du CDC et de l'ASM, le chapitre 36 donne des directives spécifiques pour les meilleures pratiques de laboratoire en vue d'aider les professeurs à fournir des conditions de sécurité pendant les travaux pratiques en laboratoire.

Thèmes d'intérêt particulier

Organisés en quatre thèmes – Diversité et écologie microbiennes, Techniques et applications, Repères historiques et Maladies – ces thèmes ciblés et intéressants offrent un point de vue supplémentaire sur des sujets pertinents.

DIVERSITÉ ET ÉCOLOGIE MICROBIENNES

11 Les événements hydrothermaux : la vie a-t-elle commencé au fond de l'océan ?

Whether or not early life was RNA-based, one thing is clear: the origin of life needed energy to synthesize biomolecules. So, perhaps the most fundamental evolutionary question is "Where did biomolecules and the energy needed to build them come from?"

Three hypotheses have been suggested. First, the *panmixia theory* speculates that meteorites bombarded our planet, bringing with them other-worldly biomolecules. Second, the more familiar *primordial soup theory* suggests that organic molecules were spontaneously assembled by an input of energy, such as lightning strikes. The last theory, which has gained evidence in recent years, hypothesizes that both the energy and the molecules originated in hydrothermal vents. Let's explore the *hydrothermal vent theory*.

Hydrothermal vents are geothermally active deep-sea chasms thousands of meters below the surface of the ocean. Their discovery in 1977 sparked tremendous excitement as images of entirely new ecosystems with mysterious organisms captured the attention of scientists and the public (see section 27.2). These vents pump 400°C sulfide-rich water into cold ambient water, causing the sulfide to instantly precipitate, so these chimneylike structures are dubbed "black smokers." In 2000, scientists made yet another deep-sea discovery with a different kind of vent system. These are cooler (45–90°C) and alkaline (pH 9–11). When these waters mix with the surrounding seawater (pH about 8.0), calcium carbonate precipitates, forming white chimneys, as seen in the Lost City vents (box figure).

This pH gradient is critical to the hypothesis that a vent system, such as Lost City, could be the origin of biomolecules. As you may have learned when studying mitochondria or batteries, the separation of positive and negative charges captures potential energy (remember that energy can't be created). In Lost City vents, the thin walls of the chimneys serve to separate these fluids with as much as a 3-unit pH difference. The question now being asked is

"Was this potential energy tapped to convert CO₂ in seawater to simple carbon-based molecules, such as amino acids, short hydrocarbons, and others?"

If the answer is yes, a 2019 study shows that a mixture of molecules called single-chain amphiphiles (SCAs), which are simpler versions of more familiar phospholipids, can form vesicles in hot, alkaline pH seawater that mimics that of Lost City. Putting this together, we can hypothesize a series of events that occurred 3.7–4.0 billion years ago. First, the presence of the pH gradient across geological barriers in the Lost City drove the formation of random organic molecules, some of which were SCAs. These SCAs accumulated and formed vesicles that entrapped fluids preserving the pH gradient. These vesicles had the energy to test the formation of different molecules. Was one of them RNA?

MALADIE

9.1 La chloroquine et le COVID-19 : un récit éditorial

Dans les premiers jours de la pandémie de COVID-19, causé par le coronavirus SARS-CoV-2, la recherche pour réinventer des médicaments existants pour le traiter (peut-être le guérir) fut intense. À mesure que la pandémie s'étendait, il apparut que l'attente de nouveaux médicaments à développer et à tester semblait insupportable. Pendant l'épidémie de SARS de 2003, il fut démontré que la chloroquine et son dérivé l'hydroxychloroquine (figure de l'Encadré) pouvaient bloquer la réplication du coronavirus impliqué, le SARS-CoV, *in vitro*. Bien que le mécanisme antiviral de ces médicaments reste en question, une théorie en faveur était qu'il empêchait le développement du cycle de vie du virus en élevant le pH de l'endosome où le virus se trouve lorsqu'il pénètre dans la cellule hôte.

Malheureusement, le désir de trouver un traitement se heurta au manque de compréhension de savoir comment les essais de médicaments doivent être réalisés pour protéger le public des substances inefficaces et peu sûres. En publiant hâtivement des essais cliniques de qualité douteuse, la communauté scientifique porte une certaine responsabilité pour la confusion qui s'en est suivie. Certains événements autour de la chloroquine et l'hydroxychloroquine dans la première moitié de 2020 comprennent :

- 4 Février** : Le journal *Cell Research* publie une lettre à l'éditeur par des scientifiques chinois, dont un expert du coronavirus de renom, suggérant que le médicament anti-malaria chloroquine pourrait être efficace pour la lutte contre le COVID-19.
- 15 Février** : Un groupe de scientifiques français publie un éditorial semblable dans *International Journal of Antimicrobial Agents*.
- Mi à fin Février** : Plusieurs organes d'information rapportent des résultats prometteurs de récents essais cliniques utilisant la chloroquine et l'hydroxychloroquine plus facilement buvable dans le traitement de patients atteints de la COVID-19.
- 16 Mars** : L'entrepreneur Elon Musk tweete que la chloroquine pourrait être efficace dans le traitement du COVID-19.
- 20 Mars** : Le Président des USA, Donald Trump, annonce que la chloroquine «change la donne».
- 23 Mars** : Les patients qui prennent de la chloroquine et de l'hydroxychloroquine contre les maladies auto-immunes, depuis plusieurs années, rapportent des problèmes de ces médicaments.
- 24 Mars** : En Arizona un homme meurt et sa femme devient gravement malade après avoir ingéré un nettoyant pour aquarium à base de chloroquine en pensant se protéger du COVID-19.
- 25 Mars** : L'Organisation Mondiale de la Santé annonce un essai clinique international d'urgence pour tester la sécurité et l'efficacité de l'hydroxychloroquine contre le COVID-19.
- 28 Mars** : L'U.S. Food and Drug Administration (FDA) délivre une autorisation en urgence permettant l'utilisation étendue du médicament.
- 10 Avril** : Des rapports de personnels de santé de première ligne suggèrent que le médicament n'est pas efficace et peut même avoir des effets néfastes sur les patients.
- 13 Avril, 22 Avril** : Deux essais cliniques rapportent que l'hydroxychloroquine ont échoué à démontrer un bénéfice potentiel pour le traitement des patients atteints de la COVID-19.
- 24 Avril** : Le FDA délivre une mise en garde contre l'utilisation de l'hydroxychloroquine sans hospitalisation.
- 18 Mai** : Donald Trump annonce qu'il prend de l'hydroxychloroquine à titre prophylactique.
- 26 Mai** : Le journal médical *The Lancet* publie un vaste essai clinique qui conclut à la non efficacité de l'hydroxychloroquine pour traiter la COVID-19 et augmenter le risque de mortalité.
- 5 Juin** : *The Lancet* retire l'article publié le 26 Mai du fait des inquiétudes sur la qualité des données.
- 15 Juin** : L'U.S. FDA annule son autorisation d'emploi de la chloroquine et de l'hydroxychloroquine.
- 20 Juin** : L'Institut National de la Santé américain (NIH) arrête un essai clinique du fait de l'absence de preuves démontrant que les médicaments en causes soient efficaces pour le traitement du COVID-19.

Depuis cette époque, la chloroquine et l'hydroxychloroquine sont largement revenus sur le marché pour le traitement de la malaria et les maladies auto-immunes. Espérons que nous n'aurons pas à attendre la prochaine pandémie pour savoir si toutes les parties prenantes ont tiré la leçon de l'essai et la chute de ces médicaments.

Chloroquine et hydroxychloroquine. L'hydroxychloroquine porte un groupement hydroxyle, indiqué en violet.

Une organisation qui respecte l'étudiant

38

Les maladies humaines dues aux bactéries



VCG Wilson/Corbis/Getty Images

L'arbre généalogique de la peste

Pratiquement tout le monde a entendu parler de la Mort Noire — l'épidémie de peste en Europe, de 1347 à 1351, dont environ 40 % de la population est morte. Due à la bactérie Gram-négative *Yersinia pestis*, elle a été appelée la Mort Noire car les victimes saignaient sous la peau et subissaient des nécroses (morts cellulaires) des extrémités, ce qui donnait une peau noir-violet.

Depuis presque aussi longtemps que la Mort Noire a été étudiée, on pensait que l'épidémie de 1347 et les autres vagues de peste qui ont suivi au cours des siècles suivants étaient des introductions indépendantes de *Y. pestis* venant d'Asie. Mais, de nouvelles preuves suggèrent que cela ne serait peut-être pas le cas. L'Europe pourrait avoir rendu la pareille et avoir fourni une souche plus virulente de *Y. pestis* en Asie.

Comment faites-vous pour étudier une maladie épidémique qui a eu lieu il y a plus de 500 ans ? Vous associez une équipe d'archéologues, qui peut trouver, documenter et exhumer des tombes, avec une équipe d'anthropologues légistes et de bactériologistes, qui peut extraire, séquencer et analyser l'ADN de *Y. pestis* à partir des dents et des os. Les études des victimes de la peste en Espagne, Angleterre, Allemagne et en Russie donnent maintenant une histoire plus complète quoique plus complexe de l'évolution de *Y. pestis*. Il est largement admis que l'histoire commence vers 1320 avec une flambée de peste en Mongolie ; de là, elle s'est répandue en Chine dans les années 1330. Elle est arrivée en Europe en 1347 via une douzaine de bateaux qui ont accosté en Sicile, où des écrits de l'époque décrivent des marins morts couverts de tumeurs noires. De la Sicile, la maladie est rapidement remontée vers le Nord, atteignant la Russie en 1351.

Après que l'épidémie de peste s'est calmée au milieu des années 1350, elle réapparaît toutes les quelques générations au cours des trois

siècles suivants, comme illustré dans le tableau ci-dessus de Josse Lieferinxe, datant de 1497. Si les Européens étaient les victimes de vagues indépendantes de *Y. pestis* venant d'Asie, l'ADN bactérien de chaque flambée devrait indiquer des souches génétiquement différentes. Mais, l'ADN de *Y. pestis* issu de victimes allant du quatorzième au dix-septième siècles est très similaire, suggérant qu'il s'agissait de la même souche qui a persisté jusqu'à la dernière épidémie en France en 1722. Certains scientifiques pensent que la souche *Y. pestis* de la Mort Noire est devenue plus virulente et est retournée en Chine, où elle a causé des flambées aux dix-neuvième et vingtième siècles.

Pourquoi quelqu'un s'intéresserait-il à une maladie qui est survenue il y a aussi longtemps ? Le COVID-19 nous a assurément montré que les maladies émergent et se déplacent. Nous devons comprendre le passé pour faire face au futur. Dans ce chapitre, nous allons étudier les bactéries qui donnent des maladies humaines. Même s'il est bon de se rappeler que seule une toute petite fraction des bactéries sont pathogènes, il est sage de se familiariser avec celles qui impactent négativement les Hommes.

Test de connaissance

- D'après ce que vous avez appris, vous devriez être capable de :
- ✓ Décrire la biologie cellulaire de base des bactéries (sections 3.2 à 3.10)
 - ✓ Décrire les mécanismes d'action des principales classes d'antibiotiques (section 9.4)
 - ✓ Comparer et différencier les principes généraux de l'immunité innée et adaptative (chapitre 31 ; section 32.1-32.9)
 - ✓ Expliquer comment les principaux agents pathogènes provoquent une infection
 - ✓ Faire la différence entre les différents types de vaccins (section 35.6)
 - ✓ Expliquer (de façon générale) les méthodes grâce auxquelles les bactéries sont identifiées (chapitre 36)

801

Microfocus—Chaque chapitre débute par une histoire vraie illustrant la pertinence du texte qui suit.

Test de connaissances—L'introduction de chaque chapitre comprend une liste des compétences qui définit les connaissances préalables, indispensables aux étudiants pour comprendre ce qui suit.

Des références croisées—Des références internes renvoient les étudiants vers d'autres parties du livre à revoir.

Test de compréhension—Des questions dans le texte explicatif de chaque chapitre aident les étudiants à maîtriser les concepts de la section avant de passer à d'autres sujets.

Les objectifs d'apprentissage—Chaque section de chaque chapitre débute par une liste des activités liées au contenu que les étudiants devraient pouvoir réaliser après la lecture.

La mini-enquête—Des figures choisies dans chaque chapitre contiennent une question de réflexion donnant à l'étudiant une occasion supplémentaire de se tester.

VIII

de l'ADN incorrecte pour donner une particule de transduction spécialisée, ces **▲** bactériens sont la plupart du temps présents (figure 16.24). ► La bactériophage lambda : un bactériophage temperé (section 25.2) ► La transduction spécialisée

Test de compréhension

1. Décrivez la transduction généralisée et comment elle se produit. Ou est-ce qu'un transduit abortif ?
2. Ou est-ce qu'une transduction spécialisée et comment apparaît-elle ?
3. Comment pourrait-on dire si un transfert génétique horizontal est dû à une transduction généralisée ou spécialisée ?
4. Pourquoi la cellule ne se lyse-t-elle pas après une transduction réussie avec un phage temperé ?
5. Décrivez en quoi la conjugaison, la transformation et la transduction sont similaires. En quoi sont-elles différentes ?

16.9 L'évolution en action : le développement de la résistance aux antibiotiques chez les bactéries

- Après lecture de ce paragraphe, vous devriez être capable de :
- de décrire un plasmide R et ses éléments génétiques associés
 - de faire la distinction entre éléments intégratifs conjuguatifs, transposons, et plasmides conjuguatifs
 - décrire comment des éléments génétiques mobilisent des parties de chromosomes

Trois ans après le début de l'utilisation massive de la pénicilline dans les années 1940, des bactéries résistantes à la pénicilline furent trouvées dans des échantillons cliniques. Afin de comprendre l'origine de la **résistance aux médicaments, il est important de rappeler que dans la nature, les micro-organismes produisant des antibiotiques doivent aussi se protéger eux-mêmes contre les antibiotiques qu'ils sécrètent.**

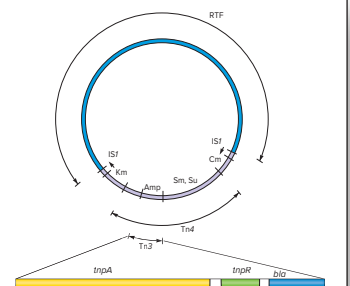


Figure 16.25 Un plasmide R. Le plasmide R1 est un plasmide R qui contient le transposon réplicatif $\text{Tn}3$. $\text{Tn}3$ contient le gène de la β -lactamase (bla), une enzyme qui confère la résistance à l'ampicilline (amp). Notez que $\text{Tn}3$ est inséré dans un autre élément transposable, $\text{Tn}4$. $\text{Tn}4$ porte les gènes qui procurent la résistance à la streptomycine (Sm) et aux sulfamides (Su). Le plasmide R1 contient aussi les gènes de résistance à la kanamycine (Km) et au chloramphicol (Cm). La région RTF de R1 code pour les protéines nécessaires à la réplication et au transfert du plasmide. La transposase et la résolvasse sont encodées par tnpA et tnpR , respectivement.

MINI ENQUÊTE $\text{Tn}3$ étant un transposon réplicatif, que se passerait-il s'il se mettait à « sauter » de ce plasmide R1 vers un plasmide différent ?

Une organisation qui respecte l'étudiant

Une iconographie instructive et vivante—Des représentations tridimensionnelles et des couleurs vives et attrayantes facilitent l'apprentissage.

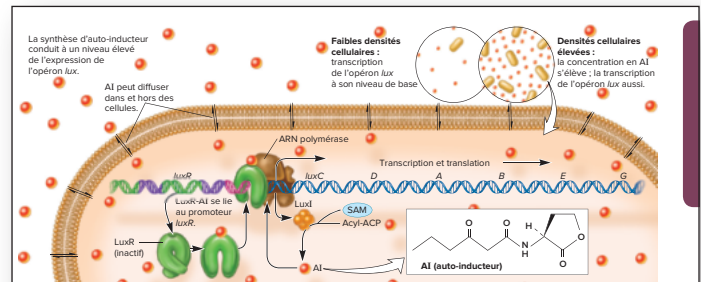


Figure 14.23 La perception du quorum chez *V. fischeri*. La molécule (AI) signal AHL diffuse à l'extérieur de la cellule. Quand la densité cellulaire est élevée, la molécule d'AHL retourne dans la cellule où elle se lie au régulateur transcriptionnel LuxR et l'active. LuxR activé stimule alors la transcription du gène qui code pour l'AHL, synthase (*luxI*), ainsi que les gènes qui codent pour les protéines nécessaires à la production de lumière.

Des figures annotées—Toutes les voies métaboliques principales et tous les processus moléculaires sont annotés de sorte que chaque étape soit clairement illustrée et expliquée.

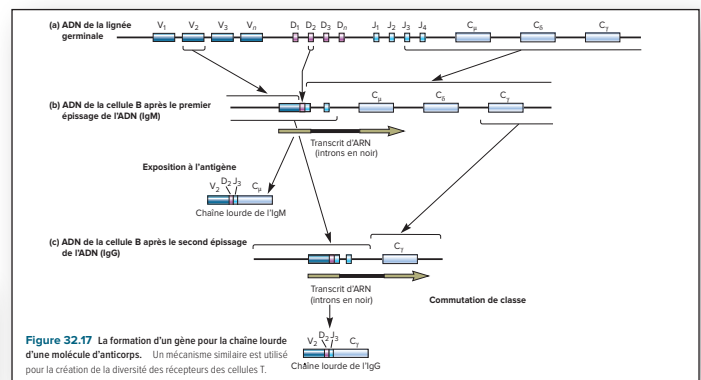


Figure 32.17 La formation d'un gène pour la chaîne lourde d'une molécule d'anticorps. Un mécanisme similaire est utilisé pour la création de la diversité des récepteurs des cellules T.

Concepts clés

2.1 Les lentilles créent des images en déviant la lumière

- Un rayon lumineux qui passe de l'air dans du verre ou vice versa, est dévié selon un processus appelé réfraction (figure 2.1).
- Les lentilles focalisent les rayons lumineux en un point, le foyer, et agrandissent les images (figure 2.2).

2.2 Il y a plusieurs types de microscopes optiques

- Dans un microscope composé comme le microscope à fond clair, l'image primaire est une image agrandie formée par un objectif. Elle est ensuite agrandie par un oculaire pour donner l'image finale (figure 2.3).
- La résolution du microscope augmente quand la longueur d'onde de la radiation, utilisée pour éclairer l'échantillon, diminue. La résolution maximale d'un microscope optique est d'environ 0,2 µm (figure 2.4).
- Le microscope à fond noir n'utilise que la lumière réfractée pour former une image et les objets brillent sur un fond noir (figure 2.6).
- Le microscope à contraste de phase convertit les différences d'indice de réfraction en différences d'intensité lumineuse et rend ainsi visibles des cellules vivantes sans colorer, non colorées (figures 2.8 à 2.10).
- Le microscope à contraste d'interférence différentielle utilise deux rayons lumineux pour donner des images très contrastées d'échantillons vivants (figure 2.11).
- Le microscope à fluorescence éclaire un échantillon marqué par un fluorochrome et forme une image de sa fluorescence (figures 2.12 à 2.14).
- Le microscope confocal sert à étudier des échantillons épais et complexes. Il crée une image en n'utilisant que la lumière émanant du plan focal et en bloquant les rayons parasites venant des parties inférieures et supérieures au plan focal (figure 2.15).

2.3 La coloration des échantillons permet de visualiser et d'identifier les micro-organismes

- Les échantillons sont souvent fixés et colorés avant d'être observés au microscope à fond clair. Il y a deux méthodes de fixation : la fixation à la chaleur et la fixation chimique.
- La plupart des colorants sont soit des colorants basiques chargés positivement, soit des colorants acides chargés négativement. Ils se lient aux parties ionisées des cellules.

- Dans la coloration simple, un seul colorant est utilisé pour colorer les micro-organismes (figure 2.16).

- Les techniques de coloration différentielle, comme la coloration de Gram ou de l'acido-résistance, permettent de différencier des groupes de micro-organismes en les colorant différemment (figures 2.17 et 2.18a, b). D'autres techniques de coloration différentielle sont spécifiques pour des structures particulières comme les capsules bactériennes et les flagelles (figure 2.18c, d).

2.4 Les microscopes électroniques utilisent des faisceaux d'électrons pour créer des images à très fort grossissement

- Le microscope électronique à transmission (MET) utilise des lentilles magnétiques pour former une image à partir des électrons qui traversent une coupe très fine d'un échantillon (figure 2.21). La résolution est élevée parce que la longueur d'onde du faisceau d'électrons est très courte.
- Les échantillons sont habituellement préparés par des méthodes qui augmentent le contraste. Les échantillons peuvent être colorés par un traitement avec des solutions de métaux lourds comme l'osmium, l'uranium et le plomb. Ils peuvent également être préparés pour le microscope électronique à transmission par coloration négative, ombrage métallique ou cryodépôtage (figures 2.23 et 2.24).
- Le microscope électronique à balayage est utilisé pour étudier les caractéristiques de la surface externe des micro-organismes (figures 2.25 et 2.26).
- La cryotomographie électronique (cryo-ME) permet la visualisation de molécules simples et de structures moléculaires complexes. Les échantillons sont rapidement congelés, et pendant leur examen, une série d'images sont prises, qui sont ensuite combinées et traitées pour obtenir une reconstruction tridimensionnelle de l'objet (figure 2.27).

2.5 La microscopie à balayage de sonde peut visualiser des molécules et des atomes

- Les microscopes à balayage de sonde atteignent de très forts grossissements qui permettent aux scientifiques de visualiser des molécules biologiques (figures 2.28 et 2.30).
- La microscopie à balayage à effet tunnel permet de visualiser des surfaces moléculaires en utilisant l'interaction électronique entre la sonde et l'échantillon, tandis que la microscopie à force atomique peut balayer la surface de molécules qui ne conduisent pas bien l'électricité (figure 2.29).

Des concepts clés— À la fin de chaque chapitre, cette fonctionnalité, organisée par titres numérotés, résume le contenu en ses composants essentiels accompagnés de références croisées vers les figures et les tableaux.

Apprentissage Actif

1. Vous préparez un échantillon pour la microscopie optique ; vous le colorez par la méthode de Gram, mais vous ne voyez rien lorsque vous l'examinez au microscope optique. Citez les erreurs que vous pouvez avoir faites ?
2. Quel type de microscopie et de coloration (si nécessaire) utiliserez-vous pour visualiser chacun des micro-organismes suivants ? (Il peut y avoir plus qu'une réponse correcte.) Être sûr d'expliquer votre réponse. *Mycobacterium tuberculosis* (qui

Apprentissage actif — Cette partie contient des questions prises dans la littérature actuelle. Elles sont conçues pour stimuler les capacités analytiques dans la résolution de problèmes.

Liste des modifications du contenu

Chaque chapitre a été réexaminé attentivement.

Partie I

Chapitre 1 – Nous ouvrons le texte en mettant davantage l'accent sur les bases de l'évolution microbienne, plantant ainsi le décor pour dérouler ce thème tout au long du livre.

Chapitre 2 – Une nouvelle section a été ajoutée, décrivant les progrès passionnants de la microscopie cryo-électronique et la visualisation des biomolécules.

Chapitre 3 – Dans la présentation de la cellule bactérienne, les deux principaux types de parois cellulaires ont été définis comme monoderme et diderme, traduisant leurs différences structurales. Une nouvelle section décrit la structure et la fonction des vésicules extracellulaires. Un encadré « Diversité microbienne et écologie » présente les organites dépourvus de membrane et la séparation de phase liquide-liquide. De nouvelles figures complètent l'examen approfondi des protéines associées au nucléoïde et de la structure du nucléoïde.

Chapitre 4 – La présentation de la cellule archéenne permet une comparaison poussée des cellules bactériennes et archéennes et un schéma détaillé des lipides archéens. Les vésicules extracellulaires, les nanotubes et les nanopodes sont décrits et illustrés.

Chapitre 5 – Une présentation actualisée des voies endocytaires et des vésicules extracellulaires a été ajoutée.

Chapitre 6 – Cette introduction aux éléments morphologiques, physiologiques et génétiques des virus a été simplifiée avec de nouvelles images et figures et une présentation actualisée des prions.

Partie Deux

Chapitre 7 – La discussion sur la croissance microbienne met en évidence les progrès récents concernant l'anneau-Z et la formation du divisome. De nouvelles figures viennent compléter les discussions sur le cycle cellulaire archéen, le développement du biofilm et la perception du quorum. Un nouvel encadré Diversité Microbienne et Écologie illustre comment certains micro-organismes peuvent former du bio-béton.

Chapitre 8 – Le contrôle microbien est réorganisé en méthodes physiques, chimiques et biologiques, avec des informations sur la destruction du virus SARS-CoV-2.

Chapitre 9 – En plus de passer en revue la structure et le mécanisme d'action des classes antimicrobiennes, nous mettons l'accent sur la menace grandissante de la résistance antimicrobienne.

Partie Trois

Chapitre 10 – Ce chapitre donne les bases pour comprendre la conservation de l'énergie et les biosynthèses.

Chapitre 11 – Les voies cataboliques et la conservation de l'énergie ont été recentrées dans ce chapitre pour mettre en avant les processus bactériens et archéens. Un nouveau programme artistique utilise des cartes conceptuelles pour fournir des vues d'ensemble des stratégies cataboliques microbiennes comme la respiration aérobie par opposition à la respiration anaérobie.

Chapitre 12 – Les voies biosynthétiques sont illustrées en détail dans ce chapitre et quelques-unes ont été élargies pour y inclure des variations archéennes. La biosynthèse des lipopolysaccharides a été élaborée et illustrée dans une nouvelle figure.

Partie Quatre

Chapitre 13 – Les révisions de ce chapitre sur la biologie moléculaire de base de la cellule incluent un examen approfondi et des images de l'origine de réplication et du réplisome. Une nouvelle section décrit les contraintes physiques sur l'ARN et l'ADN polymérase en action sur la même matrice chromosomique.

Chapitre 14 – La régulation des processus cellulaires a été élargie pour y inclure le contrôle par les structures secondaires de l'ARN comme les thermomètres à ARN et les T-box-riboswitch. L'importance des seconds messagers est mise en évidence dans un paragraphe actualisé sur la régulation du GMP-dicyclique.

Chapitre 15 – Ce chapitre se concentre sur un examen de la biologie moléculaire des eucaryotes et des archées, incluant une introduction aux condensats biomoléculaires des processus eucaryotiques. Les avancées récentes sur la régulation génique des archées sont présentées, ainsi qu'un examen actualisé de la transcription à partir d'une matrice de chromatine.

Chapitre 16 – L'accent mis sur les mutations et les réparations s'appuie sur de nouvelles figures et une description actualisée des mécanismes de réparation de l'ADN. Des études récentes sur les éléments génétiques mobiles et les mécanismes de transfert génétique ont été incluses.

Chapitre 17 – Ce chapitre présente aux étudiants les techniques de laboratoire courantes pour manipuler l'ADN, parmi lesquelles le clonage de gène, la PCR, l'expression génétique hétérologue et la technologie d'édition génomique CRISPR/Cas9. Une section sur la biologie synthétique a été ajoutée.

Chapitre 18 – Les techniques génomiques essentielles, incluant le séquençage de cellule unique et la métagénomique, ont été introduites avec des applications dans le monde réel, y compris en relation avec le SARS-CoV-2.

Partie Cinq

Chapitre 19 – La taxonomie archéenne reflète maintenant le formalisme établi par la Genome Taxonomy Database. La matière noire microbienne est décrite, étant donné que beaucoup d'archées sont connues uniquement à partir de leur séquence métagénomique. La présentation des voies archéennes du carbone a été simplifiée et le cycle de Wolfe de la méthanogenèse hydrogénéotrophe a été soigneusement annoté.

Chapitre 20 – La taxonomie bactérienne reflète maintenant le formalisme établi par la Genome Taxonomy Database. En conséquence, les organismes autrefois classés dans les delta- et les epsilonprotéobactéries sont maintenant inclus dans ce chapitre. Les variations de l'enveloppe cellulaire diderme sont examinées. Les bactéries à câble et le transport extracellulaire des électrons ont été introduits et les discussions sur la résistance aux radiations de *Deinococcus* et l'acclimatation chromatique des cyanobactéries ont été mises à jour.

Liste des modifications du contenu

Chapitre 21 – Ce chapitre sur les protéobactéries contient une nouvelle section décrivant *Acinetobacter*. De plus, le cycle du β -hydroxy-aspartate liant les autotrophes et les hétérotrophes en pleine mer est inclus.

Chapitre 22 – Ce chapitre sur les bactéries Gram-positives comprend désormais les espèces de *Mycoplasma*. La section sur *Streptomyces* présente une discussion sur les clusters de gènes biosynthétiques.

Chapitre 23 – La classification mise à jour des protistes basée sur les analyses phylogénomiques récentes est fournie à mesure que les clades de protistes d'importance médicale et environnementale sont présentés.

Chapitre 24 – Ce chapitre a été réorganisé en fonction des preuves phylogénétiques récentes. Les six groupes majeurs de champignons sont présentés.

Chapitre 25 – La taxonomie virale a été révisée et ce chapitre reflète la classification utilisée par le Comité International sur la Taxonomie des Virus. Le cycle biologique détaillé d'un coronavirus sert d'exemple de virus à ARN à brin positif, présentant de cette façon le cycle de réplication du SARS-CoV-2. Ceci est accompagné de figures.

Partie Six

Chapitre 26 – Ce chapitre présente une analyse des principales techniques d'évaluation des populations et des communautés microbiennes et comprend une discussion approfondie sur la métagénomique. Des applications des recherches environnementales et sur le microbiome sont incluses.

Chapitre 27 – Ce chapitre sur les interactions microbiennes a été intégralement repris, en regroupant les interactions en mutualisme, coopération et antagonisme. De nombreux nouveaux exemples sont détaillés, en mettant l'accent sur l'interdépendance métabolique.

Chapitre 28 – Une introduction approfondie sur le recyclage des nutriments et les cycles biogéochimiques précède l'étude des principaux cycles élémentaires. De nouvelles illustrations donnent vie à ces cycles. Ce chapitre s'appuie sur ces concepts pour expliquer le rôle des micro-organismes dans une discussion actualisée sur le changement climatique.

Chapitre 29 – Les paragraphes sur les adaptations microbiennes à l'environnement marin et leur importance dans les océans pour le changement climatique global ont été actualisés. Le thème de la microbiologie en eau douce a été également révisé, en mettant l'accent sur les impacts anthropogéniques.

Chapitre 30 – Ce chapitre complète le chapitre 27 avec des paragraphes sur les champignons mycorrhiziens et les bactéries fixatrices de l'azote. Le rôle des avancées de la métagénomique dans notre compréhension de la microbiologie du sol est souligné. Le thème des phytopathogènes a été développé.

Partie Sept

Chapitre 31 – Ce chapitre a été mis à jour et son organisation repensée pour fournir une introduction concise à l'immunité innée, en incluant des avancées dans notre compréhension du rôle de l'inflammasome et des cellules lymphoïdes innées.

Chapitre 32 – Révisée et actualisée, cette discussion sur l'immunité adaptative et les immunopathologies fournit une vue d'ensemble actuelle pour faire découvrir aux étudiants la dynamique de l'immunité humaine. De nombreuses figures ont été reprises pour plus de clarté.

Chapitre 33 – Le domaine en pleine expansion du microbiome humain est présenté. Ce chapitre suit celui sur l'immunologie pour une discussion complète du rôle du microbiote humain sur la fonction immunitaire ainsi que sur son rôle pour maintenir l'homéostasie du système.

Chapitre 34 – Ce chapitre fournit un large survol des maladies infectieuses, depuis la transmission du pathogène jusqu'à la pathogénicité.

Partie Huit

Chapitre 35 – Ce chapitre a été révisé pour tenir compte des données épidémiologiques, une discussion sur R_0 et l'immunité de groupe et une section actualisée avec les vaccins à ARNm. L'épidémiologie de SARS-CoV-2 a été mise en évidence, ainsi que la gestion de la pandémie.

Chapitre 36 – Ce chapitre fournit aux étudiants une vue globale des techniques clés de microbiologie et d'immunologie permettant l'identification des échantillons cliniques.

Chapitre 37 – Ce chapitre comprend maintenant une discussion complète de notre compréhension actuelle de la pathobiologie du SARS-CoV-2. La génomique et l'évolution du virus ont été soulignées, ainsi que les manifestations cliniques du COVID-19.

Chapitre 38 – Les étudiants sont initiés aux maladies bactériennes, y compris la pathogenèse, la prévalence et la présentation clinique. Quand cela est possible, l'importance de la prévention vaccinale est soulignée.

Chapitre 39 – Ce chapitre fournit une vue d'ensemble des maladies dues aux champignons et aux protozoaires d'importance locale et mondiale. Le fléau mondial de maladies importantes comme la maladie de Chagas et la malaria est souligné.

Partie Neuf

Chapitre 40 – Les bases de la sécurité alimentaire comprennent maintenant une discussion sur les risques et les mesures de sécurité à toutes les étapes, de la ferme au marché. Les méthodes pour tester la nourriture ont été actualisées pour refléter l'utilisation des méthodes moléculaires et le séquençage du génome entier.

Chapitre 41 – La portée croissante de la biotechnologie est illustrée par plusieurs exemples, comprenant un paragraphe développé sur les enzymes industrielles dérivées des micro-organismes, les stratégies rationnelles de conception des vaccins, les biocapteurs microbiens et les diatomées en tant que plateformes de nanotechnologie.

Chapitre 42 – La discussion sur la sécurité de l'eau a été complétée pour inclure un paragraphe sur le suivi des sources microbiennes, et un encadré sur le COVID souligne l'importance de la surveillance des eaux usées pour le SARS-CoV-2, un aspect de la santé publique. La section sur la biodégradation a été étoffée pour y inclure les hydrocarbures pétroliers, les molécules organiques halogénées et une description de la plastisphère.

À propos des auteurs



Joanne M. Willey enseigne à l'Université Hofstra de Long Island, New York, depuis 1993. Elle y est professeur de Sciences Biomédicales du Département Leo A. Guthart et présidente du Département des Sciences de l'Éducation de l'École de Médecine de Donald et Barbara Zucker à Hofstra/Northwell. Le Dr Willey a obtenu son B.A. en biologie à l'Université de Pennsylvanie. Son intérêt pour la microbiologie est d'ailleurs né dans le cadre de ses études, à la suite de recherches sur la croissance des cyanobactéries dans les cours d'eau eutrophisés. Elle a obtenu son Ph.D. en océanographie biologique (plus particulièrement en microbiologie marine) en 1987 grâce à un programme conjoint de l'Institut de Technologie du Massachusetts (MIT) et de l'Institut Océanographique Woods Hole. Elle est par la suite entrée à l'Université de Harvard, au sein de laquelle elle a consacré sa bourse post-doctorale à l'étude de *Streptomyces coelicolor*, une bactérie filamenteuse du sol. Elle a depuis co-écrit de nombreux articles à ce sujet, notamment sur le cycle de développement complexe de cette dernière. En plus d'être aujourd'hui un membre actif de la Société Américaine de Microbiologie (l'ASM), le Dr Willey a été membre du bureau éditorial de la revue *Applied and Environmental Microbiology* et a présidé la division de Microbiologie générale durant 9 ans. Forte de son expérience d'une vingtaine d'année en tant que professeur en microbiologie auprès d'étudiants en biologie, le Dr Willey enseigne aujourd'hui la microbiologie ainsi que les maladies infectieuses aux étudiants en médecine. Durant sa carrière, elle a également pu donner des cours en biologie cellulaire, en microbiologie marine et en techniques de laboratoire en génétique moléculaire. Le Dr Willey habite aujourd'hui sur la côte nord de Long Island et a deux fils adultes. Elle pratique de manière assidue la course à pied, et apprécie également les randonnées, l'escalade, le ski et la lecture. Vous pouvez la joindre à l'adresse électronique suivante : joanne.m.willey@hofstra.edu.



Kathleen M. Sandman a obtenu son B.A. en biologie à l'Université de La Salle et son Ph.D. en Biologie Cellulaire et du Développement à l'Université de Harvard. Elle a puisé son envie de faire carrière dans le domaine scientifique dans l'expérience de son frère aîné, chimiste organicien, ainsi que dans le développement des technologies de l'ADN recombinant dans les années 70. Suite à une thèse qui portait sur un élément transposable utilisé comme mutagène chez *Bacillus subtilis* pour étudier l'expression des gènes au cours de la formation des endospores, elle a poursuivi ses recherches sur la génétique des bactéries Gram-positives en étudiant *Bacillus thuringiensis* durant une année post-doctorale à l'Université de Cambridge au Royaume-Uni. C'est dans le cadre d'une deuxième expérience post-doctorale à l'Université d'État d'Ohio que le Dr Sandman s'est initiée au domaine émergent de la biologie moléculaire archéenne. Elle a notamment pu étudier les histones archéennes et continuer ses recherches dans la biologie structurale de la chromatine archéenne pendant une vingtaine d'années. Elle a également siégé à la National Science Foundation, en tant que membre du comité d'évaluation des subventions de recherche, ainsi que comme conférencière pour le Programme de la Vie dans les Environnements Extrêmes. Elle a notamment abordé dans ce cadre la biologie moléculaire des archées et les protéines des extrémophiles. Durant sa carrière, le Dr Sandman a enseigné la microbiologie à des centaines d'étudiants, dans des cours d'introduction au sujet, mais aussi dans des cours de microbiologie moléculaire de haut niveau. Dr. Sandman a travaillé comme consultante dans diverses industries, parmi lesquelles la microbiologie industrielle, la géomicrobiologie environnementale et pour des publications techniques. Elle vit aujourd'hui avec son mari à Columbus, dans l'Ohio et a deux filles adultes. Elle prend plaisir à pratiquer le vélo, les arts textiles, la lecture ainsi que la généalogie. Son adresse électronique est la suivante : kathleenmsandman@gmail.com.



Dorothy H. Wood a enseigné la microbiologie et la biologie générale au Durham Technical Community College, en Caroline du Nord pendant 17 ans. C'est durant ses études au Rhode Island College, où elle a obtenu son B.A. en biologie, que son intérêt pour les micro-organismes est né et a été entretenu par le Dr Charles Owen. Elle a par la suite obtenu son Ph. D. en Pathologie moléculaire et cellulaire à l'Université de Caroline du Nord, à Chapel Hill, en concentrant ses recherches sur les dégâts pancréatiques causés par les médicaments antimicrobiens et en travaillant sur l'élaboration de traitements alternatifs basés sur la liaison de nouveaux composés sur des récepteurs. Suite à trois ans en tant que professeure adjointe à l'Université Centrale de Caroline du Nord, le Dr. Wood a fait le choix de rejoindre le réseau de Collèges communautaires de Caroline du Nord afin de se dévouer à son principal intérêt : l'enseignement. Durant sa carrière, elle a également donné des cours dans l'enseignement supérieur en bactériologie, pathophysiologie et en biotechnologie. Le Dr Wood est aujourd'hui conseillère pédagogique numérique pour McGraw Hill, et a dans ce cadre travaillé sur plusieurs ouvrages traitant de diverses disciplines, en élaborant et en éditant du contenu numérique pour accompagner les textes. Elle est également consultante en programmes de formation pour Education & Training Systems International, à Chapel Hill, en Caroline du Nord. Mais c'est aussi une professionnelle du fitness. Elle dirige en effet des séminaires de santé et de bien-être, et a été la trésorière d'une association caritative durant ces 10 dernières années. Elle vit aujourd'hui en Caroline du Nord avec son mari et ses deux grands enfants. Son adresse électronique est la suivante : dorothywood241@gmail.com.

Remerciements

Au cours de la préparation de chaque édition, nous sommes guidées par l'expérience de nos conseillers, des microbiologistes experts et d'excellents professeurs, forts de longues carrières dans des centres universitaires, des universités d'arts libéraux, des institutions d'ensemble ou encore des universités de recherche. Nous avons suivi leurs recommandations, tout en restant fidèles à notre volonté d'écrire un contenu lisible, centré sur les étudiants. Chaque élément incorporé dans cette édition a été soigneusement examiné afin de s'assurer qu'il favorisait l'apprentissage des étudiants à la fois dans un environnement d'apprentissage traditionnel et inversé. C'est avec fierté que nous avons également pu incorporer dans cette édition des données et des commentaires d'étudiants, grâce à nos milliers d'utilisateurs du

LearnSmart, qui ont pu contribuer à nos modifications finales. Avec ces informations, nous avons été capables de perfectionner à la fois le contenu du livre et le contenu numérique.

Au nom de tous les auteurs, nous souhaitons exprimer notre gratitude à notre équipe chez McGraw Hill, parmi lesquels Lauren Vondra, Darlene Schueller, Tami Hodge, Vicki Krug, David Hash, Beth Cray et Tammy Juran. Merci à Rebecca E. Steiner, Shonteria L. Johnston, Rita Mary King, Jonathan A. Miller, Brittany Gasper et Mary Colavito pour leur assistance dans cette édition. Enfin, nous remercions nos conjoints et nos enfants, qui nous ont soutenues et acceptés nos absences (mentales, si ce n'est physiques) pendant que nous terminions ce projet exigeant.

Nous adressons nos sincères remerciements aux relecteurs suivants et/ou aux participants aux groupes de discussion qui nous ont apporté une contribution précieuse. Vos suggestions et vos recommandations ont aidé à façonner et à guider cette révision.

Chris Allen, *Lone Star College-University Park*
Daniel Aruscavage, *Kutztown University*
Paul Babitzke, *Pennsylvania State University*
R. Berlemont, *California State University, Long Beach*
Linda D. Bruslind, *Oregon State University*
Becky Buckley, *Metropolitan State University of Denver*
Hildamarie Caceres-Velazquez, *Coastal Carolina Community College*
Kathleen L. Campbell, *Emory University*
Daniel N. Clark, *Weber State University*
Laszlo Csonka, *Purdue University*
Deborah Dardis, *Southeastern Louisiana University*
Ellen B. Duffy, *Siena College*
Dale Emeagwali, *Excelsior College*
Jed A. Fuhrman, *University of Southern California*
Melanie C. Griffin, *Kennesaw State University*
Judyth Gulden, *Northeastern State University*
Isaac M. Hagenbuch, *University of South Carolina, Columbia*
Cecily L. Haley, *San Jacinto College North Campus*
Andrew F. Herbig, *Washburn University*
Timothy Hoover, *University of Georgia*
Amy G. Hurst, *Rose State College*
Mark Kainz, *Ripon College*

Bessie W. Kebaara, *Baylor University*
Juliana Kelley, *Laredo College*
Peter J. King, *University of Texas, Austin*
Yong Jin Lee, *Albany State University*
Cynthia Littlejohn, *The University of Southern Mississippi*
Danielle M. McGrath, *San Jacinto College*
Daniel P. Moore, *Southern Maine Community College*
Roderick M. Morgan, *Grand Valley State University*
Kathryn Morris, *Xavier University*
Florence Okafor, *Alabama A&M University*
Hyun-Woo Park, *California Baptist University*
Kaustubha Qanungo, *Clemson University*
Shawna Reed, *Quinnipiac University*
Rebecca D. Riggs, *Auburn University*
Janet Rinehart-Kim, *Old Dominion University*
Paul G. Rudenberg, *Southern Maine Community College*
Pratibha Saxena, *University of Texas at Austin*
Sarah Sidiropoulos, *Oakland Community College*
Gehan Soliman, *Campbell University*
Henry G. Spratt, Jr., *University of Tennessee at Chattanooga*
Helene C. Ver Eecke, *Metropolitan State University of Denver*
Lisa Waidner, *University of West Florida*
Fanxiu Zhu, *Florida State University*

Table des matières

À propos des auteurs VII

Préface VIII

Partie 1 Introduction à la microbiologie

1 La microbiologie et l'évolution des micro-organismes 1

Micro Focus :

Les champs de la microbiologie 1

- 1.1 Les membres du monde microbien 2
- 1.2 Les micro-organismes ont évolué et se sont diversifiés pendant des milliards d'années 4

Diversité et écologie microbiennes 1.1

Les événements hydrothermaux : la vie a-t-elle commencé au fond de l'océan ? 7

- 1.3 La microbiologie a progressé avec le développement de nouveaux outils pour étudier les micro-organismes 19
- 1.4 La microbiologie englobe de nombreuses sous-disciplines 23

2 La microscopie 23

Micro Focus :

L'attaque bioterroriste au charbon de 2001 23

- 2.1 Les lentilles créent des images en déviant la lumière 24
- 2.2 Il y a plusieurs types de microscopes optiques 24
- 2.3 La coloration facilite la visualisation et l'identification des micro-organismes 32
- 2.4 Les microscopes électroniques utilisent des faisceaux d'électrons pour créer des images à très fort grossissement 35
- 2.5 La microscopie à balayage de sonde peut visualiser des molécules et des atomes 40

3 Structure de la cellule bactérienne 44

Micro Focus :

Les bactéries utilisent le transport rapide 44

- 3.1 L'utilisation du terme « procaryote » est controversée 45
- 3.2 Les bactéries sont différentes, mais elles ont certaines caractéristiques en commun 45
- 3.3 Les membranes cytoplasmiques bactériennes contrôlent ce qui entre et sort de la cellule 48
- 3.4 Il y a deux types principaux de parois bactériennes 54
- 3.5 Des vésicules extracellulaires émergent des membranes bactériennes 60

- 3.6 Les enveloppes cellulaires comportent souvent des couches en dehors de la paroi 61
- 3.7 Le cytoplasme bactérien est plus complexe qu'on ne le pensait 62

Diversité et écologie microbiennes 3.1

Organites dépourvus de membranes ? 65

- 3.8 De nombreuses bactéries ont des structures externes employées pour l'attachement et la motilité 67
- 3.9 Les bactéries se déplacent en réponse aux conditions de l'environnement 70
- 3.10 Les endospores bactériennes sont une stratégie de survie 74

4 La structure de la cellule archéenne 80

Micro Focus :

Le Méthane – L'autre gaz à effet de serre 80

- 4.1 Les archées sont diverses, mais elles ont certaines caractéristiques en commun 81
- 4.2 Les enveloppes cellulaires archéennes ont des structures diverses 83
- 4.3 Le cytoplasme archéen est similaire à celui des bactéries 86
- 4.4 De nombreuses archées ont des structures externes employées pour l'attachement et la motilité 88

5 La structure de la cellule eucaryote 91

Micro Focus :

Rouge signifie mort 91

- 5.1 Les cellules eucaryotes sont différentes, mais elles ont certaines caractéristiques en commun 92
- 5.2 Les enveloppes cellulaires eucaryotes 93
- 5.3 Le cytoplasme eucaryote contient un cytosquelette complexe et de nombreux organites membranaires 94
- 5.4 Plusieurs organites membranaires cytoplasmiques agissent dans les voies sécrétrices et endocytosiques 96
- 5.5 Le noyau et les ribosomes sont impliqués dans le contrôle génétique de la cellule 100
- 5.6 Les mitochondries, les organites apparentés et les chloroplastes sont impliqués dans la conservation de l'énergie 101

Diversité et écologie microbiennes 5.1

Il était une fois une vieille dame qui avait avalé une mouche 104

- 5.7 De nombreux micro-organismes eucaryotes possèdent des structures extracellulaires employées pour la motilité 105

Table des matières

6 Les virus et les autres agents infectieux acellulaires	109	8.2 Les microbes peuvent être contrôlés par des procédés physiques	166
Micro Focus :		Techniques & Applications 8.1	
Virus à la rescousse	109	Viens voler avec moi?	167
6.1 Les virus sont acellulaires	110	8.3 Les micro-organismes sont contrôlés par des agents chimiques	170
6.2 La structure des virions est définie par la symétrie de la capsid et la présence ou l'absence d'une enveloppe	110	8.4 L'efficacité des agents antimicrobiens doit être évaluée	174
6.3 Le cycle de vie viral a cinq étapes	114	8.5 Il est possible de contrôler les micro-organismes par des méthodes biologiques	176
6.4 Il y a plusieurs types d'infection virale	119		
6.5 La culture et le dénombrement des virus	120		
6.6 Les viroïdes et les satellites : des agents sous-viraux à base d'acides nucléiques	123		
6.7 Les prions ne sont composés que de protéines	124		
<hr/>			
Partie 2 La nutrition, la croissance et le contrôle des micro-organismes		9 La chimiothérapie antimicrobienne	179
7 La croissance des bactéries et des archées	127	Micro Focus :	
Micro Focus :		Un cadeau de la médecine traditionnelle chinoise	179
Jusqu'où pouvez-vous descendre?	127	9.1 La chimiothérapie antimicrobienne est née des travaux sur l'antisepsie	180
7.1 La plupart des bactéries et des archées se multiplient par scissiparité	128	9.2 Les substances antimicrobiennes ont une toxicité sélective	181
7.2 Les cycle cellulaires bactériens sont divisés en trois phases	129	9.3 Mesure de l'activité antimicrobienne à l'aide de tests spécifiques	181
7.3 Certains cycles cellulaires archéens ressemblent au cycle cellulaire eucaryote	133	9.4 Les agents antibactériens	185
7.4 Les courbes de croissance se composent de cinq phases	134	9.5 Les agents antiviraux	190
7.5 Les facteurs environnementaux affectent la croissance microbienne	138	9.6 Les agents antifongiques	193
Diversité et écologie microbiennes 7.1		9.7 Les agents antiprotozoaires	193
Sculpteurs microbiens	141	Maladie 9.1 La chloroquine et le COVID-19 : un récit édifiant	195
7.6 La croissance microbienne dans les milieux naturels	145	9.8 La résistance aux agents antimicrobiens est une menace pour la santé publique	196
7.7 La culture de cellules microbiennes en laboratoire exige des milieux et des conditions qui imitent l'habitat normal d'un micro-organisme	150		
7.8 Il est possible de mesurer la taille de la population microbienne directement ou indirectement	155		
7.9 On utilise des chémostats et des turbidostats pour la culture continue des micro-organismes	157		
<hr/>		Partie 3 Métabolisme microbien	
8 Le contrôle des micro-organismes dans l'environnement	162	10 Introduction au métabolisme	201
Micro Focus :		Micro Focus :	
Désinfecter ou ne pas désinfecter ? Telle est la question	162	Élimination, évacuation	201
8.1 Les voies de croissance et de réplication microbienne : des cibles pour le contrôle	163	10.1 Le métabolisme : principes et concepts importants	202
		10.2 ATP : la principale devise énergétique des cellules	204
		10.3 Les réactions rédox : réactions d'importance centrale dans le métabolisme	205
		10.4 Les chaînes de transport d'électrons : des ensembles séquentiels de réactions rédox	207
		10.5 Les voies biochimiques : des ensembles de réactions chimiques reliées les unes aux autres	209
		10.6 Les enzymes et les ribozymes accélèrent les réactions chimiques cellulaires	210
		10.7 Le métabolisme doit être régulé afin de maintenir l'homéostasie	214

Table des matières

11 Le catabolisme : libération et conservation de l'énergie

219

Micro Focus :

La montagne la plus riche de la Terre

- 11.1 La diversité métabolique et les types nutritionnels 220
- 11.2 Il y a deux processus chimio-organotrophes pourvoyeurs d'énergie 222
- 11.3 La respiration aérobie peut être divisée en trois étapes 223
- 11.4 Le transport d'électrons et la phosphorylation oxydative sont les plus générateurs d'ATP 230
- 11.5 La respiration anaérobie emploie les trois mêmes étapes que la respiration aérobie 235
- 11.6 La fermentation n'utilise pas de chaîne de transport d'électrons 236
- 11.7 Le catabolisme de molécules organiques autres que le glucose 239
- 11.8 La chimiolithotrophie : « manger des cailloux » 241
- 11.9 La bifurcation des électrons 244
- 11.10 La phototrophie 245

12 L'anabolisme : l'utilisation de l'énergie dans la biosynthèse

255

Micro Focus :

Émergence de la Pénicilline

- 12.1 Les principes qui régissent la biosynthèse 256
- 12.2 Les métabolites précurseurs : molécules de départ pour la biosynthèse 257
- 12.3 La fixation du CO₂ : réduction et assimilation du carbone du CO₂ 257
- 12.4 La synthèse des glucides 260
- 12.5 La synthèse des acides aminés consomme de nombreux métabolites précurseurs 262
- 12.6 La synthèse des purines, des pyrimidines et des nucléotides 268
- 12.7 La synthèse des lipides 270

Partie 4 La biologie moléculaire et la génétique microbiennes

13 Le génome bactérien : la réplication et l'expression

277

Micro Focus :

L'élaboration du code

- 13.1 Les expérimentations utilisant les bactéries et les virus ont démontré que l'ADN est le matériel génétique 278

- 13.2 Les acides nucléiques et la structure des protéines 280
- 13.3 La réplication de l'ADN chez les bactéries 283
- 13.4 Les gènes bactériens sont constitués de régions codantes et d'autres séquences importantes pour la fonction du gène 289
- 13.5 La transcription chez les bactéries 291
- 13.6 Le code génétique est un vocabulaire à trois lettres 294
- 13.7 La traduction chez les bactéries 297
- 13.8 La coordination des processus d'expression de gènes 302
- 13.9 La maturation et la sécrétion des protéines 304

14 Régulation des processus cellulaires

310

Micro Focus :

Promotion de l'expression

- 14.1 Les bactéries emploient de nombreux modes de régulation 311
- 14.2 La régulation de l'initiation de la transcription est une économie considérable d'énergie et de matière 311
- 14.3 Atténuation et riboswitches peuvent bloquer prématurément la transcription 316
- 14.4 Les structures secondaires de l'ARN contrôlent la traduction 319
- 14.5 Mécanismes utilisés pour une régulation globale 320
- 14.6 Les bactéries réunissent de nombreux mécanismes régulateurs pour contrôler les processus cellulaires complexes 327

15 Réplication et expression du génome des eucaryotes et des archées

336

Micro Focus :

Pharmaceutique

- 15.1 Les processus génétiques dans les trois domaines 337
- 15.2 La réplication de l'ADN : globalement semblable, mais mettant en jeu des protéines du réplisome différentes 337
- 15.3 La transcription 341
- 15.4 La traduction, la maturation et la localisation des protéines 344
- 15.5 La régulation des processus cellulaires 349

16 Les mécanismes de la variation génétique

353

Micro Focus :

Le fumier arrive

- 16.1 Les mutations : changements héréditaires dans le génome 354

Table des matières

16.2	La détection et l'isolement de mutants	358	18.6	La biologie systémique fait des prédictions complexes et les vérifie	413
16.3	La réparation de l'ADN maintient la stabilité du génome	359	18.7	La génomique comparative	413
16.4	Les micro-organismes utilisent d'autres mécanismes que la mutation pour créer la variabilité génétique	362	Partie 5 La diversité du monde microbien		
16.5	Les éléments transposables déplacent les gènes à l'intérieur et entre les molécules d'ADN	364	19 Les Archées 419		
16.6	La conjugaison nécessite un contact cellule à cellule	365	Micro Focus :		
16.7	La transformation est l'absorption d'ADN libre	368	Les archées méthanogènes alimentent le débat sur l'énergie domestique 419		
16.8	La transduction est un transfert d'ADN médié par les virus	370	19.1	Vue d'ensemble des <i>Archaea</i>	420
16.9	L'évolution en action : le développement de la résistance aux antibiotiques chez les bactéries	373	19.2	Les phyla Asgardarchaeota et Nanoarchaeota sont connus essentiellement par la métagénomique	423
17 Les technologies de l'ADN microbien 377			19.3	Le phylum des Thermoprotei : des thermophiles dépendantes du soufre	424
Micro Focus :			19.4	Le phylum des Nitrosphaeria : des oxydeurs mésophiles de l'ammoniac	426
Filer une soie plus résistante 377			19.5	Les phyla des <i>Methanobacteria</i> , <i>Halobacteria</i> et <i>Thermoplasmata</i> : les méthanogènes, les haloarchées et autres	426
17.1	Des découvertes clés ont conduit au développement de la technologie de l'ADN recombinant	378	20 Bactéries à Gram négatif non protéobactériennes 433		
Techniques & Applications 17.1			Micro Focus :		
Électrophorèse sur Gel 379			Des déchets alimentaires au biocarburant 433		
17.2	La réaction de polymérisation en chaîne par polymérase amplifie l'ADN ciblé	383	20.1	Les enveloppes cellulaires à deux membranes (diderme) ne sont pas uniformes	434
17.3	Les banques génomiques et métagénomiques : clonage de génomes par morceaux	386	20.2	Les <i>Aquificae</i> et les <i>Thermotogae</i> sont des lignées bactériennes anciennes	434
17.4	L'expression de gènes étrangers dans des cellules hôtes	387	20.3	Le phylum <i>Deinococcus-Thermus</i> comprend les bactéries résistantes aux radiations	434
17.5	La nucléase Cas9 est un outil programmable pour l'édition de génome	389	20.4	Les bactéries photosynthétiques sont diverses	435
17.6	La biotechnologie développe des micro-organismes conçus pour l'utilisation industrielle	391	20.5	Le Superphylum des PVC (Planctomycetota et Verrucomicrobiota) : bactéries à division atypique	442
Techniques & Applications 17.2			20.6	Le phylum des <i>Spirochaetes</i> : bactéries à morphologie en tire-bouchon	444
Comment bâtir un micro-organisme 394			20.7	Le phylum des <i>Bacteroidetes</i> comprend d'importants microbiotes intestinaux	446
18 La génomique microbienne 397			20.8	Le phylum des Fusobacteriota : anaérobies commensaux	447
Micro Focus :			20.9	Le phylum des Desulfobacterota : réducteurs anaérobies sulfate/soufre	447
Qu'y a-t-il dans un génome ? 397			20.10	Les phyla des <i>Bdellovibrionales</i> et des <i>Myxococcales</i> : des prédateurs bactériens	449
18.1	Les méthodes de séquençage de l'ADN	398	20.11	Phylum Campylobacterota : commensaux humains et animaux	451
18.2	Le séquençage du génome	402			
18.3	La métagénomique fournit un accès aux micro-organismes non cultivés	404			
18.4	La bio-informatique : que signifie la séquence ?	406			
18.5	La génomique fonctionnelle relie les gènes à un phénotype	407			

Table des matières

27 Les interactions microbiennes	571	30.3 Les interactions plante-micro-organisme peuvent être positives, négatives ou neutres	621
Micro Focus :		Maladie 30.1	
Des microbes dans la communauté	571	Le verdissement des agrumes et le pouvoir du « pourquoi ? »	633
27.1 De nombreux types d'interactions microbiennes existent	572	30.4 La biosphère souterraine est vaste	633
27.2 Le mutualisme : des interactions positives obligatoires	573		
27.3 La coopération : une interaction positive non obligatoire	577		
27.4 Les interactions antagonistes déclenchent des réponses microbiennes	579		
Diversité et écologie microbiennes 27.1			
Wolbachia : le micro-organisme le plus infectieux au monde ?	581		
28 Recyclage biogéochimique et changement climatique global	584		
Micro Focus :			
Changement climatique global, changement de maladie infectieuse	584		
28.1 Le recyclage biogéochimique maintient la vie sur Terre	585		
28.2 Les micro-organismes agissent sur le cycle des nutriments	587		
28.3 Le changement climatique global : le recyclage biogéochimique en déséquilibre	594		
29 Les micro-organismes des écosystèmes marins et d'eau douce	599		
Micro Focus :			
La mort des océans arrive bientôt sur vos côtes	599		
29.1 L'eau est le plus vaste habitat microbien	600		
29.2 Les micro-organismes des écosystèmes marins	601		
29.3 Les micro-organismes des écosystèmes d'eaux douces	610		
Diversité et écologie microbiennes 29.1			
Attention à tous les propriétaires de chien !	614		
30 Les micro-organismes des écosystèmes terrestres	617		
Micro Focus :			
Du pain pour un monde affamé	617		
30.1 Les sols sont un habitat microbien important	618		
30.2 Divers micro-organismes vivent dans le sol	620		
		30.3 Les interactions plante-micro-organisme peuvent être positives, négatives ou neutres	621
		Maladie 30.1	
		Le verdissement des agrumes et le pouvoir du « pourquoi ? »	633
		30.4 La biosphère souterraine est vaste	633
		Partie 7 Pathogénicité et réponse de l'hôte	
		31 La résistance innée de l'hôte	636
		Micro Focus :	
		L'hypothèse hygiéniste	636
		31.1 L'immunité résulte de la résistance innée et des défenses adaptatives	637
		31.2 La résistance innée commence avec des barrières	637
		31.3 La résistance innée repose sur des médiateurs chimiques	640
		31.4 Chaque type de cellule immunitaire a une fonction spécifique	646
		31.5 Les organes et les tissus du système immunitaire sont les sites de la défense de l'hôte	651
		31.6 La phagocytose détruit les envahisseurs	654
		31.7 L'inflammation unit tous les composants de l'immunité	659
		32 L'immunité adaptative	663
		Micro Focus :	
		Tuer le cancer, immunologiquement	663
		32.1 L'immunité adaptative repose sur la reconnaissance et la mémoire	664
		32.2 Les antigènes stimulent l'immunité	664
		32.3 L'immunité adaptative peut être acquise ou empruntée	665
		32.4 La reconnaissance de l'étranger est essentielle pour une défense forte	666
		32.5 Les cellules T sont essentielles à la fonction immunitaire	669
		32.6 Les cellules B produisent des anticorps	673
		32.7 Les anticorps se fixent à des antigènes 3-D spécifiques	676
		Techniques & Applications 32.1	
		La thérapie par les anticorps monoclonaux	683
		32.8 Les anticorps condamnent les antigènes	684
		Repères historiques 32.2	
		Le plasma convalescent : un vieux traitement pour une nouvelle maladie	684
		32.9 Le système immunitaire peut dysfonctionner	686

Table des matières

33 L'écosystème Homme-micro-organisme	696		
Micro Focus :			
Adopte ton microbiote intestinal	696		
33.1 Les humains sont des holobiontes	697		
33.2 Le microbiome se développe de la naissance à la mort	697		
33.3 Un noyau fonctionnel (« <i>core-microbiome</i> ») est nécessaire pour maintenir l'homéostasie de l'hôte	702		
33.4 De nombreuses maladies ont un lien avec une dysbiose	708		
33.5 La manipulation du microbiome peut être thérapeutique	711		
34 L'infection et la pathogénicité	714		
Micro Focus :			
L'histoire improbable des miasmes, des soutiens-gorge et des masques	714		
34.1 Le processus de l'infection	715		
34.2 La transmission et l'entrée dans l'hôte	716		
Repères historiques 34.1			
Les premières indications de la propagation d'une maladie infectieuse d'une personne à l'autre	717		
34.3 Survivre aux défenses de l'hôte	722		
34.4 Les dégâts à l'hôte	724		
<hr/>			
Partie 8 Les maladies microbiennes, leur détection et leurs contrôles			
35 L'épidémiologie et la microbiologie en santé publique	730		
Micro Focus :			
Protéger le groupe	730		
35.1 L'épidémiologie est une science basée sur des preuves	731		
Repères historiques 35.1			
John Snow, le premier épidémiologiste	732		
35.2 L'épidémiologie repose sur des méthodes éprouvées	732		
35.3 La maladie infectieuse est révélée par des profils dans une population	735		
Repères historiques 35.1			
35.2 « Mary Typhoïde »	736		
35.4 Les maladies infectieuses et les pathogènes émergent et réémergent	738		
35.5 Les établissements de soin de santé hébergent des agents infectieux	740		
35.6 Des efforts coordonnés sont nécessaires pour prévenir et contrôler les épidémies	741		
Repères historiques 35.3			
Les premières immunisations	744		
35.7 La préparation au bioterrorisme est un composant indispensable de la microbiologie de la santé publique	746		
Repères historiques 35.4			
1346 – La première attaque de guerre biologique	747		
36 La microbiologie et l'immunologie cliniques	750		
Micro Focus :			
Ebola et la protection de la santé mondiale	750		
36.1 Le laboratoire de microbiologie clinique détecte les agents infectieux et protège les gens qui y travaillent	751		
36.2 L'identification des micro-organismes à partir des échantillons	753		
36.3 Les réponses immunitaires peuvent être exploitées pour détecter des infections	760		
37 Les maladies humaines dues aux virus et aux prions	769		
Micro Focus :			
Se souvenir du VIH / SIDA	769		
37.1 Les virus peuvent être transmis par voie aérienne	770		
37.2 Les arthropodes peuvent transmettre des maladies virales	780		
37.3 Les maladies transmises par contact direct peuvent être dues à des virus	782		
37.4 Les aliments et l'eau sont des vecteurs de maladies virales	792		
Repères historiques 37.1			
Une brève histoire de la polio	795		
37.5 Les zoonoses résultent d'interactions entre les humains et les animaux	795		
37.6 Les protéines prions transmettent des maladies	798		
38 Les maladies humaines dues aux bactéries	801		
Micro Focus :			
L'arbre généalogique de la peste	801		
38.1 Les bactéries peuvent être transmises par voie aérienne	802		
38.2 Des arthropodes peuvent transmettre des maladies bactériennes	811		

Table des matières

38.3	Des maladies transmises par contact direct peuvent être dues à des bactéries	814	40.3	Les épidémies d'origine alimentaire	875
	Maladie 38.1		40.4	La détection des pathogènes transmis par l'alimentation nécessite une coopération entre le gouvernement et l'industrie	877
	La syphilis et l'étude de Tuskegee	821	40.5	La microbiologie des aliments fermentés : la bière, le fromage et bien d'autres	879
	Maladie 38.2			Techniques & Applications 40.1	
	Les biofilms	822		Le chocolat : le côté doux de la fermentation	880
38.4	Les aliments et l'eau sont des vecteurs de maladies bactériennes	827	41	La biotechnologie et la microbiologie industrielle	887
	Techniques & Applications 38.3			Micro Focus :	
	Les toxines clostridiennes en tant qu'agents thérapeutiques : intérêts des protéines les plus toxiques de la nature	831		Qui sont les nouveaux antibiotiques ?	887
38.5	Les zoonoses sont dues à des interactions entre humains et animaux	835	41.1	Les micro-organismes sont la source de nombreux produits d'importance industrielle	888
38.6	Les infections opportunistes peuvent être dues à des bactéries	837	41.2	La production de biocarburants est un domaine dynamique	890
39	Les maladies humaines dues aux champignons et aux protistes	845	41.3	La croissance des micro-organismes dans les installations industrielles présente des défis	892
	Micro Focus :		41.4	La biotechnologie agricole repose sur un phytopathogène	893
	Les champignons de la mort	845	41.5	Certains micro-organismes sont des produits	894
39.1	Relativement peu de champignons et de protistes sont pathogènes pour les humains	846	42	La microbiologie environnementale appliquée	898
39.2	Les champignons peuvent être transmis par des voies aériennes	847		Micro Focus :	
39.3	Les arthropodes peuvent transmettre des maladies à protozoaires	849		Le pétrole de Deepwater consommé par les micro-organismes	898
	Maladie 39.1		42.1	La purification et les analyses sanitaires garantissent une eau potable sûre	899
	Une brève histoire de la malaria	850	42.2	Le traitement des eaux usées protège la santé humaine et environnementale	901
39.4	Des maladies transmises par contact direct peuvent être dues à des champignons et des protistes	857	42.3	Les piles à combustible microbiennes : des piles alimentées par les micro-organismes	906
39.5	Les aliments et l'eau sont des vecteurs de maladies à protozoaires	860	42.4	La biodégradation et la bioremédiation exploitent les micro-organismes pour nettoyer l'environnement	907
39.6	Des infections opportunistes peuvent être dues à des champignons et à des protistes	865	Annexe I	Revue de la chimie des molécules biologiques A-1	
Partie 9 Microbiologie appliquée			Annexe 2	Les voies métaboliques principales A-2	
40	La microbiologie des aliments	871	Glossaire	G-1	
	Micro Focus :		Index	I-1	
	L'art, la science et la génétique du brassage de la bière	871			
40.1	La croissance microbienne peut causer la détérioration des aliments	872			
40.2	Les facteurs environnementaux contrôlent la détérioration des aliments	873			

1

La microbiologie et l'évolution des micro-organismes



Raman Tyukin/Shutterstock

Les champs de la microbiologie

Qu'est-ce que cela fait d'être témoin de l'histoire ? Au cours des prochaines années, la pandémie du COVID-19 sera étudiée par les scientifiques, les cliniciens, et les politiques. Cependant, alors que la pandémie du COVID-19 explosait, nous disposions des outils pour poser un grand nombre des questions qui nécessitaient des réponses en temps réel. Chacune des questions illustre les champs de la microbiologie. Considérons cinq de ces questions :

- *Quelle est la nature du virus qui cause la COVID-19, SARS-CoV-2 ?* Il est facile de voir que les virologistes – ceux qui étudient les virus – ont aidé à répondre à la question. Mais ils ont été aidés par de nombreux autres. Par exemple, les microscopistes électroniques ont été sollicités pour visualiser le virus, et le travail des biologistes moléculaires et des généticiens fut d'une importance critique. La capacité de séquencer rapidement le génome du premier SARS-CoV-2 isolé, suivi de nouvelles cultures d'isolats de patients, illustre l'importance des bioinformaticiens (les personnes qui analysent de grands ensembles de données), des spécialistes des calculs par ordinateurs, et des microbiologistes cliniciens.
- *Comment le SARS-CoV-2 cause-t-il la maladie ?* Cela s'est avéré beaucoup plus compliqué qu'initialement anticipé. Pour répondre à cette question, les immunologistes, les physiologistes, les spécialistes des maladies infectieuses, les pathologistes, et tout type de cliniciens-chercheurs ont conduit ces études.
- *Comment traite-t-on au mieux les patients atteints du COVID-19 ?* Le processus de rediriger les médicaments existants et d'en développer de nouvelles requiert les efforts coordonnés des virologistes, des biologistes moléculaires, des biochimistes, des chimistes, et des immunologistes afin d'identifier et de concevoir de nouveaux agents. Entre-temps, les cliniciens – dont les médecins, les infirmières, les pharmaciens, et les personnels de santé publique – testaient des thérapies nouvelles sur les patients. Les scientifiques des données et

les statisticiens furent nécessaires pour l'interprétation des résultats des essais.

- *Comment empêcher la diffusion du COVID-19 ?* Le monde a reçu un cours accéléré sur le rôle des épidémiologistes et des modélisateurs de maladies dans le dépistage, le suivi, et la prédiction de la propagation de la maladie. Les spécialistes de l'information géographique ont aidé à déceler où le virus se propageait. Il est alors apparu clair que développer des vaccins prend du temps aux microbiologistes, aux biochimistes, et aux immunologistes, la conception et le développement de tests moins chers et plus faciles par des microbiologistes et des bio-ingénieurs industriels a été d'une importance critique.

Ce ne sont là que quelques unes des questions posées par le COVID-19. Le but de cet ouvrage est de vous fournir une introduction au monde microbien – l'étendue de sa diversité, l'élégance de sa biologie, et toute les nombreuses sous-disciplines de la microbiologie. Malheureusement, le COVID-19 vous a probablement déjà convaincu de l'importance de la microbiologie.

Notre but dans ce chapitre est de vous présenter ce monde étonnant des microorganismes et souligner leur évolution et l'histoire de leur découverte. Une grande partie de la microbiologie est semblable à ce que vous avez appris dans d'autres cours de biologie qui traitaient de grands organismes. Mais les microorganismes ont des propriétés uniques qui nécessitent souvent des approches uniques pour les comprendre. Avant de vous investir dans ce chapitre, vérifiez que vous possédez les bases requises pour en tirer tout le bénéfice.

Test de connaissance

Après la lecture de cette section, vous devriez être capable :

- ✓ de citer les caractères des cellules eucaryotes qui les distinguent des autres types cellulaires
- ✓ de comprendre la structure de base des macromolécules, acides nucléiques, protéines, hydrates de carbone, et lipides (voir Annexe I)
- ✓ d'expliquer les termes *génom*e, *génotype*, et *mutation*

1.1 Les membres du monde microbien

Après la lecture de cette section, vous devriez être capable de :

- Définir le terme microbiologie
- Expliquer les contributions de Carl Woese lorsqu'il a établi le système des trois domaines de la classification de la vie cellulaire
- Donner un exemple de l'importance de chacun des principaux types de micro-organismes pour les humains
- Déterminer le type de micro-organisme (ex. bactérie, champignon, etc.) lorsque vous recevez la description d'un micro-organisme nouvellement découvert

Micro-organismes – ces organismes trop petits pour être vus clairement à l'œil nu (**figure 1.1**) sont extrêmement divers et inimaginablement abondants. Il est difficile de dénombrer le nombre de microbes existant sur Terre, mais on les estime à environ 10^{30} cellules microbiennes dans des habitats aussi divers que l'intestin des termites et les sédiments bien en dessous du fond des mers (**figure 1.2**). Il y a plus de microbes sur la Terre que d'étoiles dans tout l'univers connu.

Bien que les microbes aient des diamètres d'environ 1 millimètre ou moins, certains, comme les moisissures du pain sont visibles sans l'aide du microscope. Certains d'entre eux sont multicellulaires. Ils se distinguent des autres formes de vie multicellulaires, telles que les plantes et les animaux, par l'absence de tissus très différenciés. De plus, une variété d'entités biologiques acellulaires, comprenant les virus et les agents sous-viraux, sont appelés *micro-organismes* et *microbes*.

La diversité des micro-organismes a toujours présenté un défi pour les taxonomistes. Très tôt, leur description initiale comme des plantes ou comme des animaux était trop simple. Par exemple, certains sont mobiles

comme les animaux, mais ont également des parois ou sont photosynthétiques comme les végétaux. Un pas important en taxonomie microbienne a été fait grâce à l'étude de leur architecture cellulaire lorsqu'il est apparu que les cellules présentaient un des deux plans de structure possible. Les cellules, qui ont été appelées **cellules procaryotes** (du grec *pro*, avant, et *karyon*, amande ; des cellules ayant un noyau primordial), ont un plan ouvert. C'est-à-dire que leur contenu n'est pas divisé en compartiments par des membranes. Seules les **cellules eucaryotes** (du grec *eu*, vrai) ont un noyau et également d'autres organites limités par une membrane (ex., les mitochondries et les chloroplastes) qui sépare certains constituants et processus cellulaires des autres.

Ces observations ont finalement conduit au développement d'un schéma de classification répartissant les organismes en cinq règnes : *Monera*, *Protista*, *Fungi*, *Animalia* et *Plantae*. Les micro-organismes (exception faite des virus et des autres agents infectieux), furent placés dans les trois premiers règnes. Dans ce schéma, tous les organismes pourvus d'une structure cellulaire procaryote ont été placés dans les *Monera*. Cependant, ce système en cinq règnes n'est plus accepté par les microbiologistes. C'est parce que tous les « procaryotes » sont trop diverses pour être regroupés dans un même règne. ▶▶ *L'utilisation du terme procaryote est sujet de controverse (section 3.1)*

La classification des microbes a bénéficié des progrès réalisés dans trois domaines. Premièrement, le développement des techniques de microscopie électronique a révélé la structure détaillée des cellules microbiennes. Deuxièmement, les méthodes qui mesurent les caractéristiques biochimiques et physiologiques de nombreux micro-organismes ont démontré de nombreuses similitudes et différences. Troisièmement, la révolution génomique a permis l'analyse des séquences des acides nucléiques et des protéines d'une grande variété d'organismes. La comparaison des ARN ribosomiques (ARNr), initiée de façon déterminante par Carl Woese (1928-2012) dans les années

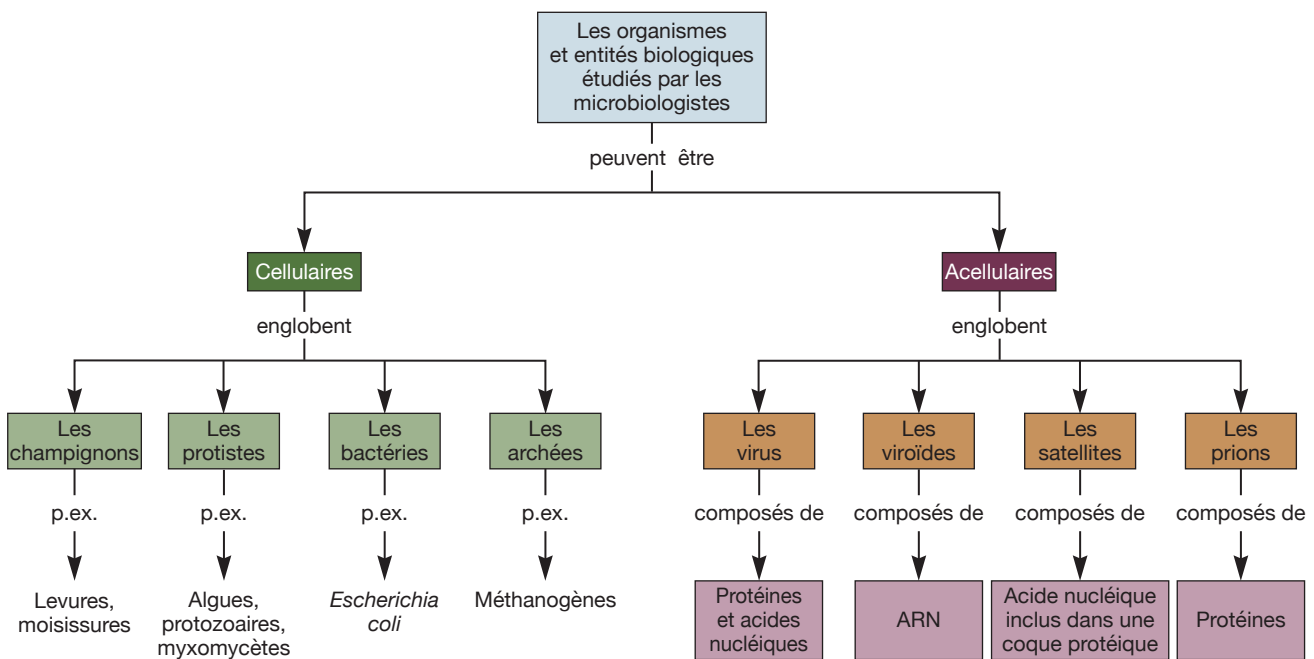


Figure 1.1 Diagramme de concepts montrant les types d'entités biologiques étudiées par les microbiologistes

MINI ENQUÊTE Comment modifier ce diagramme de concepts de façon à pouvoir distinguer les organismes cellulaires entre eux ?

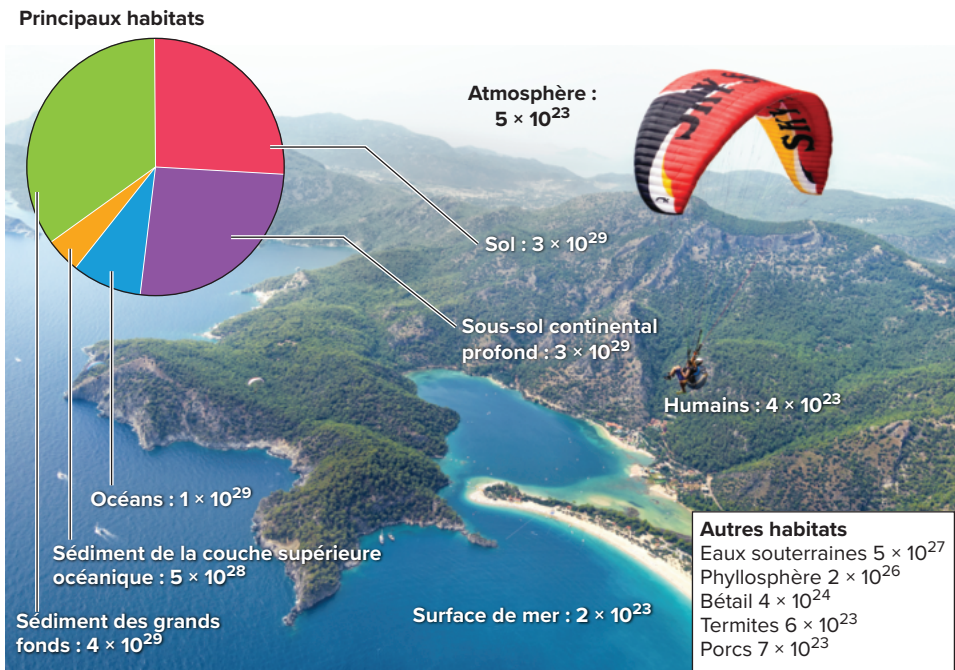


Figure 1.2 Abondance et habitats des bactéries et des archées. Les nombres indiquent l'abondance de cellules microbiennes dans chaque habitat. La majorité des bactéries et archées vivent dans les océans et les sédiments, soit au niveau de l'écorce terrestre soit profondément sous la croûte. La découverte de microbes viables si profondément sur la planète est une découverte récente et passionnante. D'autres habitats comprennent la phyllosphère (au-dessus des terrains où se situent les plantes, le bétail, et les humains).

1970, a transformé notre compréhension du terme *procaryote*. On a découvert qu'il y avait deux groupes d'organismes très différents ayant la morphologie des cellules procaryotes : les *Bacteria* et les *Archaea*. Plus tard, parmi les microbes eucaryotes, les études suggèrent que le règne des *Protista* n'était pas non plus une unité taxonomique cohésive (c-à-d. un taxon) et qu'il devait être divisé en trois règnes au moins. Avec d'autres, ces études amenèrent de nombreux taxonomistes à rejeter le système à 5 règnes en favorisant celui qui divise les organismes cellulaires en trois domaines : les *Bacteria*, les *Archaea* et les *Eucarya* (tous organismes eucaryotes) (figure 1.3). ▶▶ *Les acides nucléiques (annexe I) ; Les protéines (annexe I)*

Les membres du domaine des *Bacteria*¹ sont généralement des organismes unicellulaires dont la plupart ont des parois contenant une molécule structurante, le peptidoglycane. En dépit de la croyance populaire, la grande majorité des bactéries ne provoque pas de maladies. En fait, ce sont des habitants importants du corps, en formant le **microbiome** humain. On trouve en effet plus de cellules microbiennes dans et sur le corps humain qu'il n'y a de cellules humaines. Ces micro-organismes commencent à coloniser les humains peu après la naissance. Comme ils s'établissent eux-mêmes, ils participent au développement du système immunitaire du corps. Les micro-organismes qui colonisent le gros intestin permettent au corps de digérer la nourriture et produisent des vitamines. C'est par ces moyens et d'autres encore que le microbiome humain participe à la préservation de notre

santé et de notre bien-être. ▶▶ *Aperçu de la paroi cellulaire bactérienne (section 3.4) ; Le microbiome humain et les interactions avec l'hôte (chapitre 33)*

Malheureusement, certaines bactéries provoquent des maladies et certaines de ces maladies ont eu un énorme impact sur l'histoire de l'homme. En 1347, la peste (la Peste Noire), une maladie transmise par un arthropode, a frappé l'Europe de plein fouet, tuant un tiers de la population, (près de 25 millions d'habitants) en quatre ans. Pendant les 80 années qui ont suivi, la maladie a continué à frapper, pour finir par éliminer 75 % de la population. L'effet de la peste a été si grand, si désastreux que maints historiens pensent qu'elle a changé la culture européenne et ainsi ouvert la voie à la Renaissance.

Les membres du domaine des *Archaea* se distinguent des bactéries par plusieurs traits, principalement par les séquences particulières de leurs ARNr, l'absence de peptidoglycane pariétal et leurs lipides membranaires particuliers. Certains ont des caractéristiques métaboliques inhabituelles, comme les méthanogènes qui produisent du gaz méthane (naturel). De nombreuses archées vivent dans des environnements extrêmes, dont ceux qui ont une température élevée (les thermophiles)

ou de fortes concentrations en sel (les halophiles extrêmes). Les *Archaea* ne semble pas avoir de caractère pathogène clairement établi.

Le domaine des *Eucarya* comprend les micro-organismes classés parmi les protistes ou les champignons. Le domaine comprend également les animaux et les végétaux. Les **Protistes** sont généralement unicellulaires, mais ils sont plus grands que la plupart des bactéries et des archées. Ils ont été traditionnellement divisés en *protozoaires*, qui ont un métabolisme de type animal, et en *algues*, qui sont photosynthétiques. Toutefois, aucun de ces termes n'a de signification taxonomique puisque les protistes, les algues et les protozoaires ne constituent pas trois groupes, chacun ayant une histoire évolutive unique. Néanmoins, nous les employons ici par facilité. ▶▶ *La diversité des protistes reflète une très large phylogénie (section 23.1)*

Les **champignons** ou *Fungi* sont un groupe varié de micro-organismes allant des levures unicellulaires jusqu'aux moisissures et champignons. En raison de leurs capacités métaboliques, en intervenant par exemple dans la levée de la pâte à pain, dans la production d'antibiotiques et dans la décomposition des organismes morts. Certains champignons s'associent aux racines des plantes pour former des mycorrhizes. Ces champignons transfèrent des nutriments aux racines en améliorant ainsi la croissance des plantes, en particulier dans les sols pauvres. D'autres champignons encore causent des maladies végétales (telles que la rouille, le charbon du blé ou le mildiou) et des maladies humaines et animales.

▶▶ *La biologie des champignons reflète une large diversité (section 24.1)*

¹ Dans cet ouvrage, le terme *bactérie* se réfère exclusivement aux micro-organismes appartenant au domaine des *Bacteria* de même que le terme *archée* fait référence au domaine des *Archaea*. Dans certaines publications, le terme *bactérie* est utilisé pour toutes les cellules ayant une structure cellulaire procaryote. Ce n'est pas le cas dans ce texte.

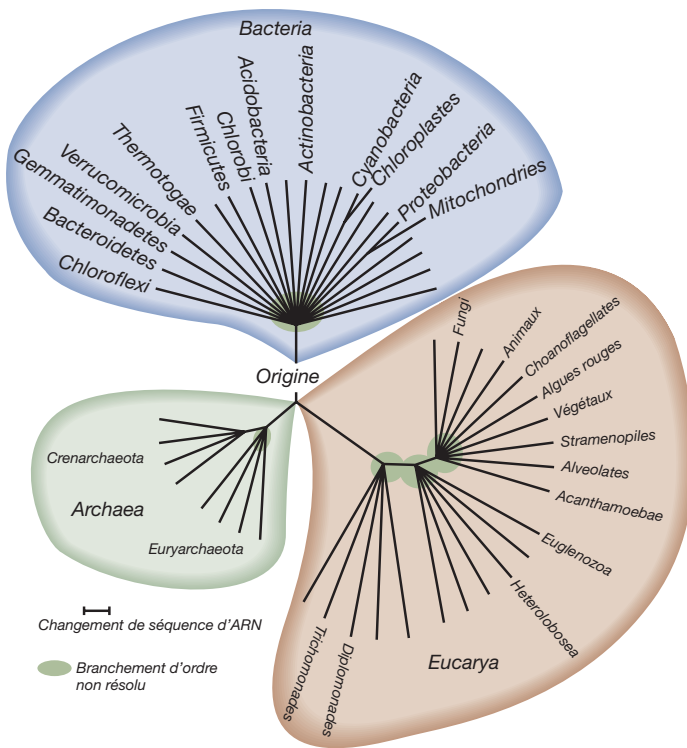


Figure 1.3 L'arbre phylogénétique universel. Seules les lignées représentatives ont été identifiées.

MINI ENQUÊTE Combien de taxons cités dans la figure contiennent des micro-organismes ?

Le monde microbien abrite aussi de nombreux agents infectieux acellulaires. Les **virus** sont des entités acellulaires qui doivent envahir une cellule hôte pour se multiplier. Les particules virales les plus petites (aussi appelées virions) ne sont composées que de protéines et d'un acide nucléique et peuvent être extrêmement petites (la plus petite est 10 000 fois plus petite qu'une bactérie typique). Mais leur petite taille contraste avec leur puissance. Ils provoquent de nombreuses maladies végétales et animales, et nous avons pu voir récemment avec le COVID-19 qu'ils peuvent déclencher des épidémies et des pandémies qui ont influencé l'histoire de l'Humanité. En plus du COVID-19, on peut citer la variole, la rage, la grippe, le sida, le rhume et certains cancers. Les virus jouent aussi un rôle important dans les environnements aquatiques et leur rôle dans la structuration des communautés microbiennes aquatiques. Les **viroïdes** sont des agents infectieux composés uniquement d'acide ribonucléique (ARN). Ils provoquent de nombreuses maladies végétales. Les **satellites** sont composés d'un acide nucléique enveloppé dans une coque de protéine. Ils doivent coinfecter une cellule hôte avec un virus, appelé virus auxiliaire pour achever leur cycle de vie. Les satellites et leur virus auxiliaire sont responsables de maladies végétales et de certaines maladies animales. Enfin, les **prions**, des agents infectieux composés uniquement de protéines, interviennent dans diverses encéphalopathies spongiformes comme la tremblante ou la maladie de la « vache folle ». ►► *Les virus et autres agents infectieux acellulaires (chapitre 25)*

Test de compréhension

1. Comment les méthodes utilisées pour classer les micro-organismes ont-elles changé, en particulier pendant la seconde moitié du XX^e siècle ? Quel a été le résultat de ces progrès technologiques ?
2. Identifiez une caractéristique pour chacun de ces types de micro-organismes qui le distingue des autres types : les bactéries, les archées, les protistes, les champignons, les virus, les viroïdes, les satellites et les prions.
3. Décrivez une interaction avec les microbes que vous avez eue hier.

1.2 Les micro-organismes ont évolué et se sont diversifiés pendant des milliards d'années

Après la lecture de cette section, vous devriez être capable de :

- Expliquer l'hypothèse du monde de l'ARN et les preuves qui la soutiennent
- Concevoir un ensemble d'expériences qui pourraient être utilisées pour insérer un micro-organisme cellulaire découvert récemment dans un arbre phylogénétique basé sur les séquences de l'ARNr de la petite sous-unité (SSU)
- Comparer et différencier l'évolution des mitochondries et des chloroplastes

Un examen de la figure 1.3 nous rappelle qu'en termes de nombre de taxons, les micro-organismes sont les organismes dominants sur la Terre. Comment la vie microbienne a-t-elle pu se ramifier jusqu'à ce niveau de diversité tellement stupéfiant ? Pour répondre à cette question, nous devons considérer l'évolution microbienne. Comme toute entreprise scientifique, l'étude de l'évolution microbienne est basée sur la formulation d'hypothèses, la collecte et l'analyse de données, et la reformulation d'hypothèses établies grâce à l'acquisition de nouvelles preuves. En d'autres termes, l'étude de l'évolution des micro-organismes est basée sur la méthode scientifique. A vrai dire, il est difficile de récolter des preuves lorsqu'il s'agit d'événements qui ont eu lieu il y a des millions et souvent des milliards d'années, mais l'application des méthodes moléculaires a révélé des traces vivantes de l'histoire ancienne de la vie. Ce chapitre décrit le résultat de cette recherche scientifique.

Les théories de l'origine de la vie dépendent principalement de preuves indirectes

La datation des météorites au moyen des radio-isotopes permet d'estimer que notre planète a 4,5 à 4,6 milliards d'années. Cependant, pendant les cent premiers millions d'années (à peu près), les conditions sur Terre étaient beaucoup trop sévères pour accueillir le moindre type de vie. Finalement, le bombardement par des météorites s'est ralenti, l'eau est apparue sous sa forme liquide et les gaz, relâchés par l'activité géologique, ont formé la première atmosphère de la Terre. Ces conditions étaient compatibles avec l'apparition des premières formes de vie. Mais comment cela s'est-il produit et à quoi ressemblaient ces premières formes de vie ?

Pour être en état de trouver une preuve de la vie et développer des hypothèses au sujet de son origine et de l'évolution qui a suivi, les scientifiques doivent définir la vie. Même si de très jeunes enfants peuvent examiner un objet et déterminer sans faute s'il est vivant ou non, formuler une définition concise de la vie s'est avéré être un objectif autrement difficile à

atteindre pour les scientifiques. En conséquence, la plupart des définitions de la vie ont consisté à définir un ensemble de particularités. Celles qui sont considérées comme particulièrement importantes par les paléobiologistes sont : une structure ordonnée, la capacité d'obtenir de l'énergie et de la consommer (c-à-d. le métabolisme) et la capacité de se reproduire. Comme les scientifiques de la NASA utilisent les caractéristiques de micro-organismes terrestres actuels pour rechercher de la vie ailleurs (p. 1), les scientifiques en font de même en examinant les **organismes existants** aujourd'hui pour explorer les origines de la vie. Certains organismes ont des structures et des molécules qui seraient des « reliques » de formes anciennes de la vie. En outre, ces organismes peuvent fournir aux scientifiques des idées sur les types de preuves à rechercher lorsqu'on formule des hypothèses.

La meilleure preuve directe pour la nature de la vie primitive devrait être une trace fossile. Il y a eu des descriptions de découvertes de fossiles microbiens depuis 1977 (**figure 1.3**). Elles ont été accueillies avec scepticisme parce que les trouver implique la préparation de fines couches de roches anciennes et leur examen pour trouver des objets qui ressembleraient à des cellules. Malheureusement certains éléments qui y ressemblent peuvent être formés par les forces géologiques au cours de la constitution de la roche. Le résultat est que le dossier des fossiles microbiens est peu étoffé et toujours ouvert aux réinterprétations. En dépit de ces problèmes, la plupart des scientifiques reconnaissent que la vie existait sur Terre il y a environ 3,5 milliards d'années (**figure 1.4**). Pour atteindre cette conclusion, les biologistes doivent s'appuyer surtout sur des preuves indirectes. Parmi celles-ci, il y a les fossiles moléculaires. Ce sont des éléments chimiques présents dans les roches ou les sédiments qui ont une parenté chimique avec des molécules existantes dans les cellules. Ainsi, la présence de molécules appelées hopanes dans une roche est une indication que des bactéries existaient lors de la formation de la roche. Cette conclusion peut être faite parce que les hopanes sont formés à partir d'hopanoïdes présents dans les membranes plasmiques des bactéries. Comme vous le voyez, une seule preuve est insuffisante. Il faut au contraire, réunir de nombreux éléments de preuve pour tenter de faire émerger une image cohérente, un peu à la manière des pièces d'un puzzle.

La vie primitive était probablement basée sur l'ARN

L'origine de la vie repose sur une seule question. Comment les premières cellules sont-elles apparues ? Les cellules modernes se composent au minimum d'une membrane plasmique contenant de l'eau dans laquelle de nombreuses substances chimiques sont dissoutes et des structures subcellulaires flottent. Il semble vraisemblable que la première entité auto-répliquative était beaucoup plus simple que les plus primitives des cellules vivantes actuelles. Avant qu'il y ait eu vie, tout indique que la Terre était un lieu très différent : chaud et anaérobie, avec une atmosphère riche en vapeur d'eau, en dioxyde de carbone et en azote. Dans les océans, des processus géologiques et chimiques formaient de l'hydrogène, du méthane et des acides carboxyliques. Des zones proches des événements hydrothermaux ou dans des mers peuvent avoir présenté des conditions permettant des réactions entre substances chimiques, « testant » au hasard l'efficacité des réactions et la stabilité des molécules résultantes. Certaines réactions libéraient de l'énergie et seraient devenues finalement la base du métabolisme cellulaire moderne. D'autres réactions ont généré des molécules pouvant agir comme catalyseurs ou certaines se sont agrégées avec d'autres molécules pour former les précurseurs des structures cellulaires actuelles, et d'autres encore ont été capables de se répliquer et d'agir comme des unités d'information héréditaire.

Dans les cellules modernes, trois molécules différentes jouent les rôles de catalyseurs, de molécules de structure et de molécules héréditaires

(**figure 1.5**). Les protéines ont deux rôles majeurs : structurel et catalytique. Les protéines catalytiques sont appelées **enzymes** et accélèrent les myriades de réactions chimiques qui s'opèrent dans les cellules. L'ADN contient l'information héréditaire et peut être répliqué pour transmettre l'information à la génération suivante. L'ARN est impliqué dans la conversion de l'information contenue dans l'ADN en protéines. Toute hypothèse sur l'origine de la vie doit expliquer l'évolution de ces trois molécules, mais la nature même de leurs relations complexes dans les cellules modernes complique les tentatives pour imaginer comment elles ont évolué. Comme le montre la figure 1.5, les protéines peuvent réaliser un travail dans la cellule, mais leur synthèse fait intervenir d'autres protéines et l'ARN, et requiert l'information contenue dans l'ADN. L'ADN ne peut pas effectuer un travail cellulaire. Il emmagasine l'information génétique et sert de modèle pour sa propre réplication laquelle exige des protéines. Quant à l'ARN, il est synthétisé en utilisant de l'ADN comme modèle et des protéines comme catalyseurs de la synthèse.

En tenant compte de toutes ces considérations, on a émis l'hypothèse qu'à un moment de l'évolution de la vie, il a fallu une molécule qui pouvait à la fois effectuer un travail dans la cellule et se répliquer. Cette idée a été renforcée en 1981, lorsque Thomas Cech a découvert une molécule d'ARN catalytique chez un protiste (*Tetrahymena* sp.) qui était capable d'exciser un fragment interne à sa structure et d'épisser les deux sections restantes ensemble. Depuis lors, d'autres molécules d'ARN catalytiques ont été découvertes et notamment un ARN trouvé dans les ribosomes et responsable de la formation de liens peptidiques : les liens qui tiennent ensemble les acides aminés, les « briques » qui constituent les protéines. Les molécules d'ARN catalytique s'appellent des **ribozymes**.

La découverte des ribozymes a fait penser que l'ARN a eu, à un certain moment, la capacité de conserver, copier, et exprimer l'information génétique, et aussi de catalyser d'autres réactions chimiques. En 1986, le prix Nobel Walter Gilbert a forgé l'expression **monde d'ARN** pour décrire un stade précellulaire de l'évolution de la vie. Toutefois, pour que ce stade précellulaire puisse évoluer vers des formes de vie cellulaire, il faut qu'une membrane lipidique se soit formée autour de l'ARN (**figure 1.5**). Cette étape importante dans l'évolution est plus facile à imaginer que d'autres événements dans les formes primitives de vie cellulaire, parce qu'il est bien connu que les lipides, les principaux composants structurels des membranes des organismes modernes, forment spontanément des liposomes, des vésicules bordées par une bicouche lipidique. ▶▶ *Les lipides (annexe I)*

Jack Szostak, autre lauréat du prix Nobel, est un leader de la simulation de la manière dont les protobiontes contenant uniquement de l'ARN, peuvent s'être formées. Lorsque son groupe a créé des liposomes en utilisant des acides gras plus simples que ceux observés dans les membranes actuelles, ces liposomes étaient « perméables », permettant aux nucléotides d'ARN isolés d'y pénétrer, mais empêchant les grandes chaînes d'ARN de sortir. De plus, ils ont pu forcer les liposomes à se développer et à se diviser. Le groupe de Szostak a également été capable de créer des conditions dans lesquelles une molécule d'ARN a pu servir de matrice pour la synthèse d'un brin d'ARN complémentaire. Leurs expériences ont vraisemblablement récapitulé ce qui pourrait s'être passé au cours des premières étapes de l'évolution des cellules. Comme le montre la figure 1.5, plusieurs autres processus devraient se produire pour atteindre le niveau de complexité observé dans les cellules existantes.

Indépendamment de sa capacité d'exercer des activités catalytiques, la fonction de l'ARN suggère son origine ancienne. Considérez qu'une grande partie du pool d'ARN des cellules actuelles se trouvent dans le ribosome, une structure formée principalement d'ARN

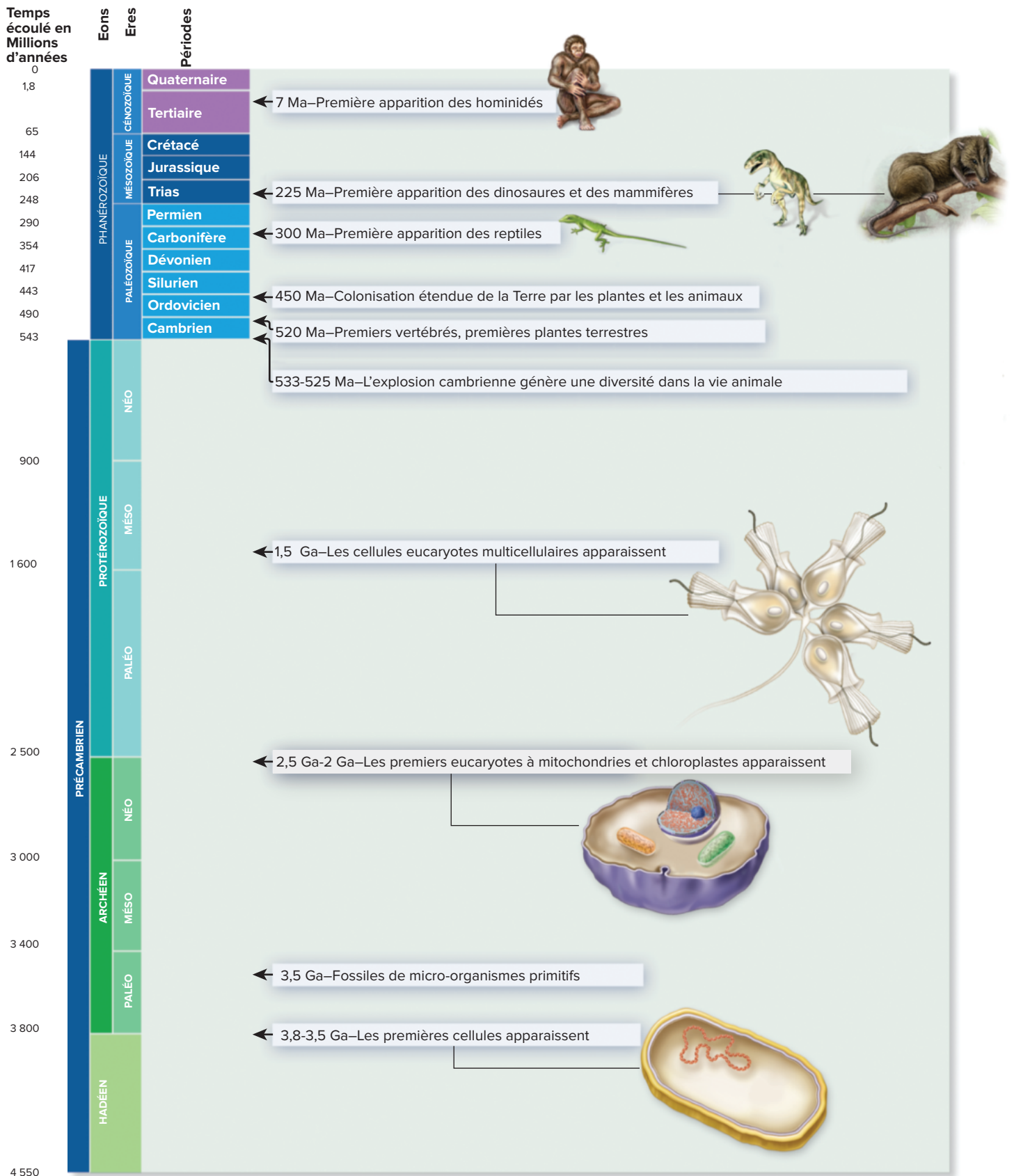


Figure 1.4 Vue d'ensemble de l'histoire de la vie sur la Terre. 1 Ma = 1 million d'années, 1 Ga = 1 milliard d'années

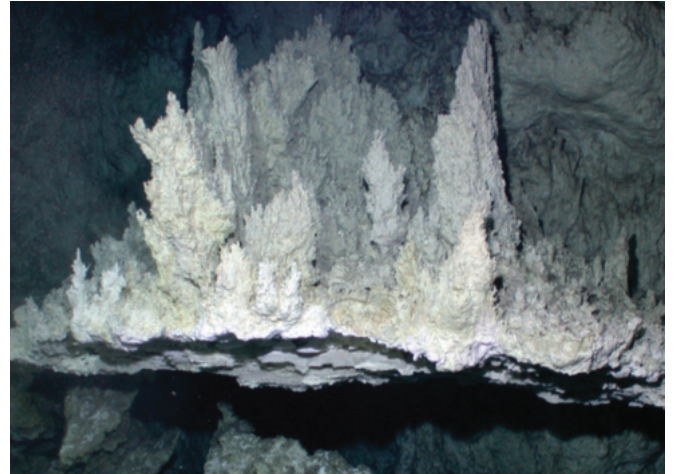
DIVERSITÉ ET ÉCOLOGIE MICROBIENNES

1.1 Les événements hydrothermaux : la vie a-t-elle commencé au fond de l'océan ?

Whether or not early life was RNA-based, one thing is clear: the origin of life needed energy to synthesize biomolecules. So, perhaps the most fundamental evolutionary question is “Where did biomolecules and the energy needed to build them come from?” Three hypotheses have been suggested. First, the *panspermia theory* speculates that meteorites bombarded our planet, bringing with them other-worldly biomolecules. Second, the more familiar *primordial soup theory* suggests that organic molecules were spontaneously assembled by an input of energy, such as lightning strikes. The last theory, which has gained evidence in recent years, hypothesizes that both the energy and the molecules originated in hydrothermal vents. Let's explore the *hydrothermal vent theory*.

Hydrothermal vents are geothermally active deep-sea chasms thousands of meters below the surface of the ocean. Their discovery in 1977 sparked tremendous excitement as images of entirely new ecosystems with mysterious organisms captured the attention of scientists and the public (see section 27.2). These vents pump 400°C sulfide-rich water into cold ambient water, causing the sulfide to instantly precipitate, so these chimneylike structures are dubbed “black smokers.” In 2000, scientists made yet another deep-sea discovery with a different kind of vent system. These are cooler (45–90°C) and alkaline (pH 9–11). When these waters mix with the surrounding seawater (pH about 8.0), calcium carbonate precipitates, forming white chimneys, as seen in the Lost City vents (box figure).

This pH gradient is critical to the hypothesis that a vent system, such as Lost City, could be the origin of biomolecules. As you may have learned when studying mitochondria or batteries, the separation of positive and negative charges captures potential energy (remember that energy can't be created). In Lost City vents, the thin walls of the chimneys serve to separate these fluids with as much as a 3-unit pH difference. The question now being asked is



D.Kelley, University of Washington.

“Was this potential energy tapped to convert CO₂ in seawater to simple carbon-based molecules, such as amino acids, short hydrocarbons, and others?”

If the answer is yes, a 2019 study shows that a mixture of molecules called single-chain amphiphiles (SCAs), which are simpler versions of more familiar phospholipids, can form vesicles in hot, alkaline pH seawater that mimics that of Lost City. Putting this together, we can hypothesize a series of events that occurred 3.7–4.0 billion years ago. First, the presence of the pH gradient across geological barriers in the Lost City drove the formation of random organic molecules, some of which were SCAs. These SCAs accumulated and formed vesicles that entrapped fluids preserving the pH gradient. These vesicles had the energy to test the formation of different molecules. Was one of them RNA?

ribosomique (ARNr) et utilisant l'ARN messager (ARNm) et l'ARN de transfert (ARNt) pour construire des protéines. Souvenez-vous aussi que l'ARNr lui-même catalyse la formation de la liaison peptidique lors de la synthèse protéique. L'ARN semble donc bien armé pour être important dans le développement des protéines (figure 1.5). Comme l'ARN et l'ADN ont une structure similaire, l'ARN pourrait avoir donné naissance à l'ADN double brin. On pense que lorsque l'ADN a évolué, il est devenu la molécule de stockage pour l'information génétique, parce qu'il possédait une structure plus stable chimiquement. Deux autres éléments de preuve appuient l'hypothèse du monde d'ARN : le fait que l'ATP, la monnaie énergétique de la cellule, soit un ribonucléotide et la découverte plus récente que l'ARN pouvait réguler l'expression génétique. ►► *L'ATP la principale monnaie*

d'énergie des cellules (section 10.2) ; Les riborégulateurs (« riboswitches ») les interactions ARN-effecteurs régulent la transcription (section 14.3) ; Les riborégulateurs traductionnels (« riboswitches ») (section 14.4)

En dépit des arguments qui la soutiennent, l'hypothèse d'un monde d'ARN n'est pas sans soulever des problèmes, et des expérimentations récentes suggèrent que les premiers acides nucléiques pourraient avoir été un mélange de molécules d'ADN et d'ARN. Un autre domaine de recherches fortement débattu est celui de l'évolution du métabolisme. Ainsi, les cellules, qui y sont nées, ont dû être capables d'utiliser les sources d'énergie disponibles dans ces conditions rudes. Aujourd'hui, nous connaissons des espèces d'archées thermophiles, capables d'utiliser des molécules inorganiques, telles que le sulfure ferreux (FeS), comme source d'énergie. Certains suggèrent que cette

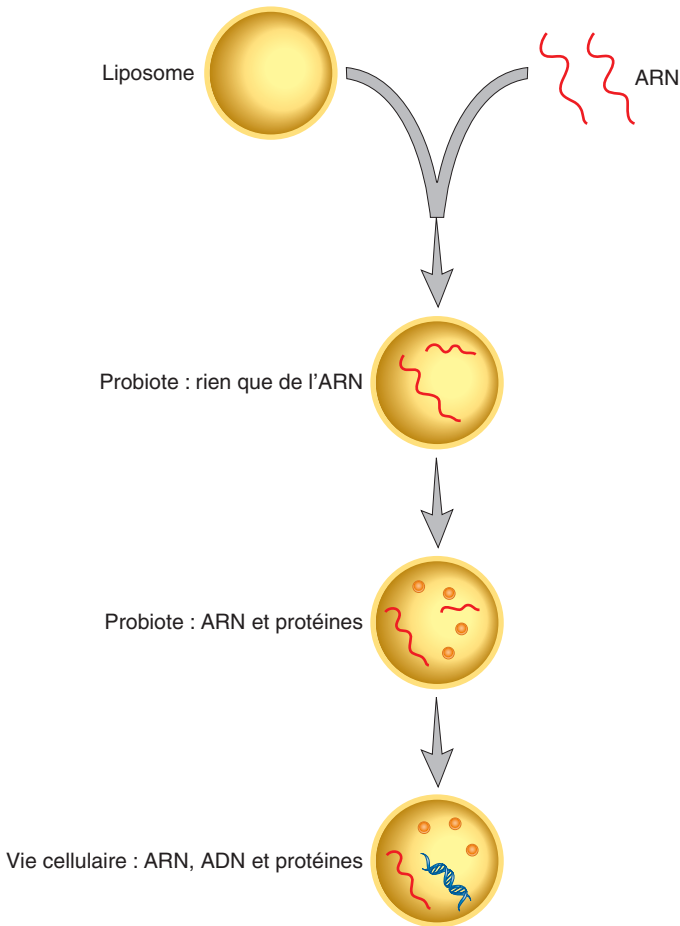


Figure 1.5 L'hypothèse du monde d'ARN pour l'origine de la vie

MINI ENQUÊTE Pourquoi les protobiontes reproduits ci-dessus ne sont-ils pas considérés comme de la vie cellulaire ?

capacité métabolique intéressante pourrait être un vestige de la première forme existante de métabolisme énergétique. Une autre stratégie métabolique, la photosynthèse productrice d'oxygène, serait apparue tôt, il y a sans doute près de 2,7 milliards d'années. Cette hypothèse est soutenue par la découverte de stromatolithes anciens (**figure 1.6**). Les stromatolithes sont des roches feuilletées formées par incorporation d'épaisses couches de cyanobactéries. L'oxygène qu'elles produisaient a finalement transformé la composition de l'atmosphère terrestre jusqu'à son stade actuel, riche en oxygène et ainsi permis l'émergence de nouvelles stratégies pour capter l'énergie, comme la respiration aérobie utilisée par de nombreux micro-organismes et animaux.

L'évolution des trois domaines du monde vivant

Regardez soigneusement la figure 1.3 et trouvez une ligne appelée « Origine ». C'est à cet endroit que devrait se placer, selon les données, le dernier ancêtre commun aux trois domaines, surnommé aussi LUCA (pour « Last Universal Common Ancestor »). LUCA est l'organisme le plus récent à partir duquel tout type de vie - bactérienne, archéenne, et eucaryote - est né. Sur cet arbre phylogénétique, LUCA se



Figure 1.6 Stromatolithes modernes d'Australie. Chaque stromatolite présente une structure rocheuse, typiquement d'1 m de diamètre, contenant des couches de cyanobactéries.

trouve sur la branche bactérienne, ce qui signifie que les *Archaea* et les *Eucarya* ont évolué indépendamment, séparément des *Bacteria*.

La relation évolutive entre les *Archaea* et les *Eucarya* fait encore l'objet de nombreux débats. Selon l'arbre phylogénétique universel (figure 1.3), les *Archaea* et les *Eucarya* ont partagé une ascendance commune, mais ont divergé et sont devenus des domaines séparés. De récentes preuves suggèrent que les *Eucarya* sont issus des *Archaea* (voir Section 26.1 Diversité Microbienne & Écologie). La relation évolutive étroite entre ces deux formes de vie se marque aussi dans la manière dont *Archaea* et *Eucarya* traitent l'information génétique. Par exemple, certaines sous-unités protéiques des ARN polymérases archéennes et eucaryotes, les enzymes catalysant la synthèse de l'ARN, se ressemblent et diffèrent de celles des bactéries. Mais, les archées ont d'autres caractéristiques plus similaires avec celles des bactéries (ex. les mécanismes conservateurs d'énergie). Cette observation a encore compliqué, mais aussi nourri le débat. L'évolution du noyau et du réticulum endoplasmique est aussi au centre de maintes controverses. Toutefois, les hypothèses concernant d'autres organites délimités par une membrane sont plus largement acceptées et seront développées ci-après.

Les mitochondries, les organites semblables aux mitochondries et les chloroplastes ont une origine endosymbiotique

L'**hypothèse endosymbiotique** est généralement acceptée pour expliquer l'origine de plusieurs organites cellulaires comme les mitochondries, les chloroplastes et les hydrogénosomes. L'**endosymbiose** est une interaction entre deux organismes dans laquelle l'un se met à vivre à l'intérieur de l'autre. La formulation première de l'hypothèse endosymbiotique énonçait qu'au cours du temps une bactérie endosymbiote d'une cellule ancestrale d'une lignée eucaryote finissait par perdre sa capacité de vivre indépendamment. Si la bactérie intracellulaire utilisait la respiration aérobie, elle devenait une mitochondrie. Si l'endosymbiote était une cyanobactérie photosynthétique elle devenait un chloroplaste (**figure 1.7**).

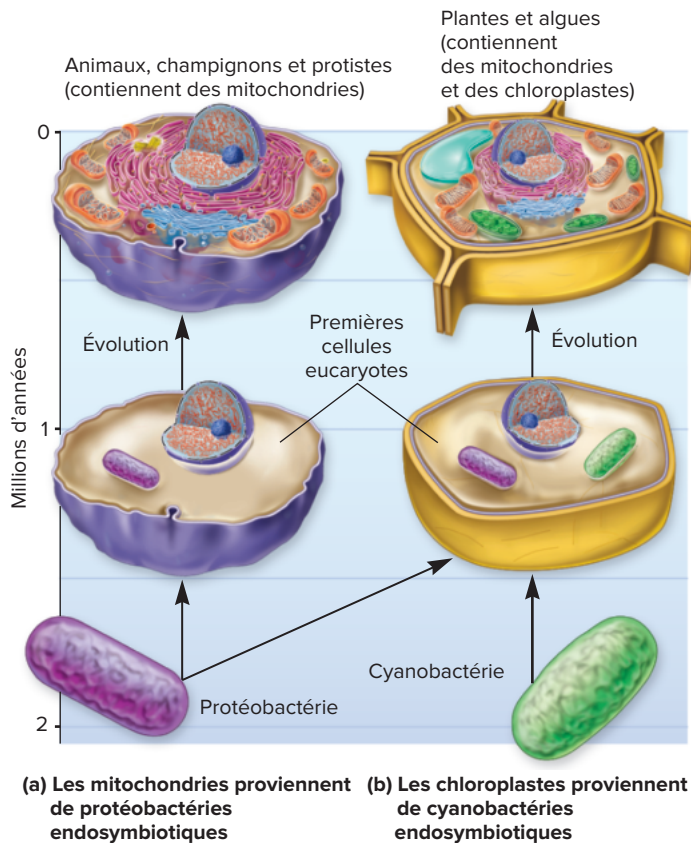


Figure 1.7 La théorie endosymbiotique (a) Selon cette hypothèse, les mitochondries ont dérivé d'une bactérie du phylum Proteobacteria. (b) Un phénomène similaire concerne les chloroplastes qui dérivent des cyanobactéries.

Bien que le mécanisme utilisé pour établir la relation endosymbiotique reste inconnu, il y a de fortes évidences en faveur de cette hypothèse. Les mitochondries et les chloroplastes contiennent de l'ADN et des ribosomes, tous deux similaires à l'ADN et aux ribosomes bactériens. Le peptidoglycane, la molécule particulière de la paroi bactérienne, a même été trouvé entre les deux membranes limitantes des chloroplastes de certaines algues. L'analyse de la figure 1.3 montre que les deux organites appartiennent à la lignée bactérienne. Plus spécifiquement, les mitochondries sont plus étroitement apparentées aux bactéries appelées protéobactéries. On pense que les chloroplastes des plantes et des algues vertes descendent d'un ancêtre du genre actuel *Prochloron*, une cyanobactérie qui contient des espèces vivant dans des invertébrés marins. ▶▶ *Le Phylum des Cyanobactéria : bactéries photosynthétiques aérobies (section 20.4) ; L'origine protéobactérienne des mitochondries (21.1)*

Récemment, la théorie endosymbiotique pour les mitochondries a été affinée par l'**hypothèse de l'hydrogène**. Celle-ci fait valoir que l'endosymbiote a été une bactérie anaérobie qui produisait de l' H_2 et du CO_2 comme produits finaux de son métabolisme. Au cours du temps, l'hôte est devenu dépendant de l' H_2 produit par l'endosymbiote. En phase ultime, l'endosymbiote a évolué vers l'un des nombreux organites (figure 5.13). D'autres endosymbiotes ont évolué vers d'autres organites comme un hydrogénosome – un organite présent

chez certains protistes encore existants - qui produit de l'ATP par fermentation (voir figure 5.15).

L'évolution des micro-organismes cellulaires

Bien que l'histoire des premières formes de vie cellulaire puisse ne jamais être connue, nous savons qu'une fois que les cellules microbiennes ont émergé, elles ont été soumises aux mêmes processus évolutifs que les organismes modernes. Les bactéries, archées et eucaryotes ancestraux possédaient de l'information génétique qui pouvait être dupliquée, perdue ou mutée de quelle qu'autre façon. Ces mutations pouvaient avoir de nombreux résultats. Certaines étaient mortelles pour l'organisme muté, mais d'autres permettaient l'émergence de nouvelles fonctions ou caractéristiques. Les mutations, qui permettaient à un organisme d'augmenter ses capacités reproductives, ont été sélectionnées de façon positive et sont passées aux générations postérieures. En plus de forces sélectives, l'isolement des populations a permis à certains groupes d'évoluer séparément des autres. La sélection et l'isolement ont donc conduit au développement final de nouvelles collections de gènes (c-à-d. des génotypes) et d'espèces nouvelles.

Outre la mutation, il existe d'autres mécanismes pour reconfigurer les génotypes d'une espèce et créer ainsi une diversité génétique. La plupart des espèces eucaryotes augmentent leur diversité génétique via la reproduction sexuelle. Toute la progéniture des deux parents a ainsi acquis un mélange de gènes parentaux et un génotype unique. Les bactéries et les archées ne se reproduisent pas sexuellement. Elles augmentent leur diversité génétique par le transfert horizontal (latéral) de gènes (THG). Pendant ce processus, l'information génétique est transférée d'un organisme donneur à un organisme récepteur en créant un nouveau génotype. L'information génétique passe ainsi d'une génération à la suivante, et même entre des individus de la même génération et des espèces appartenant à différents domaines de la vie. Le séquençage des génomes a montré que le TGH a joué un rôle important dans l'évolution de toutes les espèces microbiennes. Il est important de noter que le TGH survient encore chez les bactéries et les archées menant à l'évolution des espèces acquérant une résistance aux antibiotiques, de nouvelles propriétés de virulence ou de nouvelles capacités métaboliques. Le résultat du TGH est que de nombreuses espèces ont un génome mosaïque composé de morceaux et de pièces de génomes d'autres organismes. ▶▶ *Le transfert horizontal de gènes : la création de variations génétiques par voie asexuée (section 16.4)*

Les systèmes de classification phylogénétiques comparent des organismes sur la base de relations évolutives. Le terme **phylogénie** (du grec phylon, tribu ou race, genesis, génération ou origine) se rapporte au développement évolutif des organismes. Comme vu précédemment, la phylogénie microbienne repose sur la comparaison de multiples caractères trouvés sur des organismes existants. Ces derniers incluent, la structure de la paroi cellulaire, les biomolécules telles que les acides gras, certaines protéines domestiques (des protéines utilisées pour maintenir la vie cellulaire, et donc présentes dans de nombreux organismes), et des séquences nucléotidiques, en particulier de molécules de petites sous-unités d'ARN (SSU-ARNr) (tableau 1.1). ▶▶ *Ribosomes bactériens (section 3.7) ; Ribosomes archéens (section 4.3) ; ribosomes eucaryotes (section 5.5)*

Les arbres phylogénétiques

La Figure 1.3 est un exemple d'**arbre phylogénétique**. Le but de la construction d'un arbre phylogénétique est de montrer les relations

Tableau 1.1 Comparaison des bactéries, archées et eucaryotes

Propriété	Bactérie	Archée	Eucaryote
Organisation du matériel génétique			
Noyau lié à la membrane	Non	Non	Oui
ADN complexe avec des histones	Non	Quelques	Oui
Chromosomes	Généralement un chromosome circulaire ; les chromosomes ont une origine de réplication unique ; certains sont polyploïdes	Un chromosome circulaire ; certains possèdent des chromosomes aux origines de réplifications multiples ; certains sont polyploïdes	Chromosomes multiples et linéaires avec de multiples origines de réplication ; généralement diploïde
Plasmides	Oui	Oui	Rare
Introns dans les gènes	Rare	Rare	Oui
Nucléole	Non	Non	Oui
Mitochondries, chloroplastes, réticulum endoplasmique, Golgi et lysosomes observés	Non	Non	Oui
Lipides de la membrane plasmique	Phospholipides liés par un ester ; certains ont des stérols	Diéthers de glycérol et tétraéthers de diglycérol	Phospholipides et stérols liés aux esters
Flagelle	De taille submicroscopique ; filament composé d'un seul type de protéine flagelline	De taille submicroscopique ; filaments composés de plus d'un type de protéine archaelline	De taille microscopique ; lié à la membrane ; généralement 20 microtubules répartis en 9 + 2 motifs
Peptidoglycane dans les parois cellulaires	Oui	Non	Non
Taille et structure des ribosomes	70S; 3 rRNAs; 49-59 protéines ribosomales	70S; 3 rRNAs; 58-68 protéines ribosomales	80S; 4 rRNAs; 78-80 protéines ribosomales
Cytosquelette	Rudimentaire	Rudimentaire	Oui

évolutives entre différents organismes. Ces arbres sont construits en comparant les séquences d'acides aminés ou de nucléotides entre divers organismes. Les séquences d'acides aminés sont souvent comparées car les changements de nucléotides peuvent ne pas modifier la protéine résultante et donc ont peu ou pas d'impact sur l'évolution. Historiquement, les ARNr de petites sous-unités ribosomales (16S pour les bactéries et les archées et 18S pour les eucaryotes) étaient pour plusieurs raisons des molécules de choix pour déduire les phylogénies microbiennes et établir des affectations taxonomiques. Comme les protéines domestiques (des protéines aux fonctions essentielles), les SSU-ARNr jouent le même rôle chez les micro-organismes et sont absolument nécessaires pour la vie. Ainsi, ni les protéines domestiques ni les gènes encodant les SSU-ARNr ne tolèrent des changements conséquents dans leur séquence. L'utilité des sous-unités d'ARNr est renforcée par la présence de certaines séquences à l'intérieur de leurs gènes qui varient selon les organismes tout comme d'autres régions qui sont tout à fait semblables. Les régions variables rendent possibles des comparaisons entre des micro-organismes très proches, alors que les séquences stables permettent la comparaison entre des micro-organismes plus distants. La stabilité des séquences de sous-unités d'ARNr

signifie qu'elles évoluent très lentement, de telle sorte que l'analyse des gènes domestiques est plus fréquemment utilisée pour assigner l'évolution d'organismes plus étroitement reliés.

L'analyse comparative des séquences sous-unités d'ARNr de milliers d'organismes a démontré la présence de **séquences signatures d'oligonucléotides** (figure 1.8). Ces dernières sont de courtes séquences nucléotidiques spécifiques conservées de groupes de micro-organismes phylogénétiquement reliés. C'est pourquoi la signature des séquences trouvées dans l'ARNr bactérien est rarement ou même jamais trouvée dans les ARNr archéens, et vice versa. De même, l'ARNr 18S des eucaryotes porte les séquences signatures spécifiques du domaine Eukaryota.

La démarche pour construire un arbre phylogénétique peut être divisée en deux vastes catégories : une démarche basée sur la distance et une basée sur le caractère. Celles basées sur la distance sont les plus intuitives, les différences entre les alignements de séquences sont décomptées pour chacune des paires et regroupées dans une seule statistique (figure 1.9). Cette valeur sert de mesure de la distance entre les organismes ; plus il y a de différences comptées, plus la distance évolutive est grande. Les distances évolutives issues de

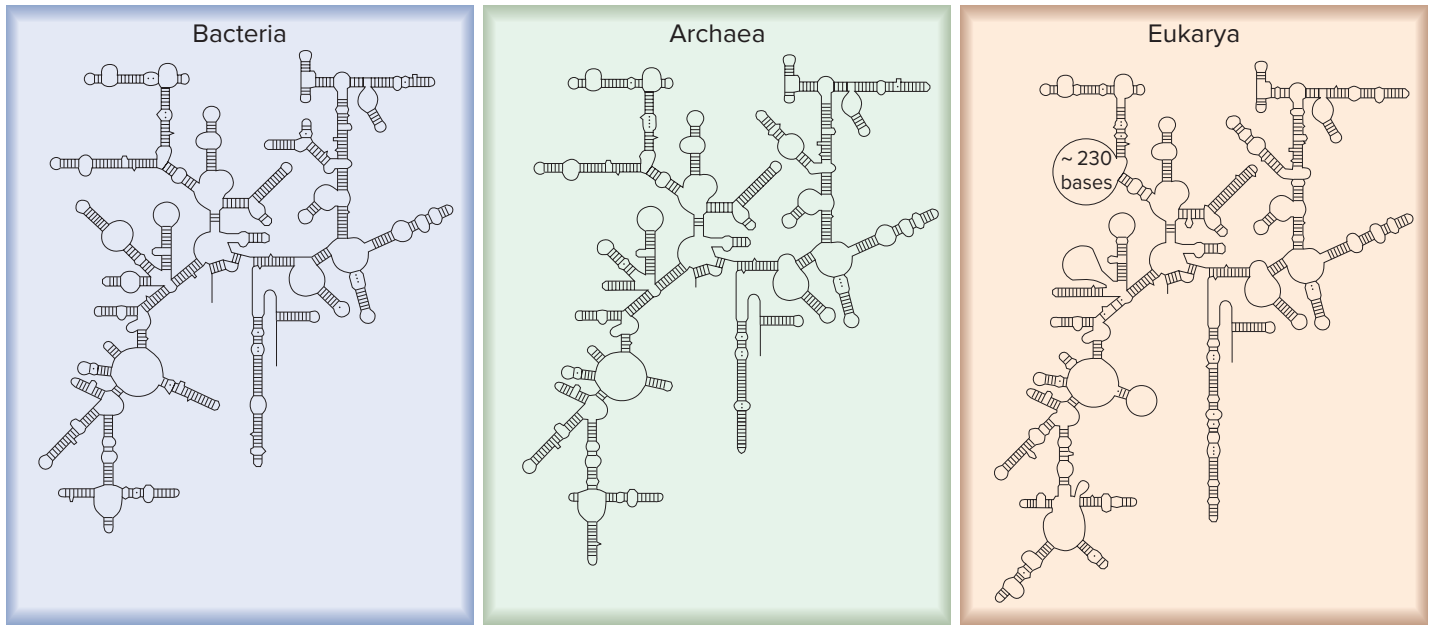


Figure 1.8 Leur signature ARNr identifie les microbes. Exemples de représentation de la structure secondaire d'ARNr des trois domaines : Bacteria (*Escherichia coli*) ; Archea (*Methanococcus vannielii*) ; Eucaria (*Saccharomyces cerevisiae*).

nombreuses comparaisons sont utilisées dans des programmes informatiques sophistiqués pour construire des arbres. Le sommet de chaque branche de l'arbre (appelé le *nœud*) représente l'un des organismes employé dans la comparaison. La distance entre deux nœuds constitue la distance évolutive entre les deux organismes.

Un algorithme analyse cette information pour générer un arbre. Un algorithme appelé analyse typologique relie les paires qui sont de plus en plus éloignées (ex., commence avec celles qui ont le plus faible nombre de différences de séquence pour aller à celles qui en ont le plus). Bien que ce soit le plus facile à comprendre, cela peut générer des arbres basés sur des artefacts. La méthode «Neighbor joining» (dite méthode NJ) est une autre méthode basée sur la distance qui utilise une matrice différente pour modifier la distance entre chaque paire de nœuds basée sur la divergence moyenne de tous les autres nœuds.

Les démarches basées sur les caractères pour la construction d'un arbre phylogénétique sont plus compliquées, mais génèrent des arbres plus robustes. Ces méthodes s'appuient sur des hypothèses relatives aux étapes de l'évolution, assignent l'ancêtre au niveau de chaque nœud, et choisissent l'arbre le plus approprié au modèle spécifique de changement évolutif. Parfois appelées recherche d'arbre, ces méthodes incluent un maximum de parcimonie, ce qui suppose qu'un minimum de changements soit survenu entre ancêtre et organismes existant. Une autre démarche appelée «vraisemblance maximale» requiert un grand nombre de données, car pour chaque arbre possible qui peut être construit, sa probabilité (c-à-d. la vraisemblance) basée sur les informations évolutives et moléculaires est bien déterminée de sorte que l'arbre ayant la probabilité maximale soit retenu. L'inférence Bayésienne constitue une autre approche basée sur les caractères : plutôt que de ne considérer qu'un seul arbre, l'inférence Bayésienne analyse

de multiples arbres potentiels et calcule la probabilité que chaque branche apparaisse sur la base de cette comparaison.

Une fois l'arbre construit, il est important de trouver le sens dans lequel le positionnement des branches est légitime. Il existe toute une variété de méthodes pour estimer la puissance d'un arbre. La plus commune est l'autoamorçage. Cette méthode consiste à réanalyser un sous-ensemble, pris au hasard, de données figurant sur l'arbre. Une valeur d'amorce est le pourcentage de fois où une branche particulière est trouvée. Typiquement, on considère que des valeurs d'amorce de 70 % ou plus sont confirmées dans l'arbre. On notera que des valeurs d'inférence Bayésienne sont également exprimées en pourcentages, mais qu'elles ne sont pas directement comparables aux valeurs d'amorçage. Seules des valeurs supérieures à 95 % sont acceptables lorsque l'inférence Bayésienne est employée.

Il faut garder deux choses à l'esprit lorsque l'on examine les arbres phylogénétiques. La première est qu'il s'agit d'arbres moléculaires, et non des arbres organismiques. En d'autres termes, ils représentent, autant que possible, l'historique évolutive de la molécule (ex., ARNr). Deuxièmement, la distance entre les nœuds est une mesure de parenté, non de temps. Si la distance sur une lignée est grande, les deux organismes sont plus fortement divergents (c-à-d., moins reliés). Cependant, on ne sait pas quand ils ont divergé l'un de l'autre. Ce concept est analogue à une carte imprimée montrant avec précision la distance entre deux villes, mais du fait de nombreux facteurs (trafic, conditions de route, etc.) elle ne peut indiquer le temps nécessaire pour couvrir cette distance.

Il est important qu'un arbre puisse être non-enraciné ou enraciné. Un arbre non-enraciné (figure 1.10a) représente les relations phylogénétiques, mais n'indique pas lesquels des organismes sont les plus primitifs. La figure 1.10a montre que A est plus étroitement relié à C

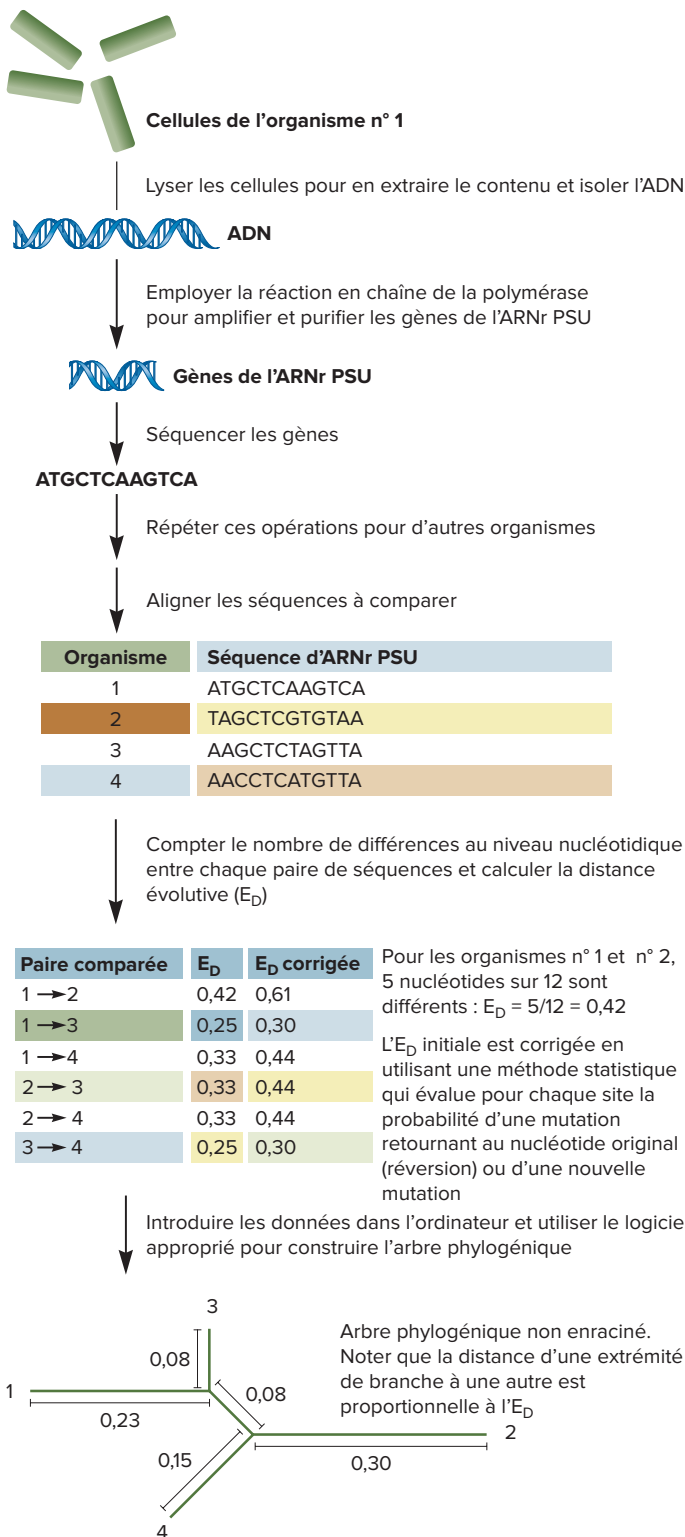


Figure 1.9 Construction d'un arbre phylogénétique utilisant la méthode des distances. La technique d'amplification en chaîne par polymérase (ACP ; anglais « Polymerase Chain Reaction », PCR) est décrite dans le chapitre 17.

MINI ENQUÊTE Pourquoi la longueur de la branche indique-t-elle la quantité des changements évolutifs et non le temps mis à ces changements pour se produire ?

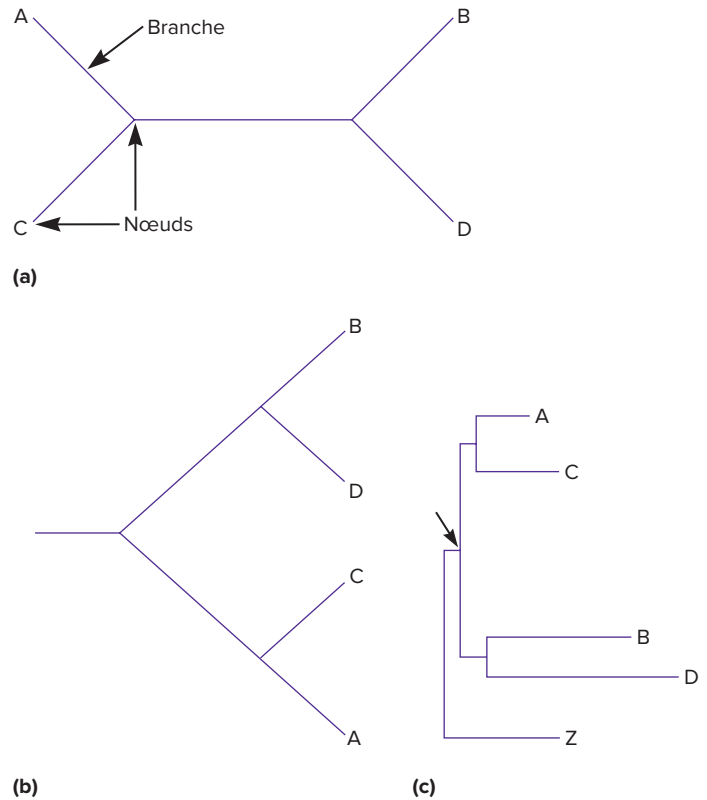


Figure 1.10 Topologie des arbres phylogénétiques. (a) Arbre non-enraciné joignant quatre unités taxinomiques (A,B,C,D). (b) Arbre enraciné. (c) L'arbre peut être enraciné en y ajoutant un exo, représenté par Z. La flèche indique un évènement de spéciation qui a entraîné le développement de nouvelles espèces d'un organisme ancestral.

qu'à B ou D, mais n'indique pas laquelle des quatre espèces peut être la plus ancienne. Par opposition, l'arbre enraciné (figure 1.10b) comporte un nœud (unité taxinomique) qui figure l'ancêtre commun et montre le développement des quatre espèces à partir de leur racine. Il est bien plus difficile d'établir un arbre enraciné. Par exemple, il y a 15 arbres enracinés possibles qui relient quatre espèces mais seulement trois arbres non-enracinés.

Un arbre non-enraciné peut être enraciné en rajoutant des données provenant d'un autre groupe – une espèce connue pour être fortement distante de toutes les espèces de l'arbre (figure 1.10c). La racine est déterminée par le point où l'exogroupe se raccorde. Cela fournit un point de référence indiquant le nœud le plus ancien, qui est le nœud le plus proche de l'exogroupe. Ainsi, par exemple, sur la figure 1.10c, l'organisme Z est l'exogroupe et le nœud le plus ancien est indiqué par une flèche.

La taxinomie microbienne

La science consistant à classer les choses du vivant est appelée **taxinomie** (ou taxinomie). La taxinomie comporte trois parties séparées mais cependant reliées : classification, nomenclature, et identification. Un schéma taxinomique est utilisé pour ranger les organismes dans des groupes appelés taxa (singulier, **taxon**) sur la base de similitudes

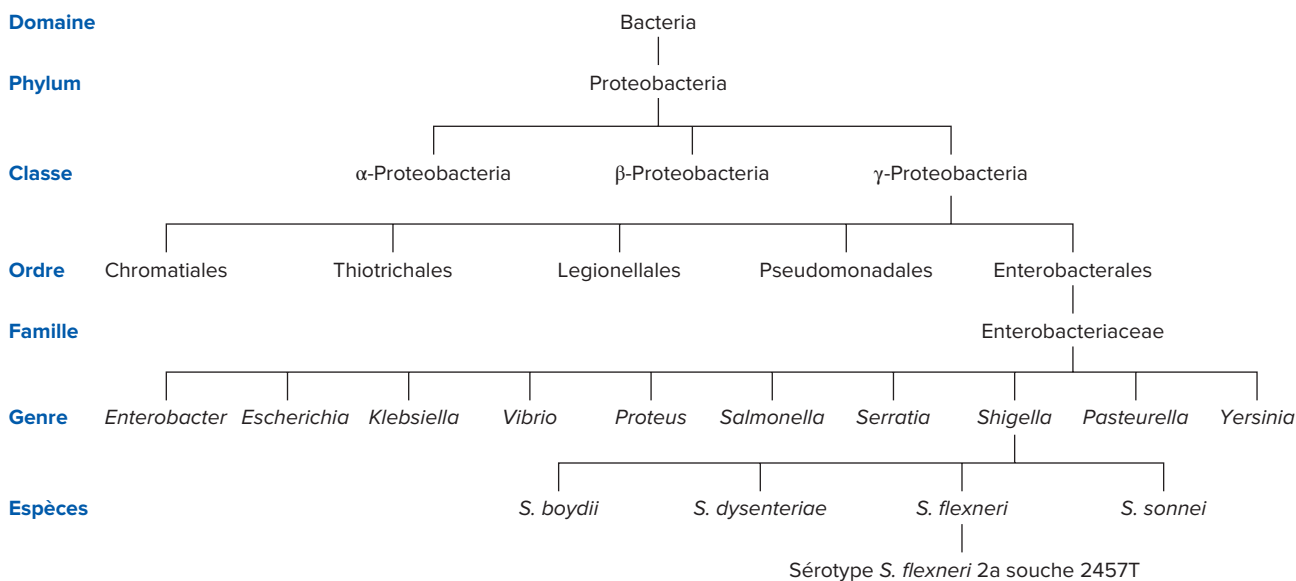


Figure 1.11 Arrangement hiérarchique en taxonomie. Dans cet exemple, les membres du genre *Shigella* sont placés dans les rangs taxonomiques supérieurs. Pour simplifier le diagramme, toutes les possibilités de classification n'ont pas été données pour chacun des rangs. On notera que -al indique l'ordre et -cea indique la famille.

mutuelles. Les micro-organismes sont placés en niveaux taxinomiques arrangés en une hiérarchie ne se recouvrant pas de sorte que chaque niveau inclue non seulement les traits qui définissent le rang au-dessus mais aussi un nouveau groupe de caractères plus restrictifs (figure 1.11). Ainsi, dans chaque domaine – Bacteria, Archea, ou Eukaria – chaque organisme est assigné (en ordre décroissant) à un phylum, une classe, une famille, un genre, et une espèce épithète ou un nom. Les groupes microbiens ont à chaque niveau un suffixe spécifique qui indique leur rang ou leur niveau.

Les microbiologistes nomment les micro-organismes selon le système binomial du biologiste du dix-huitième siècle Carl Linné (1707-1778). Le nom latin en italiques est constitué de deux parties. La première partie, avec une capitale, est le nom générique (c-à-d., le nom du genre auquel appartient le micro-organisme) et le second sans capitale est l'espèce épithète. Par exemple, la bactérie qui cause la peste s'appelle *Yersinia pestis*. Souvent, le nom d'un organisme sera raccourci en réduisant le nom de genre à la seule initiale en capitale (ex., *Y. pestis*)

Cette organisation simplifiée se complique par le fait que les bactéries et les archées ne se reproduisent pas de manière sexuelle. Souvenez-vous de vos cours de biologie générale : les espèces végétales et animales se définissent comme un groupe de populations naturelles se croisant ou potentiellement capables de se croiser et qui ne se reproduisent pas avec d'autres groupes. Cette définition est aussi appropriée pour les nombreux micro-organismes eucaryotes qui se reproduisent sexuellement. Toutefois, les espèces bactériennes et archéennes ne peuvent pas être définies par ce critère, puisqu'elles ne se reproduisent pas sexuellement. De plus en plus, on utilise des séquences génomiques pour distinguer une espèce d'une autre. Trouver une définition adéquate fait l'objet actuellement d'un débat considérable. Une définition courante est que les espèces bactériennes et archéennes sont une collection de souches qui partagent entre elles de nombreuses propriétés

stables et diffèrent de façon significative d'autres groupes de souches. Une **souche** est constituée de tous les descendants d'une seule culture pure d'organisme. Les souches au sein d'une espèce peuvent être décrites de plusieurs façons différentes. Les biovars sont des souches variantes caractérisées par des différences biochimiques ou physiologiques, les morphovars diffèrent par leur morphologie, les sérovars ont des propriétés distinctes qui peuvent être détectées par des anticorps et les pathovars sont des souches pathogènes distinguées via les plantes chez lesquelles elles provoquent des maladies.

Bien que les biologistes continuent à utiliser le système de classification de Linné, le développement explosif actuel de l'analyse métagénomique a eu un impact sur cette hiérarchie historiquement acceptée. Dans les dernières décennies, des milliers de gènes d'ARNr-16S et de gènes codant de protéines ont été séquencés qui n'appartiennent à aucun taxon antérieurement défini.

Test de compréhension

1. Donnez deux raisons pour lesquelles on pense que l'ARN a été la première biomolécule autorépliquative.
2. Expliquez l'hypothèse endosymbiotique de l'origine des mitochondries, des hydrogénomosomes et des chloroplastes. Donnez deux éléments de preuves qui appuient cette hypothèse.
3. Quel est le but de la construction d'un arbre phylogénétique ?
4. En termes généraux, définissez la différence entre un arbre basé sur la distance et un arbre basé sur le caractère. Est-ce qu'un arbre enraciné ou un arbre non-enraciné fournissent plus d'information ? Justifiez votre réponse ?
5. Quelle est la différence entre une mutation horizontale et un transfert de gène ?
6. Quelle est la façon correcte d'écrire le nom du micro-organisme suivant : bacillus subtilis, Bacillus subtilis, *Bacillus Subtilis* ou *Bacillus subtilis* ? Identifiez le nom du genre et l'épithète de l'espèce.

1.3 La microbiologie a progressé avec le développement de nouveaux outils pour étudier les micro-organismes

Après la lecture de cette section, vous devriez être capable de :

- Évaluer l'importance des contributions faites par Hooke, Leeuwenhoek, Pasteur, Koch, Cohn, Beijerinck, von Behring, Kitasato, Metchnikoff et Winogradsky.
- Présenter un ensemble d'expériences qui pourraient être utilisées pour décider si un micro-organisme particulier est l'agent responsable d'une maladie.
- Prédire les difficultés qui pourraient survenir en utilisant les postulats de Koch pour déterminer si un micro-organisme provoque une maladie particulière pour les êtres humains.

Même avant qu'on ait pu voir les micro-organismes, plusieurs chercheurs suspectaient leur existence et leur rôle dans les maladies. Le philosophe romain Lucrèce (98-55 av. J.-C.) et le médecin Girolamo Fracastoro (1478-1553) avaient suggéré que des êtres vivants invisibles provoquaient les maladies. Toutefois, jusqu'à ce qu'on puisse réellement observer ou étudier les micro-organismes de quelle qu'autre façon, leur existence était matière à conjectures. C'est pourquoi la **microbiologie** se définit non seulement par les organismes qu'elle étudie, mais aussi par les outils utilisés pour les étudier. Le développement des microscopes a été la première étape essentielle dans l'évolution de la discipline. Mais la microscopie toute seule est incapable de répondre aux nombreuses questions que posent les microbiologistes à propos des micro-organismes. Une caractéristique typique de la microbiologie est que les microbiologistes retirent souvent les micro-organismes de leur habitat normal et les cultivent en les isolant ainsi des autres micro-organismes. C'est ce qu'on appelle la **culture pure** ou **axénique**. Le développement des techniques d'isolement des micro-organismes en cultures pures a été une autre étape importante dans l'histoire de la microbiologie. On en reconnaît cependant maintenant les limites. Les micro-organismes en culture pure ressemblent en quelque sorte à des animaux dans un zoo. Au même titre qu'un zoologiste ne peut entièrement comprendre l'écologie des animaux en étudiant ces derniers dans des zoos, les microbiologistes ne peuvent entièrement comprendre l'écologie des micro-organismes en les étudiant en culture pure. Aujourd'hui, les techniques de génétique moléculaire et les analyses génomiques nous fournissent de nouvelles perspectives sur la vie des micro-organismes.

Dans cette section, nous allons décrire comment les outils utilisés par les microbiologistes ont influencé le développement de la microbiologie. Et lorsque la microbiologie s'est déployée en tant que science, elle a largement contribué au bien-être de l'humanité. C'est ce qui est illustré par le nombre de microbiologistes qui ont reçu le prix Nobel. La **figure 1.12** évoque le contexte historique de certaines des découvertes essentielles de la microbiologie.

La microscopie a conduit à la découverte des micro-organismes

Les premières observations microscopiques furent sans doute réalisées entre 1625 et 1630 sur des abeilles et des charançons par l'Italien Francesco Stelluti (1577-1652) à l'aide d'un microscope probablement fabriqué par Galilée (1564-1642). Le mérite d'avoir publié les premiers dessins de micro-organismes dans la littérature scientifique revient à Robert Hooke (1635-1703). En 1665, il a publié un dessin très détaillé du champignon

Mucor dans son livre *Micrographia*. Ce livre est important non seulement pour ses dessins raffinés, mais aussi pour les détails de la construction des microscopes qu'on y trouve. Un modèle décrit dans *Micrographia* était probablement un prototype des microscopes construits et utilisés par Antonie van Leeuwenhoek (1632-1723), un microscopiste amateur de Delft (Pays-Bas). Van Leeuwenhoek était un drapier et un boutiquier spécialisé dans la confection pour messieurs, mais il passait la plupart de ses loisirs à construire des microscopes simples, composés de lentilles doubles convexes maintenues entre deux plaques d'argent (figure 1.13a). Ses microscopes agrandissaient de 50 à 300 fois. Il pouvait observer des échantillons en milieu liquide en les plaçant entre deux morceaux de verre et en les éclairant sous un angle de 45°. Ceci aurait produit une sorte d'éclairage sur champ noir, dans lequel les micro-organismes apparaissaient comme des objets brillants sur un fond noir, ce qui rendait les bactéries clairement visibles. À partir de 1673, van Leeuwenhoek envoya des lettres détaillées décrivant ses découvertes à la Royal Society de Londres. D'après ses descriptions, il avait clairement vu à la fois des bactéries et des protozoaires (**figure 1.13b**). ▶▶ *Le microscope à champ sombre (section 2.2)*

Les méthodes de culture pour étudier les micro-organismes furent un développement majeur

Aussi importantes qu'ait été les observations de van Leeuwenhoek, le développement de la microbiologie languit, pour l'essentiel, pendant les 200 années suivantes jusqu'à ce que les techniques d'isolement et de culture des micro-organismes soient mises au point au laboratoire. Nombre de ces techniques commencèrent à apparaître lorsque les scientifiques abordèrent la controverse sur la théorie de la génération spontanée. Ce débat et les études qui suivirent sur le rôle joué par les micro-organismes dans l'apparition des maladies, conduisirent finalement à ce qui est appelé maintenant l'âge d'or de la microbiologie.

La génération spontanée

Pendant très longtemps, les gens crurent à la **génération spontanée** – grâce à laquelle les organismes vivants pouvaient se développer à partir de matière morte. Cette opinion fut finalement mise en doute par le médecin italien Francesco Redi (1626-1697) qui réalisa une série d'expériences sur la production spontanée d'asticots par de la viande en décomposition. Redi utilisa des récipients couverts ou non pour démontrer clairement que la génération des asticots par la viande en décomposition était due à la présence d'œufs de mouches et que la viande ne produisait pas spontanément des asticots comme on le croyait auparavant. D'autres expériences aidèrent à discréditer la théorie en ce qui concerne de plus grands organismes. Mais, la découverte des micro-organismes par van Leeuwenhoek raviva la controverse. Certains proposaient que les micro-organismes résultaient d'une génération spontanée même si des organismes plus grands ne l'étaient pas. Ils faisaient remarquer que des extraits de foin ou de viande bouillis donnaient naissance à des micro-organismes après un temps d'incubation. En 1748, le prêtre anglais John Needham (1713-1781) publia les résultats de ses expériences sur la génération spontanée, qui étaient en accord avec l'idée que la matière organique possédait une force vitale qui pouvait conférer la vie à de la matière non vivante.

Quelques années après les expériences de Needham, Lazzaro Spallanzani (1729-1799), un prêtre et naturaliste italien, scella des flacons de verre contenant de l'eau et des graines et les plaça dans de l'eau bouillante pendant 45 minutes. Il constata l'absence de croissance tant que les flacons restaient fermés. Il suggéra que l'air transportait les germes dans

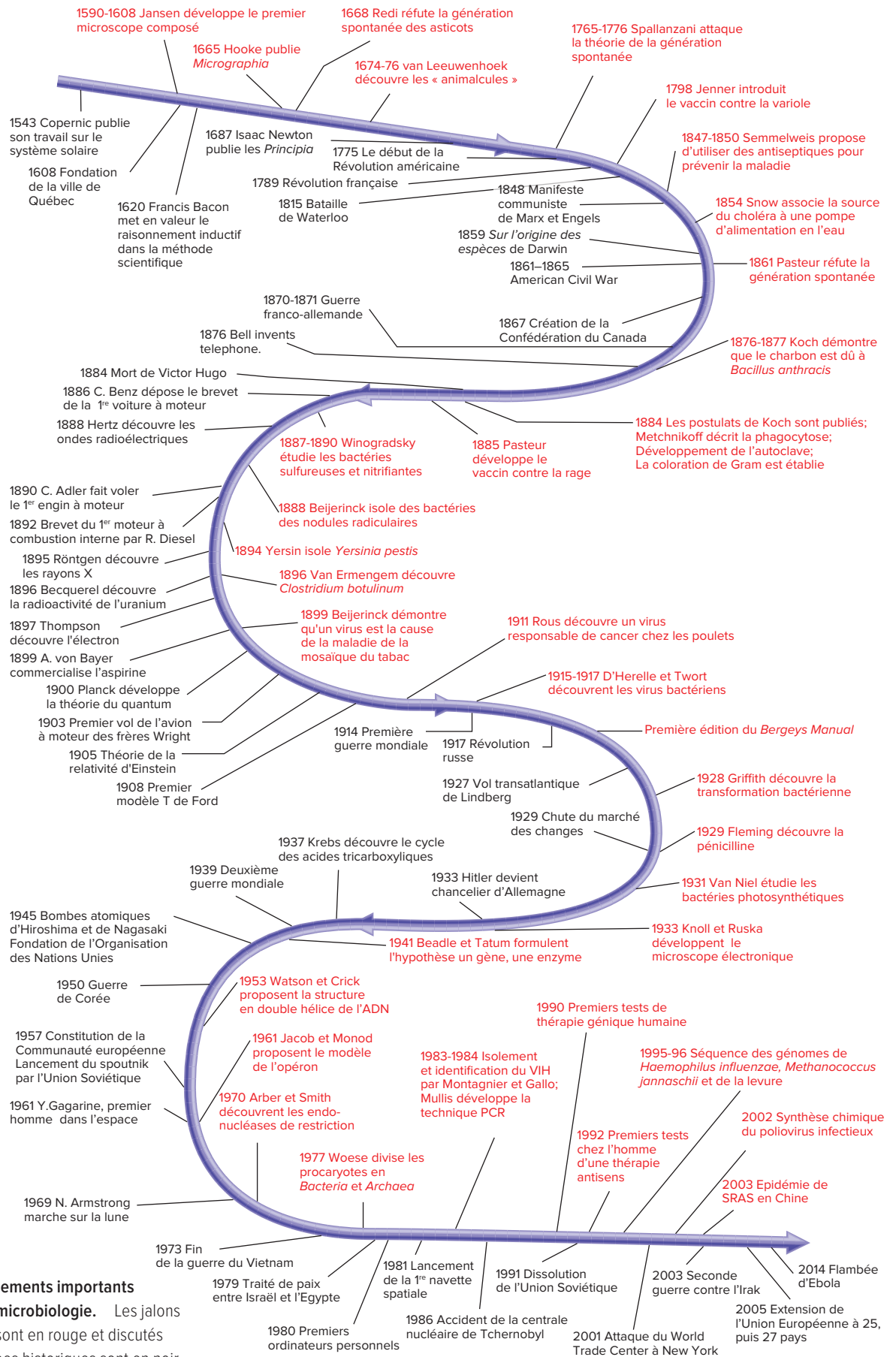
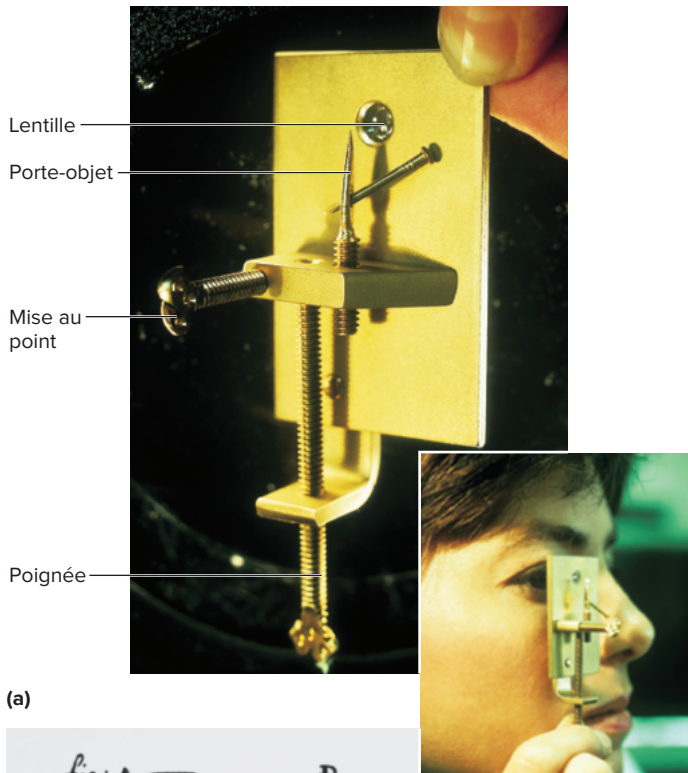
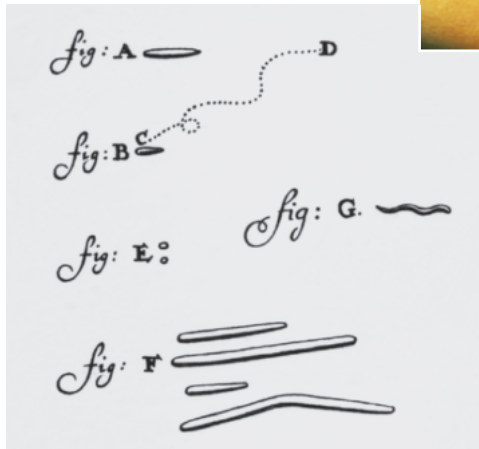


Figure 1.12 Quelques événements importants dans le développement de la microbiologie. Les jalons marquants de la microbiologie sont en rouge et discutés dans cet ouvrage ; d'autres étapes historiques sont en noir.



(a)



(b)

Figure 1.13 Le microscope d'Antonie van Leeuwenhoek et ses dessins. (a) Réplique en laiton du microscope de van Leeuwenhoek. L'insert montre comment il est tenu, (b) Dessins de van Leeuwenhoek de bactéries provenant de la bouche d'un homme.

l'infusion, mais aussi que l'air externe était nécessaire à la croissance des animaux déjà présents dans l'infusion. Les défenseurs de la génération spontanée rétorquèrent que le chauffage de l'air dans les flacons scellés détruisait sa capacité à maintenir la vie et de ce fait ne discréditait pas la théorie de la génération spontanée.

Plusieurs chercheurs essayèrent de contrer ces arguments. En laissant entrer de l'air dans un flacon contenant une solution nutritive stérile par un tube chauffé au rouge Théodore Schwann (1810-1882) montra que le flacon restait stérile. Aucune croissance microbienne ne fut observée dans le milieu. En dépit de ces expériences, le naturaliste français Félix Pouchet (1800-1872) prétendit en 1859 avoir réalisé des



Figure 1.14 Louis Pasteur.

expériences prouvant de manière concluante que les micro-organismes se développaient sans contamination par l'air.

Cette affirmation incita Louis Pasteur (1822-1895) à résoudre ce problème de la génération spontanée. Pasteur (figure 1.14) filtra d'abord l'air au travers de coton et trouva que des objets ressemblant à des spores végétales y étaient piégés. Si une partie du coton ayant servi à filtrer l'air était placée dans un milieu stérile, une croissance microbienne y était observée. Ensuite, il plaça des solutions nutritives dans des flacons, chauffa leur goulot à la flamme et les étira de diverses façons. Les flacons à col de cygne ainsi produits gardaient l'extrémité ouverte à l'air. Pasteur fit alors bouillir les solutions pendant quelques minutes, puis les refroidit. Aucune croissance n'apparut même si les contenus des flacons avaient été exposés à l'air (figure 1.15). Pasteur fit observer qu'il n'y avait pas de croissance parce que la poussière et les germes avaient été piégés sur les parois des tubes courbes. Si l'on cassait les tubes, une croissance était observée immédiatement. Pasteur avait non seulement résolu la controverse en 1861, mais il avait aussi montré comment garder des solutions stériles.

Le médecin anglais John Tyndall (1820-1893) et le botaniste allemand Ferdinand Cohn (1828-1898) donnèrent le coup de grâce à la génération spontanée. En 1877, Tyndall démontra que la poussière portait réellement les germes et que si la poussière était absente, le bouillon

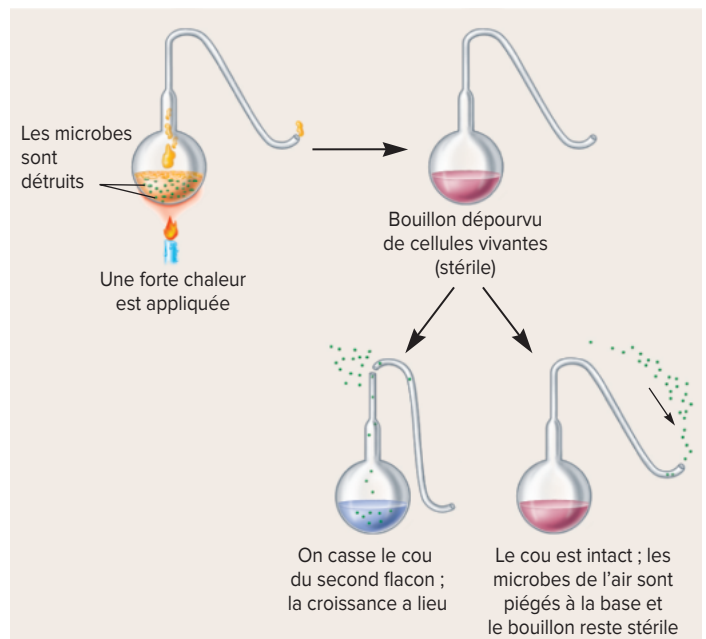


Figure 1.15 Les expériences de Pasteur avec des flacons à col de cygne.

restait stérile, même s'il était exposé directement à l'air. Durant ces études, Tyndall montra l'existence de formes bactériennes exceptionnellement résistantes à la chaleur. En travaillant de manière indépendante, Cohn découvrit que les bactéries résistantes à la chaleur, reconnues par Tyndall, étaient des espèces productrices d'endospores bactériennes. Plus tard, Cohn joua un rôle déterminant en établissant un système de classification des bactéries basé sur leur morphologie et leur physiologie.

▶▶ Les endospores bactériennes sont une stratégie de survie (section 3.10)

Ces premiers microbiologistes ont non seulement invalidé la génération spontanée, mais aussi permis la renaissance de la microbiologie. Ils ont développé des milieux pour cultiver les microbes. Ils ont également développé des méthodes pour stériliser ces milieux et maintenir leur stérilité. Ces techniques furent ensuite appliquées pour comprendre le rôle des micro-organismes dans la maladie. Ces techniques furent ensuite appliquées pour comprendre le rôle des micro-organismes dans la maladie.

Les micro-organismes et la maladie

Pendant des centaines d'années, la plupart des gens ont cru que les maladies étaient provoquées par des forces surnaturelles, des vapeurs empoisonnées et des déséquilibres entre les quatre humeurs que l'on croyait présentes dans le corps. Le rôle de ces quatre humeurs (le sang, le phlegme, la bile jaune [la colère] et la bile noire [la mélancolie]) était accepté depuis le temps du médecin grec Galien (129-199). Les arguments en faveur de l'idée que les micro-organismes provoquaient la maladie (c'est-à-dire la théorie du germe de la maladie) commencèrent à s'accumuler au début du dix-neuvième siècle à partir de différents domaines. Agostino Bassi (1773-1856) démontra en 1835 qu'une maladie du ver à soie était due à une infection fongique. En 1845, M. J. Berkeley (1803-1889) prouva que la pourriture des pommes de terre en Irlande était aussi due à une moisissure aquatique (à l'époque considérée comme un champignon), et, en 1853, Heinrich de Bary (1831-1888) montra que les champignons provoquaient des maladies céréalières.

Pasteur a aussi contribué à ce domaine de recherches de plusieurs manières. Ses contributions commencèrent d'une manière qui peut paraître invraisemblable. Pasteur avait une formation de chimiste et il a passé plusieurs années à étudier les fermentations alcooliques qui produisaient de l'éthanol et étaient utilisées pour produire du vin et d'autres breuvages alcoolisés. Lorsqu'il a commencé son travail, les chimistes en vue de l'époque étaient convaincus que la fermentation était due à une instabilité chimique qui dégradait les sucres en alcool. Pasteur n'était pas d'accord. Il pensait que les fermentations étaient dues à des organismes vivants.

En 1856, M. Bigo, un industriel de Lille en France, où Pasteur travaillait, fit appel à lui. Son entreprise produisait de l'éthanol par fermentation des sucres de betterave. Les rendements en alcool n'arrêtaient pas de décliner et le produit était devenu aigre. Pasteur découvrit que la fermentation alcoolique avait échoué parce que la levure normalement responsable de la production d'alcool avait été remplacée par des bactéries qui produisaient de l'acide au lieu de l'alcool. En résolvant ce problème bien concret, Pasteur démontra que toutes les fermentations étaient liées à l'activité de levures ou de bactéries spécifiques.

Pasteur fut aussi prié de venir en aide à l'industrie vinicole en France. Pendant plusieurs années, des vins de mauvaise qualité avaient été produits. Pasteur considéra ces vins comme malades et démontra que des maladies du vin particulières étaient associées à des micro-organismes particuliers contaminant le vin. En fin de compte, Pasteur

suggéra une méthode de chauffage pour détruire les micro-organismes indésirables. C'est ce qu'on appelle maintenant la **pasteurisation**.

Les travaux du chirurgien anglais Joseph Lister (1827-1912) sur la prévention des infections des blessures, apportèrent un soutien indirect à la théorie du germe de la maladie. Lister, impressionné par les études de Pasteur sur le rôle des micro-organismes dans la fermentation et la putréfaction, développa une méthode chirurgicale antiseptique destinée à empêcher que les micro-organismes entrent dans les plaies. Les instruments étaient stérilisés par la chaleur et le phénol était utilisé sur les pansements chirurgicaux et parfois vaporisé sur la zone à soigner. Ces méthodes furent couronnées de succès et transformèrent la chirurgie en réduisant le taux d'infections chirurgicales. Le rôle préventif, que jouait le phénol bactéricide dans les plaies infectées, apportait une preuve indirecte du rôle des micro-organismes.

Les postulats de Koch

La première démonstration directe du rôle des bactéries dans les maladies vint de l'étude du charbon par le médecin allemand Robert Koch (1843-1910). Koch (**figure 1.16**) utilisa le critère, proposé par son ancien professeur Jacob Henle (1809-1885) et d'autres, pour établir la relation entre *Bacillus anthracis* et le charbon (ou anthrax). Il publia ses découvertes en 1876. Koch utilisa des souris comme modèles et pour ses essais. En suivant les étapes rapportées dans la figure 1.17, il utilisa ensuite des cochons d'inde (cobayes) pour montrer que *Mycobacterium tuberculosis* causait la tuberculose (TB), qui était à cette époque une cause majeure de mortalité en Europe. En 1905, il reçut le prix Nobel de physiologie ou de médecine ; ses critères pour établir les relations causales entre un micro-organisme et une maladie spécifique sont connus sous le nom de **postulats de Koch**. Les postulats de Koch ont depuis été utilisés pour découvrir les micro-organismes responsables de nombreuses maladies infectieuses.



Figure 1.16 Robert Koch. Koch examinant un spécimen dans son laboratoire.

Postulats

1. Le micro-organisme doit être présent dans chaque cas de maladie et être absent chez les individus sains.

2. Le micro-organisme suspecté doit être isolé sous forme d'une culture pure.

3. La même maladie doit se produire lorsque le micro-organisme purifié est inoculé dans un hôte sain.

4. Le même micro-organisme doit pouvoir être isolé à nouveau de l'hôte malade.

Expérimentation

Koch a développé une technique de coloration spécifique pour examiner les tissus humains. *M. tuberculosis* a pu être identifié dans le tissu malade.

Koch fait pousser *M. tuberculosis* en culture pure avec du sérum de sang coagulé.

Koch injecte des cellules de la culture pure de *M. tuberculosis* à des cobayes. Les cobayes meurent de tuberculose.

Au départ des cobayes morts, Koch a isolé *M. tuberculosis* en culture pure sur du sérum de sang coagulé.

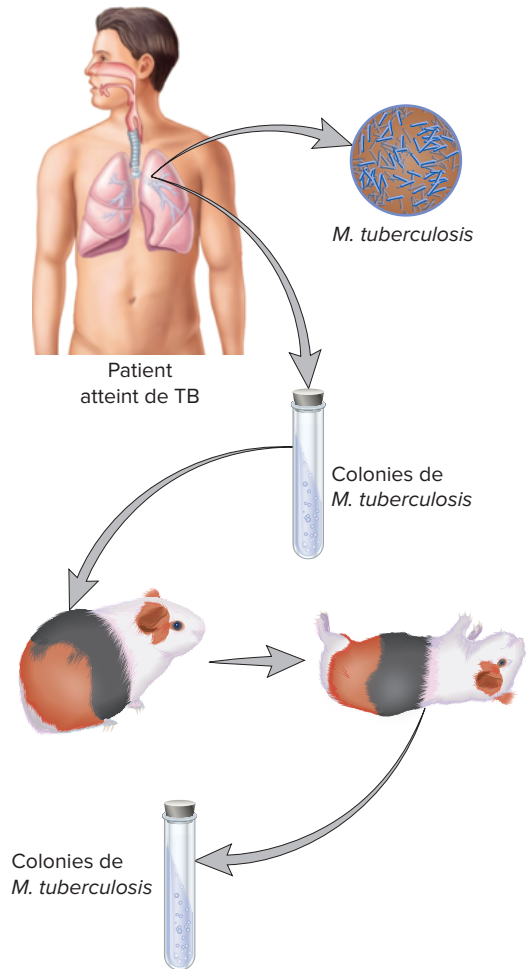


Figure 1.17 Postulats de Koch appliqués à la tuberculose.

MINI ENQUÊTE : Pourquoi le quatrième postulat est-il nécessaire?

COVID-19

Du fait qu'il s'agit d'une infection virale, le postulat de Koch n'a pas pu être utilisé pour déterminer la cause du COVID-19. À la place, le liquide pulmonaire d'un homme de 41 ans en détresse respiratoire admis à l'hôpital de Wuhan, en Chine, le 26 décembre 2019 fut analysé. Après avoir exclu les pathogènes connus, le séquençage d'acide nucléique a révélé un virus ayant une étonnante similitude de nucléotide avec les autres coronavirus précédemment isolés de chauve-souris en Chine. Le virus désormais connu comme SARS-CoV-2, fut appelé à l'origine WH-Human 1' coronavirus. Le même virus fut rapidement isolé de milliers d'autres patients et le nom de COVID-19 fut adopté.

Bien que les postulats de Koch soient largement employés, leur application n'est pas toujours possible. Par exemple, des virus et des organismes qui doivent vivre à l'intérieur de cellules hôte comme *Mycobacterium leprae*, l'agent responsable de la lèpre, ne peuvent être isolés en culture pure. Il n'y a pas de modèle animal pour certaines maladies humaines et donc les postulats ne peuvent pas être appliqués.

Pour éviter certaines de ces difficultés, les microbiologistes utilisent parfois des preuves moléculaires et génétiques. C'est ainsi que les méthodes moléculaires pourraient être utilisées pour détecter directement l'acide nucléique d'un virus dans des tissus corporels, plutôt que d'isoler le virus. Ou encore, on pourrait muter les gènes associés à la virulence d'un microbe pathogène. Dans ce cas, l'organisme muté devrait perdre tout ou partie de son pouvoir pathogène et la réintroduction du gène normal dans le mutant devrait restaurer la virulence du pathogène.

Jusqu'ici notre attention s'est surtout portée sur les méthodes de culture des bactéries. Mais, des méthodes pour cultiver les virus pathogènes ont aussi été mises au point car ils étaient également étudiés à cette époque. La découverte des virus et de leur rôle dans la maladie devint possible quand Charles Chamberland (1851-1908), un des collaborateurs de Pasteur, construisit en 1884 un filtre en porcelaine retenant les bactéries. Dimitri Ivanowski (1864-1920) et Martinus Beijerinck (1851-1931) utilisèrent le filtre pour étudier la maladie de la mosaïque du tabac. Ils trouvèrent que des extraits et de la sève de plantes malades étaient infectieux, même après filtration sur le filtre de Chamberland. Comme l'agent infectieux passait à travers le filtre conçu pour retenir les bactéries, il devait être plus petit qu'une bactérie. Beijerinck proposa les termes de « virus filtrable » pour cet agent. Il fut démontré ultérieurement que les virus étaient de petits agents acellulaires.

L'immunologie

La capacité de cultiver des micro-organismes a aussi joué un rôle déterminant dans les premières études d'immunologie. En étudiant la bactérie responsable du choléra des poules, Pasteur et Pierre Roux (1853-1933) découvrirent qu'une incubation des cultures durant de longs intervalles entre les transferts les rendait moins aptes à induire la maladie. Ces cultures étaient dites atténuées. Des poulets soumis à ces cultures atténuées restaient sains et devenaient résistants à la maladie. Pasteur désigna la culture atténuée comme un *vaccin* (du latin *vacca*, vache) en hommage à Edward Jenner (1749-1823) qui, de nombreuses années auparavant, s'était servi du liquide issu de pustules de la vaccine des vaches pour protéger les hommes de la variole (voir *Faits Historiques Importants 37.5*). Peu après, Pasteur et Chamberland préparèrent un vaccin anti-charbon atténué. ►► *Les vaccins immunisent les populations sensibles (section 35.6)*

Pasteur prépara ensuite un vaccin contre la rage en utilisant une souche atténuée du virus de la rage. Au cours de ces travaux, un garçon âgé de 9 ans, Joseph Meister, mordu par un chien enragé, fut présenté à Pasteur. Comme, en l'absence de traitement, la mort de l'enfant était certaine, Pasteur accepta de le vacciner. Joseph subit 13 injections sur 10 jours avec des préparations de plus en plus virulentes du virus atténué. Il survécut. Pour remercier Pasteur de son travail sur les vaccins, des personnes du monde entier contribuèrent à la construction de l'Institut Pasteur à Paris en France. Une des premières tâches de l'Institut fut la production de vaccins.

Toutes ces avancées pionnières en immunologie ont été réalisées sans connaissance concrète de la manière dont fonctionnait le système immunitaire. Les immunologistes savent maintenant que le système immunitaire utilise des agents chimiques et certains types de cellules sanguines pour apporter une protection. Parmi ces molécules chimiques, il y a des protéines solubles appelées anticorps, qu'on retrouve dans le sang, la lymphe et d'autres fluides organiques. Le rôle de ces substances solubles dans la prévention de la maladie a été reconnu par Emile von Behring (1854-1917) et Shibasaburo Kitasato (1852-1931). Après la découverte qu'une toxine bactérienne provoquait la diphtérie, ils injectèrent la toxine inactivée à des lapins, ce qui induisait la production d'une antitoxine et protégeait de la maladie. On sait maintenant que ces antitoxines sont des anticorps qui se fixent aux toxines et les neutralisent (voir *Points forts historiques*). Les premières cellules du système immunitaire ont été découvertes quand Elie Metchnikoff (1845-1916) observa que certaines cellules sanguines pouvaient englober des bactéries pathogènes. Il appela ces cellules des phagocytes et le processus la phagocytose (du grec *phagein*, manger).

L'écologie microbienne

Les techniques de culture ont été aussi appliquées à l'étude des micro-organismes du sol et des habitats aquatiques. Les premiers microbiologistes ont étudié le rôle des micro-organismes dans les cycles du carbone, de l'azote et du soufre. Le microbiologiste russe Serguei Winogradsky (1856-1953) apporta beaucoup à la microbiologie du sol. Il découvrit que les bactéries du sol oxydaient le fer, le soufre et l'ammoniaque pour obtenir de l'énergie et que de nombreuses bactéries pouvaient incorporer du CO₂ dans la matière organique à la manière des organismes photosynthétiques. Winogradsky isola aussi du sol des bactéries anaérobies fixatrices d'azote et étudia la décomposition de la cellulose. Martinus Beijerinck fut un des grands microbiologistes pour ses contributions fondamentales non seulement en virologie mais aussi en écologie microbienne et dans de nombreux autres domaines. Il isola les bactéries aérobies fixatrices d'azote (*Azotobacter* spp.), une bactérie d'un nodule racinaire également capable de fixer l'azote (du

genre *Rhizobium*), ainsi que des bactéries sulfatoréductrices. Beijerinck et Winogradsky développèrent également des techniques d'enrichissement des cultures et des milieux sélectifs, qui sont tellement importants en microbiologie. ►► *Les cultures d'enrichissement (section 7.7)* ; *Le recyclage biogéochimique maintient la vie sur Terre (section 28.1)*

Test de compréhension

1. Qu'a prouvé Pasteur lorsqu'il a montré qu'un bouchon de coton ayant filtré l'air pouvait déclencher la croissance. À quel problème répondait-il?
2. Discutez les contributions de Lister, Pasteur, et Koch à la théorie des maladies et leur traitement ou leur prévention.
3. Quel rôle la capacité de faire pousser des bactéries en culture pure joue-t-elle dans les postulats de Koch ?
4. Comment Jenner, Pasteur, von Behring, Kitasato et Metchnikoff ont-ils contribué au développement de l'immunologie ? Pourquoi le fait de pouvoir cultiver des micro-organismes est-il important dans leurs travaux ?
5. Comment Winogradsky et Beijerinck ont-ils contribué à l'étude de l'écologie microbienne ? Quelles nouvelles techniques de culture ont-ils mis au point ?

1.4 La microbiologie englobe de nombreuses sous-disciplines

Après la lecture de cette section, vous devriez être capable de :

- Construire un diagramme de concepts, un tableau ou un schéma qui illustre la nature diverse de la microbiologie et comment elle a amélioré les conditions humaines.
- Appuyer la conviction de nombreux microbiologistes selon laquelle la microbiologie connaît son second âge d'or.

La microbiologie contemporaine est aussi diverse que les organismes qu'elle étudie. Elle a des aspects à la fois fondamentaux et appliqués. L'orientation fondamentale concerne la biologie des micro-organismes. L'orientation appliquée concerne des problèmes pratiques tels que la maladie, le traitement de l'eau et des eaux usées, la détérioration et la production des aliments et l'utilisation industrielle des micro-organismes. Malgré cette apparente dichotomie, les orientations fondamentale et appliquée sont imbriquées l'une dans l'autre. Une recherche fondamentale est souvent menée dans des domaines appliqués et des applications découlent souvent de la recherche fondamentale.

Un développement important et récent en microbiologie est l'usage croissant de méthodes moléculaires et génomiques pour étudier les micro-organismes et leurs interactions avec d'autres organismes. Ces méthodes ont conduit à un temps de progrès rapides qui rivalise avec l'âge d'or de la microbiologie, au point que beaucoup pensent que la microbiologie vit un second âge d'or. ►► *Les technologies de l'ADN (chapitre 17)* ; *La génomique microbienne (chapitre 18)* ; *L'exploration des microbes dans les écosystèmes (chapitre 26)*

Les principaux domaines de la microbiologie

On divise souvent la microbiologie en sous-disciplines en fonction du type d'organisme étudié. La microbiologie englobe donc la bactériologie et la virologie ainsi que d'autres domaines spécifiques aux micro-organismes. La microbiologie peut également être divisée sur la base des activités des micro-organismes (par exemple, la microbiologie

environnementale et la microbiologie agronomique). Finalement, les microbiologistes peuvent n'étudier qu'un aspect de la biologie des micro-organismes dans des sous-disciplines telles que la génétique et la physiologie des micro-organismes.

Un des domaines les plus actifs et importants est la microbiologie médicale qui s'occupe des maladies humaines. En médecine, les microbiologistes identifient l'agent responsable d'une maladie infectieuse et participent à la planification des mesures pour le contrôler et l'éliminer. Fréquemment, ils sont impliqués dans l'identification de nouveaux agents pathogènes tels que l'agent responsable des virus Zika et COVID-19. Ces microbiologistes étudient aussi la façon dont les micro-organismes provoquent la maladie. Comme décrit dans la section 1.3, notre compréhension du rôle des micro-organismes dans la maladie à commencer à se cristalliser à partir du moment où nous avons pu les isoler en cultures pures. Aujourd'hui, les microbiologistes des laboratoires cliniques associés aux hôpitaux et aux autres laboratoires cliniques utilisent une grande variété de techniques pour fournir l'information requise par les médecins pour diagnostiquer les maladies infectieuses.

De grandes épidémies ont régulièrement affecté l'histoire de l'humanité. La grippe pandémique de 1918 (« la grippe espagnole ») en est un exemple impressionnant. Elle a tué plus de 50 millions de personnes en à peine un an. La microbiologie de la santé publique s'occupe du contrôle et de la propagation des maladies contagieuses. Les microbiologistes et les épidémiologistes de la santé publique mesurent la fréquence des maladies dans la population. Leurs observations leur permettent de repérer les flambées et les épidémies en développement et d'assurer les mesures de contrôle appropriées. Ils surveillent aussi bien les nouvelles maladies que les événements liés au bioterrorisme. Les microbiologistes de la santé publique travaillant pour les gouvernements locaux surveillent les entreprises alimentaires et les approvisionnements en eau de la communauté dans le but de s'assurer qu'ils sont sans danger et dépourvus d'agents pathogènes. ▶▶ *Épidémiologie et microbiologie de la santé publique (chapitre 35)*

Pour comprendre, traiter et contrôler la maladie infectieuse il est important de comprendre comment le système immunitaire protège le corps contre les pathogènes. Cette question est du ressort de l'immunologie. C'est un des domaines qui se développent le plus rapidement en science. L'accélération de sa croissance coïncida avec la découverte du virus de l'immunodéficience humaine (VIH) qui cible spécifiquement les cellules du système immunitaire. L'immunologie traite aussi des problèmes pratiques de santé tels que la nature et le traitement des allergies et des maladies auto-immunes comme l'arthrite rhumatoïde. ▶▶ *La résistance innée de l'hôte (chapitre 31) ; L'immunité adaptative (chapitre 32)*

L'écologie microbienne est un autre domaine important de la microbiologie. Les écologistes microbiens emploient une variété d'approches moléculaires et de cultures pour décrire la vaste diversité des microbes en termes de morphologie, de physiologie et de relation avec les organismes et les composants de leur habitat. Bien que l'importance des micro-organismes dans les contributions globales et locales aux cycles du carbone, de l'azote et du soufre soit bien documentée, de nombreuses questions attendent encore leur réponse. L'attention se tourne en particulier sur leur rôle dans la production et l'élimination des gaz à effets de serre comme le méthane et le dioxyde de carbone. Les microbiologistes utilisent aussi les micro-organismes dans la bioremédiation pour réduire la pollution. L'étude des micro-organismes normalement associés au corps humain (le microbiote humain) est devenue une nouvelle frontière de l'écologie microbienne. ▶▶ *Les changements climatiques globaux (section 28.3) ; L'écosystème microbien-humain (chapitre 33) ; La biodégradation et la*

bioremédiation mettent en œuvre des micro-organismes pour assainir l'environnement (section 42.4)

La microbiologie agronomique, reliée à la fois à la médecine et à l'écologie microbienne, concerne l'impact des micro-organismes sur l'agriculture. Les bactéries fixatrices d'azote sont essentielles dans le cycle de l'azote et affectent la fertilité des sols. D'autres micro-organismes vivent dans les systèmes digestifs des ruminants, comme ceux du bétail d'élevage et métabolisent les végétaux ingérés par ces animaux. Il y a aussi les pathogènes des plantes et des animaux d'élevage qui ont un impact économique important s'ils ne sont pas contrôlés. De plus, certains pathogènes des animaux domestiques provoquent également des maladies humaines. Les microbiologistes agronomes développent des méthodes pour augmenter la fertilité du sol ainsi que le rendement des récoltes et étudient les micro-organismes du rumen pour accroître la production de viande et de lait et tentent de combattre les maladies végétales et animales. Actuellement, nombre d'entre eux s'intéressent à l'utilisation de bactéries ou de virus pathogènes des insectes comme substituts des pesticides chimiques. ▶▶ *Les micro-organismes dans les écosystèmes terrestres (chapitre 30)*

La microbiologie agronomique, de même que la microbiologie alimentaire et laitière ont facilité la production abondante et rapide d'une nourriture de qualité. Ces microbiologistes étudient les microbes employés dans la fabrication d'aliments et de boissons (ex., yogourts, fromages, bières) ainsi que ceux qui sont responsables de leur détérioration ou encore aux pathogènes qui se disséminent via l'alimentation. Des exemples de ce type sont les souches d'*Escherichia coli* qui ont causé des déficiences rénales et même la mort. Dans la protection publique, les germes pathogènes dans la viande et d'autres aliments sont recherchés. Les microbiologistes de l'alimentation mènent des recherches sur l'utilisation de micro-organismes comme sources nutritives pour le bétail et les êtres humains. ▶▶ *La microbiologie alimentaire (chapitre 40)*

La microbiologie industrielle implique l'utilisation de micro-organismes pour la fabrication de produits utiles à la société. Une avancée capitale en microbiologie industrielle survint lorsqu'en 1929, Alexander Fleming découvrit que le champignon *Penicillium* sp. produisait ce qu'il appela la pénicilline, le premier antibiotique qui pouvait contrôler avec succès des infections bactériennes. Bien qu'il ait fallu attendre la seconde guerre mondiale pour que les scientifiques apprennent à la produire en masse, ils trouvèrent vite d'autres organismes capables de produire de nouveaux antibiotiques. Aujourd'hui, ils utilisent des micro-organismes pour produire des substances telles que des vaccins, des stéroïdes, des alcools et d'autres solvants, des vitamines, des acides aminés et des enzymes. Les micro-organismes sont également utilisés pour produire des biocarburants comme l'éthanol. Ces nouveaux carburants sont renouvelables et peuvent aider à réduire la dépendance aux carburants fossiles. ▶▶ *La production de biocarburant est un domaine dynamique (section 41.2) ; Les micro-organismes sont la source de nombreux produits importants (section 42.3)*

Les progrès en microbiologie médicale, agronomique, alimentaire et industrielle sont, à bien des égards, des conséquences directes des travaux effectués en recherche fondamentale par des microbiologistes dans des domaines tels que la physiologie, la génétique, la biologie moléculaire et la bio-informatique microbiennes. La diversité métabolique des micro-organismes est considérable. Les physiologistes étudient de nombreux aspects de la biologie des micro-organismes dont leurs capacités métaboliques. Ils s'intéressent aussi à la synthèse des antibiotiques et des toxines, à la façon dont les micro-organismes survivent aux conditions extrêmes, aux effets d'agents chimiques et physiques sur la croissance et la survie microbiennes. Les généticiens, biologistes moléculaires

et bio-informaticiens se concentrent sur la nature de l'information génétique et sur la façon dont elle régle le développement et le fonctionnement des cellules et des organismes. Les bactéries *Escherichia coli* et *Bacillus subtilis*, la levure de boulangerie *Saccharomyces cerevisiae* et les bactériophages T4 et lambda continuent d'être des modèles importants pour comprendre les phénomènes biologiques.

Manifestement, le futur de la microbiologie est brillant. La génomique, en particulier, est en train de révolutionner la microbiologie. En effet, les scientifiques commencent à comprendre maintenant les organismes *in toto*, plutôt que par le biais de l'approche réductionniste, parcellaire. Comment évoluent les génomes des micro-organismes, la nature des interactions hôtes-pathogènes, la combinaison minimale de gènes requis pour la survie d'un organisme, et de nombreux autres

sujets sont à l'heure actuelle étudiés avec ardeur via des approches moléculaires et génomiques. L'époque est excitante pour un microbiologiste. Que le voyage proposé dans ces pages vous soit agréable !

Test de compréhension

1. Décrivez brièvement les principales sous-disciplines de la microbiologie. Lesquelles considérez-vous comme appliquées ? Lesquelles sont-elles fondamentales ?
2. Notez tous les produits microbiens que vous utilisez en une semaine. Considérez bien tous les aliments et les médicaments (y compris les vitamines).
3. Citez toutes les activités ou entreprises vous venant à l'esprit qui, dans votre communauté, dépendent directement de la microbiologie.

Concepts clés

1.1 Les membres du monde microbien

- La microbiologie étudie des organismes microscopiques qui sont souvent unicellulaires ou qui, s'ils sont pluricellulaires, n'ont pas de tissus très différenciés. La discipline s'intéresse aussi à des entités biologiques acellulaires (**figure 1.1**).
- Les microbiologistes répartissent les organismes en trois domaines : les *Bacteria*, les *Archaea* et les *Eucarya* (**figure 1.3**).
- Les domaines des *Bacteria* et des *Archaea* comprennent les micro-organismes dépourvus d'organites. Les micro-organismes eucaryotes (protistes et champignons) sont placés dans les *Eucarya*. Les virus, viroïdes, satellites et prions sont des entités acellulaires, qui ne sont placées dans aucun des domaines et qui sont classées selon un système différent.

1.2 Les micro-organismes ont évolué et se sont diversifiés pendant des milliards d'années

- La Terre a environ 4,5 milliards d'années. La vie a émergé pendant le premier milliard d'années de son existence (**figure 1.4**).
- L'hypothèse du monde d'ARN postule que la plus ancienne entité auto-répliquative sur la Terre a utilisé de l'ARN inclus dans une bicouche lipidique. L'ARN emmagasine l'information génétique et conduit des processus cellulaires (**figure 1.5**).
- Le dernier ancêtre universel commun (LUCA) est placé sur la branche bactérienne de l'arbre phylogénétique universel (**figure 1.3**). En conséquence, on pense que les *Bacteria* ont été les premières à diverger, tandis que les *Archaea* et les *Eucarya* sont apparues plus tard.
- Les comparaisons des protéines domestiques et des gènes de la petite sous-unité de l'ARNr (ARNr-PSU) ont été utiles pour former des arbres phylogénétiques universels (**figure 1.8**).
- Les relations phylogénétiques sont souvent représentées sous forme de diagrammes appelés arbres phylogénétiques. Ces arbres peuvent être construits en utilisant des démarches basées sur la distance ou sur les caractères (**figure 1.9**).

- Les arbres peuvent être enracinés ou non-enracinés. Les arbres non-enracinés peuvent être enracinés en incluant un groupe extérieur lorsque l'on bâtit l'arbre (**figure 1.10**).
- Les rangs taxinomiques sont positionnés selon une hiérarchie sans recouvrement (**figure 1.11**). Les espèces sont nommées selon le système binomial de Linné.
- Le concept d'espèce chez les bactéries et les archées est difficile à définir car ces microbes ne se reproduisent pas sexuellement.

1.3 La microbiologie a progressé avec le développement de nouveaux outils pour étudier les micro-organismes

- La microbiologie est définie non seulement par les organismes qu'elle étudie, mais aussi par les outils qu'elle utilise. La microscopie et les techniques de culture des micro-organismes ont joué et jouent encore un rôle déterminant dans l'évolution de cette discipline.
- Antonie van Leeuwenhoek a utilisé des microscopes simples et a été le premier à largement décrire des micro-organismes (**figure 1.13**).
- Les techniques basées sur la culture des micro-organismes ont commencé à se développer pendant la controverse sur la génération spontanée. Les expériences de Francesco Redi et d'autres ont discrédité la théorie de la génération spontanée en ce qui concerne les plus grands organismes. La génération spontanée des micro-organismes a été réfutée par Louis Pasteur et d'autres (**figure 1.15**).
- Les postulats de Koch sont utilisés pour prouver une relation directe entre un agent pathogène suspect et une maladie. Lorsque Koch et ses collaborateurs ont développé les techniques nécessaires au développement des bactéries sur des milieux solides et à l'isolement de cultures pures de pathogènes (**figure 1.17**).
- Les virus ont été découverts suite à l'invention d'un filtre bactérien par Charles Chamberland. Dimitri Ivanowski et Martinus Beijerinck ont grandement contribué au domaine de la virologie.
- Le domaine de l'immunologie s'est développé quand les premiers microbiologistes ont créé des vaccins et découverts les anticorps et

les cellules phagocytaires. Pasteur, von Behring, Kitasato et Metchnikoff ont été des contributeurs importants dans ce domaine.

- L'écologie microbienne a pris son essor au départ des travaux de Sergei Winogradsky et Beijerinck. Ils ont étudié le rôle des micro-organismes dans les cycles du carbone, de l'azote et du soufre et ont développé des techniques d'enrichissement des cultures et des milieux sélectifs.

1.4 La microbiologie englobe de nombreuses sous-disciplines

- Il y a de nombreux domaines en microbiologie. Cela comprend la microbiologie médicale, la microbiologie de la santé publique, la microbiologie industrielle et la microbiologie alimentaire et laitière. La microbiologie écologique, la physiologie, et la génétique sont des sous-disciplines de la microbiologie.

Apprentissage actif

1. Pourquoi les virus, viroïdes, satellites et prions ne sont-ils pas inclus dans le système des trois domaines ?
2. Certains individus peuvent être infectés par un germe pathogène et pourtant ne pas développer de maladie. En fait, certains deviennent des porteurs chroniques du pathogène. En quoi cette observation affecte-t-elle les postulats de Koch ? Comment les postulats pourraient-ils être modifiés pour tenir compte de l'existence de ces porteurs chroniques ?
3. Défendez cette affirmation : « Les vaccinations contre différentes maladies infantiles ont contribué à l'entrée des femmes, particulièrement des mères, sur le marché du travail à temps plein »
4. Pendant de nombreuses années, les plus anciens stromatolites apportant les preuves d'une vie ancienne sur Terre furent trouvées dans l'Ouest de l'Australie. Les communautés microbiennes qui ont construit ces structures sédimentaires ont été datées d'environ 3,5 milliards d'années. Cependant, en 2016 des stromatolites du Groenland ont été évaluées à 3,7 milliards d'années. Il faut noter

que la complexité et la morphologie des stromatolites du Groenland sont semblables à celles de l'Australie. Pourquoi y-a-t-il intérêt à dater les plus anciennes vies sur terre ? Qu'est-ce que cela peut suggérer en termes d'évolution pendant les derniers 200 millions d'années ? Quelle signification, si toutefois il y en a une, la distribution géographique de ces stromatolites peut-elle avoir ?

5. L'hypothèse mondiale de l'ARN suggère que les ribonucléotides se sont assemblés pour former les ARN, dont quelques-uns ont une activité catalytique, comme c'est le cas des ribozymes actuels. Il a été suggéré récemment que des ribonucléotides inhabituels ou modifiés (appelés non-canoniques) auraient pu être essentiels dans la création de ces premiers ribozymes. Pourquoi a-t-on théorisé sur la participation de ces ribonucléotides non-canoniques ? Pourquoi ces nucléotides auraient-ils par la suite été éliminés ?

Lire l'article original : Wolk, S.K., *et al.* 2020. Modified nucleotides may have enhanced RNA catalysis. *Proc. Natl. Acad. Sciences, USA.* 117:8236-8242. doi.org/10.1073/pnas.1809041117.

2

La microscopie

L'attaque bioterroriste au charbon de 2001

Lors d'un voyage vers la Caroline du Nord en fin de septembre 2001, un photjournaliste de 63 ans de Floride a commencé à se sentir mal. Ses muscles étaient douloureux, il était nauséux et fiévreux. À son retour chez lui, ses symptômes empirèrent considérablement et le 2 octobre, il se réveilla en vomissant. Ce qui était plus alarmant, c'était son état de confusion mentale. Au service d'urgence local où sa femme l'avait conduit, les médecins suspectèrent une méningite, il lui firent une ponction lombaire et collectèrent du liquide céphalorachidien. Ce liquide fut envoyé au laboratoire de l'hôpital où il fut soumis à une coloration de Gram. À la grande surprise des scientifiques du laboratoire clinique, l'échantillon contenait de longs bâtonnets Gram-positifs disposés en chaînes, une morphologie inhabituelle pour des bactéries responsables d'une méningite classique. Sur la base des résultats de la coloration de Gram, les médecins diagnostiquèrent un charbon pulmonaire. Ceci était très surprenant, du fait qu'un charbon pulmonaire était extrêmement rare aux États-Unis. Les médecins entreprirent immédiatement une antibiothérapie, mais l'état du photjournaliste continua d'empirer et il mourut le 5 octobre.

C'est ainsi que débuta la première attaque bioterroriste au charbon aux États-Unis. Au cours des cinq semaines suivantes, 16 autres personnes développèrent un charbon pulmonaire, immédiatement après l'ouverture d'un courrier contenant des spores de *Bacillus anthracis*. Quatre d'entre elles moururent. Suite à cette attaque, on apprit beaucoup sur cette maladie et sur l'état de préparation du pays dans le traitement du bioterrorisme. Cet événement était aussi un rappel de la grande importance de la microscopie en microbiologie et dans le diagnostic de la maladie.



Des membres de l'équipe des matières dangereuses à l'extérieur du Capitole de Washington pendant l'attaque bioterroriste au charbon de 2001.

Ce chapitre décrit certains des types de microscopes les plus couramment utilisés. Cette description débute par les microscopes optiques, puis se poursuit par d'autres types ordinaires de microscopes aussi bien que par la manière de préparer les échantillons pour un examen microscopique.

Test de connaissance

En vous basant sur ce que vous avez appris auparavant, vous devriez être capable de :

- ✓ Expliquer pourquoi la microscopie est un outil important utilisé par les microbiologistes (section 1.1 et 1.3)
- ✓ Définir le grossissement
- ✓ Estimer la taille des organismes en utilisant le système métrique (tableau 2.1)

Tableau 2.1 Unités de mesure les plus utilisées		
Unité	Abréviation	Valeur
1 centimètre	cm	10^{-2} mètre
1 millimètre	mm	10^{-3} mètre
1 micromètre	μm	10^{-6} mètre
1 nanomètre	nm	10^{-9} mètre
1 Angström	Å	10^{-10} mètre

2.1 Les lentilles créent des images en déviant la lumière

Après la lecture de cette section, vous devriez être capable de :

- Relier les indices de réfraction du verre et de l'air au trajet fait par la lumière lorsqu'elle passe à travers un prisme ou une lentille convexe
- Mettre en corrélation la puissance d'une lentille et la distance focale

Les microscopes optiques ont été les premiers microscopes inventés et ils continuent d'être le type le plus communément employé. Le but de tous les microscopes est d'agrandir avec précision, ou d'amplifier, l'image d'un objet. Pour comprendre le fonctionnement d'un microscope optique, il faut considérer la façon dont les lentilles dévient et focalisent la lumière pour former des images. Quand un rayon lumineux passe d'un milieu à un autre, il est réfracté, c'est-à-dire qu'il est dévié à l'interface. L'**indice de réfraction** mesure de combien une substance ralentit la vitesse de la lumière; la direction et l'angle de déviation sont déterminés par les indices de réfraction des deux

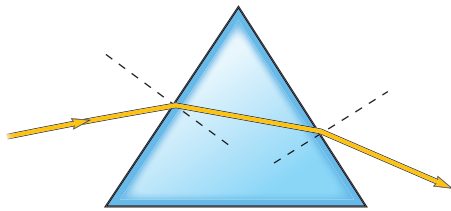


Figure 2.1 La déviation de la lumière par un prisme. Les normales (les droites perpendiculaires à la surface du prisme) sont indiquées par des traits interrompus. Quand le rayon lumineux pénètre dans le prisme, il est dévié vers la première normale. Quand il quitte le verre et retourne dans l'air, il s'écarte de la seconde normale.

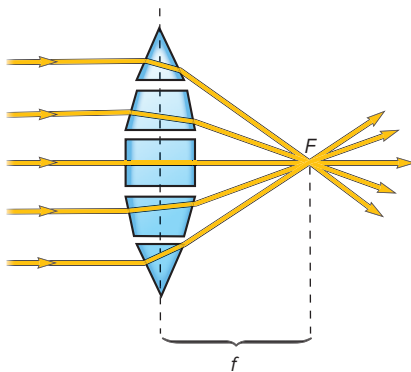


Figure 2.2 Le fonctionnement d'une lentille. Une lentille fonctionne un peu comme une collection de prismes. Les rayons lumineux provenant d'une source éloignée sont focalisés au foyer F. Le foyer se trouve à une distance f , la distance focale, du centre de la lentille.

MINI ENQUÊTE Si la lentille montrée ici était plus épaisse, que deviendrait la distance focale ?

milieux formant l'interface. Quand un rayon lumineux passe de l'air dans du verre, un milieu à indice de réfraction plus élevé, il est ralenti et est dévié vers la normale, une ligne perpendiculaire à la surface (**figure 2.1**). Quand le rayon lumineux quitte le verre et retourne dans l'air, un milieu dont l'indice de réfraction est plus petit, il est accéléré et s'écarte de la normale. Donc, un prisme de verre dévie un rayon lumineux, parce qu'il a un indice de réfraction différent de celui de l'air et le rayon lumineux fait un angle à sa surface.

Les lentilles fonctionnent comme une collection de prismes opérant ensemble. Quand la source lumineuse est éloignée, les rayons lumineux pénétrant dans la lentille sont pratiquement parallèles. La lentille convexe focalise ces rayons en un point spécifique, le foyer (F dans la **figure 2.2**). La distance entre le centre de la lentille et le foyer est appelée distance focale (f dans la figure 2.2).

Nous ne pouvons pas accommoder notre regard sur des objets situés à une distance inférieure à 25 cm. On dépasse cette limite en utilisant une lentille convexe comme simple loupe (ou microscope) et en la tenant tout près de l'objet. Une loupe donne une image nette, à une distance beaucoup plus proche de l'œil, et l'objet apparaît plus grand. La puissance d'une lentille dépend de la distance focale. Une lentille ayant une distance focale courte agrandit plus un objet qu'une lentille dont la distance focale est plus grande.

Test de compréhension

1. En quoi la réfraction, l'indice de réfraction, le foyer et la distance focale diffèrent-ils ?
2. Décrivez le chemin d'un rayon lumineux au travers d'un prisme ou d'une lentille.
3. Si les lentilles de la question précédente étaient équipées des lunettes correctives, lesquelles seraient utilisées pour lire et lesquelles pour la vision à distance ?

2.2 Il y a plusieurs types de microscopes optiques

Après la lecture de cette section, vous devriez être capable de :

- Évaluer les contributions des parties d'un microscope optique dans la production d'une image et l'utilisation du microscope
- Prédire le degré relatif de résolution basé sur la longueur d'onde et l'ouverture numérique de la lentille employée pour examiner un spécimen
- Créer un tableau comparant et différenciant les divers types de microscopes optiques en fonction de leur emploi, des images créées et de la qualité des images produites

Les microbiologistes utilisent couramment divers microscopes optiques dans leur travail. Chacun d'eux a son utilité pour des applications précises. Les microscopes modernes sont tous des microscopes composés, c'est-à-dire qu'ils ont deux jeux de lentilles. L'**objectif** est la lentille la plus proche de l'échantillon, il forme une image agrandie qui est encore agrandie par une ou plusieurs lentilles supplémentaires.

Le microscope à fond clair : l'objet foncé, le fond clair

Le **microscope à fond clair** est utilisé en routine de microbiologie où il peut être employé pour l'analyse d'échantillons colorés ou non. Il forme

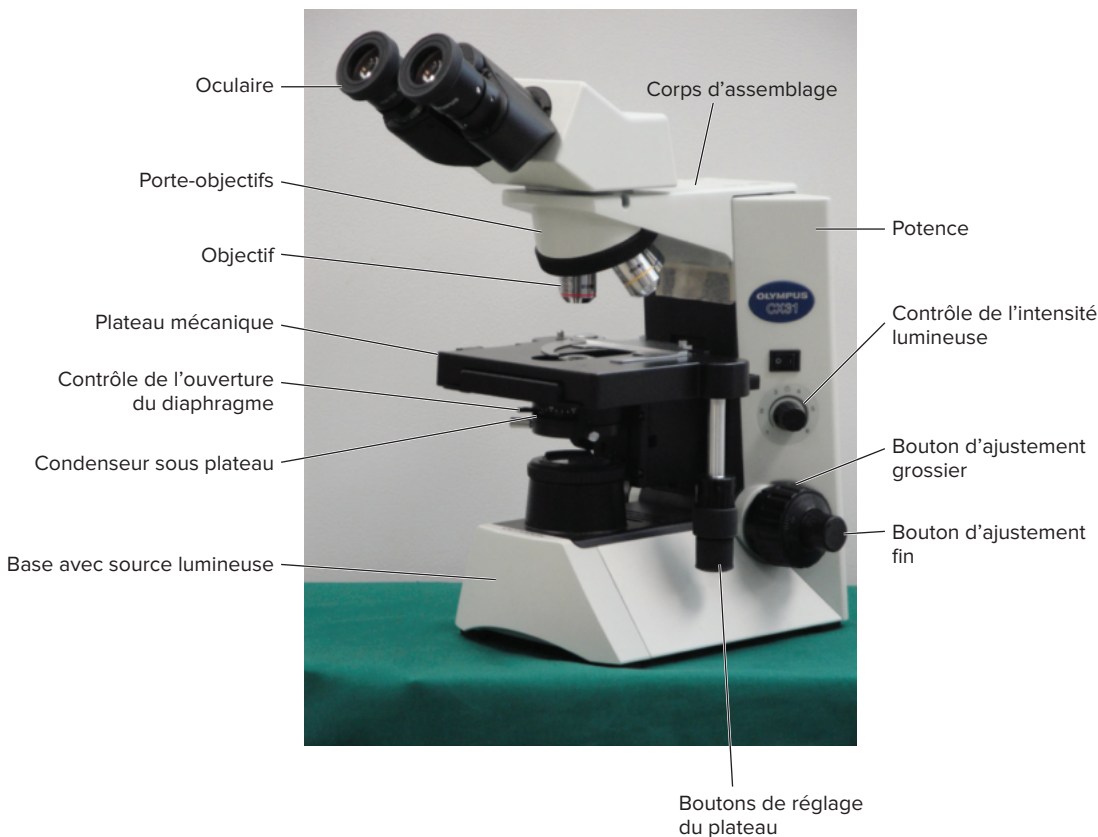


Figure 2.3 Un microscope à fond clair.

une image foncée sur un fond plus clair. Il est constitué d'un corps métallique robuste, composé d'un socle et d'une potence sur laquelle les autres parties sont attachées (figure 2.3). Une source lumineuse est située dans le socle. Deux boutons de focalisation, les boutons d'ajustement fin et grossier, sont localisés sur la potence et peuvent déplacer le plateau ou le porte-objectifs pour permettre la mise au point de l'image.

La platine est positionnée à mi-hauteur de la potence. Les lames des microscopes sont attachées sur la platine, qui peut être déplacée pendant l'observation par rotation de boutons de contrôle. La **lentille du condenseur** de la sous-platine (ou simplement, condenseur) est montée à l'intérieur ou sous le plateau et dirige un cône de lumière vers la lame porte-objet. Sa position est souvent fixe sur les microscopes les plus simples, mais elle peut être ajustée verticalement sur les modèles plus évolués.

La partie supérieure courbe de la potence porte le corps auquel sont attachés le porte-objectifs et un ou plusieurs **oculaires**. Les microscopes binoculaires ont un oculaire pour chaque œil. Le corps lui-même contient une série de miroirs et de prismes, la partie cylindrique portant l'oculaire peut ainsi être inclinée pour faciliter l'observation. Le porte-objectifs porte trois à cinq **objectifs** avec des lentilles de puissance de grossissement différente, et peut pivoter pour changer le grossissement. Idéalement un microscope devrait être **parfocal** ; c'est-à-dire que l'image devrait rester au point lorsqu'on change d'objectif.

L'image vue lors de l'examen d'un échantillon dans un microscope composé est créée par l'action combinée de l'objectif et de l'oculaire. La lumière provenant de l'échantillon illuminé est focalisée par l'objectif formant une image agrandie dans le microscope. L'oculaire agrandit encore cette première image. Le grossissement total est

calculé en multipliant le grossissement de l'objectif par celui de l'oculaire. Par exemple, un objectif 45×, utilisé avec un oculaire 10×, donnera un grossissement total de l'échantillon de 450×.

Une meilleure résolution du microscope signifie une image plus claire

La partie la plus importante du microscope est l'objectif. Il doit produire une image nette et pas uniquement un agrandissement. La **résolution** est donc très importante. La **résolution** est la capacité d'une lentille de séparer ou distinguer deux objets proches l'un de l'autre, plutôt qu'un seul objet agrandi. Au mieux, la résolution d'un microscope à fond clair est de 0,2 μm, qui est environ la dimension d'une très petite bactérie. Pourquoi est-ce le cas ? La résolution est en partie dépendante de l'**ouverture numérique** ($n \sin \theta$) de la lentille. L'ouverture numérique ($n \sin \theta$) d'une lentille est définie par deux composants : n est l'indice de réfraction du milieu dans lequel agit la lentille et θ est la moitié de l'angle du cône de lumière entrant dans l'objectif (figure 2.4). Un cône ayant un angle très étroit ne sépare pas adéquatement les rayons émanant d'objets très proches l'un de l'autre et les images ne sont pas résolues. Un cône de lumière ayant un angle très large peut séparer les rayons et des objets très proches l'un de l'autre paraissent largement séparés et résolus. Souvenez-vous que les indices de réfraction de toutes les matières, à travers lesquelles les ondes lumineuses passent, déterminent la direction des rayons lumineux émanant de l'échantillon. Les lentilles de l'objectif sont souvent utilisées dans l'air ; comme $\sin \theta$ ne peut pas être plus grand que 1 (θ maximum

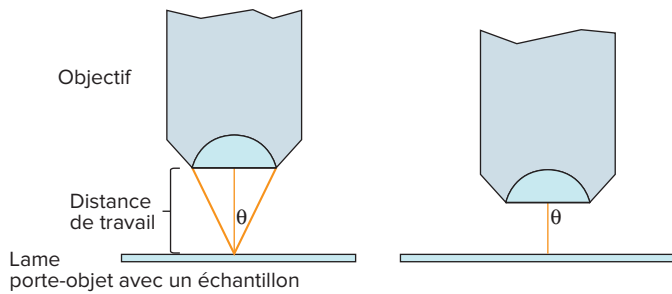


Figure 2.4 L'ouverture numérique d'un microscope. L'ouverture angulaire est associée à une valeur appelée l'ouverture angulaire (symbolisée par θ), qui est la moitié de l'angle du cône de lumière provenant de l'échantillon et pénétrant dans une lentille. L'équation de l'ouverture numérique est $n \sin \theta$. À droite de l'illustration, la lentille a une ouverture angulaire et numérique plus grande ; sa résolution est supérieure et sa distance de travail plus petite.

est 90° et $\sin 90^\circ$ est 1,00), aucune lentille utilisée dans l'air ne peut avoir une ouverture numérique supérieure à 1,00. Le seul moyen pratique d'augmenter l'ouverture numérique au-dessus de 1,00 et donc d'atteindre une meilleure résolution, est d'augmenter l'indice de réfraction avec de l'huile à immersion, un liquide incolore ayant le même indice de réfraction que le verre (tableau 2.2). En remplaçant l'air par de l'huile à immersion, beaucoup de rayons lumineux, qui ne pénétraient pas dans l'objectif à cause de la réflexion et de la réfraction à la surface de l'objectif et de la lame, y entreront (figure 2.5). Il en résulte une augmentation de l'ouverture numérique et de la résolution.

La résolution est décrite mathématiquement par une équation développée en 1870 par Ernst Abbé (1840-1905), un physicien allemand responsable d'une grande partie de la théorie optique sous-jacente relative à la conception des microscopes. L'équation d'Abbé établit que la distance minimale (d) entre deux objets qui se révèle comme des entités séparées dépend de la longueur d'onde de la lumière (λ) utilisée pour éclairer l'échantillon et de l'ouverture numérique de la lentille ($n \sin \theta$), qui est l'aptitude de la lentille à concentrer la lumière.

$$d = \frac{0,5 \lambda}{n \sin \theta}$$

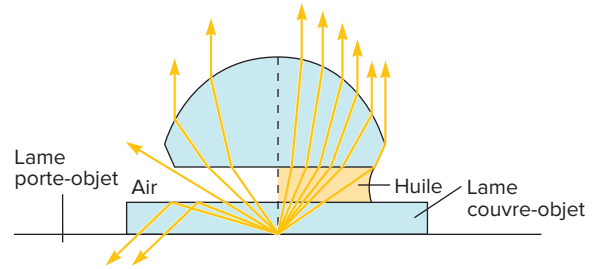


Figure 2.5 L'objectif à immersion d'huile. Objectif à immersion opérant dans l'air et dans de l'huile à immersion.

La plus petite valeur d est celle qui offre la meilleure résolution, et qui permet de discerner les détails les plus fins dans un échantillon ; d devient plus petit lorsque la longueur d'onde de la lumière utilisée diminue et que l'ouverture numérique s'accroît. Ainsi, la meilleure résolution est obtenue en utilisant une lentille avec une ouverture numérique la plus élevée possible et une lumière de longueur d'onde la plus courte, à l'extrémité bleue du spectre visible (entre 450 et 500 nm).

L'examen de la figure 2.4 montre qu'un des objectifs est plus proche de l'échantillon que l'autre. Plus précisément, l'objectif de droite a une ouverture numérique plus grande et une distance de visualisation plus courte. Celle-ci correspond à la distance entre la surface de la lentille et la surface de la lame couvre-objet (s'il y en a une) ou de l'échantillon, après une mise au point fine. Comme illustré ici, les objectifs à larges ouvertures numériques et à grand pouvoir de résolution ont des distances de visualisation courtes (tableau 2.2).

L'ouverture numérique est aussi une caractéristique importante d'un condenseur. C'est une grande lentille convergente qui dirige un large cône de lumière à travers la lame et dans l'objectif. Même si les condenseurs ont une ouverture numérique comprise entre 1,2 et 1,4, cette ouverture numérique ne dépassera pas environ 0,9 sauf s'il y a de l'huile entre le sommet du condenseur et le bas de la lame. En microscopie courante, il n'y a pas d'huile sur le condenseur ce qui limite la résolution globale du microscope même équipé d'un objectif à immersion.

Le calcul le plus exact du pouvoir de résolution d'un microscope dépend de l'ouverture numérique de la lentille de l'objectif et de celle

Tableau 2.2 Les propriétés des objectifs

Propriété	Objectif			
	Balayage	Faible puissance	Puissance élevée	Huile à immersion
Grossissement	4×	10×	40-45×	90-100×
Ouverture numérique	0,10	0,25	0,55-0,65	1,25-1,4
Distance focale approximative (f)	40 mm	16 mm	4 mm	1,8-2,0 mm
Distance de travail	17-20 mm	4-8 mm	0,5-0,7 mm	0,1 mm
Pouvoir de résolution approximatif avec une lumière de 450 nm (lumière bleue)	2,3 μm	0,9 μm	0,35 μm	0,18 μm

du condenseur comme le montre l'équation suivante, où NA est l'ouverture numérique.

$$d_{\text{microscope}} = \frac{\lambda}{NA_{\text{objectif}} + NA_{\text{condenseur}}}$$

Mais, de manière générale la limite de la résolution d'un microscope optique est calculée en utilisant l'équation d'Abbé, applicable au seul objectif. Nous comprenons maintenant pourquoi le pouvoir de résolution théorique maximum d'un microscope, quand on observe un échantillon en utilisant un objectif à immersion (ouverture numérique de 1,25) et une lumière bleu-vert, est approximativement de 0,2 μm .

$$d = \frac{0,5 \times 530 \text{ nm}}{1,25} = 212 \text{ nm ou } 0,2 \mu\text{m}$$

Étant donné la limite de la résolution d'un microscope optique, il est possible de déterminer le plus fort grossissement – le grossissement nécessaire pour augmenter la taille du plus petit objet observable afin qu'il soit rendu visible par un microscope optique. Notre œil peut à peine détecter un point de 0,2 mm de diamètre et par conséquent la limite utile du grossissement est environ 1 000 fois l'ouverture numérique de l'objectif. La plupart des microscopes classiques ont un oculaire de 10 \times et le grossissement maximum avec l'huile à immersion est de 1000 \times . On peut utiliser un oculaire 15 \times avec de bons objectifs pour atteindre un grossissement de 1500 \times . Une augmentation supplémentaire du grossissement ne permettra pas de voir plus de détails. On pourrait en effet construire un microscope optique qui aurait un grossissement final de 10000 \times , mais il agrandirait un flou. Seul le microscope électronique a une résolution suffisante pour permettre des grossissements fiables plus importants.

La visualisation des micro-organismes vivants non colorés

Les microscopes à fond clair sont probablement ceux qui sont les plus fréquents dans les laboratoires scolaires, de recherche et cliniques. Cependant, les microbes ne sont pas pigmentés et donc ne sont pas clairement visibles à cause de la faible différence de contraste entre les cellules, les structures subcellulaires et l'eau. Ainsi qu'il apparaîtra dans la section 2.3, une solution à ce problème est de colorer les cellules avant de les observer pour accroître le contraste et produire des différences de coloration entre les structures cellulaires. Malheureusement, les procédés de coloration usuels détruisent les cellules. Mais que faire si un investigateur cherche à visualiser des cellules vivantes. Trois types de microscopes optiques créent des images détaillées et claires d'échantillons vivants : les microscopes à fond noir, les microscopes à contraste de phase, et les microscopes à contraste d'interférence différentielle.

Le microscope à fond noir : Objet clair, fond noir

Le **microscope à fond noir** fournit des images détaillées des cellules et des organismes vivants non colorés en modifiant simplement la façon dont ils sont éclairés. Un cône creux de lumière est dirigé vers l'échantillon de sorte que les rayons non réfléchis et non réfractés n'entrent pas dans l'objectif. Seule la lumière réfléchi ou réfractée par l'échantillon forme une image (figure 2.6). Le champ qui entoure l'échantillon apparaît noir, tandis que l'objet lui-même est

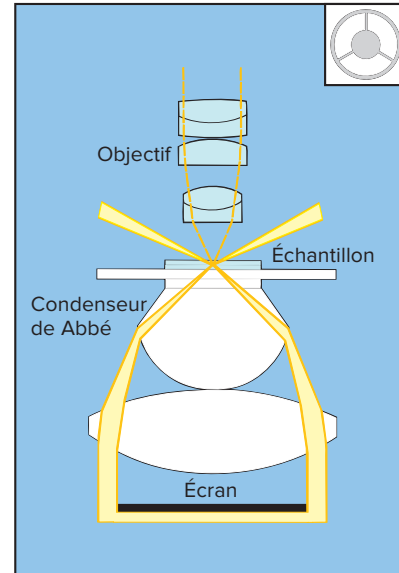


Figure 2.6 Le microscope à fond noir. Dans un microscope à fond noir, un écran (insert) à fond noir est placé sous le système du condenseur à lentilles. Ce condenseur produit un cône creux de lumière de sorte que la seule lumière, qui entre dans l'objectif est réfléchi et réfractée par l'échantillon.

brillant (figure 2.7). Le microscope à fond noir peut révéler de grandes structures internes dans les plus grands micro-organismes eucaryotes (figure 2.7b). Il est également utilisé pour identifier des bactéries telles que *Treponema pallidum*, l'agent de la syphilis (figure 2.7a).

Le microscope à contraste de phase

Pour comprendre le microscope à contraste de phase, considérons une bactérie dans une goutte d'eau sur une lame de microscope (par ex. un montage humide) comme illustré dans la figure 2.8. Les indices de réfraction de nombreuses structures cellulaires bactériennes sont supérieurs à celle de l'eau. En conséquence, les ondes lumineuses passant à travers une structure cellulaire seront diffractées et plus ralenties que les ondes passant à travers l'eau (interne et externe à la cellule). Donc deux types d'ondes lumineuses sont produites : les ondes déviées qui interagissent avec les structures cellulaires bactériennes et les ondes non déviées passant autour et dans la cellule. Parce que les ondes déviées sont ralenties par rapport aux non déviées, on dit qu'elles sont déphasées. C'est-à-dire que les crêtes et creux des ondes déviées et non déviées ne sont plus alignés. Habituellement, les ondes lumineuses déviées sont retardées d'environ $\frac{1}{4}$ de longueur d'onde comparativement aux ondes non déviées (figure 2.8).

Un **microscope à contraste de phase** tire parti de ce phénomène pour créer des différences d'intensité lumineuse qui donne un contraste permettant à l'observateur de voir une image plus claire et plus détaillée de l'échantillon (figure 2.9). Il le fait en séparant les deux types de lumière de manière telle que la lumière non déviée (principalement celle de l'environnement) puisse être manipulée, puis

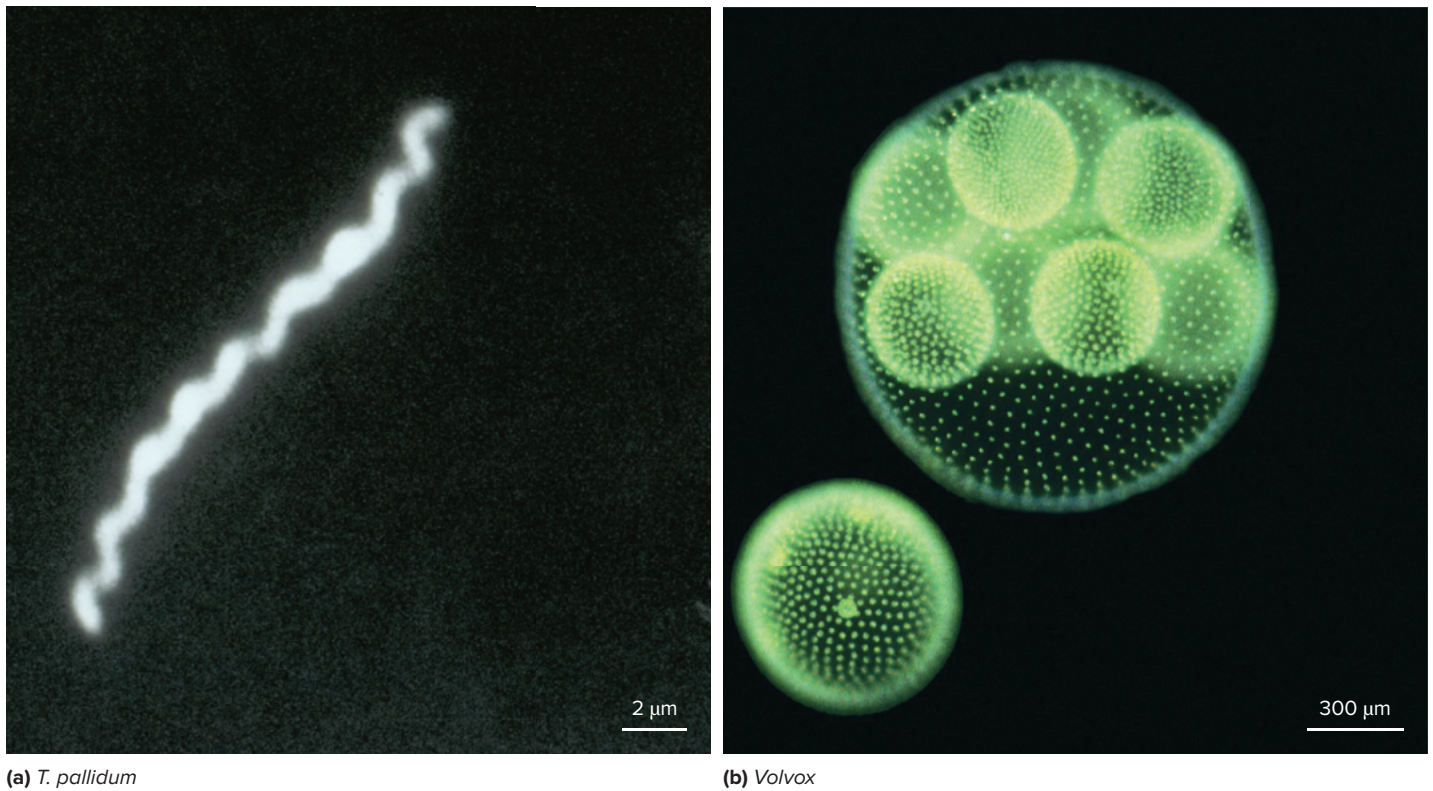


Figure 2.7 Exemples de microscopie à fond noir. (a) *Treponema pallidum*, le spirochète responsable de la syphilis. (b) Le protiste *Volvox*. Notez les colonies filles à l'intérieur de la colonie mature de *Volvox*.

(a) CDC/Schwartz; (b) Stephen Durr

recombinée avec la lumière déviée (la lumière de la bactérie) pour former une image. Deux composants le permettent : un anneau du condenseur et une lame de phase (figure 2.10). L'anneau du condenseur est un disque opaque avec un anneau fin transparent. Un anneau lumineux est dirigé par l'anneau vers le condenseur qui concentre la lumière sur l'échantillon comme illustré dans la figure 2.10. La lumière déviée et non déviée passe ensuite à travers l'objectif vers la lame de phase. Cette lame a un anneau étroit à travers lequel la lumière non déviée (c-à-d. de l'environnement) est dirigée (figure 2.8). Dans un microscope à contraste de phase ordinaire (contraste de phase positif), l'anneau est recouvert d'une substance qui avance la phase de la lumière déviée d'un $\frac{1}{4}$ de longueur d'onde. La lumière déviée est orientée sur le reste de la lame de phase qui laisse passer cette lumière sans la changer. Après avoir quitté la lame de phase, les lumières déviées et non déviées sont maintenant déphasées de $\frac{1}{2}$ longueur d'onde (figure 2.8). Lorsque les deux rayons se recombinaient pour former une image, ils se modifient l'un l'autre, un phénomène appelé interférence destructive. On observe

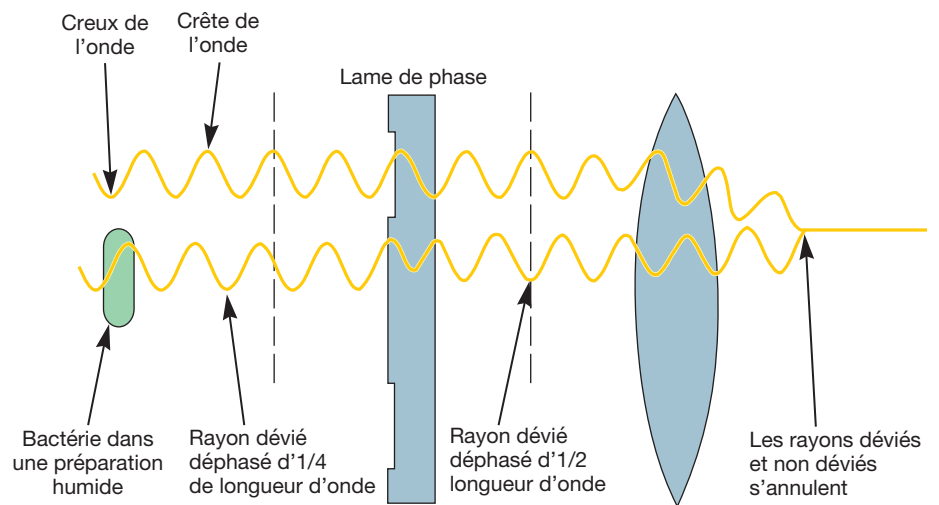


Figure 2.8 La production de contraste dans un microscope à contraste de phase. Le comportement des rayons lumineux déviés et non déviés (c-à-d. non diffractés) dans un microscope à contraste de phase positif. Comme les rayons lumineux tendent à s'annuler, l'image de l'échantillon sera sombre sur un fond clair.

également cette interférence destructive lorsque la crête d'une vague d'eau rencontre le creux d'une autre vague, les deux se « neutralisent » et la surface de l'eau reste calme au point de rencontre. Dans notre



(a) Une amibe

(b) *Paramecium* sp.

Figure 2.9 Exemples de microscopie à contraste de phase.

(a) Une amibe, un micro-organisme eucaryote qui se déplace au moyen de pseudopodes, s'étendant de la partie principale du corps cellulaire.
 (b) *Paramecium* sp. coloré pour montrer un macronoyau central et un micronoyau sphérique à son côté.

(a) Stephen Durr; (b) James Redfearn/McGraw-Hill

exemple, l'image résultante consiste en une bactérie sombre sur un fond plus clair.

Le microscope à contraste de phase est spécialement utilisé pour étudier la mobilité microbienne, pour déterminer la forme des cellules vivantes et pour détecter des constituants bactériens tels que les endospores et les inclusions. Tout cela se voit clairement car les indices de réfraction sont assez différents de celui de l'eau. Les microscopes à contraste de phase servent aussi beaucoup à l'étude des cellules eucaryotes. ►► *Les inclusions (section 3.7) ; Les endospores bactériennes sont une stratégie de survie (section 3.10)*

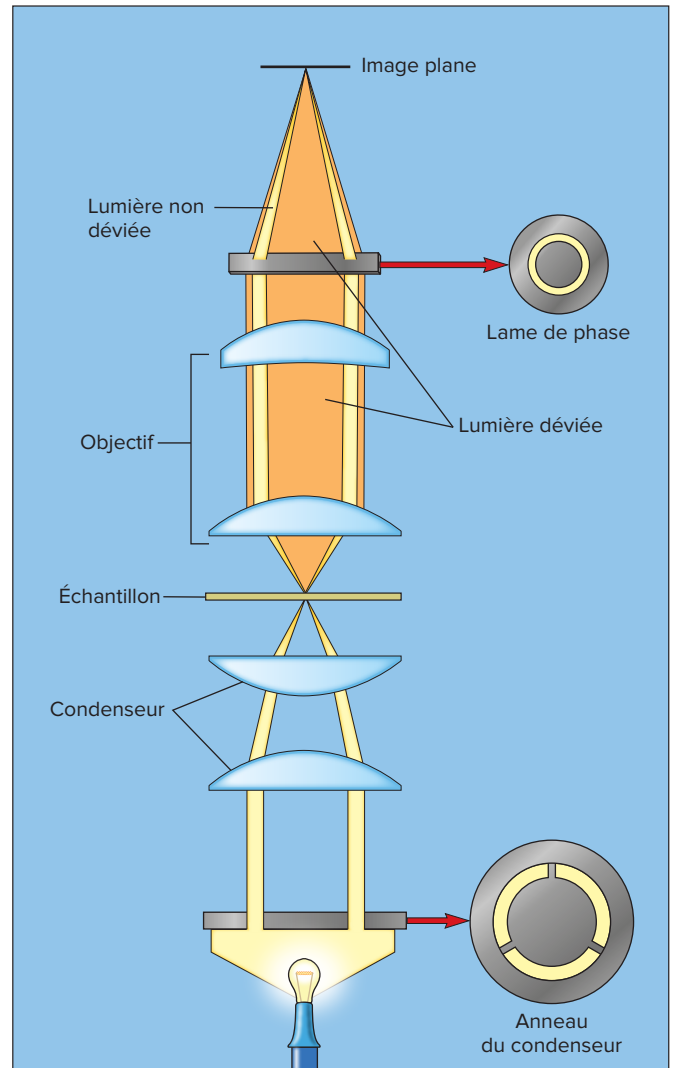


Figure 2.10 Le microscope à contraste de phase. Schéma de l'optique du microscope à contraste de phase positif.

MINI ENQUÊTE Quelle est la fonction de l'anneau de phase dans un microscope à contraste de phase ?

Le microscope à contraste d'interférence différentielle

Le **microscope à contraste d'interférence différentielle (DIC)** ressemble au microscope à contraste de phase en ce qu'il produit une image en détectant des différences d'indice de réfraction et d'épaisseur. Des prismes génèrent deux rayons de lumière polarisée dans des plans perpendiculaires l'un à l'autre. Dans un type de microscope, le faisceau objet passe à travers l'échantillon tandis que le faisceau de référence traverse une zone claire de la lame. Après passage à travers l'échantillon, les deux rayons sont recombinaés et interfèrent l'un avec l'autre pour former une image. Un échantillon vivant, non coloré, apparaît ainsi avec des couleurs vives et semble sortir de l'arrière-plan donnant à l'observateur l'impression de voir une image à trois

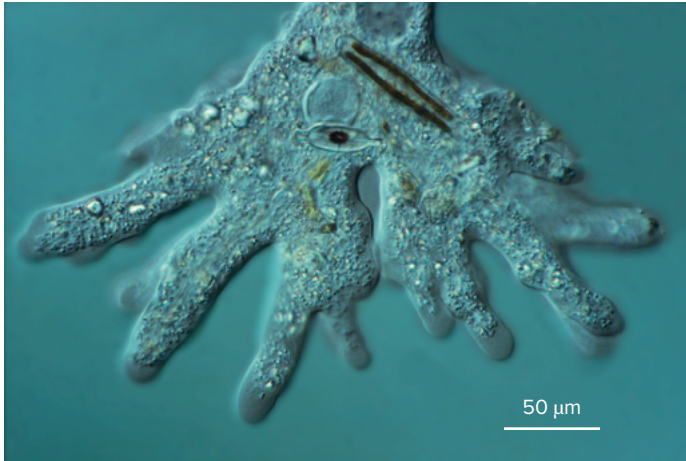


Figure 2.11 Le microscope à contraste d'interférence différentielle. Une image du protozoaire *Amoeba proteus*. Cette image apparaît tri-dimensionnelle et contient beaucoup de détails.

dimensions (figure 2.11). Des structures telles que les parois cellulaires, les endospores, les granules, les vacuoles et les noyaux sont nettement visibles.

Les microscopes à fluorescence utilisent la lumière émise pour créer des images

Les microscopes optiques considérés jusqu'à présent forment une image à partir de la lumière qui passe au travers de l'échantillon. Un objet peut aussi être vu parce qu'il émet de la lumière. C'est la base de la microscopie à fluorescence. Lorsqu'elles absorbent une énergie radiante, certaines molécules sont excitées et ensuite libèrent une grande partie de cette énergie sous forme de lumière. Toute lumière émise par une molécule excitée aura une longueur d'onde plus grande (ou sera de plus faible énergie) que la radiation originellement absorbée. La **lumière fluorescente** est émise très rapidement par la molécule excitée qui libère l'énergie accumulée et retourne à un état plus stable.

Le **microscope à fluorescence** excite un échantillon avec une lumière de longueur d'onde spécifique qui conduit l'objet à émettre une lumière fluorescente. La microscopie en fluorescence la plus communément utilisée est la microscopie en épifluorescence, également appelée microscopie en fluorescence à lumière incidente ou à lumière réfléchie. Les microscopes à épifluorescence (Greek *epi*, sur) illuminent les échantillons par le haut. Ainsi l'objectif agit comme un condenseur (figure 2.12). Une lampe à mercure (ou une autre source) produit un rayon lumineux qui passe au travers d'un filtre d'excitation. Celui-ci transmet seulement la lumière d'excitation de la longueur d'onde désirée. Celle-ci est ensuite dirigée vers le bas du microscope par un miroir particulier appelé miroir dichromatique. Ce miroir réfléchit les faibles longueurs d'onde (c.-à-d. la lumière d'excitation), mais laisse passer les grandes longueurs d'onde. La lumière d'excitation descend et traverse l'objectif jusqu'à l'échantillon qui est habituellement coloré avec des molécules appelées **fluorochromes** (tableau 2.3). Le fluorochrome

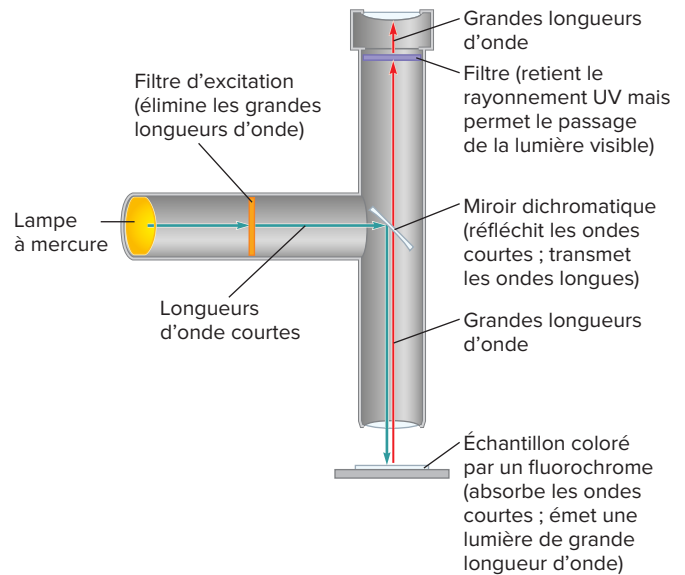


Figure 2.12 La microscopie à épifluorescence. Les principes de fonctionnement du microscope à épifluorescence.

absorbe l'énergie du rayonnement d'excitation et émet une lumière visible fluorescente. La lumière fluorescente émise remonte dans le microscope à travers l'objectif. Comme la lumière fluorescente émise a une plus grande longueur d'onde, elle traverse le miroir dichromatique et atteint un filtre qui arrête toute lumière d'excitation restante. Finalement, la lumière émise traverse le filtre jusqu'à l'oculaire.

Le microscope à fluorescence est devenu très important en microbiologie. On peut identifier des bactéries pathogènes après coloration à l'aide de fluorochromes ou après marquage spécifique avec des anticorps fluorescents, qui se lient à une protéine unique de cette espèce. En écologie, on utilise le microscope à fluorescence pour observer des micro-organismes marqués par des sondes fluorescentes ou des fluorochromes qui se fixent sur des constituants cellulaires spécifiques (tableau 2.3). En outre, les écologistes microbiens utilisent la microscopie à épifluorescence pour observer les micro-organismes photosynthétiques, car leurs pigments fluorescent naturellement lorsqu'ils sont excités par une lumière de longueur d'onde spécifique. Il est même

Tableau 2.3 Fluorochromes communément employés

Fluorochrome	Usages
Acridine orange	Colore les acides nucléiques
Diamino-2-phényl indole (DAPI)	Colore l'ADN
Isothiocyanate de fluorescéine (FITC)	Souvent liée aux anticorps qui fixent des composants cellulaires spécifiques ou aux sondes d'ADN
Isothiocyanate de tétraméthyle rhodamine (TRITC ou rhodamine)	Souvent liée aux anticorps qui fixent des composants cellulaires spécifiques

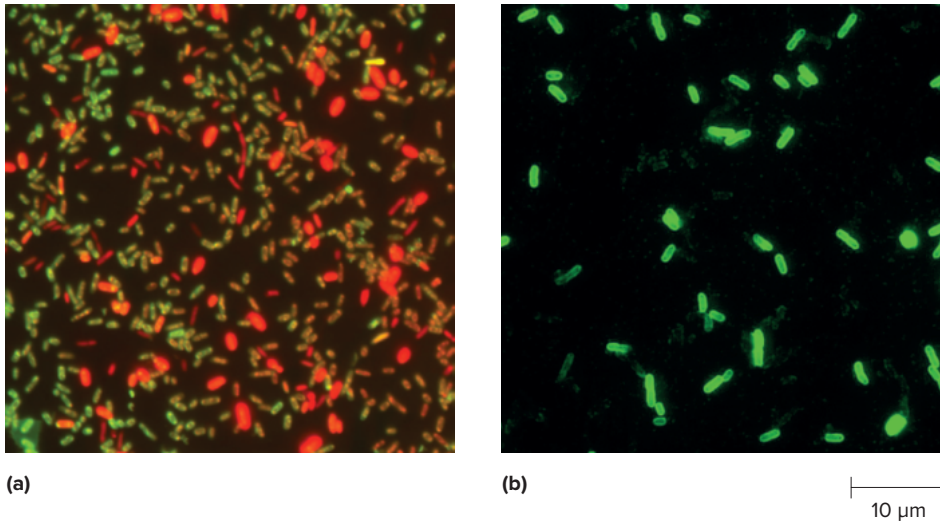


Figure 2.13 Les colorants et marqueurs fluorescents. (a) Un échantillon de bactéries colorées par des colorants qui permettent d'émettre une fluorescence verte pour les cellules vivantes et une rouge pour les mortes. (b) Des anticorps fluorescents marquent des molécules spécifiques. Dans ce cas, l'anticorps se fixe à une molécule spécifique à *Yersinia pestis*, la bactérie responsable de l'angine.

(a) Dr. Rita B. Moyes; (b) Larry Stauffer/Oregon State Public Health Laboratory/CDC

MINI ENQUÊTE Comment l'anticorps fluorescent employé dans la figure 2.13b pourrait-il être utilisé pour diagnostiquer une maladie infectieuse ?

possible de distinguer les bactéries vivantes des mortes par leur fluorescence après traitement par un mélange spécial de colorants (figure 2.13a). On peut ainsi visualiser et compter directement les micro-organismes dans une niche écologique relativement peu perturbée. ►► *Évaluation de la population microbienne (section 26.3) ; Identification des microorganismes dans les échantillons (section 36.2)*

Un autre usage important de la microscopie en fluorescence est la localisation de protéines spécifiques à l'intérieur des cellules. Une approche est d'utiliser des techniques de génie génétique qui fusionnent le gène codant pour la protéine étudiée avec un gène isolé d'une méduse appartenant au genre *Aequorea*. Ce gène de méduse détermine une protéine qui émet naturellement une fluorescence verte lorsqu'elle est exposée à une longueur d'onde particulière et est appelée protéine à fluorescence verte (GFP). Donc lorsque la cellule produit la protéine, elle émet une fluorescence. La GFP a été abondamment utilisée dans les recherches sur la division cellulaire des bactéries et les phénomènes connexes (figure 2.14). En fait, le Prix Nobel de Chimie a été attribué en 2008 à Osamu Shimomura (Japon) et aux Américains Martin Chalfie et Roger Tsien pour les développements de cet outil important. ►► *Le marquage fluorescent (section 17.4)*

La microscopie confocale

Comme la grosse et la petite bille présentées dans la figure 2.15a, les spécimens biologiques sont tridimensionnels. Lors de l'examen d'objets de ce type dans un microscope conventionnel, la lumière de toutes les zones de l'objet et pas seulement celle de la zone de mise au point, entre dans le microscope et est utilisée pour créer une image brouillée

et confuse (figure 2.15b). Ce problème a été résolu par le développement du microscope confocal à balayage laser (MCBL) ou plus simplement du **microscope confocal**. Le microscope confocal utilise un rayon laser pour illuminer un objet coloré par fluorescence. L'un de ses composants importants est une ouverture placée au-dessus de l'objectif, qui bloque les rayons parasites venant des parties de l'objet inférieures et supérieures au plan focal. Ainsi, seule la lumière provenant du plan focal sert à créer une image beaucoup plus nette.

Un ordinateur est indispensable pour former des images confocales. Il reçoit les informations numérisées de chaque plan de l'objet examiné. Ces informations permettent de créer une image composite très claire et détaillée (figure 2.15c) ou de créer une reconstruction tridimensionnelle de cet objet (figure 2.15d). Des images de coupes dans le plan x-z de l'objet peuvent également être générées pour donner des vues de l'échantillon sous trois angles (figure 2.15e). La microscopie confocale a de nombreuses applications. L'une est l'étude de biofilms qui peuvent se former sur de nombreux types de surfaces, entre autres sur des dispositifs médicaux à demeure comme les prothèses de hanche. La figure 2.15f montre

qu'il est difficile de tuer toutes les cellules dans un biofilm. C'est un sujet de préoccupation dans le domaine médical car la formation de biofilms sur des dispositifs médicaux peut entraîner des infections difficiles à traiter. ►► *Les biofilms sont fréquents dans la nature (section 7.6)*

Test de compréhension

1. Comparez et opposez la fonction d'un condenseur, d'un objectif, et des lentilles des oculaires.
2. Que dire de la résolution s'il y a augmentation de : la longueur d'onde, de l'indice de réfraction et de l'ouverture numérique. Comment la résolution et le grossissement sont-ils associés ?

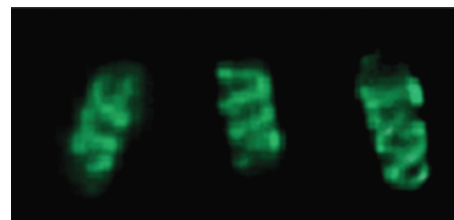


Figure 2.14 La protéine fluorescente verte. Visualisation de Mbl, une protéine du cytosquelette de *Bacillus subtilis*. La protéine Mbl a été fusionnée avec la protéine fluorescente verte et émet ainsi une fluorescence verte.

Jeff Errington/ Centre de biologie cellulaire bactérienne/ Newcastle University

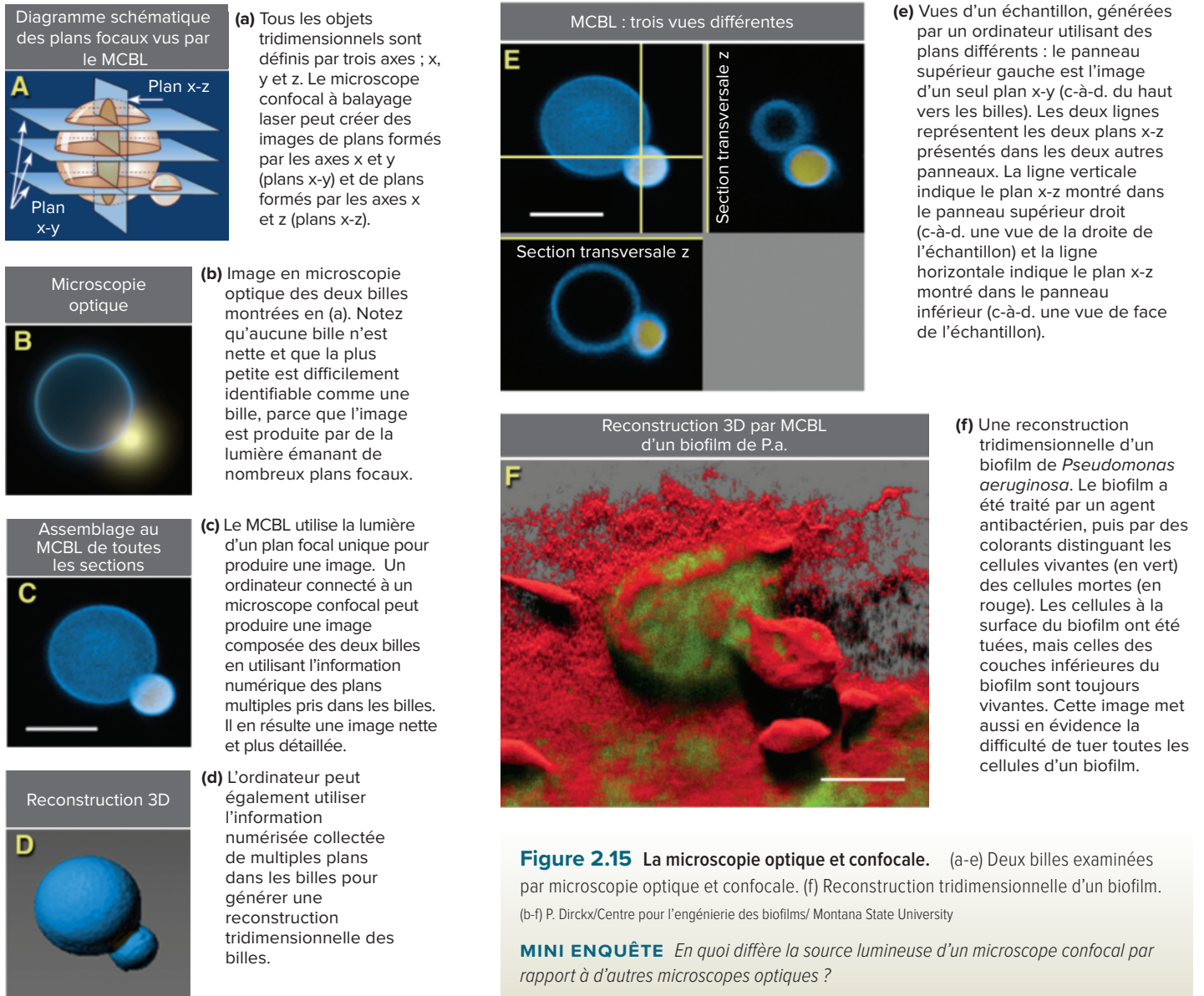


Figure 2.15 La microscopie optique et confocale. (a-e) Deux billes examinées par microscopie optique et confocale. (f) Reconstruction tridimensionnelle d'un biofilm.

(b-f) P. Dirckx/Centre pour l'ingénierie des biofilms/ Montana State University

MINI ENQUÊTE En quoi diffère la source lumineuse d'un microscope confocal par rapport à d'autres microscopes optiques ?

3. Que peut observer un microscopiste à travers un objectif à immersion d'huile si aucune huile à immersion n'est présente ?
4. Pourquoi la plupart des microscopes optiques n'utilisent-ils pas d'oculaire 30× pour des grossissements plus forts ?
5. Établissez un tableau comparant les utilisations des microscopes à fond noir, à contraste, à contraste d'interférence différentielle, à épifluorescence et confocal, et les types d'images ou les images produites par chacun, ainsi qu'une application spécifique pour chacun.
6. Quel type de microscope devrait être utilisé pour examiner les échantillons suivants : bactéries photosynthétiques, bactéries flottantes, microorganismes GFP, microbes non colorés, et écume bleue des étangs ? Expliquez chacune de vos réponses.

2.3 La coloration facilite la visualisation et l'identification des micro-organismes

Après la lecture de cette section, vous devriez être capable de :

- Recommander un procédé de fixation à utiliser lorsque le micro-organisme est une bactérie ou une archée et lorsque c'est un protiste
- Planifier une série de techniques de coloration pour décrire une bactérie inconnue aussi complètement que possible
- Comparer ce que deviennent les cellules Gram-positives et Gram-négatives à chaque étape de la technique de coloration de Gram.

Comme décrit dans la section 2.2, les échantillons examinés en microscopie à fond clair doivent souvent être fixés et colorés avant d'être examinés. Cette préparation sert à augmenter la visibilité des micro-organismes, à accentuer les particularités morphologiques spécifiques et à les conserver en vue d'études ultérieures. Il est important de noter que certaines techniques de coloration facilitent l'identification de l'organisme observé par les microbiologistes.

La fixation

Les cellules colorées, observées au microscope, devraient ressembler le plus possible aux cellules vivantes. La **fixation** est le procédé par lequel les structures internes et externes des cellules et des organismes sont conservées et fixées en place. Elle inactive les enzymes, qui peuvent détruire la morphologie cellulaire, et durcit les structures pour qu'elles ne se modifient pas durant la coloration et l'observation. Le micro-organisme est habituellement tué et fermement fixé à la lame porte-objet durant la fixation.

Il y a deux types fondamentalement différents de fixation. Les bactériologistes utilisent régulièrement une **fixation à la chaleur** pour observer les bactéries et les archées. Habituellement, ils sèchent et chauffent doucement un film bactérien (un frottis) sur une lame de microscopie. Cela conserve correctement la morphologie générale et inactive les enzymes. Toutefois, cela détruit également les protéines des structures intracellulaires, ce qui peut déformer leur apparence. La **fixation chimique** est utilisée pour protéger les structures intracellulaires fines et la morphologie. On l'utilise souvent lors de l'examen de micro-organismes par de nombreuses techniques de microscopie électronique. Les fixateurs chimiques pénètrent dans les cellules et réagissent avec des composants cellulaires, généralement les protéines et les lipides, afin de les rendre inactifs, insolubles et immobiles. Les mélanges de fixateurs les plus courants contiennent des composés tels que l'éthanol, l'acide acétique, le chlorure mercurique, le formaldéhyde et le glutaraldéhyde.

Les colorants et la coloration simple

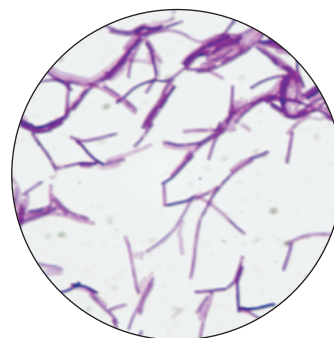
Les nombreux types de colorants utilisés pour visualiser les micro-organismes ont deux propriétés en commun. D'abord, ils possèdent des **groupements chromophores** - groupements chimiques fonctionnels possédant des doubles liaisons conjuguées qui donnent sa couleur au colorant. Ensuite, ils peuvent se lier aux cellules par interaction ionique, covalente ou hydrophobe.

Les colorants, qui se fixent par interactions ioniques, sont sans doute les plus couramment utilisés. Ils sont divisés en deux classes

générales suivant la nature de leurs groupements chargés : les colorants basiques et les colorants acides (**tableau 2.4**). Le pH peut altérer l'efficacité de la coloration puisque la nature et le nombre des groupements chargés sur les constituants cellulaires varient avec le pH. Ainsi, les colorants acides colorent mieux dans des conditions acides lorsque les protéines et de nombreuses autres molécules portent une charge positive ; les colorants basiques sont plus efficaces aux pH élevés.

Les colorants qui se fixent par liaisons covalentes ou grâce à leurs propriétés de solubilité ont également une utilité. L'ADN, par exemple, est coloré par la méthode de Feulgen dont le composé colorant (réactif de Schiff) est fixé par liaison covalente aux désoxyriboses du DNA. Le Soudan III (Noir Soudan) colore sélectivement les lipides parce qu'il est liposoluble et ne se dissout pas dans les zones aqueuses de la cellule.

Les micro-organismes peuvent être colorés par une **coloration simple** n'utilisant qu'un seul agent colorant (**figure 2.16**). Le mérite de cette coloration est sa simplicité et sa facilité d'utilisation. On couvre les frottis fixés de colorant pendant un laps de temps court, l'excès de colorant est lavé à l'eau et la lame est séchée. Les colorants basiques comme le cristal violet, le bleu de méthylène ou la carbolfuchisine sont fréquemment utilisés pour déterminer la taille, la forme et l'arrangement des cellules bactériennes et archéennes.

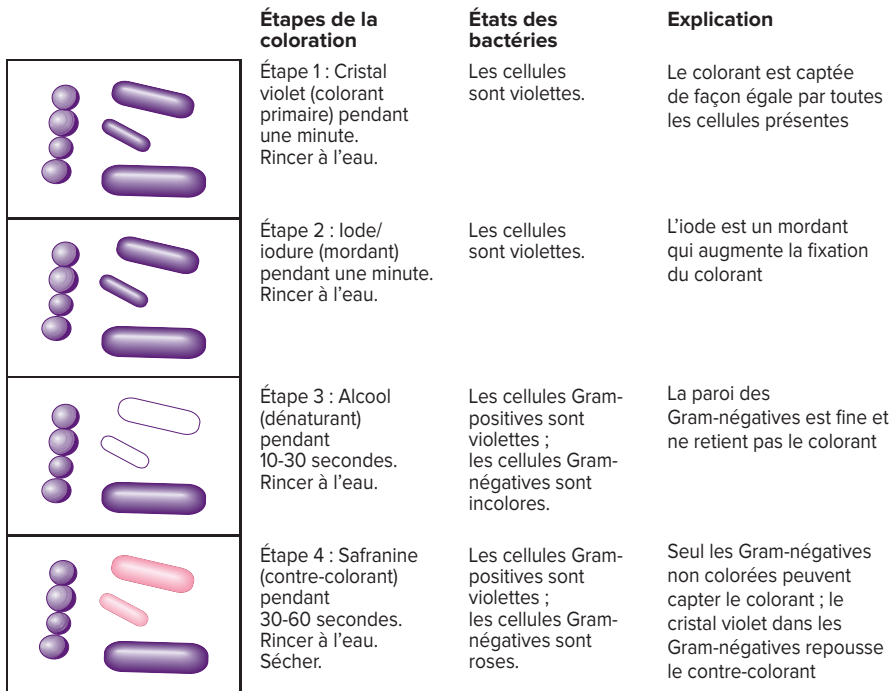


La coloration d'*Escherichia coli* au cristal violet

Figure 2.16 Une simple coloration illustre la taille et la morphologie d'une cellule.

Dr Rita B. Moyes

Tableau 2.4 Les colorants ionisables		
Type de colorant	Exemples	Caractéristiques des Chromophores
Les colorants basiques	Bleu de méthylène, fuchisine basique, cristal violet, safranine, vert de malachite	Ils ont des groupements chargés positivement, se fixent aux molécules à charges négatives telles que les acides nucléiques, beaucoup de protéines et les surfaces des bactéries et des archées
Les colorants acides	Eosine, rose bengale et fuchisine acide ont des groupements tels que des carboxyles (-COOH) et hydroxyyles phénoliques (-OH)	Ils ont des groupements chargés négativement et se fixent sur les structures cellulaires chargées positivement



lipides formés d'acides mycoliques, un groupe d'acides gras hydroxylés à chaînes ramifiées, qui empêchent une fixation aisée des colorants sur les cellules (voir figure 22.6). Une méthode fréquemment employée, la méthode de Ziehl-Neelsen, utilise de fortes concentrations de phénol et de carbolfuch-sine ainsi que d'un agent mouillant pour forcer la carbolfuch-sine à entrer dans les cellules mycobactériennes. Une fois que le colorant est entré, les cellules bactériennes qui ne sont pas facilement décolorées par de l'alcool acidifié (acide-alcool), sont dites acido-résistantes. Les bactéries non acido-résistantes sont décolorées par l'alcool acide et sont par conséquent colorées différemment par un contre-colorant.

Une des techniques de coloration les plus simples est la **coloration des capsules** (figure 2.18c), une technique qui révèle la présence de capsules, habituellement des réseaux de polysaccharides entourant de nombreuses bactéries et certains champignons. Les cellules sont mélangées avec de l'encre de Chine ou de la nigrosine et étalées en un fin film sur une lame. Après séchage à l'air, les cellules apparaissent comme des corps plus clairs surmontés d'un halo de capsule sur un fond bleu foncé, car l'encre ou le colorant ne peuvent pénétrer ni dans la cellule ni

Figure 2.17 La technique de coloration de Gram. Les étapes de la coloration de Gram.

MINI ENQUÊTE Pourquoi l'étape de décoloration est-elle considérée comme l'étape la plus critique de la technique de coloration de Gram ?

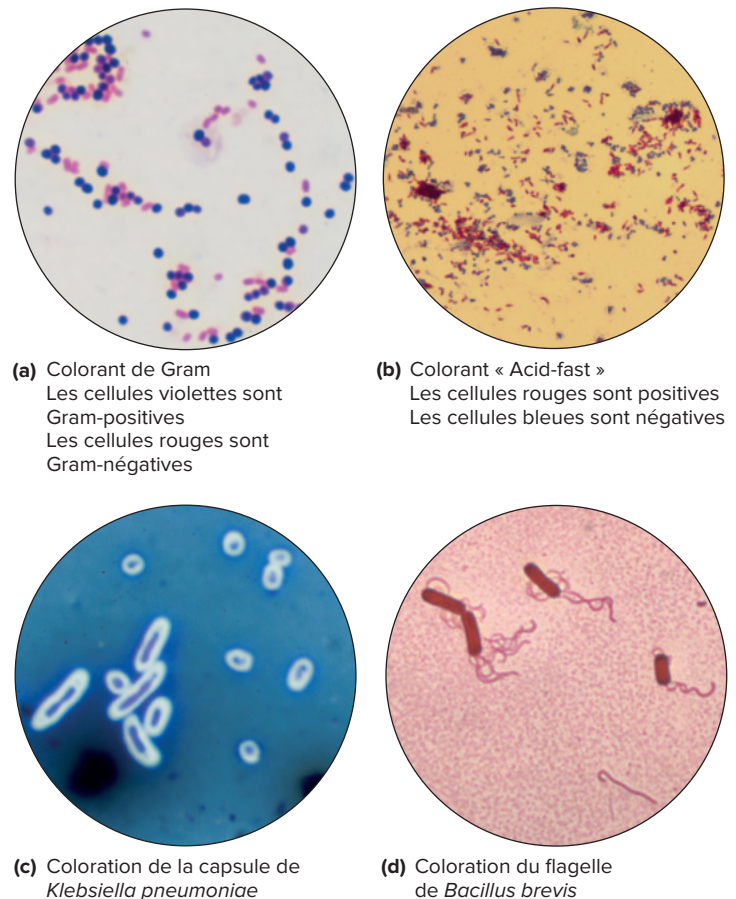
Alors que la plupart des colorants colorent directement la cellule ou l'objet étudié, certains (ex. l'encre de Chine et la nigrosine) sont employés pour obtenir une **coloration négative**. Le fond est coloré, mais pas la cellule. Les cellules non colorées apparaissent comme des objets brillants sur un fond noir.

La coloration différentielle

La **coloration de Gram**, développée en 1884 par le physicien danois Christian Gram, est la méthode de coloration la plus largement utilisée en bactériologie. On l'utilise en routine dans les laboratoires cliniques et comme première étape importante du diagnostic des maladies infectieuses en laboratoire comme on le décrit dans l'histoire en tête de chapitre. C'est un exemple de technique de **coloration différentielle** – des techniques utilisées pour distinguer les organismes sur la base de leur coloration. La coloration de Gram permet de classer la plupart des bactéries dans l'un des deux groupes : les Gram-négatives et les Gram-positives, basés sur la composition de leurs parois cellulaires.

La technique de coloration de Gram est illustrée dans la **figure 2.17**. Le résultat de la coloration de Gram est que les bactéries Gram-négatives sont colorées du rose au rouge, et les bactéries Gram-positives colorées en violet foncé (**figure 2.18a**). ▶▶ Les parois cellulaires ont de nombreuses fonctions (section 3.4) 🌀 La coloration de Gram

La **coloration acido-résistante** est une autre technique de coloration différentielle importante. Elle est utilisée pour identifier *Mycobacterium tuberculosis* et *M. leprae* (figure 2.18b), les pathogènes responsables respectivement de la tuberculose et de la lèpre. Les parois de ces bactéries, de même que d'autres mycobactéries, contiennent des



(a) Colorant de Gram
Les cellules violettes sont Gram-positives
Les cellules roses sont Gram-négatives

(b) Colorant « Acid-fast »
Les cellules rouges sont positives
Les cellules bleues sont négatives

(c) Coloration de la capsule de *Klebsiella pneumoniae*

(d) Coloration du flagelle de *Bacillus brevis*

Figure 2.18 Les colorations différentielles.

(a,c) Lisa Burgess/Mc Graw Hill; (b) James Redfeam/Mc Graw-Hill Education; (d) Dr. William A; Clark/CDC

Microbiologie de Prescott

Microbiologie de Prescott, qui en est à sa 12^e édition américaine, est l'ouvrage de référence ! Il décrit la microbiologie dans ses aspects fondamentaux, médicaux, écologiques, alimentaires et industriels et ses applications concrètes.

Un livre pédagogique

Un ouvrage pédagogique à la mise en page structurée et aérée avec, pour chaque chapitre : une histoire vraie, des questions d'évaluation, une illustration entièrement repensée, des concepts clairement énoncés, des schémas annotés et des mini-enquêtes avec des questions de réflexion. A la fin de chaque chapitre, on trouvera un rappel des notions abordées et des questions prises dans la littérature actuelle, conçues pour stimuler les capacités analytiques des étudiants dans la résolution de problème.

Une approche moderne de la microbiologie

Dans cette édition, les auteurs ont intégré une mise à jour importante du contenu avec des données récentes sur le SARS-CoV-2 et le COVID-19, les vaccins à ARNm, l'ingénierie du génome par CRISPR, le changement climatique global, les piles à combustible microbiennes, la métagénomique et le microbiome. L'évolution sert de

fil directeur à tout l'ouvrage et les changements taxonomiques récents y ont été inclus.

Traduction de la 12^e édition américaine

Valérie Boutin, ancienne élève de l'École Normale Supérieure, est professeur en Classes Préparatoires au lycée Lakanal de Sceaux. Elle enseigne la biologie depuis son doctorat en Biochimie à l'Université d'Orléans, sur la thérapie génique à l'aide de vecteurs non viraux.

Jean-Paul Joseleau, PhD (Vancouver, Canada), Dr -ès-Sc (Grenoble, France) est Professeur émérite de l'Université de Grenoble où il a enseigné la biochimie et dirigé une équipe de recherche du CNRS dans le domaine des macromolécules biologiques.

Robert Perraud, Professeur émérite de l'Université Joseph Fourier de Grenoble, où il a dirigé un laboratoire de recherche en chimie de l'environnement et dans le domaine de la bioconversion en synthèse organique.

- Un glossaire complet des termes scientifiques et techniques
- Des objectifs de connaissances
- Des références croisées
- Des tests de compréhension
- Un apprentissage actif

Chez le même éditeur



96 €

ISBN : 978-2-8073-5144-8



deboeck
SUPÉRIEUR

www.deboecksuperieur.com