

CHAPITRE 10 : ENERGIE, ENVIRONNEMENT et la SURVIE MICROBIENNE

1. Energie

1.1. Travail cellulaire et transferts d'énergie

Si l'on examine les points communs dans les voies du métabolisme décrits ci-dessus, il apparaît clairement que les cellules doivent accomplir un travail pour survivre et se reproduire. Les cellules effectuent trois types principaux de travail. Le **travail chimique**, qui implique la synthèse de molécules biologiques complexes à partir de précurseurs plus simple (c-à-d., l'anabolisme) ; de l'énergie est nécessaire pour augmenter la complexité moléculaire d'une cellule. Le **travail de transport**, qui nécessite de l'énergie pour prendre en charge les nutriments, rejeter les déchets et maintenir les équilibres ioniques. Il faut un apport d'énergie car les molécules et les ions doivent souvent être transportés à travers les membranes contre un gradient électrochimique. Le troisième type de travail est le **travail mécanique**. De l'énergie est requise pour la mobilité cellulaire et le mouvement des structures à l'intérieur de la cellule, tels que la partition des chromosomes au cours de la division cellulaire.

Pour effectuer un travail, les cellules doivent avoir de l'énergie. En effet, l'énergie peut être très simplement définie comme la capacité à effectuer un travail. Et ce parce que tous les processus physiques et chimiques sont la conséquence de l'application ou du mouvement de l'énergie. Les organismes obtiennent l'énergie qui leur est nécessaire à partir d'une source d'énergie présente dans leur environnement. Ils convertissent l'énergie fournie par cette source en une forme qui leur soit utile. La forme d'énergie cellulaire la plus communément utilisée est l'ATP, un nucléoside triphosphate. En outre, d'autres nucléosides triphosphates et d'autres molécules à haut potentiel d'énergie peuvent être requises pour des processus spécifiques.

1.2. Principale devise énergétique des cellules

L'énergie est extraite d'une source énergétique par des réactions exergonique [c-à-d., celles qui ont un ΔG négatif (ΔG : la **variation de l'énergie libre** est la quantité d'énergie d'un système ou une cellule qui est disponible pour effectuer un travail, à température et pression constantes)].

Cette énergie n'est pas gaspillée, la plus grande partie en est capturée sous une forme pratique qui permet son transfert dans les systèmes cellulaires fournissant un travail. Ces systèmes effectuent des réactions endergoniques (c'est l'anabolisme), et l'énergie piégée par la cellule sert à mener ces réactions à leur terme. Chez les organismes vivants, cette forme pratique d'énergie est le **nucléotide adénosine 5'-triphosphate (ATP; Fig. 01)**. Dans un certain sens, les cellules réalisent certains processus, de telle sorte qu'elles peuvent « gagner » de l'ATP et effectuer d'autres processus dans lesquels elles « dépensent » leur ATP. C'est pourquoi on dit souvent que l'ATP est la devise énergétique des cellules. Dans l'économie cellulaire, l'ATP fait la liaison entre réaction exergonique et les réactions endergoniques (Fig. 02).

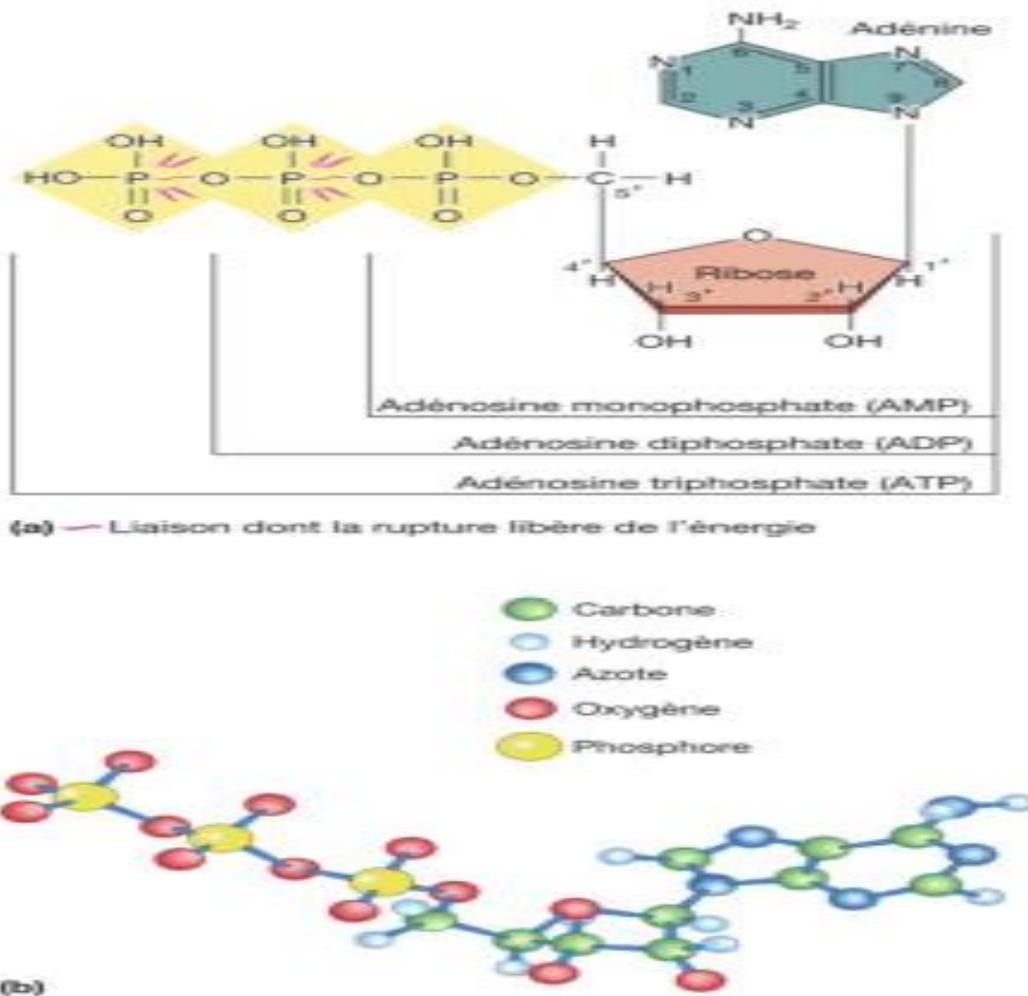


Figure 01: Adénosine triphosphate.

[(a) structure de l'ATP, de l'ADP et de l'AMP. Les deux liaisons (—) en rouge sont plus facilement hydrolysées et libèrent une quantité considérable d'énergie utilisable dans les réactions endergoniques. Les atomes du noyau pyrimidine ont été numérotés, de même que les atomes de carbone dans le ribose. (b) Modèle de l'ATP].

Qu'est-ce qui fait que l'ATP convient pour ce rôle de devise énergétique ? C'est que l'ATP est une molécule à haut potentiel d'énergie (dite « riche en énergie »). Cela signifie qu'elle est hydrolysée presque complètement en adénosine diphosphate (ADP) et orthophosphate (Pi), avec un ΔG° de -7.3Kcal/mol (-30.5KJ/mole).



L'énergie libérée est utilisée pour activer les réactions endergoniques (Fig. 02).

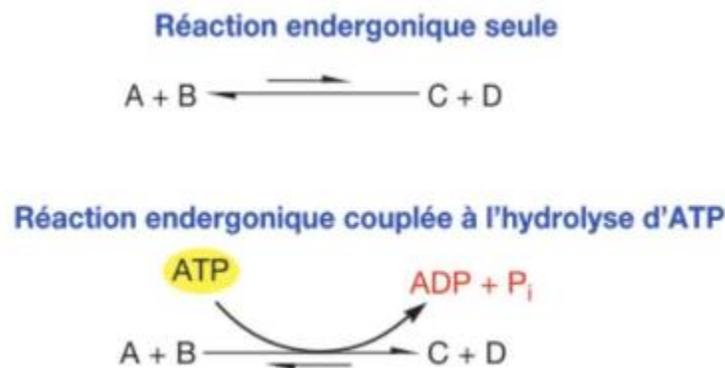


Figure 02: ATP comme agent de couplage.

(L'ATP est formée par des réactions exergoniques, puis utilisée pour effectuer des réactions endergoniques).

Le ΔG° fortement négatif d'hydrolyse de l'ATP est relié à une autre caractéristique importante de l'ATP : sa capacité à transférer un groupement phosphoryle à une autre molécule. Pour cette raison, on dit que l'ATP possède un **haut potentiel de transfert de phosphate**. On notera dans le tableau 10.1 qu'il existe d'autres composés phosphorylés dans les cellules. Ces molécules sont formées lors du catabolisme de molécules organiques telles que le glucose. Certaines d'entre elles ont même des potentiels de transfert de phosphate plus élevés que celui de l'ATP. Le fait que l'ATP n'ait pas le potentiel de transfert de phosphate le plus élevé signifie qu'elle peut être facilement fabriquée par des cellules à partir de l'ADP en utilisant des molécules comme le phosphoénolpyruvate (PEP) en tant que source de groupement phosphoryle. Ce mécanisme de formation d'ATP est appelé **phosphorylation au niveau du substrat (PNS)**.

ATP, ADP et Pi constituent un cycle énergétique. Comme le montre la figure 03, les réactions de fourniture d'énergie mettent en réserve l'énergie d'une source énergétique, en l'utilisant pour synthétiser de l'ATP à partir d'ADP et de Pi. Quand l'ATP est hydrolysée, l'énergie libérée induit les processus endergoniques comme l'anabolisme, le transport et le travail mécanique.

Tableau 01: Potentiel de transfert de phosphate de composés phosphorylés communs

Tableau 10.1 Potentiel de transfert de phosphate de composés phosphorylés communs ¹		
Molécule phosphorylée	ΔG° d'hydrolyse du phosphate (KJ/mol)	Potentiel de transfert de phosphate
<i>Composés phosphorylés à haut potentiel d'énergie</i>		
Phosphoénolpyruvate ²	-61,9	61,9
1,3-bisphosphoglycérate ²	-49,3	49,3
ATP (hydrolyse en AMP)	-45,6	45,6
ATP (hydrolyse en ADP)	-30,5	30,5
<i>Composés phosphorylés à faible potentiel d'énergie</i>		
Glucose 6-phosphate	-13,8	13,8
Glycérol 1-phosphate	-9,2	9,2

1 Le potentiel de transfert de phosphate est défini comme la valeur négative de la variation d'énergie libre standard ΔG° de l'hydrolyse du phosphate de la molécule phosphorylée.

2 Le phosphoénolpyruvate et le 1,3-bisphosphoglycérate sont formés au cours du catabolisme de molécules organiques comme le glucose.

L'ATP est la principale devise énergétique des cellules, mais elle n'est pas la seule. Il convient de noter que d'autres nucléosides triphosphates (NTP) ont des rôles essentiels dans le métabolisme. Le guanosine 5'-triphosphate (GTP) fournit une part de l'énergie requise pendant la synthèse des protéines. Le cytidine 5'-triphosphate (CTP) est utilisé dans la synthèse des lipides tandis que l'uridine 5'-triphosphate (UTP) est employé dans la synthèse du peptidoglycane et d'autres polysaccharides.

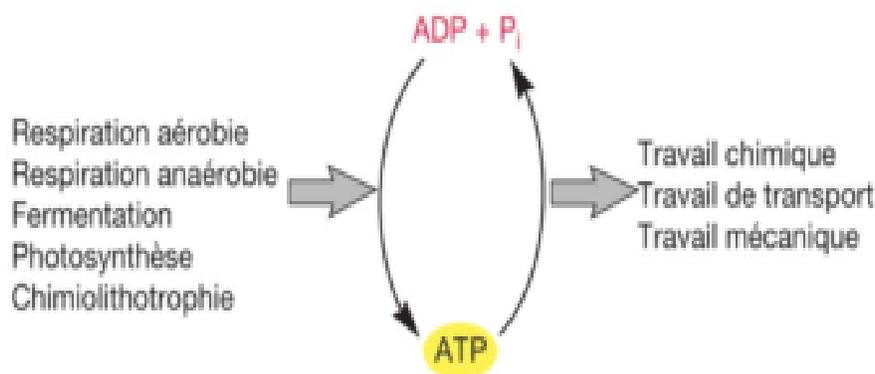


Figure 03: cycle de l'énergie cellulaire.

(L'ATP est formé grâce à l'énergie libérée par la respiration aérobie, la respiration anaérobie, la fermentation, la chimiolithotrophie et la phototrophie. Son hydrolyse en ADP et phosphate (Pi) permet le travail chimique, le travail de transport et le travail mécanique).

2. Environnement et la survie microbienne

2.1. Biofilms sont fréquents dans la nature

Au cours de leurs premiers cours de microbiologie, de nombreux étudiants ont raclé leurs dents et examiné les micro-organismes dans ces raclures. Ce qui a été recueilli était la plaque dentaire, un exemple important de biofilm. Les écologistes avaient observé, dès les années 1940, qu'il y avait plus de micro-organismes sessiles (fixés sur des surfaces) que planctoniques (flottants librement) dans les milieux aquatiques. Les **biofilms** sont des communautés complexes de micro-organismes enveloppées dans un mucus. Omniprésents dans la nature, les biofilms forment le plus souvent des couches muqueuses sur des pierres ou sur d'autres objets dans l'eau ou aux interfaces eau/air (Fig. 04a). Lorsqu'ils se forment sur coques des navires, ils provoquent une corrosion, qui réduit la vie des navires et induit des pertes économiques. Les biofilms présents sur des dispositifs médicaux comme les implants de hanche et de genou (Fig. 04b) constituent un problème important. Ils sont souvent responsables de maladies grave et d'échecs d'implantation. Les biofilms peuvent également apparaître sur les crottes de blessure et retarder la cicatrisation. La formation de biofilms est une capacité apparemment ancienne chez les micro-organismes comme le montrent les biofilms trouvés dans les fossiles vieux d'environ 3.4 milliards d'années.

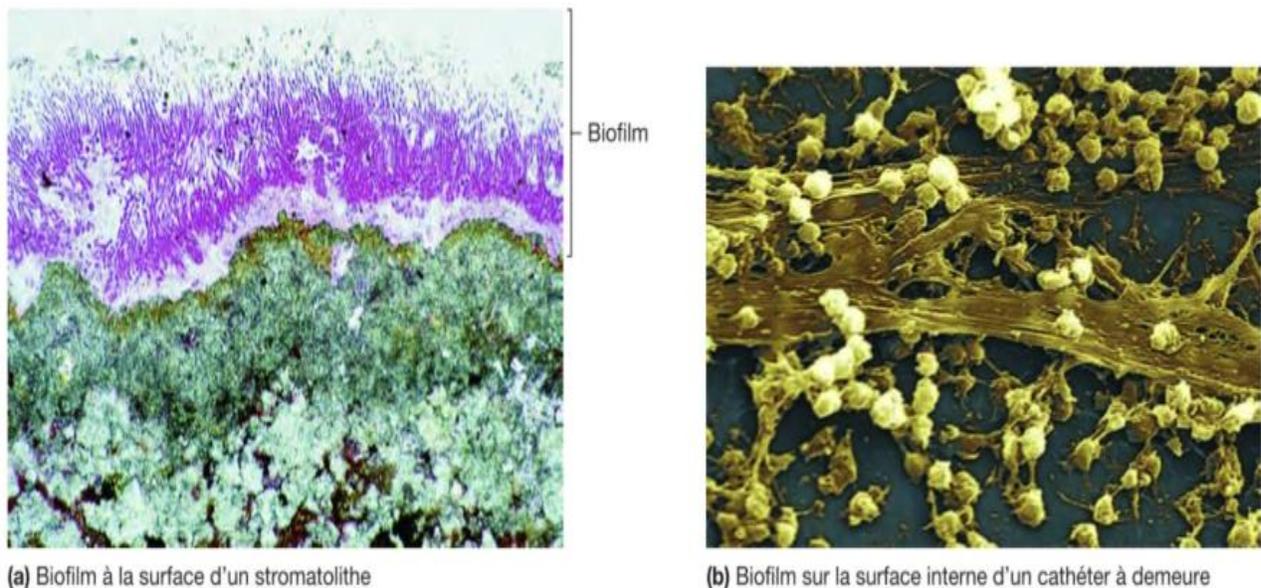


Figure 04: Exemples de biofilms.

(Des biofilms se forment sur presque toutes les surfaces exposées aux micro-organismes. (a) Biofilm sur la surface d'un stromatolithe dans le lac alcalin Walker (Navada, USA). Le biofilm contient essentiellement la cyanobactérie *Colothrix* sp. (b) Biofilm de *Staphylococcus aureus* sur la surface luminale d'un cathéter à demeure ; image en microscopie électronique à balayage, colorisée x 2.363).

Les biofilms se forment virtuellement sur n'importe quelle surface, dès qu'elle a été conditionnée par des protéines et d'autres molécules présentes dans le milieu (Fig. 05). Au début, les micro-organismes se fixent sur la surface conditionnée, mais ils peuvent s'en détacher facilement. Finalement, ils forment une matrice muqueuse faite de divers polymères selon les micro-organismes du biofilm. C'est ce qu'on appelle collectivement les **substances polymériques extracellulaires** (EPS pour **Extracellular Polymeric Substances** ou **ECM** pour **ExtraCellular Matrix**). Parmi ces polymères, il y a des polysaccharides, des protéines, des glycoprotéines, des glycolipides et de l'ADN. La matrice EPS permet aux micro-organismes d'avoir une meilleure adhérence sur la surface. Avec l'épaississement et la maturation du biofilm, ils se multiplient et sécrètent des polymères additionnels. Finalement, les conditions dans le biofilm peuvent devenir par endroits nuisibles pour les cellules et il devient bénéfique pour les cellules de se détacher et de s'échapper du biofilm. C'est d'une importance considérable pour les biofilms associés aux dispositifs médicaux, parce que les cellules échappées peuvent induire des sites d'infection ailleurs dans le corps.

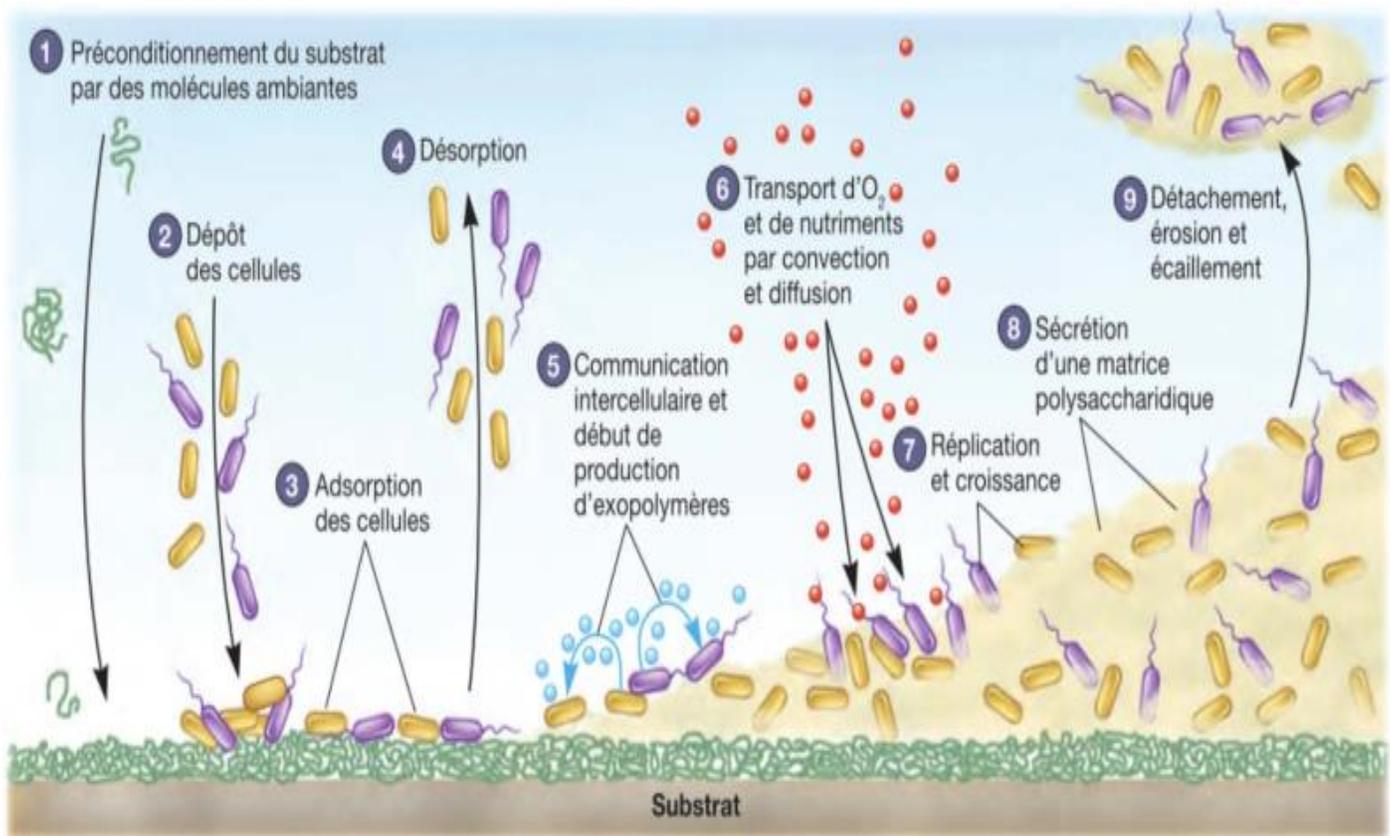


Figure 05: Formation d'un biofilm

Un biofilm à maturité est une communauté complexe et dynamique de micro-organismes. Il présente une hétérogénéité considérable en raison des différences d'activité métabolique des micro-organismes à divers endroits du biofilm, certains sont des persistants (Fig. 06). Les micro-organismes interagissent de diverses manières. Par exemple, les déchets d'un micro-organisme peuvent être la source énergétique d'un autre. Les cellules communiquent également entre elles. Finalement, l'ADN présente dans la matrice d'EPS peut être pris par des membres de la communauté du biofilm. Des gènes peuvent donc être transmis d'une cellule (ou d'une espèce) à une autre.

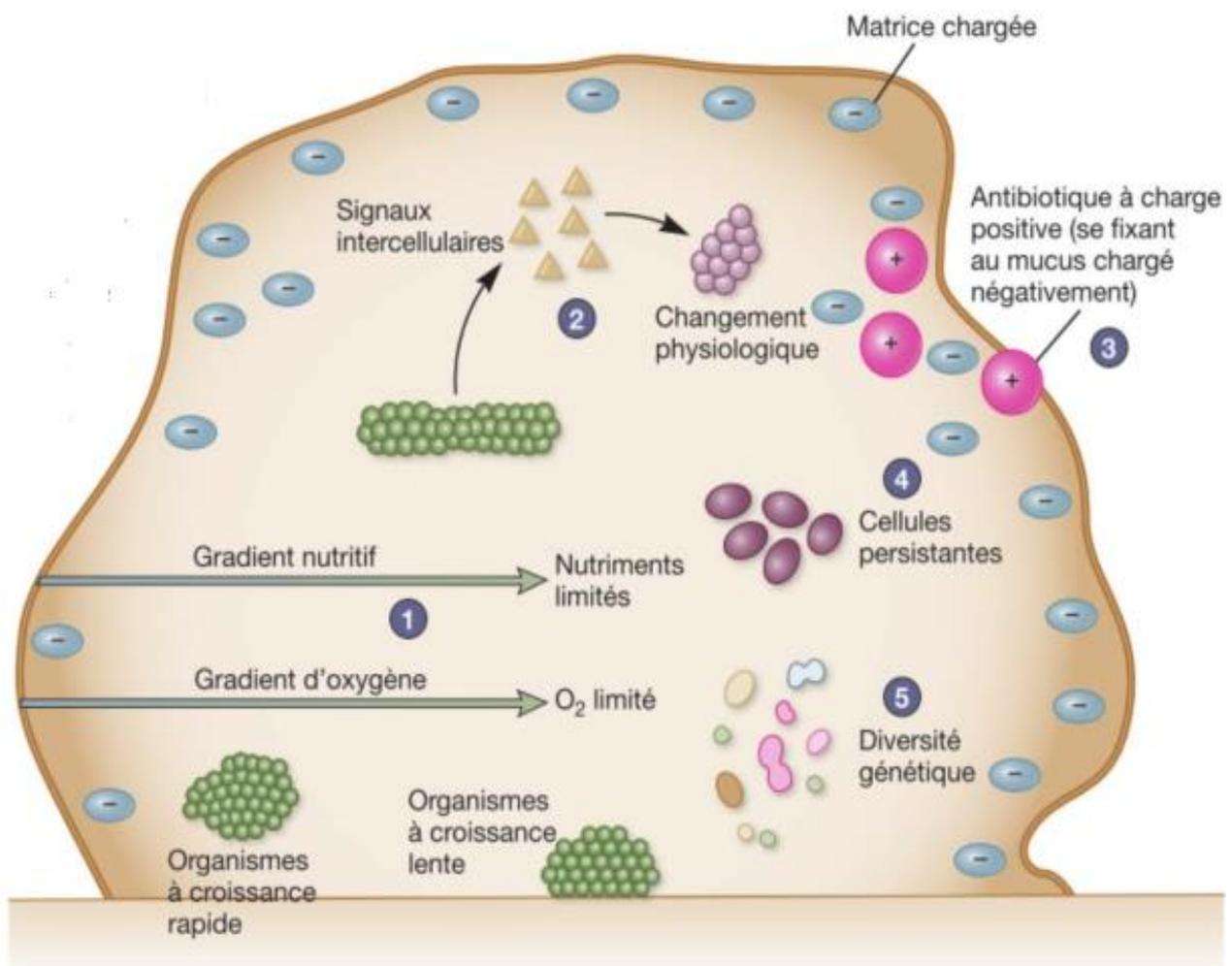


Figure 06: Biofilm heterogeneity

Dans le biofilm, les micro-organismes sont protégés contre de nombreux agents nocifs comme les UV et les antibiotiques. C'est dû en partie à la matrice d'EPS dans laquelle ils sont enfouis (Fig. 06), mais aussi à des modifications physiologiques. On observe en effet nombreuses

protéines dans ces cellules, qui sont absentes dans les cellules planctoniques et vice versa. La résistance des cellules du biofilm aux agents antimicrobiens a des conséquences importantes. Lorsque des biofilms se forment sur un dispositif médical tel qu'une hanche artificielle, une antibiothérapie échoue souvent ce qui peut souvent conduire à des infections systémiques graves. L'échec du traitement est en partie dû à la présence de persistants dans le biofilm. Ils survivent au traitement antibactérien et repeuplent le biofilm dès que le traitement s'arrête. Souvent, la seule manière de traiter les patients dans cette situation est d'enlever l'implant. Le détachement régulier de cellule de ces biofilms (Fig. 05) constitue un autre problème qui peut avoir de nombreuses conséquences. Par exemple, dans la distribution d'eau, les biofilms peuvent boucher ou encaster les tuyaux et être à l'origine de contamination.

2.2. Communication intercellulaire dans les populations microbiennes

Pendant des décennies, les microbiologistes ont eu tendance à considérer les populations bactériennes comme une collection de cellules individuelles se développant et se comportant indépendamment. Mais, il y a 40 ans environ, on a découvert deux exemples de bactéries utilisant des signaux moléculaires pour communiquer entre elles selon un mode dépendant de la densité. C'est ce qu'on appelle la **perception du quorum** ou « *quorum sensing* ». Le quorum est le nombre minimal de membres requis pour qu'une assemblée (par exemple législative) soit opérante.

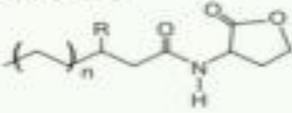
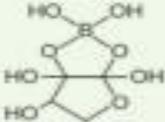
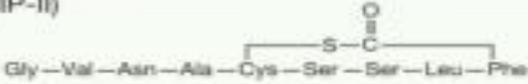
Le premier exemple de ce phénomène a été observé chez une bactérie pathogène Gram-positive, *Streptococcus pneumoniae*. Cette bactérie produit et libère un peptide dont la concentration augmente avec la densité de la population. Lorsque la concentration du peptide devient suffisamment élevée, certaines cellules au sein de la population passent d'un état non compétent à un état compétent. Devenues compétentes, les cellules sont capables d'absorber de l'ADN par un processus désigné comme la transformation. En outre, les cellules compétentes libèrent une bactériocine qui provoque la lyse des cellules qui ne le sont pas. En lysant, ces cellules libèrent de l'ADN et des facteurs de virulence qui permettent aux cellules compétentes d'envahir les tissus d'un organisme hôte et de provoquer des maladies graves telles que des pneumonies et des méningites.

Si le système de perception du quorum de *S. pneumoniae* fut le premier à être découvert, on n'a proposé ce terme que quelques années plus tard, lors de la découverte du quorum sensing d'une bactérie très différente. La bactérie marine luminescente *Vibrio fischeri* vit dans l'organe lumineux

de certains poissons et de calmars. Son pouvoir luminescent est contrôlé par la production d'une petite substance auto-inductrice diffusible, l'**acylhomosérine lactone (AHL)**. On sait maintenant que de nombreuses bactéries Gram-négatives fabriquent des AHL qui diffèrent par la longueur de la chaîne acyle latérale et le groupement en troisième position (Fig. 07). Chez nombre de ces espèces, l'AHL diffuse librement à travers la membrane cytoplasmique. Lorsque la densité cellulaire est faible, le gradient de densité favorise la sortie de la cellule. Mais, quand la population cellulaire augmente et que l'AHL s'accumule à l'extérieur de la cellule, le gradient de diffusion s'inverse de sorte qu'elle entre dans la cellule. Comme l'influx d'AHL est dépendant de la densité cellulaire, il permet à chaque cellule d'estimer la densité de la population. Lorsque l'AHL atteint une concentration intracellulaire seuil, elle induit l'expression des gènes cibles qui régulent des fonctions dont le nombre varie selon les micro-organismes. Ce n'est que lorsqu'il y a un grand nombre de micro-organisme que les fonctions ont le plus d'effet. Par exemple, la lumière produite par une seule cellule de *V. fischeri* est invisible et coûteuse au plan énergétique, c'est pourquoi la bioluminescence est inhibée. Mais les densités cellulaires dans les organes lumineux des poissons et des calmars marins atteignent 10^{10} cellules/ml. A ces densités, la lumière est bien visible. La perception du quorum sert donc à promouvoir la bioluminescence aux fortes densités. Cela dote l'animal d'un effet de flash. Chez les calmars, la bioluminescence permet une contre-illumination qui les protège de la prédation lorsqu'ils chassent la nuit. En retour, les bactéries ont un lieu sûr et riche en nutriment (Fig. 08).

Les scientifiques ont appris que beaucoup de processus régulés par la perception du quorum concernent des interactions hôte-microbe, y compris la pathogénèse. Par exemple, les bactéries Gram-négatives pathogènes opportunistes *Burkholderia cepacia* et *Pseudomonas aeruginosa* utilisent des AHL pour réguler la formation de biofilms et l'expression de facteurs de virulence (Fig. 07). Ces bactéries sont responsables de pneumonies débilitantes chez les individus immunodéprimés et sont des pathogènes importants pour les patients souffrant de mucoviscidose.

De même que *S. pneumoniae*, d'autres bactéries Gram-positives communiquent au moyen d'oligopeptides. C'est le cas d'*Enterococcus faecalis* qui utilise un oligopeptide pour déterminer le meilleur moment pour transférer des gènes par conjugaison. C'est grâce à un oligopeptide que *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* déclenchent l'absorption d'ADN de l'environnement.

Signal et structure	Organisme représentatif	Fonction régulée
<p>N-acyl-homosérine lactone (AHL)</p> 	<p><i>Vibrio fischeri</i> <i>Agrobacterium tumefaciens</i> <i>Erwinia carotovora</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Burkholderia cepacia</i></p>	<p>Bioluminescence Transfert de plasmide Virulence et production d'antibiotique Virulence et formation de biofilm Virulence</p>
<p>Furanosylborate (AI-2)</p> 	<p><i>Vibrio harveyi</i>^a</p>	<p>Bioluminescence</p>
<p>Thiolactone cyclique (AIP-II)</p> 	<p><i>Staphylococcus aureus</i></p>	<p>Virulence</p>
<p>Méthyl ester d'acide hydroxypalmitique (PAME)</p> 	<p><i>Ralstonia solanacearum</i></p>	<p>Virulence</p>
<p>Acide méthyl-dodécénoïque (DSF)</p> 	<p><i>Xanthomonas campestris</i></p>	<p>Virulence</p>
<p>Acide famésolique</p> 	<p><i>Candida albicans</i></p>	<p>Transition dimorphique et virulence</p>
<p>3-hydroxytridécanoïde-4-one</p> 	<p><i>Vibrio cholerae</i></p>	<p>Virulence</p>

^a D'autres bactéries produisent une forme d'AI-2 dépourvue de bore.

Figure 07: Molécules représentatives de la communication intercellulaire.

La découverte de signaux moléculaires additionnels fabriqués par divers micro-organismes souligne l'importance de la communication intercellulaire dans la régulation de processus cellulaires. Par exemple, si seules des bactéries Gram-négatives synthétisent des AHL, des bactéries Gram-négatives et Gram-positives produisent l'**auto-inducteur-2 (AI-2)**. *Streptomyces griseus*, une bactérie du sol, produit un γ -butyrolactone connue comme le **facteur-A**. Cette petite molécule régule à la fois la différenciation morphologique et la production de la streptomycine. Les micro-organismes eucaryotes comptent sur une communication intercellulaire pour coordonner des

activités clés dans une population. Le champignon pathogène *Candida albicans* sécrète, par exemple, l'acide farnésique pour contrôler la morphologie et la virulence (Fig. 07).

Ces exemples de communication intercellulaire démontrent ce que l'on pourrait appeler un comportement multicellulaire, puisque de nombreuses cellules séparées communiquent et coordonnent leurs activités de façon à agir comme une structure unitaire. Il y a d'autres exemples de ce comportement complexe, comme l'élaboration de motifs dans les colonies et la formation des fructifications chez les myxobactéries.

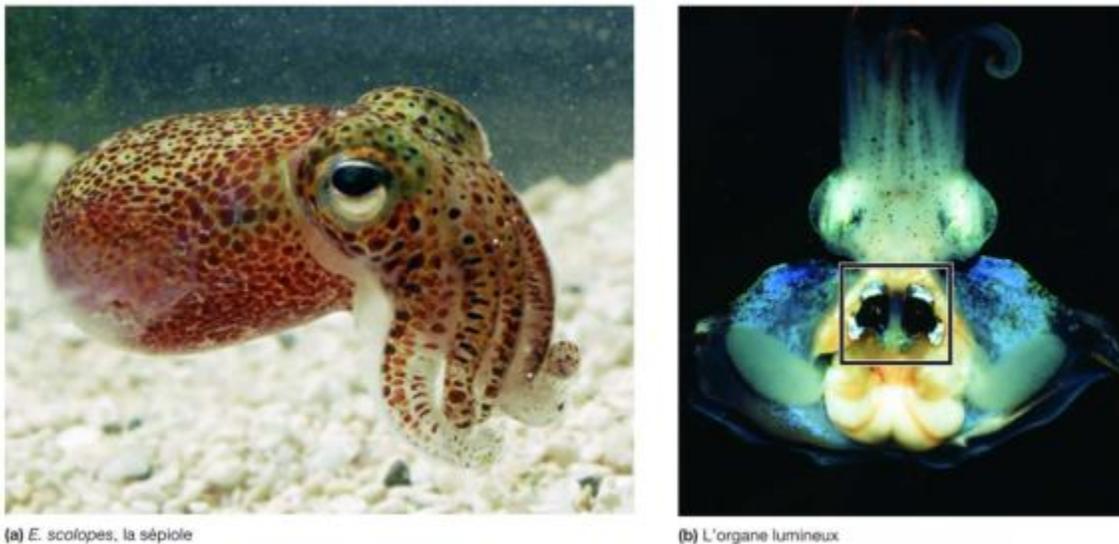


Figure 08: Symbiose entre la sépiole et *Vibrio*.

[(a) la sépiole des eaux chaudes, demeure enfouie dans le sable durant la journée et s'alimente la nuit. (b) lorsqu'elle se nourrit, elle utilise son organe lumineux placé sur la surface ventrale (encadré) pour se camoufler en projetant de la lumière vers le bas. Sa silhouette apparaît ainsi aussi claire que la surface de l'eau pour les prédateurs regardant vers le haut de la colonne d'eau. L'organe lumineux est colonisé par un grand nombre de cellules de *Vibrio fischeri* de sorte que l'auto-inducteur s'accumule jusqu'à la concentration seuil et déclenche une production de lumière. En plus d'être un modèle pour la perception du quorum, cette relation est un modèle important pour le type d'association animal-bactérie le plus commun, la colonisation des surfaces épithéliales].