

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR  
ET DE LA RECHERHCE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE DU 20 AOUT 1955- SIKKDA



Faculté des Sciences  
Département des Sciences de la Nature et de la Vie

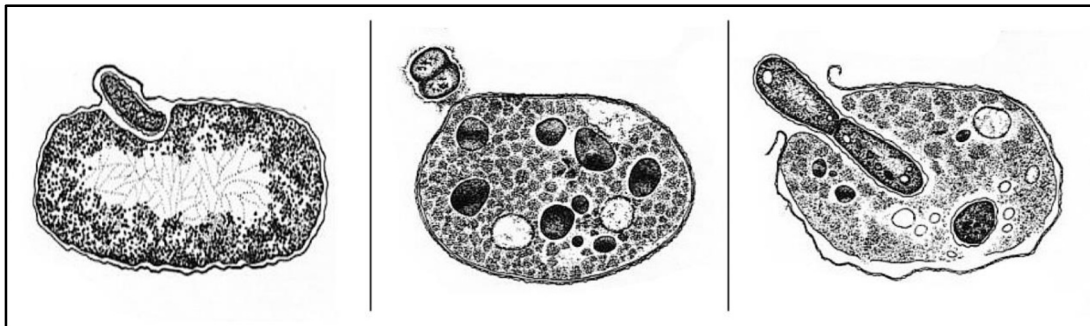
Polycopié de cours

INTERACTIONS MICROBIENNES

Réalisé par :

BOUDJELLAB Zine Eddine

Maitre de Conférences « B » en Microbiologie Appliquée



Année universitaire : 2022/2023

## Préface

Ce cours d'interactions microbiennes s'adresse aux étudiants de Master 2, spécialité en microbiologie appliquée, il est divisé en quatre grands chapitres, le **premier chapitre** : Interactions entre microorganismes et milieu physique, ce chapitre aborde des notions de bases régissant la survie et le développement des microorganismes dans les habitats naturels, tels que les milieux aquatiques et le sol, et leurs impacts sur ces derniers suite aux réactions biologiques qu'ils effectuent, constituant la base des cycles biogéochimiques (cycle de C, N, S...etc). L'organisation spatiale de cette communauté de microorganismes en biofilms sera traitée. Dans le **deuxième chapitre** : la communication intermicrobienne sera traitée (Quorum sensing), détaillant son aspect moléculaire (molécules impliquées, et mécanismes d'action) et sa capacité d'influencer le phénotype et le comportement des populations de microorganismes dans leur milieu naturel. En **troisième chapitre** : toutes les interactions symbiotiques (positives et négatives) seront énumérées en donnant des exemples pour chacune d'elles et leur conséquence sur le devenir des partenaires impliqués. Alors qu'en **quatrième chapitre** : plus d'attention sera portée sur la relation microorganismes pathogènes et le corps humain, en abordant les moyens et étapes des infections microbiennes, moyens de défenses du corps humain, tout ça en détaillant l'aspect moléculaire des processus infectieux et immunitaires.

**Image de la page de garde** : Représentation de la prédation chez les bactéries, de gauche à droite : *Bdellovibrio* pénétrant la paroi d'une bactérie Gram - ; *Vampirococcus* s'attachant à la paroi d'une cellule hôte ; *Daptobacter* pénétrant dans la cellule.

## **Objectifs du cours**

Le module est centré sur les nombreuses interactions auxquelles participent les microorganismes dans leur environnement, qu'il s'agisse d'interactions avec le milieu physique ou d'interactions biotiques. Les aspects fondamentaux et les applications pratiques seront considérés. Pour cela les objectifs du cours sont essentiellement :

- 1) Connaître les facteurs influençant le développement des microorganismes dans leur milieux naturels abiotiques
- 2) Savoir identifier les types d'interactions entre microorganismes et entre bactéries et hôtes eucaryotes.
- 3) Connaître les acteurs moléculaires et le rôle de la communication cellulaire bactérienne.
- 4) Mettre en œuvre une démarche expérimentale visant à identifier des signaux bactériens et à isoler des microorganismes capables d'interférer avec la communication bactérienne.

## INTRODUCTION

L'étude de la place et le rôle des micro-organismes dans un habitat (environnement, écosystème) ainsi que les interactions des micro-organismes entre eux et avec leur milieu est d'une importance cruciale. Les micro-organismes étant très nombreux, ubiquistes (présents partout dans le monde), très diversifiés, très adaptatifs, impactant profondément sur les écosystèmes de leur compartiment biotique et abiotique, et aussi ont une importance primordiale dans de nombreux domaines, tels que :

- **Cycle biogéochimique** de la matière : importance de la biodiversité microbienne dans les cycles du carbone, de l'azote, du soufre, du phosphate...
- **Dépollution** : dépollution naturelle des milieux grâce aux micro-organismes et utilisation des micro-organismes dans le traitement des eaux usées ou des sols pollués.
- **Agriculture** : interaction des micro-organismes avec les plantes (symbiose ou pathogène).
- **Médecine humaine** et vétérinaire : importance des parasites, des bactéries et virus pathogènes.
- **Agroalimentaire** : importance de la biodiversité microbienne dans des processus de transformation ou de fermentation de produits alimentaires (fromage, yaourt, vin, choucroute, saucisson...); rôle de certains micro-organismes dans l'altération de produits alimentaires. Maîtrise des contaminations via la maîtrise des flores en place soit une stratégie du type occupation de la place
- **Biotechnologie** : connaissance de la biodiversité microbienne pour caractériser des nouvelles molécules ayant des propriétés intéressantes pour les milieux pharmaceutiques et/ou industriels.
- **Évolution** : l'organisme ancestral ayant entraîné l'apparition de la vie était probablement proche des bactéries actuelles.

# Plan du cours

Préface

Objectifs du cours

Introduction

## Chapitre 1: INTERACTIONS ENTRE MICROORGANISMES ET MILIEU PHYSIQUE

1 LES MICROORGANISMES DANS LE MILIEU SOL.....	1
1,1 Introduction.....	1
1,2 Spécificité de l'écosystème tellurique.....	1
1,2,1 Composition.....	1
1.2.2 Formation.....	2
1.2.3 L'oxygène dans le sol.....	3
1.2.4 L'eau.....	3
1.2.5 Autre gaz.....	3
1.2.6 La température.....	4
1.2.7 Le pH.....	4
1.3 Microflore du sol (principaux groupements).....	4
1.3.1 Les bactéries.....	5
1.3.2 Les champignons.....	5
1.4 Le sol comme habitat des micro-organismes.....	6
1.4.1 Importance des micro-organismes et des plantes dans la formation de sols.....	7
1.4.2 Associations des micro-organismes du sol avec les végétaux.....	9
1.4.2.1 Micro-organismes de la phyllosphère.....	9
1.4.2.2 Micro-organismes de la rhizosphère et du rhizoplan.....	9
2 LES MICROORGANISMES DANS LES MILIEUX AQUATIQUES.....	11
2.1 Environnement d'eaux douces.....	11
2.2 Habitats marins et distribution des microorganismes.....	12
2.3 La productivité primaire.....	12
3 MICRO-ORGANISMES ET CYCLES BIOGEOCHIMIQUES.....	14
3.1 Introduction.....	14
3.2 Les différents cycles biogéochimiques.....	15
3.2.1 Le cycle du carbone.....	15
3.2.1.1 Fixation du carbone.....	16
3.2.1.2 Oxydation.....	16
3.2.1.3 Séquestration du carbone.....	17
3.2.2 Le cycle de l'azote.....	18
3.2.2.1 Fixation de N moléculaire pour le transformer en N organique.....	19
3.2.2.2 Minéralisation de l'azote organique.....	19
3.2.2.3 Ammonification.....	20
3.2.2.4 Nitrification.....	20
3.2.2.5 Dénitrification.....	20
3.2.3 Le cycle du soufre.....	21
3.2.3.1 Minéralisation du soufre.....	21
3.2.3.2 Oxydation du soufre.....	21
3.2.3.3 Assimilation des sulfates.....	21
3.2.3.4 Réduction des sulfates en sulfures.....	21

4	BIOFILMS MICROBIENS.....	22
4.1	Données historiques.....	22
4.2	Structure des biofilms .....	23
4.2.1	Une grande diversité de biofilms.....	24
4.2.2	Une organisation structurale commune.....	25
4.2.2.1	Une organisation stratifiée.....	25
4.2.2.2	Les principaux constituants du biofilm .....	26
4.2.3	Observation de biofilms.....	26
4.3	Formation et écologie des biofilms .....	27
4.3.1	Les étapes de formation d'un biofilm.....	28
4.3.2	Facteurs favorisant la formation d'un biofilm.....	32
4.3.3	Facteurs favorisant la dispersion d'un biofilm.....	33
4.3.4	Ecologie d'un biofilm.....	34
<b>Chapitre 2:</b>	<b>COMMUNICATION CELLULAIRE INTERMICROBIENNES</b>	
1	QUORUM SENSING.....	36
1.1	Origine et découverte.....	36
1.2	Définition.....	36
1.3	Notion d'autoinducteurs.....	36
1.4	Mécanisme du QS chez les bactéries.....	37
1.4.1	QS chez les bactéries Gram négatif.....	37
1.4.1.1	Cas de Vibrio fischeri.....	37
1.4.1.2	Cas général des bactéries Gram négatif.....	39
1.4.2	QS chez les bactéries Gram positif.....	40
1.5	Bactéries biosenseurs.....	40
1.6	Rôle du QS dans les différentes étapes du développement du biofilm .....	42
1.6.1	Attachement.....	42
1.6.2	Maturation.....	43
1.6.3	Dispersion.....	43
1.7	Avantages du QS pour les bactéries en biofilm.....	43
1.8	Inhibition du quorum sensing.....	44
<b>Chapitre 3:</b>	<b>INTERACTIONS ENTRE MICROORGANISMES ET ORGANISMES SUPERIEUR</b>	
1	Associations symbiotiques entre microorganismes et organismes supérieurs.....	46
1.1	Introduction .....	46
1.2	Les différents types d'associations symbiotiques.....	47
1.2.1	Mutualisme.....	47
1.2.2	Protocoopération.....	50
1.2.3	Commensalisme.....	50
1.2.4	Prédation.....	51
1.2.5	Parasitisme.....	52
1.2.6	Amensalisme .....	52
1.2.7	Compétition .....	53
<b>Chapitre 4:</b>	<b>Physiologie moléculaire des interactions microbiennes avec l'hôte humain</b>	
1	Relation Hôte-Bactérie .....	55
1.1	Généralité.....	55
1.2	Pouvoir Pathogène et Virulence.....	55
1.3	Classification des interactions hôte-bactéries.....	55
1.4	Physiopathologie de l'infection .....	55
1.4.1	Differentes voies de contamination .....	56
1.4.2	Etapes du processus infectieux.....	56
1.4.3	Différents modes d'infections .....	56

1.5 Moyens de défense d'hôte contre l'infection bactérienne.....	56
1.5.1 Moyen de défense général .....	56
1.5.2 Réaction inflammatoire ou immunité innée .....	57
1.5.3 Immunité acquise spécifique.....	58
1.6 Facteur facilitant la colonisation et l'invasion des surfaces de l'hôte par la bact	58
1.7 Facteur d'échappement aux défenses de l'hôte .....	59
1.8 Facteur endommagent l'hôte.....	60
1.9 Facteurs permettant la survie des bactéries pathogènes intracellulaires.....	61
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>63</b>

## **CHAPITRE I**

# **INTERACTIONS ENTRE MICROORGANISMES ET MILIEU PHYSIQUE**

## **1. LES MICROORGANISMES DANS LE MILIEU SOL**

### **1.1 Introduction**

Le mot sol se réfère à la matière extérieure lâche de la surface de la Terre, une couche distincte de la roche qui se trouve en dessous. Les sols sont dynamiques et évoluent avec le temps. Le sol est l'habitat d'une variété d'organismes, y compris les bactéries, champignons, protozoaires, insectes, nématodes, des vers, et de nombreux autres animaux. Les virus sont également présents dans les sols. Le sol se développe sur de longues périodes de temps grâce à des interactions complexes entre les matériaux de base (roche, sable, matériaux de sédiments glaciaires, et ainsi de suite), la topographie, le climat, et les organismes vivants. Cette communauté biologique complexe contribue à la formation, l'entretien et, dans certains cas, la dégradation des sols. En raison des changements dans la croissance des plantes, la température, les précipitations, la perturbation et l'érosion, un sol qui a pris des centaines d'années pour se former peut être rapidement dégradé si cette communauté microbienne est activée. Par exemple, ceci peut se produire si un sol marécageux est drainé, ce qui augmente l'accès de l'oxygène à la matière organique accumulée.

Dans la plupart des sols les principaux producteurs de la matière organique sont les plantes vasculaires, bien que les algues, les cyanobactéries et les bactéries photosynthétiques puissent également contribuer à ces processus, en particulier dans les environnements désertiques. Les sols peuvent être divisés en deux grands groupes : les sols minéraux sont issus de l'altération des roches et autres matériaux inorganiques, et les sols organiques sont dérivés de la sédimentation dans les tourbières et les marais. La plupart des sols sont un mélange de ces deux types. Bien que les sols minéraux prédominent dans la plupart des environnements terrestres, il ya un intérêt croissant pour le rôle que jouent les sols organiques dans le stockage du carbone.

### **1.2 Spécificité de l'écosystème tellurique**

#### **1.2.1 Composition**

Les sols sont composés d'au moins quatre composantes. Celles-ci comprennent (1) la matière inorganique minérale, typiquement 40% ou plus du volume du sol, (2) de la matière organique, habituellement d'environ 5%, (3) de l'air et de l'eau, plus ou moins 50%, et (4) des

micro- organismes et des macro- organismes, environ 5%. Des particules de tailles différentes sont présentes dans le sol, la gamme de 0.1-2 mm de diamètre sont appelés sable, celles comprise entre 0,002 et 0,1 mm du limon, et celles de moins de 0.002 mm de l'argile. Un sol dans lequel aucune des particules ne domine est appelé sol limoneux.

### 1.2.2 Formation

Les sols ont été formés, et continuent de l'être, dans une grande variété d'environnements. Ces environnements vont de la toundra de l'Arctique, où environ 11% de la réserve de carbone dans le sol de la planète est stocké, jusque dans les vallées sèches de l'Antarctique, où il n'y a pas de plantes vasculaires. La congélation, décongélation, et d'autres processus physiques contribuent à la formation du sol en formant des fissures dans les roches. Comme les particules générées se combinent avec la matière organique, offrent ainsi des sites pour l'établissement des plantes. Les racines des plantes pénètrent plus loin dans les crevasses, fragmentant davantage la roche, et leurs exsudats promouvoient dans la rhizosphère le développement de cellules microbiennes. Lorsque les plantes meurent, leurs restes deviennent des éléments nutritifs pour un développement microbien plus vaste.

En outre, les zones les plus profondes du sous-sol, où les racines des plantes et de leurs produits ne peuvent pénétrer, comprennent aussi des communautés microbiennes. L'activité microbienne se produit dans les profondes réserves continentales de pétrole, et même dans des affleurements rocheux. Ces microbes sont tributaires de sources d'énergie qu'ils obtiennent à partir d'algues, des nutriments provenant des précipitations et de la poussière. Un examen de presque n'importe quelle roche révèle la présence d'algues, de lichens, ou de mousses. Ces organismes sont phototrophes et produisent de la matière organique, ce qui favorise la croissance des bactéries et des champignons chimio-organotrophes. Des communautés chimio-organotrophes plus complexes composées de bactéries, des archées et des eucaryotes, se développent alors que l'étendue des précédents organismes colonisateurs augmente. Le dioxyde de carbone produit pendant la respiration est dissous dans l'eau pour former de l'acide carbonique ( $H_2CO_3$ ), qui dissout lentement la roche, en particulier les roches contenant du calcaire ( $CaCO_3$ ). En outre, de nombreux chimio-organotrophes excrètent des acides organiques, qui favorisent également la dissolution de la roche en particules plus petites.

### **1.2.3 L'oxygène dans le sol**

Une importante caractéristique du sol, d'un point de vue microbien, est que les micro-organismes sont en contact physique étroit avec l'oxygène, ils sont situés dans de minces films d'eau sur les surfaces des particules, où l'oxygène est présent à des niveaux élevés et peut être facilement reconstitué à partir de la phase gazeuse. Lorsque les micro-organismes utilisent de l'oxygène, il peut être réapprovisionné rapidement par diffusion, en maintenant ainsi les microbes, dans des conditions aérobies. La diffusion de l'oxygène dans le sol se produit environ 4000 fois plus rapidement que celle à travers l'eau. Les concentrations d'oxygène et les taux de flux dans les pores et les canaux sont élevés, alors que dans les zones remplies d'eau, le taux de flux d'oxygène est beaucoup plus faible. Même dans les zones saturées en oxygène, des environnements microbiens aquatiques peuvent être créés et qui sont des « points chauds » pour les processus anaérobies. En effet, dans les sols gorgés d'eau, le seul oxygène présent est celui dissous dans l'eau, ce qui peut être consommé rapidement par la microflore résidente. Ces sols deviennent alors anoxiques, et montrer de profonds changements dans leur activités biologiques.

### **1.2.4 L'eau**

L'un des principaux facteurs qui influent sur l'activité microbienne dans le sol est la disponibilité de l'eau. L'eau est un élément très variable du sol, et la teneur en eau du sol dépend de la composition du sol, des précipitations, du drainage et la couverture végétale. L'eau est retenue dans le sol de deux manières : soit par adsorption sur des surfaces ou libre entre les particules du sol. Il ya également de l'eau dans les canaux du sol, où les flux de masse sont importants pour le transport rapide des micro-organismes leurs substrats et leurs produits.

### **1.2.5 Autres gaz**

L'eau présente dans le sol comporte des matériaux qui y sont dissous, et le mélange est appelé la solution du sol. Dans les sols bien drainés, l'air pénètre facilement, et la concentration en oxygène de la solution du sol peut être élevée, similaire à celle de la surface du sol. Les changements dans la teneur en eau et les flux de gaz affectent aussi les concentrations de CO<sub>2</sub>, CO, et d'autres gaz présents dans l'atmosphère du sol. Ces changements seront accentués dans les pores plus petits où de nombreuses bactéries se trouvent. À des profondeurs inférieures l'oxygène est moins disponible, en particulier dans les sols humides, moins perméables. Les racines des plantes sont un autre facteur affectant les niveaux d'oxygène et de CO<sub>2</sub> dans le sol.

En effet, lorsqu'elles poussent dans les sols aérés normales, elles consomment de l'oxygène et libèrent du CO<sub>2</sub>, en influençant les concentrations de ces gaz dans l'environnement racinaire.

### **1.2.6 La température**

La température du sol et des eaux souterraines fluctuent de façon saisonnière à une profondeur d'environ 10 m, en dessous de laquelle la température de l'eau souterraine est déterminée en grande partie par la température moyenne annuelle de la région. La température est un facteur clé qui influe sur la croissance microbienne et les taux de biotransformation. En général, les taux de biodégradation diminuent avec la température, cependant, les effets de température peuvent être complexes. Par exemple, la température influe sur la biodégradation des hydrocarbures en provoquant des changements dans (1) la nature physique et la composition chimique de l'hydrocarbure, (2) le taux de métabolisme de l'hydrocarbure par les micro-organismes, et (3) la composition de la communauté microbienne.

### **1.2.7 Le pH**

Le pH de presque toutes les eaux souterraines se situe entre 6 à 9, mais le pH des sols peut être acide dans les zones où la pluviométrie lessive les bases de ce sol, principalement dans les régions arides et semi- arides. Les sols et les eaux souterraines à faible alcalinité peuvent également devenir acides en raison de contamination par la biodégradation (par la production d'acides organiques, ou de HCl par dé-halogénéation réductrice). Les champignons préfèrent des conditions acides alors que la biodégradation bactérienne tend à être plus rapide à des pH presque neutres. Par conséquent, la chaux est couramment ajoutée pour neutraliser le pH où l'acidité est préoccupante. L'oxydation microbienne de composés soufrés réduits génère des protons et peut être utilisée pour abaisser le pH des milieux alcalins.

## **1.3 Microflore du sol (principaux groupements)**

La diversité des populations microbiennes indique qu'ils profitent de toutes les niches trouvées dans leur environnement. Différentes quantités d'oxygène, de lumière, ou de nutriments peuvent exister au sein de quelques millimètres dans le sol. L'activité microbienne est plus grande dans les couches superficielles du sol riches en matières organiques, en particulier dans et autour de la rhizosphère. Le nombre et l'activité des micro-organismes du sol dépendent dans une large mesure des quantités de nutriments présents. Les nutriments

limitant dans les sols sont souvent les nutriments minéraux tels que le phosphore et l'azote. Comme une population d'organismes aérobies consomme l'oxygène disponible, les anaérobies sont capables de croître. Si le sol est perturbé par le labour, les vers de terre, ou autre activité, les micro-organismes aérobies seront de nouveau en mesure de croître et à répéter cette succession. La croissance microbienne la plus étendue a lieu sur les surfaces des particules du sol et est fortement favorisée à l'intérieur, même une seule particule de sol peut contenir de nombreux microenvironnements différents et peut ainsi favoriser la croissance de plusieurs types physiologiques de micro-organismes (Tableau 1).

### **1.3.1 Les bactéries**

Les bactéries et les champignons utilisent différentes stratégies fonctionnelles pour profiter de cette matrice physique complexe. La plupart des bactéries du sol sont situées sur les surfaces des particules du sol et nécessitent de l'eau et des éléments nutritifs qui doivent être situés dans leur voisinage immédiat. Les bactéries se trouvent le plus souvent sur les surfaces intérieures des pores plus petits du sol (2 à 6  $\mu\text{m}$  de diamètre). Là, elles sont probablement moins susceptibles d'être consommées par les protozoaires, contrairement à celles qui se trouvent exposées sur la surface extérieure d'un grain de sable ou une particule de matière organique.

### **1.3.2 Les champignons**

Les champignons filamenteux terrestres établissent des ponts dans les zones entre les particules du sol ou des agrégats, et sont ainsi exposés à des niveaux élevés d'oxygène. Ces champignons ont tendance à former des structures imperméables à l'oxygène, comme les sclérotés et des cordes hyphales. Ceci est particulièrement important pour le fonctionnement des basidiomycètes, qui forment des structures étanche à l'oxygène. Dans ces structures, les champignons filamenteux déplacent les éléments nutritifs et l'eau sur de grandes distances, y compris à travers les espaces aériens. Ces polymérisations oxydatives ne se produisent habituellement pas chez les champignons aquatiques.

**Tableau 1.** Groupes communs de micro-organismes présents dans le sol

Type de sol (taille des particules $\mu\text{m}$ )	Microorganismes	Exemple	Nombre/g de sol	Biomasse (Kg poids frais/ha sol)
Argile < 2.0	Virus	Virus Mosaïque du tabac	$10^{10}$ - $10^{11}$	
Limon 2.0-75	Bactéries	<i>Pseudomonas</i>	$10^{10}$ - $10^{11}$	300-3000
	Actinomycètes	<i>Streptomyces</i>	$10^8$ - $10^9$	300-3000
	Champignons	<i>Mucor</i>	$10^7$ - $10^8$	500-5000
	Algues	<i>Chlorella</i>	$10^5$ - $10^6$	10-1500
	Protozoaires	<i>Euglena</i>	$10^3$ - $10^6$	5-200
Sable 75-2000	Nématodes	<i>Pratylenchus</i>	$10^3$ - $10^5$	1-100
Gravier 2000-150.000	Vers de terre	<i>Lumbricus</i>	$10^1$ - $10^2$	10-1000

#### 1.4 Le sol comme habitat des micro-organismes

Un gramme de sol peut sembler être un petit échantillon, mais il peut donner quelques statistiques alarmantes. Les estimations sont qu'il y aurait 20000 mètres carrés de surface. Les populations microbiennes dans les sols peuvent être très élevées. Dans un sol de surface, le nombre de bactéries dans cet échantillon serait d'environ 1 milliard (bien que seulement environ 1% peut être cultivé), et il peut contenir plus d'un kilomètre de hyphes fongiques. Un exemple en est le champignon *Armillaria bulbosa*, qui vit associé avec les racines des arbres dans les forêts, un clone d'*Armillaria* couvrant environ 30 hectares a été découvert dans la péninsule supérieure du Michigan.

On estime que son poids minimum est de 100 tonnes, et âgé d'au moins 1500 ans. Ainsi, certains mycéliums fongiques sont parmi les organismes les plus importants et les plus anciens qui vivent sur la Terre. La population microbienne du sol est la plus grande dans les quelques centimètres supérieurs et diminue rapidement avec la profondeur. Les organismes les plus nombreux dans le sol sont des bactéries. Bien que les actinomycètes qui sont aussi des bactéries, sont généralement considérés séparément.

Les bactéries à Gram-positif, qui montrent des degrés variés de ramification et le développement du mycélium, sont une partie importante et moins étudiée de la communauté microbienne du sol, comprennent les *Corynebacteria*, les *Nocardia*, et les véritables bactéries filamenteuses ou actinomycètes. Ces bactéries jouent un rôle majeur dans la dégradation des hydrocarbures, des végétaux âgés, et l'humus du sol. En outre, certains membres de ces groupes dégradent activement les pesticides. Les actinomycètes filamenteux, principalement du genre

*Streptomyces*, produisent un composé aromatique appelé géosmine, qui donne au sol son odeur terreuse caractéristique.

La décomposition du matériel végétal pour aboutir à la matière organique en trois étapes (i) certains micro-organismes tels que *Pseudomonas* métabolisent rapidement les substrats facilement utilisables tels que les sucres et les acides aminés. (ii) les composés complexes tels que la cellulose est dégradée par des micro-organismes possédant des cellulases tels que *Streptomyces*, *Pseudomonas* et *Bacillus*. (iii) les composés plus résistants tels que la lignine sont enfin décomposés. Les formes indigènes ont tendance à utiliser la matière organique native à une plus grande mesure. Il s'agit notamment du genre *Arthrobacter* et nombreux actinomycètes du sol.

Une partie importante de l'activité biologique des sols provient des enzymes libérées par les plantes, les insectes, autres animaux, et de la lyse des micro-organismes. Ces enzymes libres contribuent à de nombreuses réactions de dégradation, telles que la protéolyse; les activités de peroxydase ont également été détectées. Apparemment ces enzymes libres s'associent avec les argiles et les matières humiques, ce qui permet de les protéger contre la dénaturation et la dégradation microbienne. Une boucle microbienne régénère les éléments nutritifs dans les sols comme dans les milieux aquatiques.

#### **1.4.1 Importance des micro-organismes et des plantes dans la formation de sols**

Une fois qu'ils sont formés, la plupart des sols sont riches en éléments nutritifs. La matière organique du sol aide à retenir les nutriments, maintient la structure du sol, et garde l'eau. Les nutriments se trouvent dans la matière organique, micro-organismes, les insectes du sol, etc. Les plantes poussent, meurent et à chacune de ces phases, elles fournissent des éléments nutritifs pour les organismes du sol. Dans un sol typique, c'est la matière organique qui contient la plus grande proportion de carbone et d'azote. Cependant, cette ressource nutritive n'est pas immédiatement disponible pour l'installation ou l'utilisation microbienne. Aboutissant ainsi et selon les régions à différents types de sol.

**-Les sols tropicaux** Avec des températures moyennes plus élevées, dans les sols tropicaux humides, la matière organique est très rapidement décomposée, alors que les nutriments inorganiques peuvent être lessivés de la surface du sol, provoquant une perte rapide de la fertilité. Pour limiter les pertes d'éléments nutritifs, beaucoup de plantes tropicales ont des systèmes racinaires qui pénètrent rapidement la litière en décomposition. Dès que la matière

organique et les minéraux sont libérés lors de la décomposition, les racines peuvent les capturer évitant ainsi les pertes dues à la lixiviation. Ainsi, il est possible de les recycler avant qu'ils ne disparaissent avec le mouvement de l'eau à travers le sol. Avec la déforestation, les nutriments ne sont pas recyclés, ce qui a pour conséquence leur perte du sol et une diminution de la fertilité de ces sols.

**-Régions tempérées** Dans de nombreux sols des régions tempérées, en revanche, les taux de décomposition sont inférieurs à celui de la production primaire, conduisant à une accumulation de litière. La pénétration profonde des racines dans les prairies tempérées résulte dans la formation des sols fertiles, qui fournissent une ressource précieuse pour la croissance des plantes cultivées.

**-Les sols des milieux forestiers de conifères** souffrent d'une accumulation excessive de matière organique végétale. En hiver, lorsque l'humidité est disponible, les sols sont froids, ce qui limite la décomposition. En été, lorsque les sols sont chauds, l'eau n'est pas aussi disponible pour la décomposition. Les acides organiques sont produits en hiver dans la couche de litière nouvellement formée et humide, s'infiltrant dans le sol sous-jacent. Ces acides solubilisent les composants du sol tels que l'aluminium et le fer, et une zone blanchie peut se former. Litière continue de s'accumuler, et le feu devient le principal moyen par lequel le cycle des nutriments est maintenu (un rôle plus important de la gestion de l'environnement dans ce type de système sol-plante).

**-Les sols marécageux** constituent un ensemble unique de conditions pour la croissance microbienne. Dans ces sols, le taux de décomposition est ralenti par les sols gorgés d'eau, principalement anoxiques, ce qui conduit à l'accumulation de la tourbe. Lorsque ces zones sont drainées, ils deviennent plus aérobies et la matière organique du sol est dégradée, entraînant l'affaissement du sol. Dans des conditions aérobies les complexes lignines - cellulose de la matière organique accumulée sont plus susceptibles à la décomposition par les champignons filamenteux. Dans les zones saturées d'eau, les bactéries sont plus importantes dans les processus de décomposition et elles diminuent la dégradation des matériaux lignifiés.

**-Les sols désertiques** Les sols des déserts arides et semi-arides chauds et froids sont tributaires des précipitations périodiques et rares. Lorsque ces pluies se produisent, l'eau peut donner des flaques d'eau dans les basses zones et est retenue sur la surface du sol par les communautés microbiennes appelées croûtes du désert. Il s'agit de cyanobactéries et des micro-organismes commensaux associés, tels qu'*Anabaena*, *Microcoleus*, *Nostoc*, et *Scytonema*. La

profondeur de la couche de photosynthèse est à peu près de 1 mm, et les filaments de cyanobactéries et les boues lient et les particules de sable, qui changent la surface du sol, le taux d'infiltration de l'eau, et la susceptibilité à l'érosion. Ces croûtes sont très fragiles, et les dommages peuvent persister pendant des décennies. Après la pluie, la fixation de l'azote va commencer dans environ 25 à 30 heures, et quand la pluie s'est évaporée, la croûte va se tarir et de l'azote sera libéré pour une utilisation par d'autres micro-organismes et la communauté végétale.

#### **1.4.2 Associations des micro-organismes du sol avec les végétaux**

Les plantes sont la principale source de matière organique dont la plupart des micro-organismes du sol dépendent ; en outre, elles sont fortement colonisées par des microorganismes, beaucoup d'entre eux ont développé des relations étroites avec les végétaux (commensalisme, mutualisme, pathogènes). Différents types de micro-organismes sont associés aux feuilles, tiges, fleurs, graines et aux racines. La communauté microbienne influence directement ou indirectement les plantes. Cette communauté inclut des micro-organismes qui se développent à la surface de la plante ou épiphytes, et à l'intérieur des cellules végétales ou endophytes.

##### **1.4.2.1 Micro-organismes de la phyllosphère**

Une grande variété de micro-organismes se trouvent sur les surfaces et dans les parties aériennes des plantes, appelée la phyllosphère. Il s'agit notamment de microorganismes qui ont des interactions complexes avec la plante à différents stades de développement. Les feuilles et les tiges libèrent des composés organiques, et cela peut conduire à un développement massif de micro-organismes, incluant les *Sphingomonas*, qui peuvent survivre à des niveaux élevés de rayonnement UV. Cette bactérie, aussi commune dans les sols et les eaux, peut se produire à  $10^8$  cellules par gramme de tissu végétal. Les *Sphingomonas* représentent souvent la majorité des espèces cultivables. Les micro-organismes de la phyllosphère jouent un rôle important dans la protection mais peuvent éventuellement nuire à la plante.

##### **1.4.2.2 Micro-organismes de la rhizosphère et du rhizoplan**

Les racines des plantes libèrent une grande variété de substrats dans leur sol environnant, notamment l'éthylène, divers alcools, des sucres aminés, des acides organiques, des vitamines, des nucléotides, des polysaccharides, et des enzymes. Ceci permet de créer des environnements uniques pour les micro-organismes du sol. Ces environnements comprennent (i) la rhizosphère, décrite par Lorenz Hiltner en 1904, qui est représentée par le volume de sol autour de la racine

influencé par les substrats rejetées par celle-ci. (ii) La surface de la racine de la plante, appelée rhizoplan, fournit également un environnement unique pour les micro-organismes, comme des matières gazeuses, solubles, et des particules se déplaçant à partir de la plante vers sol. Lorsque ces substrats sont disponibles le nombre des micro-organismes augmente, mais aussi leur composition et leur fonction changent dans la rhizosphère et le rhizoplan. Les micro-organismes de la rhizosphère et du rhizoplan, servent à leurs tours de sources de nutriments labiles pour d'autres organismes, créant ainsi une boucle microbienne du sol en plus de jouer un rôle essentiel dans la synthèse et la dégradation de la matière organique.

Dans la rhizosphère une large gamme de bactéries peut favoriser la croissance des plantes, en communiquant avec celles-ci au moyen de signaux chimiques complexes. Ces signaux chimiques, incluent des auxines, gibbérellines, glycolipides, et cytokinines, qui sont un intéressant moyen biotechnologique. Parmi les rhizobactéries qui promouvoient la croissance des plantes on retrouve les genres *Pseudomonas* et *Achromobacter*.

Les micro-organismes tels que *Azotobacter*, *Azospirillum* et *Acetobacter* fixant l'azote sont présents sur la surface des racines des plante, le rhizoplan, ainsi que ceux présents dans la rhizosphère contribuent à l'accumulation d'azote par les graminées tropicales. Ces bactéries favorisent la production d'hormones qui augmentent la croissance et le développement des radicelles et donc une plus grande capacité de la plante à absorber les substances nutritives.

## 2. MICROBIOLOGIE DES MILIEUX AQUATIQUES

### 2.1 Environnement d'eaux douces

Les eaux douces sont représentées par les lacs, étangs, rivières et les fleuves, ces milieux sont très différents les uns des autres en ce qui concerne les ressources disponibles et autres propriétés physico-chimiques, en conséquence les activités microbiennes varient d'un milieu à un autre. Les organismes phototrophes prédominants dans les environnements aquatiques sont les micro-organismes cyanobactéries et algues dans les eaux oxygénées, bactéries photosynthétiques anoxygéniques dans les zones anoxiques

Les algues qui flottent ou en suspension dans l'eau forme le phytoplancton, celles attachées au fond ou sur les bords forment les algues benthiques. Ces organismes utilisent l'énergie lumineuse pour la production initiale de matière organique, ils sont nommés producteurs primaires. En définitive l'activité microbienne d'un écosystème aquatique dépend des taux de production primaire par les organismes phototrophes. Les phototrophes oxygéniques produisent à la fois la matière organique nouvelle et l'oxygène si l'activité photosynthétique est élevée l'excès de matière organique conduit à un épuisement de l'oxygène, ceci déclenche des formes alternatives de métabolisme des procaryotes et en particulier la respiration anaérobie et la fermentation.

Dans les lacs d'eau douce une fois l'oxygène consommé les couches profondes deviennent anoxiques que les organismes aérobies stricts comme les plantes et animaux ne peuvent y vivre et les couches proches du fond contiennent seulement des procaryotes anaérobies et quelques sortes de eucaryotes anaérobies et en particulier certains protozoaires, de plus en passe de métabolisme respiratoire à la fermentation et à la méthanogénèse, avec des conséquences importantes pour les cycles du carbone et des autres nutriments.

Le fait qu'une masse d'eau soit épuisée en oxygène dépend de plusieurs facteurs dont la quantité de matières organiques présentes et le mélange, si la matière organique est en faible concentration comme dans les lacs isolés ou dans l'océan au large, il est possible qu'il n'y ait pas assez de substrats disponibles pour que les chimioorganotrophes consomment de l'oxygène. Les microorganismes présents dans ces environnements sont des oligotrophes qui sont adaptés à se croître dans des milieux très dilués par contre dans de nombreux lacs des pays tempérés les

massent d'eaux peuvent être stratifiés pendant l'été avec des eaux plus chaudes et moins denses à la surface : épilimnion, et des eaux plus froides et plus denses en profondeur : hypolimnion. La thermocline est la zone de transition entre l'épi et l'hypolimnion, après la mise en place de la stratification en générale au début de l'été. De tels lacs contiennent souvent des plus fortes concentrations en matière organique dissoute provenant du ruissellement des terrains voisins. Ceci peut déclencher des efflorescences d'algues et de cyanobactéries qui augmentent encore la teneur en matières organiques du lac

Dans les lacs tempérés et à la fin de l'automne et au début de l'hiver les eaux de surface deviennent froides et donc plus denses que les eaux profondes ceci permet le renouvellement de masse et donc la réoxygénation des eaux profondes. Ce cycle annuel permet aux eaux de fond de passer d'un état oxygéné à l'état anoxique et de revenir à l'état oxygéné. L'activité microbienne est altérée par ces changements de la concentration en oxygène mais d'autres facteurs et surtout la température qui pilote également leur activité.

## **2.2 Habitats marins et distribution des microorganismes**

Par comparaison avec les environnements d'eau douce les concentrations en nutriment des milieux océaniques sont en général très faibles. Ceci est particulièrement vraie pour des nutriments essentiels comme l'azote, le phosphore et le fer. L'activité des producteurs primaires (surtout la fixation du CO<sub>2</sub> par la photosynthèse) est limitée par ses déficits en nutriments, et les cellules microbiennes sont moins nombreuses dans les océans que dans les écosystèmes d'eau douce cependant en raison du volume énorme des océans la photosynthèse et la production d'oxygène totale sont des facteurs majeurs dans l'équilibre du carbone sur terre. L'influence des communautés marines s'étend de la chaîne alimentaire marine au climat de la Terre

## **2.3 La productivité primaire**

L'essentiel de la production primaire des océans, même à des profondeurs significatives est dû à l'activité photosynthétique des prochlorophytes. Les procaryotes phototrophes oxygéniques qui contiennent des chlorophylles *a* et *b*. *Prochlorococcus* proche des cyanobactéries est un producteur primaire particulièrement important dans les eaux océaniques tropicales et subtropicales. La cyanobactérie marine planctonique de formes filamenteuses, *Tricodesmium* est très largement répandue elle forme des touffes de filament qui constitue une fraction significative de la biomasse vivante dans ces masses d'eau, elle fixe l'azote jouant un

rôle important dans le cycle de l'azote dans le milieu marin

Avec les prochlorophytes on trouve dans les eaux côtières de petits eucaryotes photosynthétiques figurent parmi les plus petites cellules eucaryotes connues, *ostreococcus* par exemple est une algue qui mesurent seulement 0,7  $\mu\text{m}$  de diamètre soit une taille inférieure à celle de *E. coli*

Les mers fermées sont typiquement plus riches du point de vue nutritionnel que les eaux océaniques du large et abritent donc des populations plus denses d'organismes phototrophes. On y trouve en conséquence des plus fortes densités de bactéries chimiotrophe. Les baies Marine recevant des rejets domestiques ou industriels peuvent aussi présenter des populations élevées de phytoplancton et de bactéries. Dans le cas de pollution sévère des eaux marines peu profondes peuvent même devenir anoxique et impropre à la vie marine en raison de l'utilisation de l'oxygène par la respiration aérobie et la production d' $\text{H}_2\text{S}$  par les bactéries sulfito-réductrices

De nombreux résultats concordent sur le fait que les métabolismes phototrophes sont à la base de toutes ces communautés planctoniques hauturières

Il existe dans ces environnements d'autres phototrophes qui réalisent la photosynthèse anoxique, il ne s'agit pas cependant des bactéries pourpres et verte classiques qui fonctionnent en condition d'anaérobiose mais il s'agit de phototrophes anoxygéniques aérobie des organismes réalisant la photosynthèse anoxique seulement en conditions aérobie. On n'y trouve des protéobactères du genre *Erythrobacter* et *Roseobacter*. Outre ces phototrophes de nombreux procaryotes vivant en mer dans la zone euphotique contiennent une forme de pigments de la vision : la rhodopsine, la bactériorhodopsines présentes chez les *archaea* halophyles extrême du genre *halobacterium*

Le nombre des procaryotes dans les océans décroît avec la profondeur en général les espèces des bactéries prédominent dans les eaux de surface tandis que leur nombre sont à peu près équivalent avec une faible prédominance des *archaea* dans les eaux les plus profondes. Ses *archaea* sont exclusivement des membres des *crenarchaeota* un phylum contenant des hyperthermophiles. Il a été estimé que  $1,3 \cdot 10^{28}$  cellules d'*archaea* et  $3,1 \cdot 10^{28}$  cellules de bactéries existe dans l'ensemble des océans soient la plus forte biomasse microbienne à la surface de la Terre.

### 3. MICRO-ORGANISMES ET CYCLES BIOGEOCHIMIQUES

#### 3.1 Introduction

Les cycles biogéochimiques sont importants car ils permettent de réactiver les éléments inertes en une forme utilisable par les organismes vivants. Donc il y a une rotation permanente des éléments.

Au niveau de ces cycles biogéochimiques, il y a un échange important entre lithosphère, atmosphère et hydrosphère. Ces flux ne sont que la conséquence de processus biochimiques qui se déroulent à l'échelle cellulaire.

Ces cycles biogéochimiques sont essentiellement liés aux activités microbiennes. Ceci vient du fait que la densité microbienne est considérable. La masse la plus importante sur notre planète, ce sont les microorganismes. Les bactéries sont responsables de la moitié de la productivité primaire sur terre. Elles jouent un rôle essentiel dans tous les cycles biogéochimiques : cycle du carbone, de l'azote, de l'oxygène, du soufre, du fer,...

Quelques définitions des processus microbiens impliqués dans les transformations biogéochimiques :

- Minéralisation = conversion de la forme organique d'un élément en forme inorganique.

On parle de volatilisation quand les produits formés sont des gaz.

- Immobilisation = assimilation d'un élément inorganique qui va être convertie en substance organique plus ou moins complexe.
- Oxydation = c'est liée essentiellement aux processus énergétiques dans les cellules qu'ils s'agissent de substrats organiques ou inorganiques.
- Réduction = c'est le résultat de processus énergétique (accepteurs finaux d'électrons qui se réunissent), la prolifération cellulaire ( ce traduit par la consommation, par une chute du potentiel rédox), puis les cellules quand elles prolifèrent, elles libèrent les composés réducteurs, souvent des acides organiques.
- Fixation = assimilation et conversion d'un élément gazeux en composé organique.
- Diagenèse = formation de dépôts géologiques via les microorganismes : formation de

roches sédimentaires, de charbons, de pétroles, de dépôts sulfureux, etc...

Au niveau métabolisme, tout ce qui se passe dans l'environnement, c'est le reflet de ce qui va se passer à l'intérieur d'une cellule bactérienne.

Donc, les cycles biochimiques correspondent aux changements des caractéristiques physico-chimiques des éléments, modifiant ainsi leur accessibilité. L'importance des MO dans ces réactions varie selon les éléments. Pour le Carbone, l'Azote et le Soufre, l'intervention des MO est capitale. En effet, sans leur intervention, l'approvisionnement naturel des milieux en ces éléments s'arrête, ce qui bloque alors le turn-over de ces derniers.

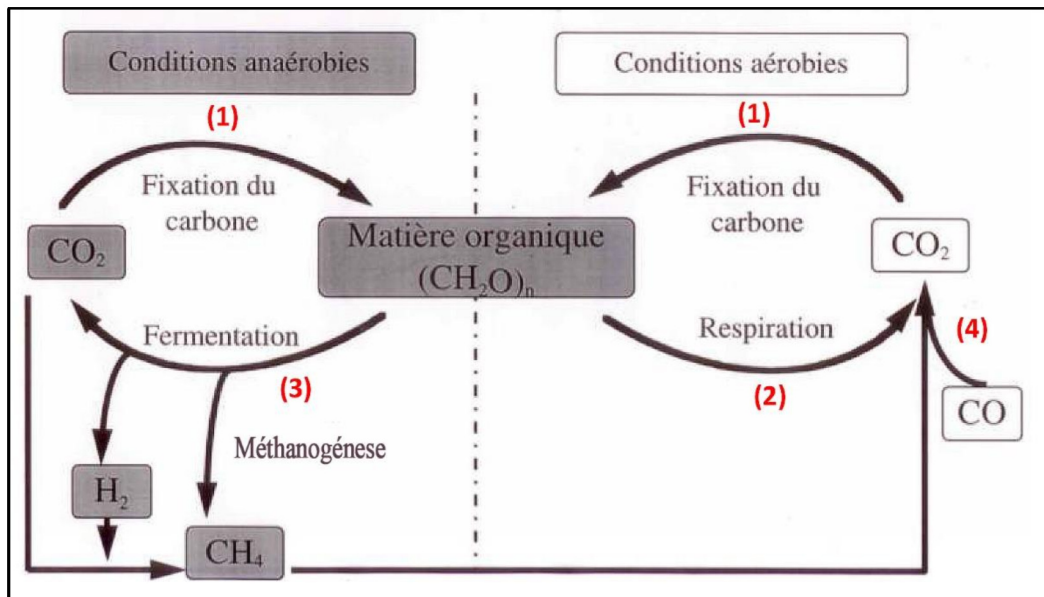
Remarques : Les transformations microbiennes peuvent contribuer à enrichir ou à appauvrir un élément. Cela signifie que l'intervention des MO, par le biais de certaines réactions font entrer ou sortir des éléments de l'écosystème.

### **3.2 Les différents cycles biogéochimiques**

#### **3.2.1 Le cycle du carbone**

Dans les conditions aérobies, le carbone atmosphérique ( $\text{CO}_2$ ) est fixé par les MO pour former de la matière organique dans les écosystèmes : il s'agit de la photosynthèse. Quand ce carbone arrive dans le sol ou dans l'eau, il va être utilisé par la respiration des organismes, rejetant ainsi le  $\text{CO}_2$ .

Dans les conditions anaérobies, il y a des MO qui effectuent également la photosynthèse. Cependant la dégradation de la matière organique se fait par la fermentation.



**Figure 1 :** Principales réactions du cycle de carbone effectuées par les microorganismes

### 3.2.1.1 Fixation du carbone (réduction) (1)

Le CO<sub>2</sub>, CO<sup>-</sup> et HCO<sup>-</sup> est transformé en molécules organiques (CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub> et en O<sub>2</sub>. Cette réaction est faite par les cyanobactéries, les algues vertes, les bactéries photosynthétiques (photoautotrophes) et les bactéries chimiolithotrophes.

### 3.2.2.2 Oxydation (substrats : produit de photosynthèse, animaux ou microbiens morts)

#### - En aérobiose : (2)

Ce sont les bactéries et les champignons qui dégradent la matière organique dans le sol par une oxydation complète : il s'agit du mécanisme de la respiration aérobie (transformation (CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub> en CO<sub>2</sub>). Cependant, une partie du carbone est utilisée pour faire la biomasse, afin donc de se multiplier.

#### - En anaérobiose : (3)

La réaction se fait par fermentation et une oxydation par respiration en anaérobie (où il y a besoin d'accepteurs d'e<sup>-</sup> minéraux). Ces réactions sont faites par les bactéries dénitrifiantes, cellulolytiques et pectinolytiques. Il est à noter qu'il y a du CO (4) qui entre dans le cycle du carbone. Il s'agit du carbone issu des activités industrielles, en dehors donc de l'activité des MO. Il existe des phénomènes de séquestration qui empêche la circulation d'une partie du carbone.

### 3.2.2.3 Séquestration du carbone

Le carbone qui ne circule plus dans l'écosystème, peut être :

- **Sous forme minérale** : Il s'agit des dépôt de carbonates dans l'eau ou l'atmosphère. Ces précipitations sont biologiques ou chimiques. Les MO interviennent pour catalyser ces réactions.

- **Sous forme organique** : Il existe le phénomène d'humification qui est une réaction de polymérisation de molécules de carbone simple en polymère plus complexe et difficile à dégrader, appelé humus. Par conséquent, les MO ne peuvent plus utiliser ce carbone pour l'introduire dans le cycle. Il existe également des tourbes qui est une accumulation de matière organique qui ne se décompose pas. En effet, cette matière rend le milieu anaérobie, acide, provoque une carence en Phosphate et en Azote et produit des composés toxiques. Ces conditions sont alors défavorables au fonctionnement des MO qui dégradent la matière organique.

- **Autres formes de séquestration** : Les tourbes peuvent être transformées en charbon ou en pétrole et gaz soit par le biais de transformations physico-chimiques ou par la présence de planctons qui font des réaction de désamination, décarboxylation, déphosphorylation ...

les MO sont capables de maintenir le cycle du carbone de telle sorte à qu'il circule et qu'il soit disponible. Cependant, certaines quantités de carbone vont s'accumuler sous forme organique ou minérale, et qui ne participent pas au cycle.

#### **Bilan :**

##### Gains dans le sol/eau :

Le développement des végétaux, des animaux et des MO, constitue un **stock de carbone**. L'Homme peut également rajouter des fertilisants organiques qui apportent des gains de carbone dans les sols.

##### Pertes dans le sol/eau :

Il y a des pertes biologiques lors de la dégradation de la matière organique pour faire la respiration microbienne, mais aussi lors de la dégradation lente des humus ou de la solubilisation des carbonates dans l'eau. Enfin, il y a des pertes non biologiques causées par l'érosion qui entraîne la perte en carbonates des sols, et le lessivage lorsqu'il y a de fortes pluies, solubilisant les carbonates et l'éliminant dans les nappes phréatiques.

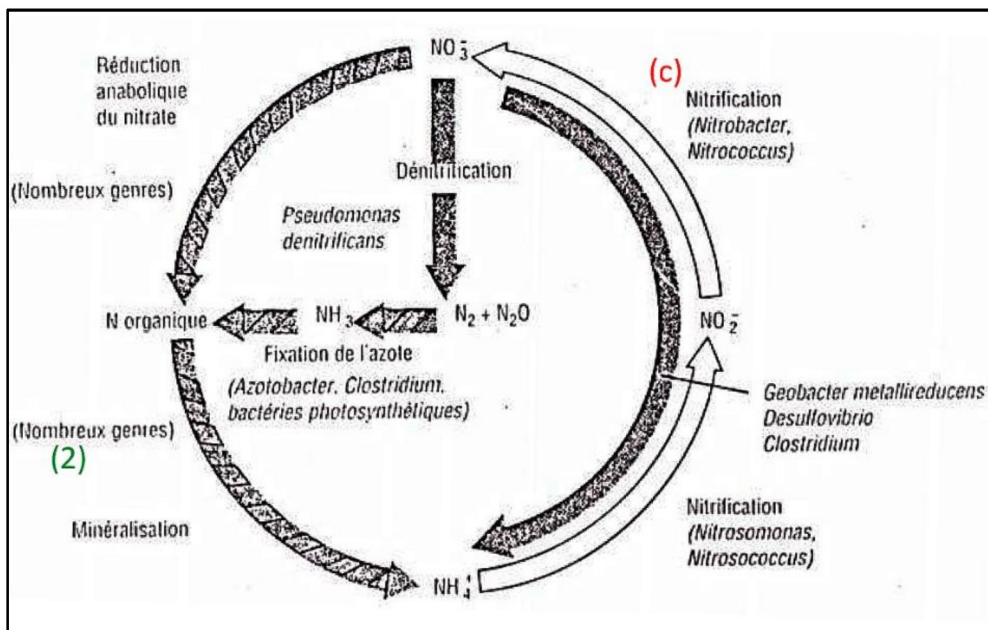
### 3.2.2 Le cycle de l'Azote

Le diazote ou azote gazeux ( $N_2$ ) représente 77% de l'atmosphère. Dans le sol, l'azote se trouve principalement sous forme organique (protéines, acides aminés ...).

→ La première problématique est que l'essentiel de l'azote se trouve dans l'atmosphère, alors que l'essentiel des organismes se trouve au sol.

→ La deuxième problématique est que le sol contient de l'azote sous forme organique, or les MO utilisent majoritairement des formes minérales, donc ils vont utiliser le  $N_2$ ,  $NH_4^+$ ,  $NO_2^-$ ,  $NO_3^-$ . Néanmoins, il existe des MO qui utilisent l'azote organique.

Le rôle des MO dans le cycle de l'azote est de fixer l'azote atmosphérique pour le ramener dans le sol, et de le transformer en azote minéral afin qu'il devienne utilisable par ces derniers et par les plantes.



**Figure 2:** Principales réactions de l'azote effectuées par les microorganismes

(1) :  $N_2$  atmosphérique est fixé par les MO pour le ramener dans le sol et ils le transforment ensuite en azote

(2): A partir de cet azote organique, les bactéries vont faire des réactions de minéralisation.

Grace à divers genres de MO, on retrouve donc dans le sol principalement 3 formes d'azote minéral, l'ammonium, le nitrite et le nitrate, qui sont utilisables par les MO ou par les plantes.

Cependant, il existe toujours un équilibre. (Dans le cycle du carbone, on a vu qu'il y a des bactéries qui ramènent au sol du carbone atmosphérique via la photosynthèse, et le transforme en carbone organique. Et on a également vu qu'il y a des bactéries qui dégradent la matière organique en  $CO_2$  qui retourne dans l'atmosphère)

(2): Dans le cas de l'azote, pour rassurer cet équilibre, il y a des bactéries qui, par un processus de dénitrification dans conditions anaérobies, transforment le nitrate en azote atmosphérique.

### 3.2.2.1 Fixation de N moléculaire pour le transformer en N organique :

Il y a différents types de bactéries car on peut avoir dans le sol différentes conditions dans lesquelles des bactéries ont besoin d'azote minéral :

- Bactéries aérobies (*Azotobacter*, *Azospirillum*)
- Bactéries anaérobies (*Clostridium*)
- Bactéries symbiotiques (*Rhizobium*, *Anabaena*) associées à des plantes ; bactéries libres (*Azobacter*, *Azospirillum*) non associées à des plantes

Remarque : Il s'agit d'un ensemble de réaction qui se font en anaérobiose, même si la bactérie est aérobie, cette fixation d'azote ce fait soit dans un endroit, soit dans une poche où il n'y a pas de  $CO_2$ .

### 3.2.2.2 Minéralisation de l'azote organique

L'azote organique qui est arrivé dans le sol se retrouve dans les plantes, dans les organismes du sol et également dans les cellules bactériennes. Toutes ces formes vont alors être transformées en forme minérale ammoniacale et nitrique utilisables par les plantes et les MO.

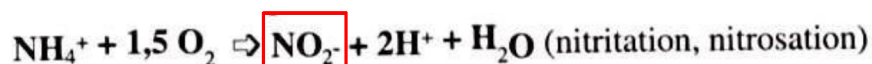
### 3.2.2.3 Ammonification

Cette réaction forme l'ammonium  $\text{NH}_4^+$ , les macromolécules qui contiennent de l'azote telles que les protéines, sont dégradées pour donner des acides aminés ou des bases azotées. Ces petites molécules vont être dégradées pour donner de l'ammonium par un processus de respiration (présence  $\text{O}_2$ ) ou de fermentation (absence  $\text{O}_2$ ).

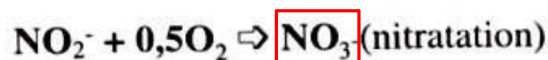
### 3.2.2.4 Nitrification

Il y a deux réactions, la première donne le nitrite, et la deuxième le nitrate, toutes deux se font dans des conditions d'aérobies par des bactéries nitrifiantes autotrophes.

#### a. Nitritation :



Les bactéries capables de faire cette réaction sont les *Nitrosomonas* et les *Nitrosococcus*.



#### b. Nitratation :

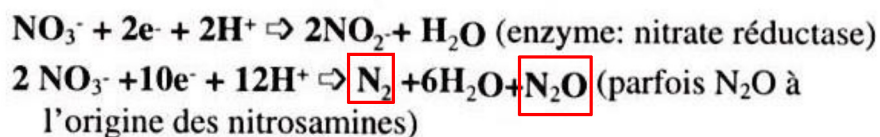
Les bactéries capables de faire cette réaction sont les *Nitrobacter*

Remarque : Ces réactions présentent un intérêt agronomique, si on souhaite favoriser la croissance de plantes qui ont des besoins en azote, l'utilisation des bactéries fixatrices d'azote permet d'augmenter la fertilité d'un sol = fertilisation naturelle. Cependant, il arrive que l'action des bactéries à alimenter le sol en azote soit insuffisante, c'est pour cette raison que l'Homme ajoute des engrais nitrates. Mais lorsque l'Homme utilise de fortes concentrations de ces engrais nitrates de manière peu raisonnée, et que s'ajoutent de fortes pluies, les formes d'azotes passent dans les nappes car les plantes n'absorbent pas de suite l'azote, on parle alors de pollutions des eaux.

Il doit avoir un équilibre entre la nutrition naturelle et ce qu'ajoute l'Homme.

### 3.2.2.5 Dénitrification

Quand le nitrate est très abondant et que l'on se trouve dans des conditions d'anaérobiose,



les MO hétérotrophes font la réactions de dénitrification (processus de respiration). Pour cela il leur faut en plus de ces conditions des donneurs d'électrons (un sucre des exsudats racinaires ou des produits de décomposition des végétaux). Les nitrates vont être transformés en 2 étapes :

Le nitrate qui est soluble dans l'eau et utilisable par les MO, est transformé en N<sub>2</sub> volatile qui quittera la sol, diminuant alors la fertilité du sol, et en N<sub>2</sub>O. Cette dernière molécule est à l'origine de nitrosamine (cancérogène).

Ce qu'il faut retenir, c'est que certaines réactions dans le cycle de l'azote sont très sensibles et peuvent à la fois présenter des intérêts agronomiques et des problématiques sanitaires.

Remarque : cette réaction est à l'origine de la perte d'azote dans le sol quand on a des conditions qui favorise en continu la dénitrification.

### 3.2.3 Le cycle du Soufre

Dans l'environnement, le soufre se trouve sous forme de sulfate (SO<sup>2-</sup>), il est possible de aussi de le trouve sous forme de sulfure (S<sup>2-</sup>) qui est une forme réduite résultant de l'activité de MO sulfato-réducteur ou d'une activité volcanique.

Dans le sol, le soufre se trouve sous forme organique, tels que certains acides aminés et protéines. Cependant, pour que les MO puissent l'utiliser, le soufre doit être minéralisé. (□ analogie avec l'azote)

#### 3.2.3.1 Minéralisation du soufre

Le soufre se trouve dans les macromolécules organiques dans les végétaux, les animaux et les MO. Cet élément doit cependant être transformé dans le sol sous forme H<sub>2</sub>S, il s'agit d'une première minéralisation qui permet de le rendre utilisable. C'est l'équivalent de l'ammonification dans le cycle d'azote.

#### 3.2.3.2 Oxydation du soufre

Une fois minéralisé, le soufre doit être oxydé. Tout d'abord, le sulfure (S<sup>2-</sup>) est oxydé en

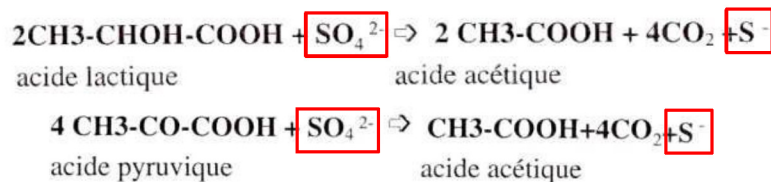
soufre élémentaire ( $S^0$ ), puis en thiosulfate ( $S_2O_3^{2-}$ ) et enfin en sulfate ( $SO_4^{2-}$ ). Cette oxydation peut être effectuée grâce aux bactéries photosynthétiques (*Chlorobium*, *Chromatium*), les bactéries filamenteuses (*Thiotrix*) et les bactéries autotrophes (*Thiobacillus*).

### 3.2.3.3 Assimilation des sulfates

Le sulfate  $SO_4^{2-}$  est la forme assimilable par les plantes et les MO. Ces derniers vont alors le réduire pour les incorporer aux composés organiques.

### 3.2.3.4 Réduction des sulfates en sulfures (sulfato-réduction)

Les sulfates, étant une forme oxydée, peuvent être réduits en sulfures par des bactéries sulfato-réductrices (*Desulfovibrio* et *Desulfotomaculum*). En général, ces MO utilisent une



source de carbone (ex : acide lactique ou pyruvique) pour réduire le sulfate en sulfure, il s'agit d'une source d'énergie pour la sulfato-réduction (en anaérobie !).

Le sulfure formé peut être volatilisé s'il combiné avec de l'hydrogène, sinon il reste dans le milieu.

## 4. BIOFILMS MICROBIENS

### 4.1 Données historiques

On attribue la découverte des biofilms à l'inventeur du microscope, Antoni Van Leeuwenhoek (1632-1723), qui observa vers 1683 avec cet appareil des communautés de micro-organismes à la surface des dents.

La mise en évidence des biofilms est longtemps restée anecdotique, en partie parce que les méthodes d'observation n'étaient pas suffisamment performantes.

En 1933, lors d'expériences visant à observer la croissance d'algues sur des lames de verre placées dans un aquarium, Henrici observa, fixées sur ces lames, des communautés bactériennes. Il émit alors l'hypothèse que la plupart des bactéries vivant en milieux aqueux sont organisées sous forme de communautés sessiles fixées à une surface, et non pas sous forme planctonique. Le concept de « biofilm » est né, mais le terme en lui-même n'est pas encore utilisé.

Claude E. Zobell (1904-1989), considéré comme le père de la microbiologie marine, démontra vers 1936 que les surfaces solides sont bénéfiques au développement des bactéries lors de leur conservation dans un milieu nutritif dilué. En 1943, il montra que de très faibles quantités de nutriments organiques s'adsorbent sur le verre et que cette concentration de matière organique favorise la formation de communautés bactériennes fixées sur les surfaces.

C'est dans les années 1970, sous l'impulsion de Characklis puis de Costerton, que l'étude des biofilms a pris véritablement son essor. Les techniques utilisées à cette époque étaient essentiellement la microscopie électronique à balayage et les cultures microbiologiques. Ces techniques ont permis de définir un certain nombre de caractéristiques inhérentes aux biofilms. Par exemple, l'utilisation d'un colorant spécifique des polysaccharides, le rouge Ruthenium, couplée à un fixateur, le tétraxide d'osmium, a permis de visualiser une matrice d'exopolymères englobant des agrégats cellulaires.

En 1973, Characklis démontre que les matrices d'exopolymères des biofilms confèrent à ces derniers une résistance avérée contre l'action des désinfectants, notamment ceux à base de chlore. En 1978, Costerton et son équipe proposèrent les premières hypothèses sur les mécanismes impliqués dans l'adhésion des micro-organismes. Ils proposèrent pour la première

fois le terme de « biofilms », en suggérant que ce serait le mode de vie naturel adopté par la plupart des micro-organismes. Cette proposition, qui s'appuyait initialement sur la comparaison du nombre de bactéries sous forme planctonique et sous forme de biofilms dans une rivière, est désormais généralement admise par les microbiologistes.

Depuis, un nombre croissant d'études ont été consacrées aux biofilms, aussi bien dans les domaines industriel et environnemental que dans le domaine médical. En dix ans, le nombre de publications scientifiques annuelles consacrées aux biofilms est passé d'une dizaine (1996) à plus de 1200 (2006).

Plus récemment, la microscopie à balayage et les cultures ont été supplantées par d'autres techniques comme la microscopie confocale à balayage laser et les outils du génie génétique. Ces derniers sont par exemple applicables à l'étude des gènes impliqués dans l'adhésion et la formation du biofilm.

#### **4.2 Structure des biofilms**

Dans les conditions naturelles, les bactéries existent sous deux formes :

- libre : mode de flottaison libre appelé forme planctonique,
- sessile : attaché, sous forme de biofilm.

Le passage d'un mode de vie à l'autre est un processus dynamique et complexe. La forme planctonique permet aux bactéries de proliférer et de coloniser de nouvelles niches. C'est la forme minoritaire. Brièvement, des bactéries sous forme libre s'attachent à une surface de façon irréversible, puis croissent. Ces bactéries produisent et accumulent des polymères extracellulaires, formant une matrice extracellulaire à forte teneur en eau. Les bactéries sont immobilisées au sein de cette matrice. Leur proximité entre elles leur permet de réaliser des échanges de signaux et de nutriments. C'est cet ensemble qui forme le biofilm.

Ce mode de vie permet à des colonies de bactéries de persister à un endroit donné, sans proliférer. Il confère à la communauté bactérienne une véritable protection contre un certain nombre de stress environnementaux comme la dessiccation ou encore l'action d'agents antimicrobiens. Un biofilm a la capacité de devenir résistant aux réponses immunitaires innée et acquise de l'hôte. Les traitements antimicrobiens à des concentrations classiques d'utilisation ne permettent pas l'éradication des biofilms. L'étude de la structure des biofilms et des mécanismes de leur dynamique de formation a donc un intérêt dans la recherche

concernant les moyens de lutte contre les biofilms.

#### **4.2.1 Une grande diversité de biofilms**

Le terme de biofilm pourrait laisser entendre qu'il s'agit d'une simple couche de micro-organismes déposée sur une surface. Les biofilms sont très hétérogènes, dans le temps et dans l'espace. Ils sont constamment remodelés, suite à l'influence permanente de facteurs endogènes et exogènes. Ils présentent une grande diversité aussi bien au niveau structural (une ou plusieurs espèces de micro-organismes au sein du biofilm, épaisseurs diverses) qu'au niveau des supports colonisés.

Un biofilm peut être constitué d'une ou de plusieurs espèces de micro-organismes : on parle respectivement de biofilms homogènes ou de biofilms hétérogènes. La plupart des biofilms rencontrés sont hétérogènes. La présence d'une espèce de micro-organisme ou d'une autre au sein du biofilm dépend des conditions environnementales. Par exemple, les biofilms éclairés par la lumière du soleil sont composés majoritairement d'organismes phototrophes, comme les algues ou les cyanobactéries, réalisant la photosynthèse et produisant leur biomasse à partir de carbone minéral. Les biofilms formés en absence de lumière sont constitués principalement de bactéries hétérotrophes (dégradation de la matière organique) et chimiotrophes (transformation de substances minérales).

Les biofilms peuvent se former sur des surfaces, biologiques ou inertes, d'une grande diversité : tissus vivants, appareillage médical (sonde, cathéter, broches...), système de canalisation industriel ou d'eau potable, surfaces immergées... Les propriétés physiques et chimiques de la surface jouent un rôle dans les mécanismes de formation du biofilm.

Selon le type de support sur lequel se forme le biofilm, l'organisation structurale de ce dernier sera différente. Un biofilm fixé dans la lumière d'une canalisation a une structure très complexe, et contient divers composants : produits issus de réactions de corrosion, boue, algues unicellulaires et bactéries filamenteuses. Un biofilm formé à la surface d'un cathéter a une organisation plus simple : on distingue des micro-colonies de coques associées à une matrice d'exopolymères.

Tous les biofilms n'ont pas la même épaisseur. Les biofilms des eaux naturelles oligotrophes sont plus fins que ceux des milieux aqueux riches comme la plaque dentaire ou les cathéters. Les biofilms récemment formés sont souvent monocouches, à l'inverse des biofilms plus anciens qui sont stratifiés.

L'architecture du biofilm dépend des conditions nutritives, ce qui suggère une facilité de remodelage des biofilms. De bonnes conditions nutritives sont nécessaires aux étapes de formation du biofilm, alors que les phases de développement tardif sont possibles dans des conditions nutritives moins bonnes.

#### **4.2.2 Une organisation structurale commune**

Les biofilms sont hétérogènes d'un point de vue structural. Ils se forment sur des supports variés, ont des épaisseurs différentes et sont formés par des espèces variées de micro-organismes. De cette diversité on peut néanmoins dégager certaines caractéristiques structurales communes à tous les biofilms. Un biofilm est constituée d'une fine monocouche de cellules à sa base (fixées à la surface du substrat), surmontée de plusieurs couches épaisses de cellules enfermées dans une matrice et reliées par des canaux aqueux. Il s'agit d'une organisation spatiale stratifiée, permettant des échanges (informations, nutriments...) et une coopération entre micro-organismes.

##### **4.2.2.1 Une organisation stratifiée**

La couche la plus profonde du biofilm est constituée par les cellules qui se sont fixées en premier. Ces cellules sont petites, leur métabolisme est anaérobie et leur croissance est lente. La couche superficielle du biofilm est constituée de grandes cellules en aérobiose et à croissance rapide. Entre ces deux couches de cellules, on trouve des cellules en micro-aérobiose. L'organisation stratifiée des biofilms s'explique par l'existence de gradients de nutriments, d'ions... Les nutriments présents dans le milieu extérieur diffusent en plus grande quantité dans les couches superficielles du biofilm. Plus on avance vers les couches profondes du biofilm, moins la diffusion est efficace et plus les concentrations en éléments nutritifs sont basses. Ces gradients permettent d'expliquer la présence de zones de croissance différentes des micro-organismes.

Des simulations tridimensionnelles réalisées par informatique ont permis de montrer que les zones de croissance rapide du biofilm sont caractérisées par la présence de larges structures en colonnes contrairement aux zones de croissance réduite où l'on trouve un réseau étroit de structures entraînant ainsi une réduction des communications intercellulaires et de la croissance du biofilm.

Au sein du biofilm, les micro-organismes morts ou lysés sont réutilisés comme nutriments : on parle de « cannibalisme ». L'ADN libéré lors de la mort programmée de

certain micro-organismes du biofilm aurait un rôle structural dans la stabilité des biofilms.

#### **4.2.2.2 Les principaux constituants du biofilm : les bactéries et la matrice d'exopolysaccharides**

Les constituants essentiels d'un biofilm sont les micro-organismes agglomérés et la matrice qu'ils synthétisent. L'eau est leur principal composant, ce qui explique leur propriété hydrophile. La présence de canaux et de pores permet des flux d'eau, d'ions et de nutriments.

Les micro-organismes représentent 2 à 15 % du matériel du biofilm. La matrice extracellulaire représente 50 à 90% de la masse organique carbonée d'un biofilm. Le rapport C/N d'un biofilm est cinq fois plus élevé que pour une suspension de bactéries planctoniques, ceci étant dû à la prédominance de la matrice. La matrice d'exopolysaccharides joue un rôle structural important, et explique certains avantages permis par le mode de vie sessile, notamment la protection des micro-organismes contre les facteurs environnementaux et d'autres propriétés comme la résistance aux agents bactéricides.

Les propriétés physico-chimiques de la matrice d'exopolysaccharides sont variables d'un biofilm à l'autre. Elle est toujours initialement composée de polysaccharides. Sa très forte teneur en eau, due à sa capacité à fixer un grand nombre de molécules d'eau par des liaisons hydrogène, permet de lutter contre la dessiccation de certains biofilms dans le milieu naturel. Parfois, la couche la plus externe de la matrice se déshydrate afin de former une interface sèche et d'empêcher une dessiccation plus marquée. La matrice d'exopolysaccharides joue aussi un rôle mineur dans les propriétés d'antibiorésistance des biofilms en se liant directement aux agents anti-microbiens et en les empêchant de pénétrer au sein du biofilm.

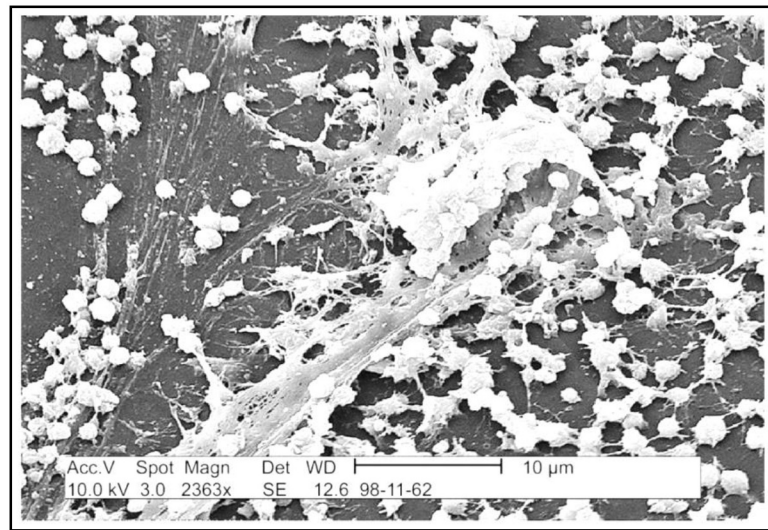
Ainsi, la matrice d'exopolysaccharides joue un rôle structural et fonctionnel important puisqu'elle sert de barrière protectrice contre la dessiccation, les substances bactéricides mais aussi contre les bactériophages.

#### **4.2.3 Observation de biofilms**

Les méthodes d'études actuelles des biofilms permettent d'en obtenir des images. Leur visualisation permet de mieux se rendre compte de la réalité et de la complexité de la structure des biofilms. Par exemple, par microscopie confocale à balayage laser, associée à des techniques de mesure par des micro-électrodes, on observe des conglomerats cellulaires emprisonnés dans une importante matrice extracellulaire à forte teneur en eau, avec des

formes diverses : piliers cylindriques ou filaments évoquant une structure en forme de tulipe, de coraux ou de champignons. Cette irrégularité structurale s'explique par la présence d'une multitude de pores et de canaux. Cette organisation tridimensionnelle particulière permet une protection optimale des individus formant le biofilm.

Sur la photographie, on observe des structures sphériques, ressemblant à des champignons, unis par des filaments. Cette organisation tridimensionnelle est caractéristique des biofilms.



**Figure 3:** Biofilm de *Staphylococcus* spp. à la surface d'un implant médical.

Image obtenue par microscopie confocale.

La structure des biofilms est relativement hétérogène mais des propriétés architecturales communes existent. Il s'agit de conglomérats cellulaires aggrégés dans une matrice d'exopolysaccharides. Les biofilms sont traversés d'une multitude de pores et de canaux permettant des échanges d'information, des flux d'eau, mais aussi des transports de nutriments et de déchets. On peut parler d'écologie du biofilm.

#### **4.3 Formation et écologie des biofilms**

La formation d'un biofilm représente un changement radical de mode de vie des micro-organismes qui le constituent. Le passage d'un mode de vie planctonique, individuel, à un mode de vie communautaire et sessile, est un processus dynamique et complexe. Il est caractérisé par une modification de l'expression génétique et par un changement de phénotypes des micro-organismes concernés : les mêmes individus ne possèdent plus les

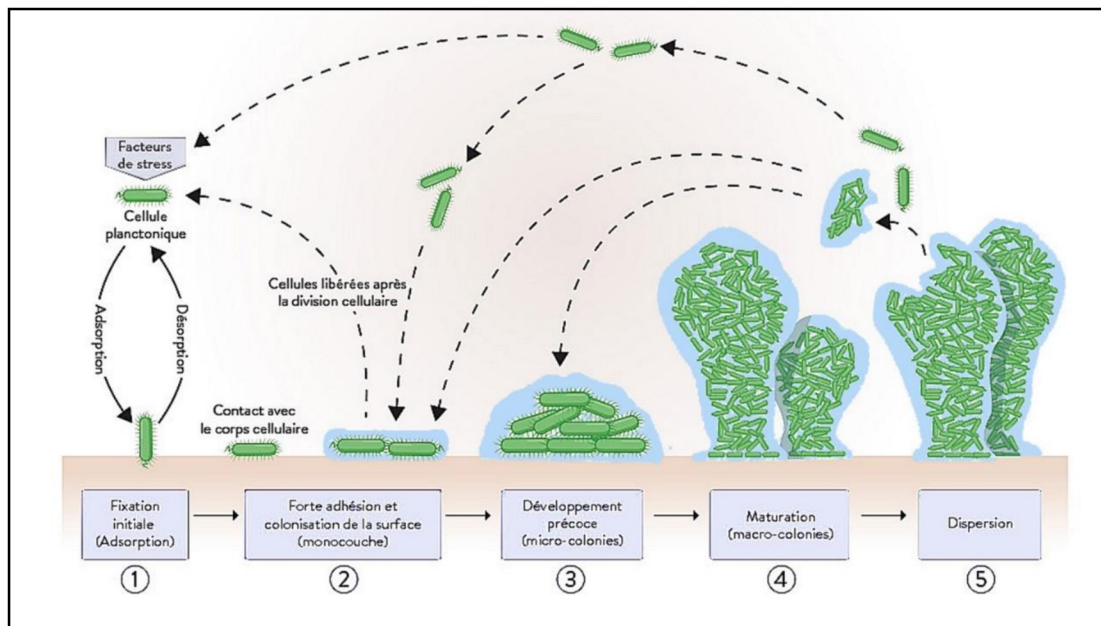
mêmes propriétés ni les mêmes fonctions. L'environnement particulier du biofilm permet aux cellules de coopérer et d'interagir de manière différente que sous forme planctonique. Ainsi, les bactéries vivant en biofilm ont des propriétés sensiblement différentes de celles des bactéries planctoniques de la même espèce. L'activation de nombreux groupes de gènes ( $10^3$ ) en quelques minutes régule cette permutation de mode de vie. Les facteurs génétiques et environnementaux permettant la transition entre ces deux modes de vie commencent tout juste à être identifiés et compris. Les micro-organismes d'un biofilm disposent de mécanismes originaux pour s'attacher de façon réversible à une surface, y adhérer et former une communauté. Un véritable écosystème<sup>7</sup> va se former, puis se détacher sous l'influence de divers facteurs environnementaux.

Les moyens utilisés par les bactéries pour former des biofilms diffèrent selon les espèces considérées, mais on peut définir trois propriétés communes à tous les biofilms:

- Les cellules constituant le biofilm sont reliées entre elles par une matrice extracellulaire composée de polysaccharides, de protéines et d'acides nucléiques,
- Le développement d'un biofilm est sous l'influence de signaux extracellulaires (environnementaux) et cellulaires (notion de quorum sensing)
- Le biofilm protège les bactéries qui le constituent de l'action des agents anti-microbiens, des défenses immunitaires de l'hôte et d'éventuels prédateurs. Les étapes de formation d'un biofilm.

#### **4.3.1 Les étapes de formation d'un biofilm**

On distingue cinq étapes dans le mécanisme de formation des biofilms. Tout d'abord, les bactéries interagissent avec un substrat et s'y fixent de façon réversible par des interactions non spécifiques de type liaison hydrogène ou liaison de Van der Waals : on parle d'adhérence. Puis les bactéries se fixent de façon irréversible et spécifique au substrat grâce à des molécules d'adhésion comme par exemple les pili, et synthétisent une matrice d'exopolysaccharides : il s'agit de la phase d'adhésion. On distingue ensuite des phases de croissance et de maturation du biofilm. Puis, sous l'effet de facteurs environnementaux, des bactéries vont se détacher du biofilm, et se disperser sous forme planctonique dans le milieu environnant : on parle d'essaimage du biofilm.



**Figure 4:** Cycle de développement simplifié d'un biofilm.

#### 4.3.1.1 Attachement primaire réversible et non spécifique à une surface (adhérence)

L'interface solide-liquide entre une surface et un milieu aqueux (eau, sang par exemple), fournit un environnement idéal pour la fixation de micro-organismes et la formation d'un biofilm. Dans un environnement liquide, les bactéries sont soumises à des forces hydrodynamiques lorsqu'elles s'approchent d'une surface. Les bactéries ont développé des mécanismes de motilité active afin de contrer les forces répulsives et électrostatiques rencontrées au voisinage des surfaces sur lesquelles elles se fixent. Par exemple, les bactéries Gram-négatives, comme *Escherichia coli* ou *Salmonella*, possèdent des flagelles. Ces derniers leur permettent d'entrer en contact avec une surface puis de s'y fixer. Cependant, la motilité flagellaire n'est pas essentielle pour l'attachement initial et la formation d'un biofilm. L'absence de flagelle est compensée par l'existence d'autres molécules adhésives, comme les curli, permettant l'attachement de la bactérie à la surface. Certaines bactéries sont capables d'établir un contact avec une surface par des mécanismes de signalisation et d'exprimer par la suite des adhésines à leur surface. Ce mécanisme est appelé « surface sensing ». Il existe chez *Escherichia coli*, (système de signalisation Cpx) mais les modes de fonctionnement ne sont pas encore connus. Les gènes codant pour les caractères de motilité (synthèse du flagelle, motilité, chimiotactisme...) sont inhibés une fois que les bactéries se sont fixées à la surface.

L'attachement primaire à une surface est sous l'influence de nombreux facteurs : pH, osmolarité du milieu, température..... Il est suivi par un attachement secondaire spécifique et irréversible à la surface.

#### **4.3.1.2 Attachement secondaire irréversible et spécifique à une surface (adhésion)**

##### **-Mécanismes d'adhésion.**

L'adhésion correspond à une fixation active et spécifique des micro-organismes sur une surface. Les structures d'adhésion varient selon les types de micro-organismes concernés. Pour les bactéries Gram-négatives, il s'agit des pili, des curli, des capsules et du glycocalix. Pour les bactéries Gram-positives, ce sont les acides teichoïques, l'acide mycolique, la capsule et le glycocalix. D'autres bactéries vivant presque uniquement fixées (comme par exemple *Caulobacter* ou *Hyphomicrobium*) utilisent des structures spécifiques comme le pédoncule ou la gaine.

Ces molécules d'adhésion permettent d'établir des contacts cellule- surface et des contacts cellule-cellule . Chez certaines souches de streptocoques, des protéines exprimés à la surface des bactéries, entre autres la protéine Bap, favorisent les contacts entre cellules et contribuent à la synthèse de la matrice extracellulaire.

##### **-Molécules impliquées.**

Les **fimbriae de type I**, ou **pili**, sont rencontrées chez la plupart des bactéries de la famille des *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli*, *Shigella*, *Citrobacter* et *Enterobacter* par exemple). Elles interviennent dans la colonisation de tissus vivants et dans la formation de biofilms. La protéine adhésive FimH exprimée par les fimbriae de type I peut se lier à des glycoprotéines, comme par exemple les uroplakines des cellules uroépithéliales vésicales, les IgA ou encore les mucines pulmonaires et intestinales. La production de fimbriae de type I est un processus complexe gouverné par les statuts nutritionnels des cellules et les conditions environnementales. Les bactéries exprimant ce type d'organelles en expriment en moyenne 100 à 500 à leur surface.

Les **curli** sont des fibres protéiques extracellulaires produites par des bactéries de la famille des *Enterobacteriaceae*. Les curli peuvent se fixer à des protéines de la matrice extracellulaire des cellules de l'hôte : fibronectine, laminine, plasminogène. Leur synthèse est sous l'influence de nombreuses conditions environnementales comme la température,

l'osmolarité, le pH et les concentrations en oxygène. Les curli ont un rôle dans l'adhésion et la colonisation d'une surface et la formation de biofilms. L'aptitude de souches environnementales d'*Escherichia coli* à former des biofilms dépend de leur capacité à exprimer des curli à leur surface.

Les **pili de conjugaison** interviennent lors du contact initial avec la surface et lors de la phase de maturation du biofilm. Ils joueraient un rôle de stabilisation dans la structure du biofilm. L'utilisation des pili de conjugaison met un terme à une mobilité désorganisée des bactéries et permet des interactions stables. Dès lors, l'attachement devient irréversible.

Certaines bactéries expriment à leur surface des **molécules spécifiques** intervenant lors de leur fixation à un substrat, différentes des molécules d'adhésion fréquemment rencontrées et citées précédemment. Prenons l'exemple des souches d'*Escherichia coli* responsables d'infections du tractus urinaires suite à la colonisation de sondes urinaires. Soixante pour-cent des souches uropathogènes d'*Escherichia coli*<sup>8</sup> expriment à leur surface une **adhésine** appelée **Ag43**. Il s'agit d'un facteur protéique intervenant dans les phénomènes d'auto-aggrégation cellulaire. Cet épitope confère aux bactéries qui en sont porteuses la capacité de « s'auto-aggréger ». Ag43 intervient dans les contacts cellule-substrat et cellule- cellule et est exprimée de façon importante durant le mode de vie sous forme de biofilms.

#### **4.3.1.3 Phases précoces de développement du biofilm. Maturation du biofilm.**

Dès que l'attachement au substrat devient irréversible, le biofilm entame des phases de croissance et de maturation. La maturation du biofilm est divisée en deux phases. La première phase est marquée par des régulations de gènes importantes, engendrant un changement marqué de phénotype par rapport aux formes planctoniques. Elles concernent essentiellement des gènes codant pour des protéines impliquées dans des métabolismes anaérobies ; cela suggère la faible présence d'oxygène, surtout dans les zones les plus proches du support. La seconde phase de maturation du biofilm est marquée par des synthèses protéiques importantes, très différentes de celles ayant lieu lors de la première phase de maturation du biofilm. L'épaisseur maximale du biofilm est atteinte durant la phase de maturation. Soixante-dix gènes subiraient des modifications au cours de la maturation d'un biofilm.

#### **4.3.1.4 Essaimage et dispersion du biofilm**

Lorsque l'épaisseur maximale du biofilm est atteinte, le stade final de développement du biofilm peut avoir lieu. Il s'agit du stade de dispersion : des formes planctoniques sont relarguées dans le milieu extérieur, à partir du biofilm. Des remaniements génétiques sont à l'origine du détachement des formes planctoniques. Ce dernier permet non seulement de promouvoir une diversité génétique mais aussi de favoriser la colonisation de nouvelles niches écologiques et par conséquent la formation d'autres biofilms.

La libération des formes planctoniques à partir du biofilm peut se faire selon deux modalités. Les bactéries peuvent se détacher de façon continue, en petites quantités : on parle d'« érosion » du biofilm. Mais on peut assister à un détachement massif et rapide, « en lambeaux », de quantités importantes de bactéries, appelé « sloughing<sup>9</sup> ». Les formes planctoniques ainsi libérées peuvent conserver des caractéristiques du biofilm, comme l'antibiorésistance. En effet, les bactéries planctoniques essaimant d'un biofilm sont capables de résister aux défenses immunes de l'hôte et être à l'origine d'une infection. Par exemple, les bactéries planctoniques qui essaient à partir de prothèses et d'implants médicaux sont capables de survivre à la phagocytose réalisée par les polynucléaires neutrophiles et d'engendrer une infection systémique.

#### **4.3.2 Facteurs favorisant la formation d'un biofilm**

L'attachement des micro-organismes à une surface est un processus complexe, prenant en compte un grand nombre de variables (Tableau 2). De manière générale, l'attachement a lieu préférentiellement sur des surfaces rugueuses (présence d'aspérités), hydrophobes et préalablement recouvertes d'un film protéique. Une augmentation de la vitesse du flux, de la température du liquide ou de la concentration en nutriments peut aussi entraîner une augmentation de la fixation des bactéries à une surface, à condition que ces facteurs n'excèdent pas une valeur critique.

De bonnes conditions nutritives sont nécessaires aux étapes de formation du biofilm, alors que les phases de développement tardif sont possibles dans des conditions nutritives moins bonnes. Ainsi, le type de biofilm dépend des conditions nutritives, ce qui suggère une facilité de remodelage des biofilms.

**Tableau 3:** Facteurs influençant l'attachement de cellules et la formation d'un biofilm

Propriétés du substrat	Propriétés du milieu aqueux environnant	Propriétés des cellules
Texture, rugosité, présence d'aspérités	Vitesse du flux, présence d'un flux laminaire ou non	Hydrophobicité de la surface des cellules
Hydrophobicité	pH	Présence de fimbriae
Présence préalable d'un film protéique recouvrant la surface	Température	Présence de flagelles
	*Cations (Ca <sup>2+</sup> , Na <sup>2+</sup> , Fe <sup>3+</sup> ...) *[Fer], [nutriments] *Sources de carbone disponibles *Disponibilité du milieu en oxygène	Rôle des structures polymériques extracellulaires d'exopolysaccharides
	Présence d'agents anti-microbiens	

#### 4.3.3 Facteurs favorisant la dispersion d'un biofilm

Les mécanismes d'attachement et de détachement d'un biofilm sont étroitement liés puisque les facteurs moléculaires intervenant dans l'attachement doivent être détruits ou inactivés pour qu'il y ait détachement. Plusieurs facteurs peuvent induire le détachement du biofilm et l'essaimage de bactéries sous forme planctonique, permettant ainsi la colonisation d'autres sites. Parmi ces facteurs, on peut citer :

- **l'action mécanique** exercée par un flux de liquide, par exemple au sein d'une vessie ;
- **l'arrêt de la synthèse** de matériaux constitutifs du biofilm : polysaccharides de la matrice par exemple,
- **la lyse de cellules du biofilm** par l'action d'un phage, d'EDTA, de NaCl, de CaCl<sub>2</sub>, ou encore d'agents chélateurs,

- l'action de **facteurs de détachements** : surfactants ou enzymes dégradant la matrice.

La dispersion d'un biofilm peut aussi être initiée par des changements environnementaux : limitation en oxygène ou en nutriments, modification du pH ou présence de certains composés spécifiques. La dispersion des biofilms de *Pseudomonas aeruginosa* est la plus étudiée. Pour ces derniers, une augmentation de la concentration en carbone, citrate, glutamate ou glucose, entraîne un détachement massif de plus de 80% des cellules constituant le biofilm.

Les conditions environnementales, notamment la privation en oxygène, jouent un rôle très important dans le déclenchement de la dispersion des biofilms. Des biofilms de *Shewanella oneidensis* ont été créés *in vitro* puis soumis 14 heures après leur formation à une privation en oxygène. On a pu observer un détachement massif et immédiat, avec 50 à 80% des cellules qui se sont détachées du biofilm durant les 15 premières minutes d'hypoxie. Ce type de détachement diminue avec l'âge et l'épaisseur du biofilm ; au bout de 48 heures le phénotype du biofilm est modifié, et il devient irréversiblement fixé.

Au sein d'un biofilms, les bactéries vivent en communauté, sont fixées à un support, et interagissent. On peut ainsi parler d'« écologie du biofilm ».

#### **4.3.4 Ecologie d'un biofilm**

On distingue différents types d'interactions qui ont des effets positifs ou négatifs pour les membres de la communauté bactérienne. On peut citer comme exemple bénéfique la coopération dans les systèmes de dégradation de certains nutriments complexes, ou encore la production d'enzymes profitables à l'ensemble de la communauté de micro-organismes. A l'opposé, les différentes colonies de micro-organismes occupant une même niche écologique entrent en compétition pour l'acquisition des ressources se trouvant dans le milieu. Deux mécanismes de compétition entre bactéries est la production de bactériocines et la baisse du pH.

Les biofilms ont une architecture complexe et irrégulière, en forme de coraux ou de champignons. Cette architecture n'est pas figée: les micro-organismes bougent à partir du lieu de leurs premières divisions cellulaires : il y a une véritable dynamique interne au sein des biofilms. Les micro-colonies de bactéries sont imbriquées au sein d'une matrice d'exopolymères contenant des canaux aqueux et des pores, permettant des échanges d'eau, de

nutriments, de déchets, mais aussi d'information et de caractères transmissibles génétiquement (caractères de résistance aux antibiotiques par exemple). L'échange de plasmides au sein des biofilms se fait par des phénomènes de conjugaison. Ainsi, l'organisation en biofilm permet de sélectionner et de répandre des caractères de résistance à des agents anti-microbiens. Dans les régions inaccessibles à ces canaux, par exemple au sein des agglomérats de cellules, des mécanismes de diffusion passive assurent les échanges métaboliques. La diffusion des nutriments se fait de façon inégale au sein du biofilm, suite à l'existence de gradients. Ceci explique que toutes les cellules n'ont pas la même activité métabolique et donc pas la même vitesse de croissance.

Au sein d'un biofilm, les micro-organismes communiquent entre eux par des signaux de cellules à cellules. Ces derniers, appelés « quorum sensing », jouent un rôle important dans le développement et la régulation de la formation des biofilms.

## **CHAPITRE II**

# **COMMUNICATION CELLULAIRE INTERMICROBIENNES**

## 1. QUORUM SENSING

### 1.1 Origine et découverte

Les bactéries ont longtemps été considérées comme des organismes avec une faible capacité d'interagir entre elles. C'est seulement au début des années 1970 que cette notion a été contestée avec la découverte et la description d'un système de communication chez la bactérie marine *Vibrio fischeri*, actuellement connu sous le nom de quorum sensing (QS). Cette expression a été introduite la première fois par, qui ont découvert un système de régulation de type QS contrôlant le transfert conjugatif du plasmide Ti chez la bactérie phytopathogène *Agrobacterium tumefaciens* en présence d'un métabolite produit par la tumeur de la plante cible.

### 1.2 Définition

Le QS est un mode de communication intra et inter espèces bactériennes qui repose sur la production de petites molécules médiatrices appelées 'autoinducteurs', produites au cours de la croissance bactérienne. Lorsque la concentration des autoinducteurs atteint un seuil critique dans le milieu, ceux-ci pénètrent dans la cellule et interagissent avec un régulateur transcriptionnel qui permet l'expression de gènes spécifiques en réponse à la forte concentration de cet autoinducteur.

### 1.3 Notion d'autoinducteurs

Les autoinducteurs sont de petites molécules de signal chimique, diffusibles et produites par les bactéries qui possèdent un système de régulation de type QS. Leur concentration externe augmente en fonction de la densité cellulaire. La concentration seuil des autoinducteurs est détectée comme un signal par les bactéries, qui en réponse expriment certains gènes et donc certains phénotypes ou comportements bactériens. Ce système signal-réponse va permettre aux bactéries de synchroniser leur comportement et d'agir comme des organismes multicellulaires. La notion d'autoinducteur a été introduite la première fois par, dans le modèle de régulation de la luminescence chez *V. fischeri*. Les autoinducteurs sont généralement produits par une protéine homologue de LuxI de *V. fischeri*. Les autoinducteurs du QS sont spécifiques au type de Gram des bactéries et à chaque espèce.

## 1.4 Mécanisme du QS chez les bactéries

Le système QS est rencontré à la fois chez les bactéries Gram négatif et positif. Chez les bactéries Gram négatif, il implique la sécrétion de petites molécules dérivées d'acides gras, alors que chez les bactéries Gram positif, il est basé sur la production de dérivés peptidiques. Chez les bactéries Gram négatif, en plus des dérivés d'acide gras, certains dipeptides telles que les dicétopipérazines et les quinolones ont été décrits comme étant des molécules du QS. Il existe un autre type de molécules du QS détecté aussi bien chez les bactéries Gram négatif que positif. Il s'agit l'AI-2.

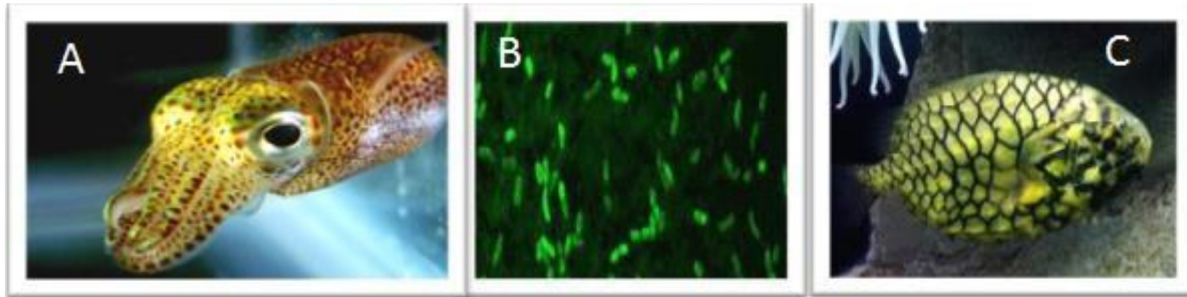
Trois composants majeurs sont impliqués dans le mécanisme du QS chez les bactéries. Il s'agit de l'autoinducteur et d'un couple de protéines, dont une synthase et un récepteur. Le QS est à l'origine de l'expression de plusieurs types de gènes en l'occurrence les gènes codant pour l'émission de la bioluminescence, la sporulation, la compétence, la production d'antibiotique, la sécrétion de facteurs de virulences, la production de pigments et la formation de biofilm .

### 1.4.1 QS chez les bactéries Gram négatif

#### 1.4.1.1 Cas de *Vibrio fischeri*

Le premier système QS a été découvert et décrit par Nealson et collaborateurs en 1970, chez la bactérie marine *Vibrio fischeri*. *V. fischeri* est une bactérie marine qui vit en symbiose avec le calmar hawaïen *Euprymna scolopes* (Figures 5A et 5B). Le calmar ne possède pas de bactérie à la naissance. *V. fischeri* colonise l'organe de luminescence du calmar grâce à des pores qui s'y trouvent. Dans cet organe, *V. fischeri* croît à une forte densité ( $10^{10}$ - $10^{11}$  cellules/mL), produit un signal diffusible qui s'accumule et induit l'expression des gènes nécessaires à l'émission de la bioluminescence.

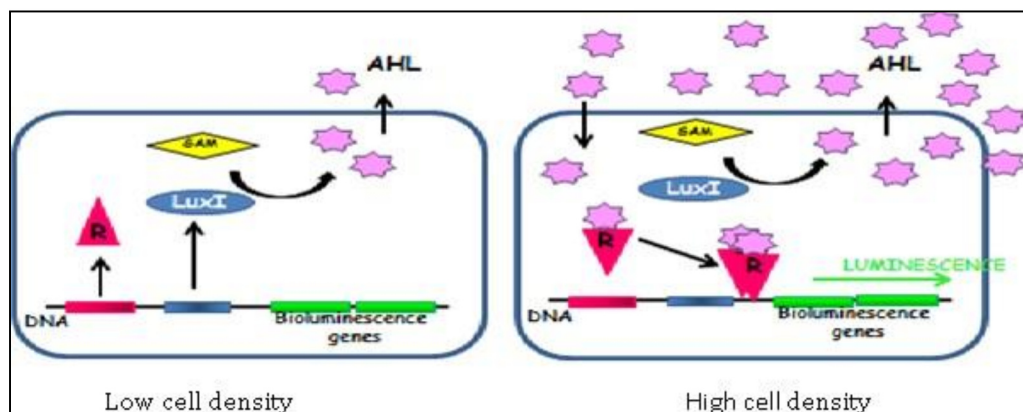
Tous les jours à l'aube, le calmar expulse environ 90 à 95% de bactéries. Pendant les 4 à 6h qui suivent, les bactéries restantes prolifèrent pour restaurer une quantité bactérienne physiologiquement apte à émettre de la luminescence. Le calmar utilise la lumière émise par la bactérie comme contre-éclairage pour masquer son ombre, afin d'éviter les prédateurs. En retour, la bactérie bénéficie d'un environnement plus riche en nutriments au sein de l'organe du calmar, afin de pouvoir proliférer . Des relations symbiotiques similaires existent entre *V. fischeri* et le poisson pomme de pin *Monocentris japonica* (Figures 5B et 5C).



**Figure 5 :** Exemple de bioluminescence symbiotique.

Entre: (A) le calmar de l'océan pacifique *Euprymna scolopes* (B) *V. fischeri* et (C) le poisson pomme de pin *Monocentris japonica*.

Chez *V. fischeri*, le QS implique un couple de protéines appelées LuxI-LuxR. LuxI est la protéine qui synthétise l'autoinducteur de *Vibrio* ; la 3-oxo-hexanoyl-L-homosérine lactone (3-oxo-C<sub>6</sub>-HSL). La 3-oxo-C<sub>6</sub>-HSL diffuse passivement à travers la membrane cellulaire des bactéries. Lorsque sa concentration atteint un seuil critique à l'extérieur de la cellule, soit à forte densité cellulaire (environ 10<sup>11</sup> cellules/mL), elle pénètre dans la cellule, se fixe à la protéine réceptrice LuxR. Le complexe 3-oxo-C<sub>6</sub>-HSL-LuxR se fixe à son tour au promoteur d'un groupe de gènes appelé lux-boxes (luxCDABE) qui codent pour la bioluminescence, pour en réguler leur transcription (Figure 6).



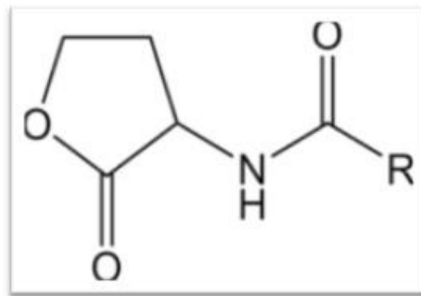
**Figure 6 :** Mécanisme du QS chez *V. fischeri*

### 1.4.1.2 Cas général des bactéries Gram négatif

Le système QS décrit chez *V. fischeri*, basé sur l'émission de la bioluminescence est considéré comme le paradigme du QS chez la plupart des bactéries Gram négatif. Le mécanisme QS le plus décrit est celui des bactéries Gram négatif. Il implique la production et la réponse à de petites molécules inductrices appartenant à la famille des AHLs (Figure 7).

Les AHLs sont synthétisées par une protéine homologue de LuxI et sortent des cellules par simple diffusion pour les courtes chaînes d'AHLs ou par transport actif pour les longues chaînes. Lorsque leur concentration atteint un seuil critique, elles entrent dans les cellules et se fixent à un récepteur homologue de LuxR. Le complexe AHL-LuxR active la transcription de gènes spécifiques. Selon certains auteurs, il existerait une grande spécificité entre les récepteurs et leurs AHLs apparentées. En absence d'AHL, le récepteur de type LuxR se dégrade rapidement. Inversement, la fixation de l'AHL au récepteur stabilise celui-ci contre la protéolyse.

Un grand nombre de bactéries Gram négatif possède des protéines de type LuxI-LuxR et de ce fait, communique avec des signaux AHLs. C'est l'exemple, de *P. aeruginosa* et *Pseudomonas aureofaciens*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Erwinia carotovora*, *Erwinia stewartii*, *Enterobacter agglomerans*, *Serratia liquefaciens*, *Yersinia enterocolitica*, *Chromobacterium violaceum*... . Ainsi, nombres de phénotypes sont régulés par le QS.



**Figure 7** : Structure générale d'une AHL.

### 1.4.2 QS chez les bactéries Gram positif

Les bactéries Gram positif utilisent des dérivés peptidiques comme signaux de communication. Le signal peptidique est produit par une protéine précurseur et est excrété en dehors de la cellule par transport actif. Lorsque sa concentration extracellulaire atteint un niveau de stimulation minimale, le signal peptidique est détecté par deux composants membranaires histidine kinases qui jouent le rôle de récepteurs. L'interaction du récepteur avec le ligand peptidique initie une cascade de phosphorylation qui aboutit à celle de la protéine régulatrice. La série de phosphorylation active donc un récepteur qui vient se fixer à l'ADN et régule ainsi la transcription des gènes cibles. Tout comme chez les bactéries Gram négatif, ce type de système QS est aussi régulé de façon dépendante de la densité cellulaire.

L'un des systèmes de régulation à base de peptides parmi les plus décrits est le système Agr chez *S. aureus* qui utilise une stratégie à deux phases pour déclencher une infection chez l'homme. En effet, à faible densité cellulaire, la bactérie se contente de sécréter des facteurs protéiques qui favorisent l'attachement et la colonisation des surfaces. Lorsque sa densité cellulaire est élevée, elle réprime la sécrétion des facteurs protéiques et se lance dans la sécrétion de protéases et de toxines qui sont sans doute nécessaires à l'établissement de l'infection. Des systèmes de régulation similaires, basés sur l'utilisation de peptides ont été décrits chez plusieurs bactéries Gram positif. Ainsi, le développement de la compétence génétique chez *B. subtilis* et *Streptococcus pneumoniae*, le transfert de plasmides de conjugaison chez *Enterococcus faecalis* ainsi que la production de peptides antimicrobiens chez plusieurs différentes espèces de bactéries Gram positif sont régulés par des peptides phéromones.

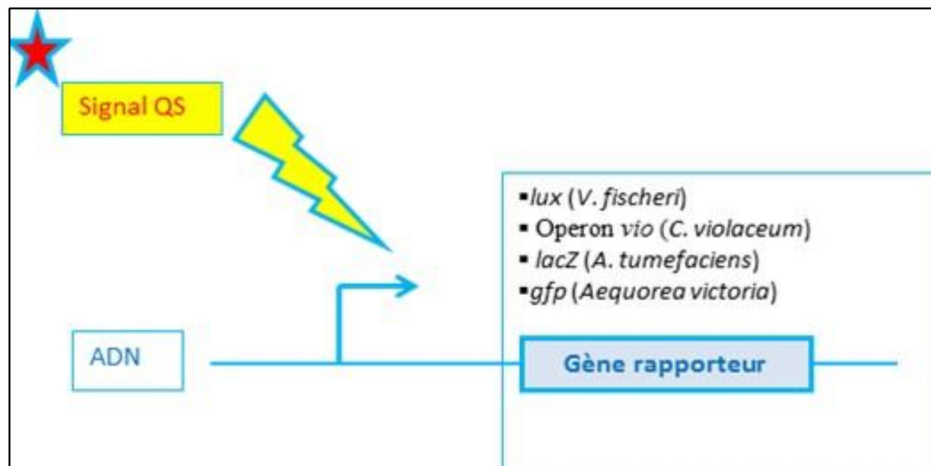
### 1.5 Bactéries biosenseurs

Certaines bactéries permettent la détection phénotypique d'un système QS actif. Ces bactéries sont appelées biosenseurs, car elles permettent une détection sensible et quantitative des signaux du QS tels que les AHLs. Parmi les biosenseurs, il existe des bactéries pour lesquelles le phénotype détectable est naturellement présent et est connu pour être sous la dépendance du QS. C'est le cas de la production de violacéine chez *C. violaceum* ATCC 12472 et l'émission de la bioluminescence chez *V. fischeri* ES114. Ces souches bactériennes sont donc utilisées comme biosenseurs pour la détection de la C<sub>6</sub>-HSL et de la 3-oxo-C<sub>6</sub>-HSL.

Il existe aussi des bactéries chez lesquelles il a été inclus un système rapporteur, afin d'y introduire un phénotype détectable de manière artificielle. Il s'agit de la production de la  $\beta$ -galactosidase chez différentes souches telles qu'*E. coli* XL1-Blue et MG4, *A. tumefaciens* NT1, A136 et KYC55, grâce à l'introduction du gène. Il s'agit également de l'émission de la bioluminescence, grâce à l'introduction de l'opéron luxCDABE chez diverses souches d'*E. coli* et de la production de la fluorescence verte, grâce au gène de la GFP (Green Fluorescent Protein). D'autres biosenseurs sont construits à partir de mutation effectuée chez la souche sauvage. C'est le cas de la mutation par insertion d'un mini-transposon Tn5 chez *C. violaceum* CV026 qui implique la non production d'AHLs et qui de ce fait favorise la détection d'AHLs exogènes chez cette dernière (Figure 7).

De façon générale, les biosenseurs ne possèdent pas d'AHLs synthase, de sorte à ce que l'activité du gène rapporteur nécessite l'apport d'AHLs exogènes. Les biosenseurs communément utilisés pour la détection de la production d'AHLs sont pour la plupart des souches qui ne produisent pas d'AHLs, pour avoir subi une mutation dans le gène homologue de luxI. Les biosenseurs sont donc des bactéries modèles, pouvant percevoir des molécules exogènes et émettre un signal visible, mesurable et quantifiable (émission de bioluminescence, production de violacéine, production de la  $\beta$ -galactosidase...).

Un grand nombre de molécules AHLs ont été détectées grâce à divers biosenseurs, impliquant différents gènes rapporteurs. Ils appartiennent généralement aux espèces *A. tumefaciens*, *C. violaceum*, *E. coli* et *P. aeruginosa*. Ce sont des biosenseurs classiques qui pour la plupart ne détectent pas les AHLs longues de plus de 14 atomes de carbones. Pourtant, certaines espèces bactériennes appartenant aux  $\alpha$ -protéobactéries, notamment *Paracoccus denitrificans*, *Rhodobacter capsulatus*, *Rhizobium leguminosarum* et *Sinorhizobium meliloti* sont capables de produire des AHLs à plus de 14 atomes de carbones, qui ne sont pas reconnues par les biosenseurs classiques. Ceci représente donc une des limites des biosenseurs impliquant l'utilisation d'autres approches pour la détection des AHLs à longues chaînes latérales. Une autre limitation dans l'utilisation des biosenseurs est qu'ils ne détectent qu'une gamme très étroite d'AHLs. Par exemple, *C. violaceum* ne peut détecter aucun des dérivés 3-hydroxy-AHLs et manque de sensibilité pour la plupart des dérivés 3-oxo-AHLs. De plus, leur activité peut être affectée par le métabolisme global des cellules.



**Figure 7** : Schéma général de l'utilisation des biosenseurs.  
Utilisation des biosenseurs grâce à leur(s) gène(s) rapporteur(s) naturel(s) ou artificiel (s) pour l'induction du QS.

## 1.6 Rôle du QS dans les différentes étapes du développement du biofilm

L'implication du QS dans la formation de biofilm chez les bactéries a été largement examinée par plusieurs équipes de recherche. Dans plusieurs cas, la formation de biofilm par des bactéries semble être sous le contrôle du QS, tandis que d'autres cas, cela ne semble pas l'être. Chacun des stades du développement du biofilm bactérien peut être sous le contrôle du QS. Ainsi, l'attachement des bactéries à une surface, la maturation du biofilm et la dispersion des bactéries du biofilm peuvent être contrôlés par le QS.

### 1.6.1 Attachement

Peu d'études ont rapporté l'implication du QS dans les stades initiaux du développement du biofilm, c'est-à-dire dans l'attachement, la mobilité, notamment parce que le système en lui-même nécessite une certaine densité de cellules bactériennes. Chez de rares bactéries comme *P. aeruginosa*, le QS devient actif pendant l'attachement irréversible. Chez les bactéries gastro-intestinales pathogènes de l'homme *Helicobacter pylori* et *S. typhimurium*, le QS peut également être impliqué dans la phase d'attachement à travers le gène régulateur luxP. Chez certaines bactéries telle que *Serratia liquefaciens*, la colonisation de la surface à travers le swarming nécessite l'implication d'un système QS par la C<sub>4</sub>-HSL et les gènes swrI/swrR.

### 1.6.2 Maturation

Plusieurs études ont montré que le QS contrôle la maturation du biofilm chez plusieurs bactéries Gram négatif, notamment *Serratia liquefaciens* MG1, impliquant les gènes *bsmA* et *bsmB* et la C<sub>4</sub>-HSL, *Burkholderia cepacia* (*cepI/cepR*), *P. aeruginosa* via le circuit QS *lasI/lasR/3-oxo-C<sub>12</sub>-HSL* et *rhlI/rhlR/C<sub>4</sub>-HSL*, *Vibrio cholerae* via le circuit QS *luxO*, *Aeromonas hydrophila* (*ahyI/ahyR/ C<sub>4</sub>-HSL*), *Streptococcus mutans* (*AI-2/luxS*). Une mutation au niveau de l'un des homologues de *luxI* ou de *luxR* chez ces bactéries entraîne la formation d'un biofilm flasque, structurellement non différencié.

### 1.6.3 Dispersion

Les cellules individuelles au sein d'un biofilm sont capables de quitter le biofilm chez diverses espèces bactériennes. Le processus de dispersion et/ou d'agrégation permet aux bactéries de coloniser de nouvelles surfaces et de réinitialiser ainsi le développement du biofilm. Chez certaines bactéries, la dispersion bactérienne serait sous la régulation du QS. Il peut être citer en exemple la bactérie *Rhodobacter sphaeroides* (*cerI/cerR*), la bactérie entérique pathogène de l'homme *Yersinia pseudotuberculosis* (*ypsI/ypsR*) et la bactérie pathogène des plantes *Xanthomonas campestris* (*rpfF*). En effet, en conditions de surpeuplement au niveau de niches où les nutriments viennent à manquer, le QS peut être un moyen de médiation idéal des bactéries pour quitter le biofilm, afin de coloniser de nouvelles surfaces. Il a été montré qu'une mutation au niveau des gènes impliqués dans la dispersion chez les bactéries concernées entraîne pour la plupart une hyper agrégation et/ou une augmentation de la formation du biofilm.

## 1.7 Avantages du QS pour les bactéries en biofilm

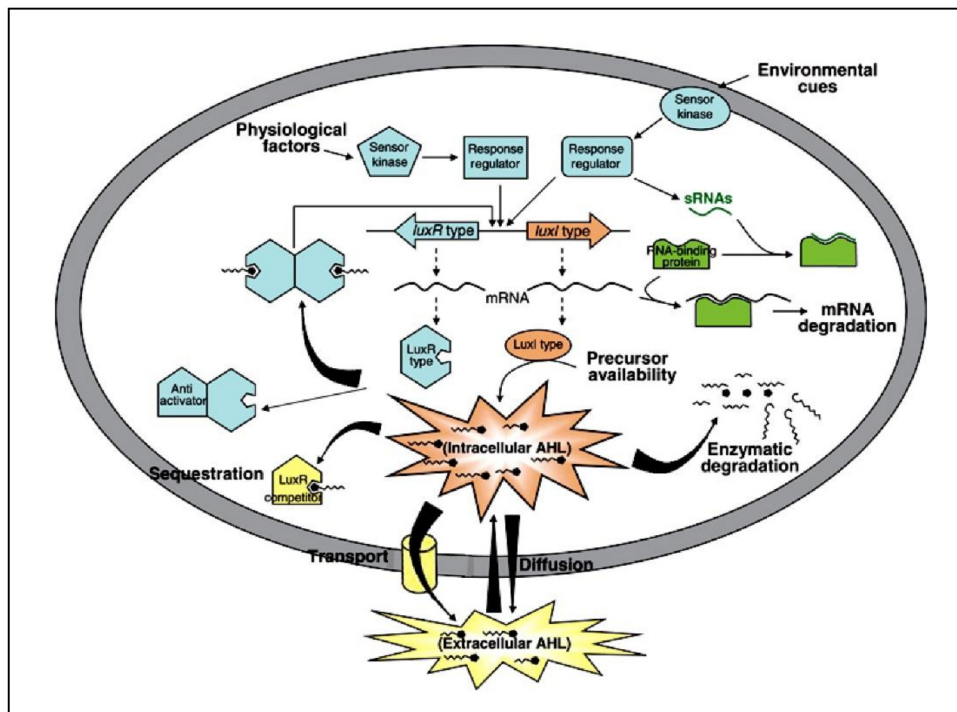
Le QS au sein d'un biofilm peut conférer aux bactéries certains avantages que leurs homologues dépourvus de système QS ne possèdent pas forcément. Par exemple, le déclenchement du QS à forte densité cellulaire peut permettre aux bactéries d'activer ou de désactiver la sécrétion de substances polymériques extracellulaires (EPS) de manière à accroître leur capacité concurrentielle vis-à-vis d'autres espèces au sein du biofilm. La diminution de la production d'EPS, conférerait donc aux bactéries l'avantage de rediriger l'énergie utilisée pour la production d'EPS vers la division cellulaire et la croissance du biofilm, avant leur dissémination vers une nouvelle niche. C'est l'exemple de la bactérie

*V. cholerae* qui arrête de produire l'EPS à haute densité cellulaire. Un autre avantage est que dans le cadre de la compétition au sein de biofilm multi-espèces, certaines bactéries peuvent utiliser le QS pour réguler l'expression des gènes qui codent pour la production de molécules toxiques, dirigées contre d'autres bactéries ou d'autres organismes. C'est le cas de la production de la violacéine par certaines bactéries comme *C. violaceum* qui aurait montré un effet antibactérien intéressant contre plusieurs bactéries Gram positif et négatif

. C'est aussi le cas de la levure *Saccharomyces cerevisiae* qui produit de l'éthanol en situation de biofilm, toxique pour les autres organismes.

### 1.8 Inhibition du quorum sensing

L'inhibition du quorum sensing (QSI), aussi appelé quorum quenching (QQ), est une nouvelle approche de lutte contre les infections et les biofilms bactériens dans le domaine marin ou médical. La formation de biofilm étant dans bien des cas sous le contrôle du QS, la perturbation du QS serait une bonne alternative pour limiter le développement du biofilm, voire à plus grande échelle du biofouling.



**Figure 8 :** Régulation de la synthèse et de l'accumulation des molécules d'autoinducteur AHL dans la bactérie

## **CHAPITRE IV**

# **INTERACTIONS ENTRE MICROORGANISMES ET ORGANISMES SUPERIEURS**

## 1. Associations symbiotiques entre microorganismes et organismes supérieurs

### 1.1 Introduction

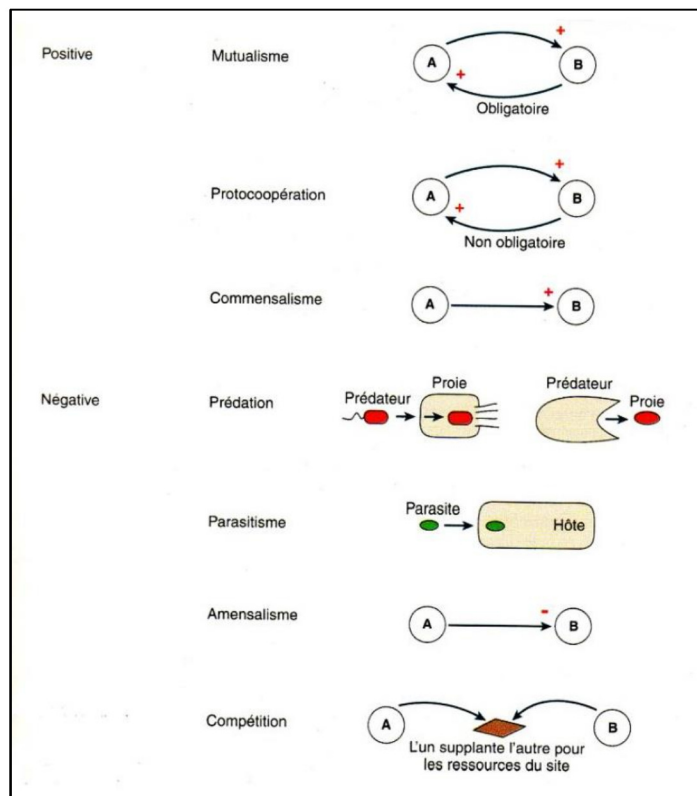
Le mot « symbiose » signifie « vivre avec », ce qui suppose au moins deux partenaires. Il peut s'agir de 2 populations bactériennes, d'une population bactérienne et d'un hôte eucaryote, ou encore de 2 eucaryotes. Ces partenaires vivent proches l'un de l'autre.

Dans ce cours, la symbiose est envisagée au sens large et inclut des associations favorables ou négatives, bien que souvent le terme « symbiose » soit surtout utilisé pour des associations étroites et positives.

Différents types d'association ont été répertoriés. Mais souvent, dans la nature, nous observons des associations mixtes où il est difficile de déterminer ce qu'il en est vraiment (Tableau 4 et Figure 9)

**Tableau 4** : les différents types d'associations symbiotiques

	Positif	Neutre	Négatif
Positif	<i>Mutualisme</i> <i>Coopération</i>	<i>Commensalisme</i>	<i>Prédation parasitisme</i>
Neutre	<i>Commensalisme</i>	<i>Neutralisme</i>	<i>Amensalisme</i>
Négatif	<i>Prédation</i> <i>Parasitisme</i>	<i>Amensalisme</i>	<i>Compétition</i>



**Figure 9 :** représentation schématique des différentes relations symbiotiques possible entre microorganismes et organismes supérieurs

On utilise différents termes pour décrire les partenaires et leur position l'un par rapport à l'autre. **Symbiote**: nom donné à chaque partenaire ; **symbiote**: réservé au plus petit (bactéries) ; **ectosymbiote**: vit à l'extérieur de son hôte ; **endosymbiote**: vit à l'intérieur de son hôte, mais pas dans les cellules ; **endocytobiote**: vit à l'intérieur des cellules de l'hôte.

## 1.2 Les différents types d'associations symbiotiques

### 1.2.1 Mutualisme

C'est une association qui profite aux deux partenaires. Elle se caractérise par le fait qu'elle est obligatoire, il y a donc une dépendance. En général, elle nécessite une adaptation de part et d'autre. Ce qui revient à dire que des caractères spécifiques sont inscrits dans les gènes des deux partenaires. Chaque être vivant élabore des mécanismes de défense contre les agresseurs qu'il peut rencontrer. Ces mécanismes entrent en jeu quand il y a trop de rapprochement (l'espace vital est violé). En général, dans les symbioses de type mutualistique, il y a pénétration dans

les tissus de l'hôte. Pour que ça marche, il faut éviter que les mécanismes de rejet ou destruction se mettent en route. Cela nécessite des signaux de reconnaissance de part et d'autre.

Il faut aussi que l'hôte mette en place des barrières protectrices ou garde-fous pour éviter un dérapage vers le parasitisme.

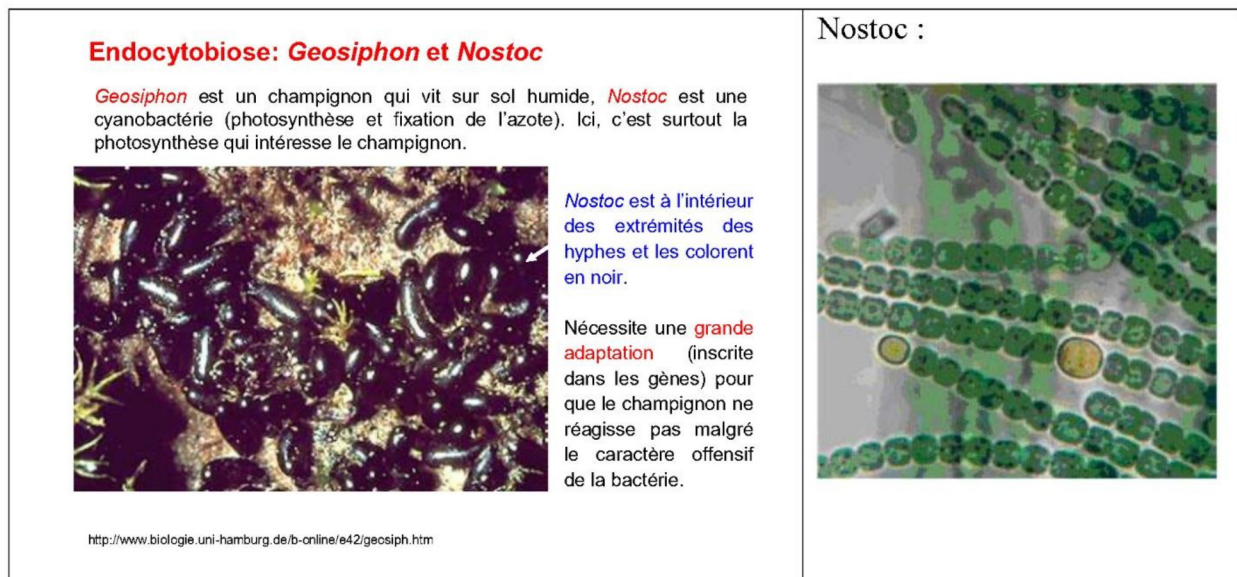
Enfin, il faut assurer la transmission du symbionte à la descendance.

### Exemples :

-Des animaux xylophages comme les termites ou le taret sont incapables de digérer la cellulose. De plus, leur nourriture (bois) manque d'azote. Ils doivent donc s'associer avec des microorganismes qui digèrent la cellulose et fixent l'azote.

-Les bovidés sont herbivores. Quand ils ruminent, une communauté de bactéries et protozoaires se charge de digérer la cellulose.

-La sangsue se nourrit de sang, mais elle est incapable de le digérer, elle est associée à des *Aeromonas*, bactéries qui hydrolysent le sang.



**Figure 10 :** Exemple de mutualisme entre *Geosiphon* (champignon) et *Nostoc* (Algue bleu-vert)

## Nodules des légumineuses

Les Légumineuses (Fabacées) forment une famille hétérogène (*Mimosa*, *Acacias*, Arachide, Haricot, Trèfle...).

Ces plantes entretiennent une symbiose avec des bactéries de l'ordre des Rhizobiales comme *Rhizobium* ou *Bradyrhizobium*. Les bactéries vivent libres dans le sol à proximité des racines (rhizosphère). Elles reconnaissent spécifiquement l'espèce de légumineuses avec laquelle elles peuvent établir une symbiose. Elles pénètrent dans les racines où elles vont être stockées dans des nodules. Dès lors elles vont fixer l'azote atmosphérique. Chaque espèce de Rhizobiales a une série d'hôtes bien définis.



Étapes de reconnaissance et d'infection



Nodules formés dans les racines, remplis de bactéroïdes de *Rhizobium* (forme symbiotique) fixant l'azote atmosphérique.

Dans le nodule, les bactéries subissent une transformation irréversible: elles deviennent des bactéroïdes, leur paroi devient plus fine et les cellules sont plus grosses. Dès lors elles sont nourries par la plante et vont fixer l'azote jusqu'à leur mort.

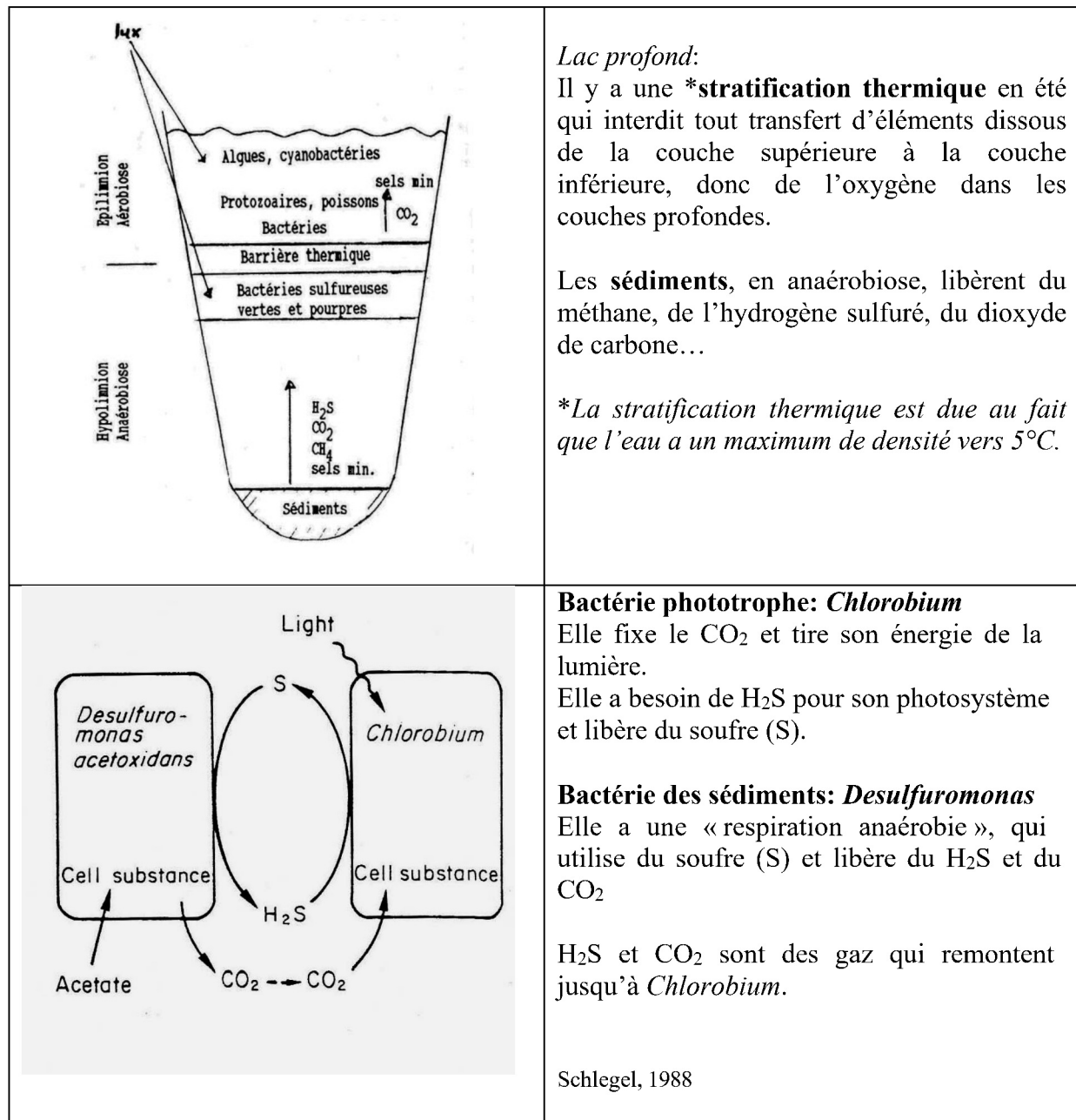
L'adaptation pour cette symbiose est très poussée. La fixation de l'azote ne peut pas se faire en présence d'oxygène (inhibition des nitrogénases), mais les bactéries ont besoin de ce gaz pour leur activité respiratoire. Plante et bactéries synthétisent un pigment voisin de l'hémoglobine (la leghémoglobine), qui transporte l'oxygène jusqu'aux bactéries sans inhiber les nitrogénases bactériennes.

Les plantes ont un avantage sur les autres dans un sol pauvre en azote. Les bactéroïdes sont condamnés, mais la plante libère des substances nutritives pour attirer les *Rhizobium* vers ses racines. La nourriture est assurée et la communauté bactérienne prospère

Chez l'Acacias on trouve *Bradyrhizobium*. La plante pousse dans des sols pauvres en azote.

### 1.2.2 Protocoopération

Comme le mutualisme, l'association est bénéfique pour les deux partenaires, mais elle n'est pas obligatoire, chacun peut avoir une vie indépendante.



**Figure 11 :** Échanges entre des bactéries phototrophes et des bactéries vivant dans les sédiments d'un lac eutrophe

### 1.2.3 Commensalisme

Dans cette association, seul l'un des partenaires a un avantage. Pour l'autre c'est

l'indifférence. Mais cela inclut une proximité dans l'espace.

Exemple : Dans notre flore intestinale, parmi les quelques 300 espèces bactériennes il y a *Escherichia coli* et *Bacteroides* qui entretiennent une relation de commensalisme.

*E. coli* utilise préférentiellement l'oxygène quand il y en a. Autour de lui, le milieu est anoxique. *Bacteroides* est anaérobie strict. En restant près d'*E. coli*, il évite de rencontrer de l'oxygène. L'association est positive pour *Bacteroides* et indifférente pour *E. coli*.

### 1.2.4 Prédation

La prédation n'est pas réellement une « association », mais plutôt un rapprochement dans l'espace qui implique une certaine spécificité. L'un des partenaires est mangé par l'autre. Il s'agit donc d'une association négative pour celui qui est dévoré, mais positive pour l'autre qui s'en nourrit.

La prédation est la seule façon de se nourrir pour les animaux. C'est la base de la chaîne alimentaire.

La prédation est essentielle à la survie des espèces qui dépendent les unes des autres pour se nourrir (y compris les herbivores qui « tuent » des végétaux). Elle joue un rôle majeur dans la stabilité des espèces: en éliminant les faibles avant qu'ils ne se reproduisent ; en évitant la dégénérescence et en stimulant la reproduction des populations visées.

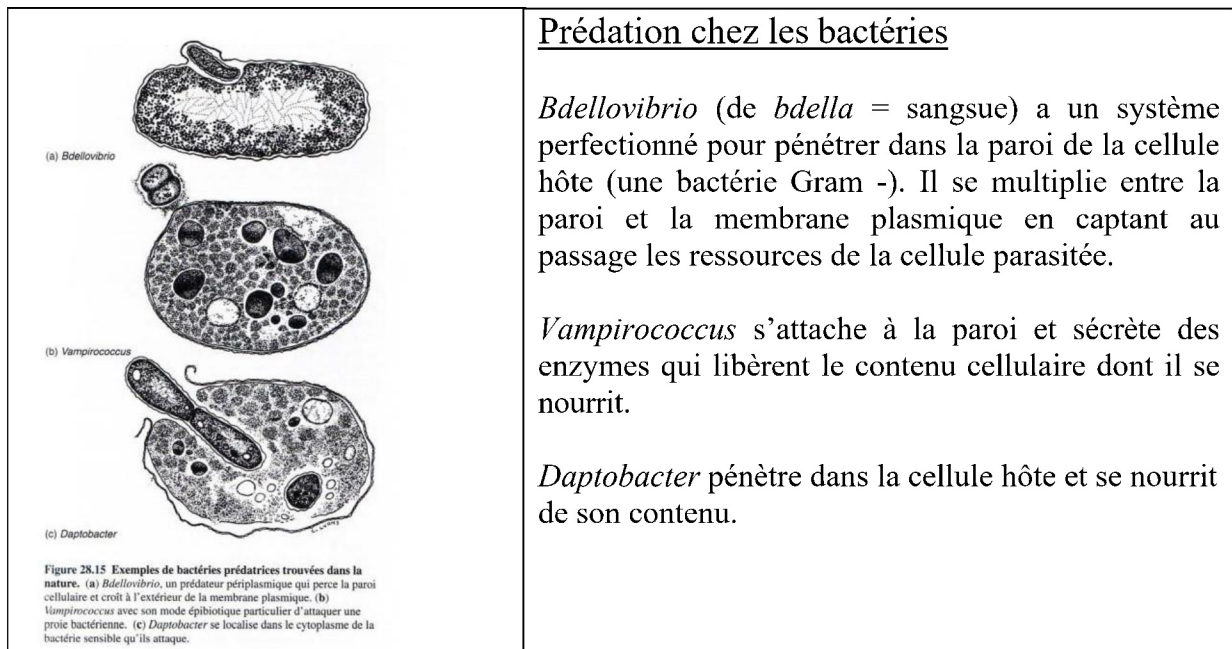
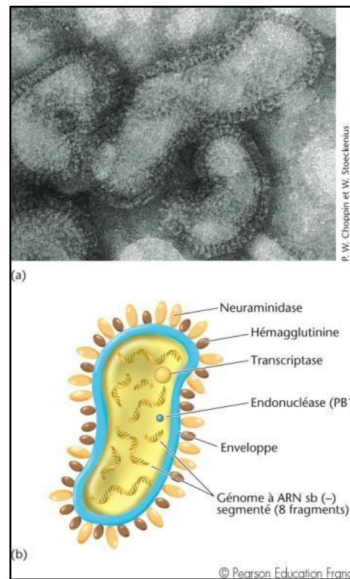


Figure 12 : Exemples de prédation entre microorganismes.

### 1.2.5 Parasitisme

Cette association lèse l'un des partenaires, **mais ne le tue pas forcément**. La frontière avec la prédation est floue. On divise les parasites en 2 groupes:

- **Ectoparasites** (par exemple les Isopodes (crustacés) qui se fixent sur les poissons)
- **Endoparasites** (bactéries, virus, parasites infectieux).

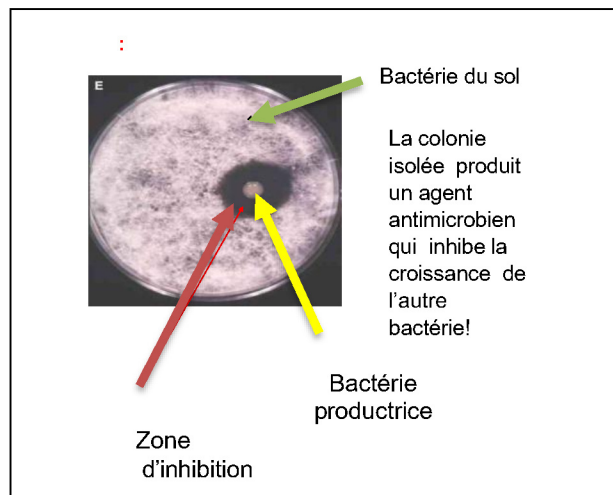


**Figure 13** : Endoparasite : Virus grippal (Influenza virus) : (a) Observé au microscope électronique à transmission (b) schéma de la particule virale et de ses principaux constituants.

### 1.2.6 Amensalisme

Association où seul un des partenaires est incommodé. Pour l'autre c'est l'indifférence.

Par exemple, les microorganismes qui produisent des antibiotiques et inhibent la croissance des autres populations à proximité de la colonie.



**Figure 13** : inhibition de la croissance d'une bactérie par les antibiotiques produit par d'autres

### 1.2.7 Compétition

Chaque individu ou population a les mêmes besoins. Ils se nuisent mutuellement, cela peut provoquer à l'exclusion de l'un d'eux. La compétition assainit les populations. Elle assure une bonne utilisation des ressources par une population vigoureuse et dynamique. Elle pousse aussi les bactéries à s'adapter à de nouveaux environnements (acquisition de nouveaux gènes).

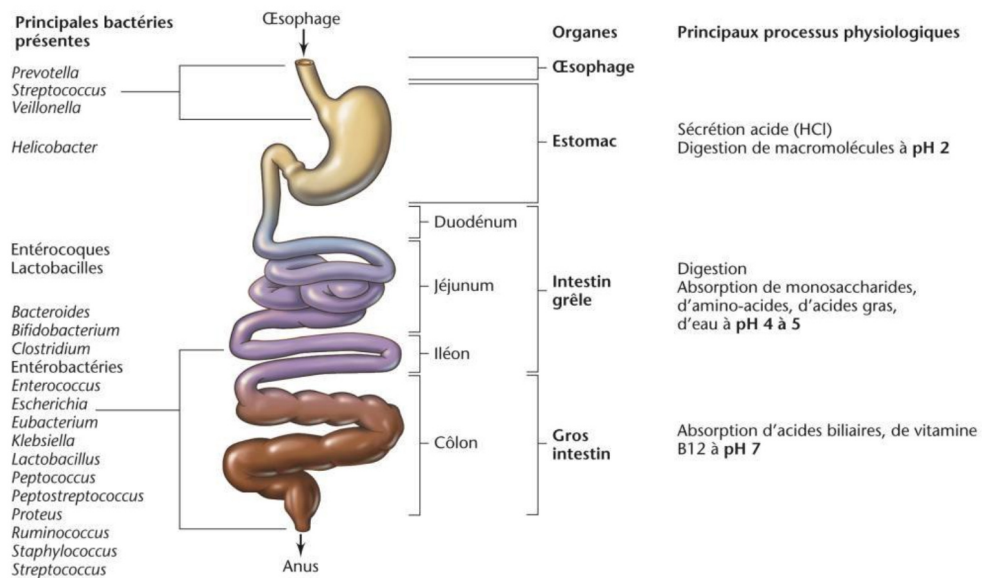
#### Exemple

La flore intestinale comprend plus de 300 espèces bactériennes réparties entre l'œsophage et l'anus selon les conditions offertes par notre système digestif :

Il y a deux points de vue : le partenariat entre notre flore et nous-mêmes et les partenariats des différentes espèces bactériennes entre elles.

Nous avons absolument besoin de notre flore et nos bactéries sont adaptées à cet environnement (la plupart ne peut pas vivre ailleurs). C'est au minimum une protocoopération.

Les avantages pour l'hôte sont : la digestion de substances que notre système digestif ne sait pas utiliser, comme la cellulose ; la production de vitamines par des bactéries, comme la vitamine K par *E. coli* ; l'occupation de la surface ainsi qu'une action antagoniste sur les pathogènes en transit.

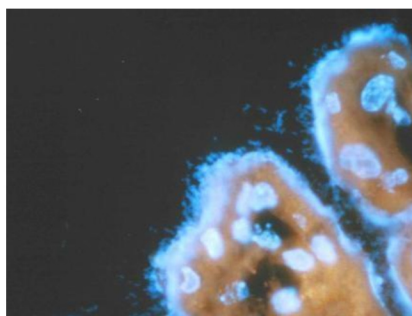


Pour les microorganismes, les avantages sont : une protection contre les prédateurs, un milieu thermostaté et un apport de nourriture.

Entre les bactéries, il y a souvent compétition pour la place et la nourriture, parfois commensalisme.

On a évalué l'importance de la flore intestinale sur des animaux axéniques (nés et élevés de manière totalement aseptique). Ils se développent mal et ont des carences graves en vitamines K et B. Ils sont plus sensibles aux agents pathogènes.

Il y a compétition pour la place d'attachement. Une flore normale ne laisse pas de place vide, ce qui empêche les pathogènes de se fixer.



**Figure 14 :** Intestins de Nautilé. les bactéries attachées à la surface

## **CHAPITRE IV**

# **PHYSIOLOGIE MOLECULAIRE DES INTERACTIONS MICROBIENNES AVEC L'HOTE HUMAIN**

## 1. RELATION HOTE BACTERIE

### 1.1 Généralité

L'exposition de tout individu aux bactéries est inévitable. Dès la naissance l'Homme met au point des systèmes de défense ( flore de chaque individu= microbiome )

Il existe différentes formes de nutrition pour les bactéries :

-Saprophytisme : Utilisation de matière organique de l'environnement pour se nourrir (bactérie non dépendante de l'homme, de façon transitoire)

-Commensalisme : Bactérie pouvant se donner des avantages (ex : bactérie du tube digestif)

-Parasitisme : Forme de vie d'un organisme qui prend le dessus et vit au dépend d'un autre

### 1.2 Pouvoir Pathogène et Virulence

Le pouvoir pathogène est la capacité d'un microorganisme à provoquer une pathologie, donc c'est une notion qualitative.

Alors que la virulence est une notion quantitative, et reflète la gravité.

Une bactérie pathogène est une bactérie qui peut provoquer une maladie chez un sujet dont les mécanismes de défense sont normaux.

Une bactérie non pathogène peut le devenir = Bactérie Opportuniste.

### 1.3 Classification des interactions hôte-bactéries

Le devenir des bactéries dans l'hôte peu être temporaire momentané ou durable et chronique :

-Transit : Pas d'implantation dans l'organisme (saprophytisme)

-Colonisation : Implantation dans le revêtement muqueux (cas du commensalisme)

On parle de portage lors d'une colonisation par une bactérie pathogène ; ex : Méningocoque  
Maladie infectieuse Conflit Hôte bactérie aboutissant à des lésions chez l'hôte infecté.  
Transmission possible d'un individu à l'autre.

### 1.4 Physiopathologie de l'infection

Il existe différents modes de transmission :

La source de l'infection est liée au statut de bactérie pathogène ou opportuniste et à l'écologie de la bactérie : Il existe donc une notion de réservoir de bactéries

(environnement, animaux..), maladie strictement humaine (ex : coqueluche), d'anthropozoonose (ex : brucellose)

-Transmission directe : si contact avec le réservoir

-Transmission indirecte : contamination par l'intermédiaire d'objet ou d'aliments

infectés Transmission horizontale : contamination d'un individu à l'autre

-Transmission verticale : contamination de la mère vers le fœtus

#### **1.4.1 Différentes voies de contamination**

Contamination possible par voie digestive, voie respiratoire (inhalation d'aérosol contaminé par une B.) , voie cutanée, transcutané (quelque chose qui traverse la peau), sexuelle (acte, muqueuse génitale)

#### **1.4.2 Etapes du processus infectieux**

1. Colonisation du revêtement cutaneo-muqueux.

2. Invasion avec : franchissement de la barrière + en réponse ; réaction inflammatoire au niveau de la porte d'entrée= infection localisée

3. Dissémination de la bactérie par voie sanguine (bactériémie) ou lymphatique qui peut aboutir à des infections secondaires= métastase sceptique ( sepsis= infection généralisée avec mécanisme de défense dépassé)

#### **1.4.3 Différents modes d'infections**

Toxi- infection : signe clinique dus aux toxiques secrétées par les bactéries.

Les bactéries ne pénètrent pas l'organisme, il s'agit de bactéries colonisantes mais non invasives.

### **1.5 Moyens de défense d'hôte contre l'infection bactérienne**

#### **1.5.1 Moyen de défense général (non spécifique)**

Barrière Cutaneo Muqueuse : première ligne de défense dont le but est d'empêcher l'implantation des bactéries pathogènes.

Rôle primordial des épithéliums ; les cellules jointives avec jonctions serrées empêchent le passage des bactéries. Structure spécialisée au pôle apical : ex : épithélium cutané : kératine .

✓ Barrière Mécanique,

Physique :

Peau : kératine+ desquamation superficielle muqueuse

Muqueuse respiratoire : cils

Tube digestive : péristaltisme intestinal Sécrétion lacrymale, flux urinaire

✓ Barrière Chimique :

Peau : pH acide, sécheresse, sécrétion de lipides toxiques, lysozymes..

Muqueuse : pH acide (estomac, vagin, urine..), sécrétion de produit anti bactérien dans le mucus : lysozyme, lactoferrine + peptides toxiques ou défensines + IgA sécrétoires

✓ Barrière Biologique :

Peau : Flore commensale cutanée normale (constituée différemment selon les sites)

Muqueuse : Flore microbienne commensale (pas dans toutes les muqueuses !)

Une peau saine est un barrage infranchissable alors que les muqueuses sont des portes d'entrées plus faciles à franchir d'où point de départ ++ des bactéries

### **1.5.2 Réaction inflammatoire ou immunité innée (deuxième ligne de défense)**

Importance du système du complément lors d'une réaction inflammatoire pour l'élimination d'agent pathogène (cytokines, chimiokines..)

Reconnaissance de PRR dont le récepteur de surface du macrophage CD14 et réaction de signalisation cellulaire TLR

CCI : L'immunité innée permet la rapidité d'une réaction inflammatoire sur site infecté. En cas d'emballement et d'exagération de cette réponse= Sepsis (choc septique ; Gravité accrue). Or il existe une variabilité génétique, susceptibilité variable des individus aux infections (ex : mutation TLR4 -> Infection BGN (= Bacille à Gram Négatif)

- 1. Si libération d'enzyme lysosomiale ++ -> Destruction des polynucléaires et des tissus voisins -> pus

2. L'infection se traduit par des signes biologiques dont l'augmentation des polynucléaires dans le sang=Hyperleucocytose neutrophile

3. Système de protéines de phase aigüe de l'inflammation dans le sang= augmentation des protéines C réactive (CPR)

CIVD= Coagulation intra vasculaire disséminée. Le manque de facteurs de coagulation entraîne une hémorragie.

### 1.5.3 Immunité acquise spécifique

Spécifique: ciblée contre une bactérie

Acquise: Contact avec une bactérie pour laquelle se développe

l'immunité Retardée : 8/10 jours après le premier contact

Mémoire immunologique très importante ( Vaccination)

Il existe deux types de réponses immunitaires

- Cellulaire : Cellule T Cytotoxique
- Humorale : Production d'Ac

Infection par bactérie extracellulaire ; elles resteront libres dans la circulation ou dans les tissus (bactéries pathogènes classiques) -> Réponse Th2 (Ac)

Infection par bactérie intracellulaire -> Réponse Th1 (les lymphocytes T Cytotoxiques vont reconnaître les cellules infectées et les détruire)

Stratégies de la bactérie pour échapper aux défenses de l'hôte : Facteur de pathogénicité

Les bactéries ont une grande capacité d'adaptation et ont développé de nombreuses stratégies pour échapper aux défenses. Les bactéries sont tellement adaptables qu'elles ont leur stratégie ;

Une bactérie->une stratégie OR certains thèmes restent communs. Il s'instaure un dialogue au niveau moléculaire entre la bactérie et la cellule hôte

### 1.6 Facteur facilitant la colonisation et l'invasion des surfaces de l'hôte par la bactérie

1. Pénétration à travers la peau intacte :

- Infection cutanée iatrogène (cathéters..)
- Utilisation d'un insecte vecteur (morsure d'une tique...)

2. Pénétration au niveau des muqueuses :

- Mobilité des bactéries : pour les bactéries possédant un flagelle permettant la traversée du mucus et lutte contre le flux urinaire ou encore le péristaltisme intestinal

- Sécrétion d'IgA protéases : Bactérie extracellulaire (méningocoque, pneumocoque..)

- Entrée par les cellules M au niveau de la muqueuse du Tube Digestif (plaques de Peyer). Certaines bactéries se servent de ces cellules (Shigella, Salmonella -> Gastro entérite ou encore Yersinia)

3. Adhésion bactérienne : Etape obligatoire pour la bactérie : c'est le début du processus de colonisation. L'adhésion fait intervenir les adhésines et des récepteurs cellulaires de l'hôte. L'interaction moléculaire entre la bactérie et l'hôte est spécifique. Il existe un répertoire d'adhésines qui permet à différentes molécules de se fixer.

Deux types d'adhésines :

- Pili ou fimbriae: Polymères de piline dont l'extrémité adhésine correspond au site de reconnaissance du récepteur cellulaire.

- Adhésines non fimbriales: Différentes protéines de surface de la paroi bactérienne permettant un contact serré entre la bactérie et la cellule. Les bactéries sans pili se fixe généralement directement sur la cellule.

- Cas particulier : biofilm. Capacité que les bactéries ont de sécréter des polysaccharides (slime) impliqué dans l'adhésion des bactéries entre elles et à la surface cellulaire. Le biofilm se retrouve partout et les bactéries y sont à l'état quiescent

Avantages pour les bactéries : Le biofilm permet de leur économiser de l'énergie, de plus les bactéries sont à l'abri des cellules phagocytaires et des antibio. Pour des bactéries pathogènes le biofilm est un facteur de virulence(ex : streptococcus mutans-> formation de la plaque

dentaire/ staphylococcus epidermidis -> colonisation des biomatériaux/ Pseudomonas Aeruginosa-> Mucoviscidose-> complication infectieuse -> colonisation respiratoire) , ou le biofilm peut être physiologique.

4. Mécanisme d'acquisition du fer : Le fer est indispensable aux bactéries d'ou synthèse de sidérophores par la bactérie: chélateur de fer avec une forte affinité, compétition avec la transferrine et la lactoferrine.

### **1.7 Facteur d'échappement aux défenses de l'hôte (complément, phagocytose, réponse anticorps)**

1. Capsule Bactérienne : a un rôle protecteur contre l'activation du complément. Capsule généralement immunogénique (vaccin contre polysaccharides de surface : influenzae) qui participe dans certains cas à la production d'Ac. Il existe des exceptions ; des capsules dont la nature ressemble à des polysaccharides de l'hôte sont non immunogéniques -> pas de rep Ac -> rôle protecteur contre la

phagocytose.

2. Autre facteurs de résistance au complément : Modification du LPS (AgO) ; prévention de la formation du complexe d'attaque membranaire ; bactérie à Gram Négatif dites sérums résistants/ Synthèse de C5a Peptidase : action chimiotactique
3. Echappement à la réponse anticorps : camouflage avec des molécules ressemblant à celles de l'hôte/ phénomène de variation antigénique (+++) ; certaines bactéries sont capables de faire varier leur Ag de surface. (ex : variation de phase intéressant les flagelles de Salmonella)

### 1.8 Facteur endommageant l'hôte

1. Enzyme hydrolytique : provoquant la destruction des tissus (protéases, hyaluronidases...)-> lésions-> pus. Cela facilite aussi la dissémination des bactéries. (ex : Bactérie pyogènes)

2. Toxiques protéiques bactériennes (exotoxines) : La multiplication et la survie des bactéries chez l'hôte infecté s'accompagnent de la production de toxines dans le milieu extérieur. Ces toxines vont être libérées et agir à distance sur leurs cellules cible. Dans certain cas le pouvoir pathogène d'une bactérie ne s'exprime que par une ou plusieurs toxines. C'est le rôle majeur dans l'expression clinique de la maladie. Certaines toxines ont un pouvoir toxique très élevé (ex : toxine botulinique)

Il existe trois types de toxines protéiques :

- de type A-B : provoque des toxico-infection dont la portion A possède l'activité enzymatique responsable de la toxicité et la portion B permet la liaison avec le récepteur de la cellule cible. Mécanisme : lorsque la portion B est fixé (portion B détermine la spécificité de la cellule cible)-> Translocation(= internalisation de la portion A dans la cellule cible)-> Activité toxique avec la portion A qui devient active dans le cytoplasme de la cellule.

Des bactéries peuvent avoir une portion A identique avec des portions B différentes (donc la fixation se fera au niveau de sites différents) ex : Tétanos et Botulisme ont même portion A mais pas la même portion B

**Application :**

Vaccin antibactérien ; souvent es toxines protéiques de type A-B sont responsables de la totalité des symptômes clinique, il n'y a pas de multiplication de la bactérie dans l'organisme-> toxi-infection

La synthèse d'Ac neutralisant la toxine permet une protection efficace contre la maladie :

-Vaccination par anatoxine : substance qui a perdu tout pouvoir toxique mais conserve son pouvoir immunogène.

-Vaccination d'antitoxine : Ig spécifiques humaines.

- Cytolysines ou hémolysines :

Toxines provoquant une rupture membranaire de la cellule cible. 2 types

- soit protéines venant s'intégrer dans la membrane de la cellule-> formation de pores membranaires entraînant la lyse cellulaire avec fuite des constituant cellulaires (ex : streptolysine)

- soit enzymes déstabilisant la membrane plasmique par action au niveau des phospholipides membranaire : phospholipases ou lécithinases (ex : toxine alpha)

-Superantigène : Toxine sécrétée par deux bactéries : Toxine du Toxic Shock Syndrome (*S.aureus*) et Toxine pyrogénique streptococcique (*S. pyogenes*). Hyperstimulation des lymphocytes T CD4 (helper) -> excès de IL-2 et TNFalpha.

3. Composant de la paroi bactérienne à l'origine de la réaction inflammatoire :

Structures microbiennes très conservées : pathogen-associated molecular patterns (PAMPs)  
Bactérie à Gram négatif : LPS ou endotoxine. LPS constituant de la membrane externe de la paroi des bactéries à gram négatif. Constitué d'une partie lipidique (lipideA) et d'une partie polysaccharidique.

Bactérie à Gram positif : Acides Lipoteichoïques, peptidoglycane

Une réponse inflammatoire excessive peut avoir des conséquences néfastes, soit en altérant le fonctionnement d'un organe soit en entraînant un désordre circulatoire systémique (choc sceptique)

### **1.9 Facteurs permettant la survie des bactéries pathogènes intracellulaires**

- Classification des bactéries intracellulaires,

Pathogènes intracellulaires obligatoires. : Bactérie incapable de survivre à l'extérieur des cellules d'ou adaptation totale à l'hôte. Souvent lésions minimales chez l'hôte qui assure leur survie (ex : rickettsia)

Pathogènes intracellulaires facultatifs :

Soit Bactérie de l'environnement adaptées à prédateur

Soit bactérie dont une étape du cycle correspond à un passage intracellulaire Soit bactérie recherchant un gîte à l'abri des défenses de l'hôte

- Facteur du parasitisme intracellulaire

Entrée dans les cellules avec interaction spécifique de la bactérie avec la cellule qui va déclencher des remaniements du cytosquelette de la cellule et qui aboutit à l'ingestion de la bactérie -> phagocytose induite par la bactérie

Survie et multiplication intracellulaire ; la bactérie se retrouve dans une vacuole de phagocytose ou phagosome. Le devenir de la bactérie dans la cellule : Soit survie dans le phagosome Soit survie dans le cytoplasme Echappement aux defenses de l'hote.

- Anderson GG, O'Toole GA (2008) Innate and induced resistance mechanisms of bacterial biofilms. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 322: 85-105.
- Bauer W. D. & Robinson J. B. (2002). Disruption of bacterial quorum sensing by other organisms. *Current Opinion in Biotechnology* 13(3): 234-237.
- Bauer W. D., Mathesius U. & Teplitski M. (2005). Eukaryotes deal with bacterial quorum sensing. *ASM News* 71(3): 129-135.
- Brady RA, Leid JG, Calhoun JH *et al.* (2008) Osteomyelitis and the role of biofilms in chronic infection. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 52: 13- 22.
- Brockhurst M. A., Hochberg M. E., Bell T. & Buckling A. (2006). Character displacement promotes cooperation in bacterial biofilms. *Current Biology* 16(20): 2030-2034.
- Chao Y. & Zhang T. (2012). Surface-enhanced raman scattering (SERS) revealing chemical variation during biofilm formation: from initial attachment to mature biofilm. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 404(5): 1465-1475.
- Costerton JW, Stewart PS *et al.* (1999) Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*, 284: 1318-1322.
- Daniels R., Vanderleyden J. & Michiels J. (2004). Quorum sensing and swarming migration in bacteria. *FEMS Microbiology Reviews* 28(3): 261-289.
- Flemming H.-C. & Wingender J. (2010). The biofilm matrix. *Nature Reviews Microbiology* 8(9): 623-633.
- Hall-Stoodley L. & Stoodley P. (2002). Developmental regulation of microbial biofilms. *Current Opinion in Biotechnology* 13(3): 228-233.
- Leclerc H., Gaillard J.L., Simonet M., (1995). Microbiologie générale : la bactérie et le monde bactérien. Edit Doin. 535p.
- Mah T.-F. C. & O'Toole G. A. (2001). Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends in Microbiology* 9(1): 34-39.
- Prescott , Harley et Klein (1999). Microbiologie. De Boeck. Université, 981p.

