

### 3. Les caractéristiques générales des bactéries

**4. La diversité des formes bactériennes.** Retenez la diversité de formes, pas les noms des bactéries pour chaque forme.

**5. La structure générale d'une bactérie.** Les bactéries sont des cellules procaryotes et ne possèdent donc pas de noyau. Il y a généralement un seul chromosome circulaire. L'ADN est associé avec des protéines et forme un nucléoïde dans le cytoplasme. Les bactéries peuvent également contenir un ou des plasmides, une molécule d'ADN distincte de l'ADN chromosomique, capable de réplication autonome et non essentielle à la survie de la cellule. Les plasmides codent pour des fonctions dites accessoires mais qui peuvent néanmoins être très importantes pour la résistance aux antibiotiques ou le pouvoir pathogène de certaines bactéries.

Elles ne possèdent pas de mitochondries ou d'autres organelles tels que des chloroplastes, de réticulum endoplasmique ou un appareil de Golgi. On retrouve dans le cytoplasme toutes les fonctions nécessaires à la production de protéines ou plus généralement pour assurer le métabolisme de la cellule.

Les bactéries sont entourées d'une paroi rigide qui leur donne leur structure (coque, bâtonnet, spiralé, virgule...).

Certaines structures extracellulaires facultatives comme les flagelles (déplacement) ou les pili (adhésion, transfert d'ADN) peuvent être enchâssées dans la paroi cellulaire. Certaines bactéries peuvent également fabriquer une capsule généralement constituée de polysaccharides (des sucres). Cette capsule présente différentes propriétés. En fonction de sa composition, elle peut être antigénique ou au contraire servir de camouflage contre le système immunitaire de l'hôte. Elle peut également jouer un rôle dans l'adhérence aux cellules hôtes. D'autres bactéries peuvent également s'envelopper d'une couche protéique appelée la couche S.

Pour en savoir plus. La très grande majorité des bactéries ont une paroi dont l'élément central est le peptidoglycane. Cependant certaines bactéries n'ont pas de paroi comme les Mycoplasmes qui, selon les espèces, causent des infections sexuellement transmissibles ou des infections respiratoires chez les enfants. Ces bactéries ne sont donc pas sensibles aux antibiotiques qui ciblent la paroi comme la pénicilline.

**6. Une distinction importante en bactériologie est la structure de l'enveloppe.** Les bactéries peuvent être structurellement divisées en deux groupes : les bactéries monoderms/unimembranées (ne contenant qu'une seule membrane plasmique sous la paroi) et les bactéries à didermes/bimembranées (constituée de deux membranes de part et d'autre de la paroi, la membrane plasmique et la membrane externe). Les bactéries monoderms possèdent une seule membrane et une épaisse couche de peptidoglycane à leur surface externe. Les bactéries didermes possèdent une membrane, une fine couche de peptidoglycane, et une membrane extérieure. La paroi varie entre chaque espèce bactérienne. Un composant central de la paroi cellulaire est le peptidoglycane composé de glucides et de peptides. Spécifique aux didermes, le lipopolysaccharide (LPS) se lie au récepteur TLR4 et promeut la libération de cytokines pro-inflammatoires.

### **7. La méthode de coloration de Gram.**

La distinction entre monodermes (Gram+) et didermes (Gram-) peut être vue par coloration selon la méthode de Monsieur Hans Christian Gram qui est très importante en clinique. Encore aujourd'hui des colorations Gram sont faites en routine à l'Hôpital Universitaire de Genève, malgré de nouvelles méthodes plus sophistiquées !!!!

Vous ne devez pas apprendre les étapes, ceci se fera en troisième année, mais vous devez connaître le principe : les Gram + retiennent la coloration de Gram et apparaissent en bleu foncé, alors que les Gram - ne la retiennent pas. Les Gram - doivent donc être contre-colorées pour être observées et apparaissent en rose clair.

Pour en savoir plus. La Coloration de Gram est basée sur la coloration et la décoloration des structures internes qui se différencient par la proportion en peptidoglycane. La coloration de Gram se déroule en 4 étapes : une étape de coloration du cytoplasme par le violet de gentiane, une étape de « mordantage » par l'iode, une étape de décoloration par l'alcool et une étape de contre-coloration par la safranine. Chez les bactéries Gram - où la paroi est pauvre en peptidoglycane, l'alcool permet la décoloration et la contre-coloration de les colorer en rose. Chez les bactéries Gram + la paroi est riche en peptidoglycane et retient le violet de gentiane, l'alcool ne permet pas la décoloration, les laissant colorées en violet.

**8. La multiplication des bactéries se fait par fission.** Les bactéries se multiplient de façon asexuée par scissiparité, le matériel génétique est tout d'abord dupliqué, puis la bactérie s'allonge, se contracte en son milieu et se divise, formant ainsi deux cellules filles identiques à la cellule mère. Ainsi, la descendance d'une cellule bactérienne est un clone de cellules génétiquement identiques, appelé colonie. Des variations génétiques peuvent avoir lieu si des variations génétiques apparaissent due à des erreurs de la polymérase d'ADN.

**9. Un exemple de division *in vitro*, la bactérie *Escherichia coli*.** Un cycle de multiplication dure environ 20 minutes (retenez l'ordre de grandeur)

**10. En laboratoire une colonie est issue d'une bactérie.** Elle contient environ  $10^8$  bactéries. Toutes ces bactéries sont quasiment identiques (sauf s'il y a des mutations qui se sont produites). On parle d'un clone.

Pour en savoir plus : On peut inclure dans le milieu des indicateurs de pH. Si une bactérie peut digérer un certain sucre (ici c'est le lactose), le pH change et la colonie devient rouge. Si elle ne peut pas digérer le lactose, elle reste blanche. C'est un (de plusieurs) moyen de déterminer le type de bactérie dans un échantillon.

**11. Les conditions optimales de croissance sont très variées et peuvent différer d'espèce à espèce.** Ceci devient très important dans l'analyse des maladies infectieuses, parce que les différents endroits d'infections dépendent de l'interaction avec l'hôte, mais aussi de ce que la bactérie peut trouver comme condition de vie. Un très grand nombre de bactéries ne sont actuellement pas cultivables en laboratoire !

**12. Les températures optimales varient.** Pour les pathogènes, la température optimale est en général 37°C, ce sont des mésophiles.

**13. Mais attention, certaines bactéries pathogènes peuvent aussi se multiplier à 4°C.** C'est le cas de *Listeria monocytogenes*, un pathogène dangereux pour le fœtus des femmes enceintes, les nouveau-nés ou les immunodéprimés. Retenez que certaines bactéries

infectant ou colonisant l'humain dont le corps est à 37°C peuvent se développer même à basse température.

Pour en savoir plus. *Listeria monocytogenes* est une bactérie à Gram + qui doit son nom à Joseph Lister. Elle provoque la listériose. Il s'agit d'un bacille de petite taille, intracellulaire facultatif, ubiquitaire (sol, végétaux, eau, animaux). Selon certaines études, 1 à 10 % des humains seraient porteurs sains de *L. monocytogenes* dans leur intestin. La bactérie ingérée dans un aliment contaminé peut traverser la paroi intestinale et induire divers symptômes chez les personnes immunodéprimées (un sepsis - réponse inflammatoire généralisée associée à une infection grave - ou une méningite par exemple). En cas de transmission de la mère à l'enfant ou au fœtus *Listeria* peut causer des méningites néonatales ou des fausses couches.

---

#### **14. Les bactéries influencent notre santé.**

**15. Le pouvoir pathogène des bactéries.** Il réfère à la capacité d'une bactérie à pénétrer dans un hôte, à s'y multiplier tout en déjouant les moyens de défense de l'hôte et à provoquer une maladie. La virulence se définit comme l'intensité du pouvoir pathogène. Pour causer une maladie, la plupart des agents pathogènes doivent :

1. Accéder à un hôte réceptif par une porte d'entrée - importance du nombre de bactéries nécessaires à cette étape et de la porte d'entrée.
2. Adhérer aux cellules des tissus de l'hôte – présence d'adhésines (protéines à la surface de la cellule) bactériennes reconnaissant de récepteurs de l'hôte.
3. Envahir et résister aux défenses l'hôte – importance des structures à la surface de la bactérie, sécrétion d'enzymes, variation antigénique, détournement et manipulation des fonctions de l'hôte, etc.
4. Endommager ses tissus – lésions directes, lésions indirectes par des toxines, réactions d'hypersensibilité/dérèglement du système immunitaire.

**16. Exemples de bactéries pathogènes en relation avec les organes cibles.** Ne retenez pas cette liste !

**17. Le microbiote.** Le corps humain héberge une quantité considérable de communautés bactériennes dans diverses parties du corps. On estime que ces bactéries sont jusqu'à 10 fois plus nombreuses que les cellules du corps lui-même. Les dernières avancées scientifiques montrent que ces bactéries jouent un rôle considérable dans le fonctionnement de l'organisme, sur l'immunité, les maladies, les allergies, le sommeil ou même les performances sportives...

**18. Microbiote intestinal et obésité.** Pour en savoir plus. Une modification de la composition en bifidobactéries et bacteroidetes associée à une augmentation de l'inflammation a été rapportée dans un modèle murin d'obésité mais aussi dans un petit groupe de 12 patients. Ces résultats n'ont cependant pas été confirmés dans d'autres études incluant un nombre supérieur de volontaires. Une autre étude conduite sur une cohorte de 169 obèses et 123 témoins n'a pas retrouvé ce déséquilibre bifidobactéries/bacteroidetes, mais elle a montré une diminution de la richesse du microbiome chez certains patients obèses. Cette atrophie du microbiote est associée à un état inflammatoire exacerbé, à une insulino-résistance accrue, à une dyslipidémie et une augmentation de l'adiposité.

Il est possible que les déséquilibres du microbiote, liés à l'alimentation, à certaines mutations génétiques ou à des traitements (antibiotiques, chimiothérapies), peuvent affaiblir les défenses et contribuer au développement de maladies chroniques. Ils pourraient aussi être à l'origine de certains cancers digestifs, une population de bactéries dérégulée favorisant l'inflammation et la transformation des cellules de la paroi du côlon en cellules cancéreuses. On pourrait donc modifier la composition d'un microbiote déséquilibré. Il existe plusieurs possibilités : l'alimentation, des antibiotiques ciblant les bactéries néfastes, ou l'implantation d'une souche de bactéries bénéfiques (probiotique). Les probiotiques sont de plus en plus souvent déclinés en compléments alimentaires, censés agir sur les bactéries intestinales, mais leur efficacité fait débat. Autre piste spectaculaire : le transfert fécal, qui consiste à introduire dans le tube digestif d'un patient une suspension bactérienne préparée à partir des selles d'un individu sain, ou du donneur lui-même avant qu'il reçoive un traitement. Cette dernière méthode a déjà prouvé son efficacité pour traiter les diarrhées récidivantes causées par la bactérie *Clostridium difficile*.

=> Pour le moment, on reste toutefois largement dans le domaine du "potentiel", car on connaît encore très peu la diversité du microbiote et on manque de "preuves directes" du lien entre microbiote et maladies, ou de l'efficacité des traitements envisagés.

**19. L'importance de la métagénomique dans notre compréhension du microbiote.** Retenez ici le principe et l'importance du séquençage. Pour en savoir plus. Pendant de longues années, la caractérisation de la composition du microbiote intestinal était limitée à la seule fraction cultivée. Le développement de méthodes de séquençage de l'ADN, et en particulier des approches ciblant l'ADN ribosomal 16S, a permis de revisiter notre vision de la complexité du microbiote, et de souligner l'importance de la fraction non-cultivée. De nos jours avec les nouvelles techniques de séquençage à haut débit, la métagénomique consiste à déterminer toutes les séquences d'ADN présentes dans un échantillon donné. Cela permet, entre autres, d'identifier et de répertorier les types de bactéries présentes dans un environnement donné. Le séquençage haut débit permet également de suivre l'évolution des communautés bactériennes dans des hôpitaux et d'identifier certaines situations à risque comme la présence de certains pathogènes, de résistances à des antibiotiques etc.

---

## 20. Les antibiotiques ciblent les bactéries.

**21. Les antibiotiques ont changé et continuent de changer notre vie.** Les antibiotiques ont changé la médecine et l'industrie agroalimentaire. Imaginez toutes opérations ou transplantations, ou encore les immunodéficiences dues à des traitements ou des maladies, sans antibiotiques...

**22. Les cibles des antibiotiques.** Un antibiotique est une substance qui stoppe la croissance de bactéries soit par arrêt de croissance (bactériostatique), soit en les tuant (bactéricide). Le principe est de s'attaquer à une cible typiquement bactérienne ou suffisamment différente de l'hôte humain, pour ne pas endommager nos cellules. Retenez les cibles, vous apprendrez les noms des antibiotiques en troisième année.

La traduction : les antibiotiques interfèrent avec l'élongation de la traduction en se fixant sur une des sous-unités ribosomales.

La réplication : les quinolones se fixent sur la topoisomérase II

La transcription : fixation spécifique sur une des sous-unités de polymérase d'ARN

La paroi : les pénicillines et d'autres antibiotiques similaires bloquent la synthèse de la paroi, et ainsi les bactéries explosent due à la pression osmotique.

La membrane : certaines molécules comme les peptides antimicrobiens déstabilisent la membrane.

Synthèse de l'acide folique: les enzymes responsables de cette voie métabolique sont suffisamment différentes chez les bactéries pour être ciblées spécifiquement sans (trop) affecter les enzymes humaines.

**23. Action de la pénicilline sur la bactérie *Escherichia coli*.** La pénicilline s'attaque à la synthèse de la paroi et par cette action tue les bactéries.

**24. Détermination de sensibilités et résistances par antibiogramme.** Pour en savoir plus. On étale un « gazon » de bactéries sur une boîte et on pose des petites rondelles imbibées d'un antibiotique qui diffuse dans la gélose. Si la bactérie est sensible, il y aura une zone d'inhibition autour du disque (pas de colonies bactériennes). Si elles sont résistantes, les bactéries pousseront jusqu'au bord du disque.

---

## **25. Les résistances aux antibiotiques.**

### **26. La résistance aux antibiotiques, la « pandémie silencieuse ».**

En 2019, la résistance aux antibiotiques est associée à 4.95 millions de décès et directement responsable de 1.27 millions de décès. On estime qu'elle sera responsable de plus de 10 millions de décès par an en 2050.

### **27. Les différents types de résistance aux antibiotiques.**

#### La résistance intrinsèque (ou naturelle)

Elle concerne toutes les souches d'une espèce. Le mécanisme de résistance fait partie de son génome de base ou la cible de l'antibiotique est absente de l'espèce.

#### La résistance acquise

Elle peut se faire i) soit par des mutations survenant aléatoirement lors d'erreur de réplication de l'ADN et être sélectionnées sous traitement, ii) soit par transfert horizontal d'ADN avec l'acquisition de nouveaux gènes permettant la résistance. Ce sont ces résistances acquises qui posent le plus de problèmes de santé publique avec certaines espèces bactériennes dont une grande proportion des souches est devenue résistante à un ou plusieurs antibiotiques

**28. Les principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques.** Il existe quatre principaux mécanismes de résistance : imperméabilité bactérienne, modification de la cible qui n'est plus reconnue par l'antibiotique, inactivation ou destruction de l'antibiotique, et efflux actif en dehors de la bactérie.

**29. Modification de la cible.** Une modification de la cible de l'antibiotique entraîne une perte d'activité de celui-ci. Par exemple, la voie principale de résistance à des antibiotiques qui bloquent la traduction en se liant au ribosome, passe par modification de l'ARN ribosomique de la bactérie qui empêche la liaison de l'antibiotique au ribosome de la bactérie.

**30. Inactivation enzymatique de la cible.** Un mécanisme d'action très répandu est l'inactivation enzymatique de l'antibiotique. Par exemple, la bactérie peut acquérir des gènes de résistance codant des enzymes nommées  $\beta$ -lactamases et capables d'hydrolyser le noyau  $\beta$ -lactame des antibiotiques du type  $\beta$ -lactamines, les transformant en produits inactifs. A noter qu'on peut contrer cette résistance en inhibant les  $\beta$ -lactamases (par exemple, l'acide clavulanique que l'on ajoute à l'amoxicilline est un inhibiteur de  $\beta$ -lactamases).

**31. Diminution de la concentration intracellulaire de l'antibiotique.** L'imperméabilité est impliquée dans la résistance acquise des bactéries par perte d'une porine de la membrane externe, voie d'entrée de l'antibiotique. L'acquisition de gène(s) codant pour des pompes à

efflux permet également d'éliminer l'antibiotique qui a réussi à pénétrer dans la bactérie en dehors de cette dernière.

L'imperméabilité bactérienne est également impliquée dans la résistance naturelle des bacilles à Gram négatif aux glycopeptides (comme la vancomycine) molécules de grande taille ne pouvant pas entrer dans les porines de la membrane externe de ces bactéries. Une question fréquemment posée est de savoir si les Gram- sont plus ou moins sensibles aux antibiotiques. La réponse est bien évidemment plus complexe que la question et dépend des antibiotiques et des bactéries.

- les antibiotiques ont la même « affinité » pour leurs cibles chez les bactéries Gram+ et Gram-
- l'épaisseur du peptidoglycane n'affecte pas (ou peu) l'activité des antibiotiques
- la présence de la membrane externe combinée avec les pompes à efflux est la principale raison pour la faible pénétration des antibiotiques chez les Gram-. Plus les antibiotiques sont « freinés » par la membrane externe ou « expulsés » par les pompes à efflux moins ils sont efficaces (pensez au remplissage d'une baignoire qui se vide plus ou moins vite selon la taille du bouchon d'évacuation). Par conséquent les pompes à efflux jouent un moindre rôle chez les Gram+, puisque les antibiotiques y pénètrent plus facilement
- les différences de sensibilité aux antibiotiques entre bactéries Gram- (*Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, etc) sont principalement déterminées par la taille des porines et par l'efficacité et le nombre de pompes à efflux (1-2 chez *Escherichia coli*, 4-6 chez *Pseudomonas*).

### **32. Les différents types de résistance aux antibiotiques.**

La résistance phénotypique : certains états métaboliques des bactéries peuvent les rendre temporairement résistantes à un antibiotique sans changement au niveau de leur séquence d'ADN. Exemple des biofilms : la matrice "protège" les bactéries et certaines bactéries du biofilm sont "dormantes"

---

### **33. Le transfert de matériel génétique par transformation, conjugaison ou transduction.**

**33. La transformation.** Dans cet exemple c'est la transformation avec un ADN linéaire, qui peut être intégré dans le génome de la bactérie par recombinaison. Un plasmide peut également pénétrer la cellule par transformation. Si l'ADN linéaire ou le plasmide contiennent un gène codant pour une résistance, la bactérie devient résistante à l'antibiotique concerné. Attention, l'ADN ne « diffuse » pas à travers la membrane, il existe une machinerie moléculaire spécifique pour importer l'ADN.

Pour en savoir plus. Dans ce cas, l'environnement sous-entend le milieu directement autour de la bactérie. Ce peut être, entre autres, dans ou sur « un hôte vivant » (tube digestif, peau...) ou dans un autre « réservoir naturel » (eau...). L'ADN est une molécule relativement stable et quand une bactérie meurt, son ADN ne se dégrade que progressivement. Dans un milieu dense en bactéries, comme dans notre tube digestif, il y a donc une quantité non négligeable d'ADN « libre » qui peut être utilisé par les bactéries comme « nourriture ».

**35. La conjugaison bactérienne.** La conjugaison implique un contact entre des bactéries avec des pilis sexuels, sorte de tube permettant le transfert d'ADN et de protéines. L'ADN transféré peut être un plasmide (ou un autre élément génétique mobile).

Pour en savoir plus. La recombinaison homologe se fait si les séquences d'ADN sont suffisamment proches pour permettre ce processus. Ce type d'échange concerne donc des bactéries relativement proches d'un point de vue phylogénétique. En revanche les plasmides ou d'autres éléments génétiques mobiles peuvent « sauter » entre des bactéries plus

éloignées puisque leur maintien dans la cellule receveuse ne dépend pas de la recombinaison homologue. Ces éléments peuvent se répliquer indépendamment du chromosome de la cellule hôte (ils ont leur propre origine de réplication) ou peuvent être intégrés dans le chromosome de la bactérie receveuse par recombinaison non-homologue via des enzymes de type intégrase ou transposase.

**36. La transduction est le transfert de l'ADN d'une bactérie par un phage.** Les phages sont des virus infectant les bactéries en y injectant leur ADN. Une fois leur assemblage terminé au sein d'une bactérie, les virions ressortent en lysant la bactérie, on parle de cycle lytique. Une fois relâché, le phage peut infecter une autre bactérie et le cycle lytique recommence (violet). Dans de rares cas (1 fois sur 10'000 ou moins) le bactériophage « se trompe » et incorpore l'ADN de la bactérie donneuse (rouge). Quand ce phage infecte une autre bactérie, il y aura injection d'un ADN de la bactérie donneuse. Cet ADN peut être incorporé dans le génome de la bactérie receveuse par recombinaison homologue.

**37. Transfert d'ADN et modifications des bactéries.** L'acquisition de facteurs de virulence par des éléments génétiques mobiles peut transformer une *Escherichia coli* commensale inoffensive en redoutables pathogènes différents. Retenez le principe, pas les différents types d'éléments génétiques mobiles ou les différents types d'*E. coli*.

---

**38. De l'immunité bactérienne à l'édition du génome humain.**

**39. CRISPR-Cas9, un système de défense bactérien contre les éléments génétiques mobiles.** Le système CRISPR-Cas9 est un mécanisme de défense contre les phages et plasmides. En intégrant des fragments de gènes étrangers dans leur chromosomes les bactéries acquièrent une résistance aux phages et plasmides. Il s'agit d'une forme de système immunitaire héritable par transmission aux cellules filles, permettant aux bactéries de s'adapter rapidement. Les fragments d'ADN dérivés des génomes des différents virus rencontrés s'accumulent dans la région CRISPR. C'est la phase d'immunisation. S'ensuit une phase d'immunité. Les fragments « d'ADN étranger » sont transcrits en « ARN guides » qui reconnaissent l'ADN de tout virus de signature déjà connue pour guider la nucléase Cas9 qui coupe l'ADN reconnu.

**40. Pour en savoir plus. De la découverte du système CRISPR Cas9 à son utilisation pour le génie génétique**