

DES BACTERIES ET DES HOMMES

De la santé au développement durable



3^e Journées de microbiologie

6-7 septembre 2010

Centre médical universitaire

1 rue Michel-Servet

www.unige.ch/public

DES BACTÉRIES ET DES HOMMES

De la santé au développement durable

Les bactéries...

...sans doute
les premières formes de vie
à être apparues sur Terre

...plus nombreuses
que nos propres cellules

...le plus grand nombre
d'organismes vivants
sur notre planète

FACULTÉ DE MÉDECINE
FACULTÉ DES SCIENCES



Dr Karl Perron
Prof. Jacques Schrenzel
Prof. Patrick Linder

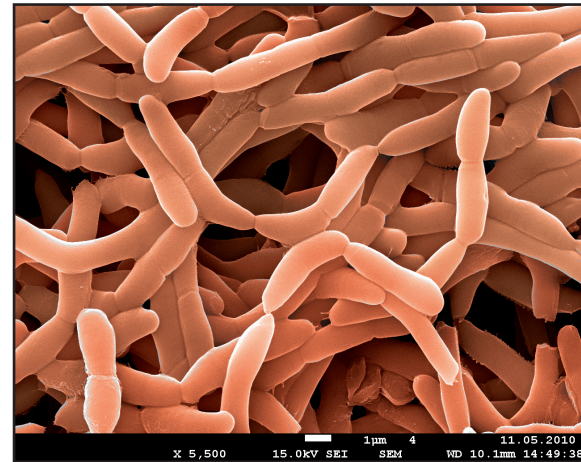
Avec la collaboration de :

Prof. Pierre Baehni, Dr François Barja,
Mme Valérie Barras, Mme Marie Beaume,
Prof. Dominique Belin, M. Abdessalam Cherkaoui,
Dr Anna Corvaglia, Prof. Pierre Cosson,
Dre Stéphane Couty Jouve, Dr Stéphane Emonet,
M. Adrien Fischer, Dr Patrice François,
Dre Irène Garcia-Gabay, Prof. Antoine Hadengue,
Mme Ninon Horié, Dr Vladimir Lazarevic,
M. Daniel Martins, Mme Katia Pedro-Ramos-
Mischler, Dr Peter Redder, Mme Carmen Poggia,
Dr Mauro Tonolla, Prof. R. van der Meer,
Prof. Patrick Viollier, Dre Annelise Wohlwend.

Bactéries, qui êtes-vous ?

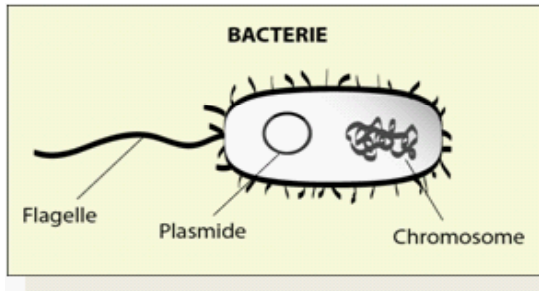
Quand on parle de bactéries on pense immédiatement aux maladies, aux infections et à une multitude d'événements négatifs liés à ces microbes. Les épidémies de peste ou de choléra ont marqué et marquent encore notre histoire. Le retour de la tuberculose sur le devant de la scène, les difficultés de traitement suite aux résistances multiples aux antibiotiques font bien souvent la une des journaux. Pourtant seule une infime minorité des bactéries est pathogène. L'immense majorité des bactéries est bénéfique et indispensable aux processus biologiques, à la santé de la planète et à la nôtre ! Ainsi, les bactéries participent à des nombreux cycles, comme le cycle de l'azote. Elles vivent en symbiose ou en parfaite harmonie avec leurs hôtes.

Ces 3^e journées de microbiologie vont vous faire découvrir ces aspects essentiels et passionnants de l'univers bactérien, ce monde invisible sur lequel repose toute l'écologie et la vie de notre planète.



Définition d'une bactérie

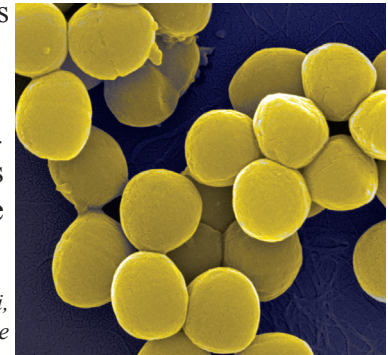
Les bactéries sont des organismes composés pour la plupart d'une seule cellule. Elles mesurent environ 1 millième de millimètre et sont donc invisibles à l'œil nu. Apparues sur Terre il y a quelque 3.5 milliards d'années, c'est-à-dire bien avant nous, elles ont façonné notre planète en modifiant son atmosphère et sa surface, permettant à d'autres formes de vie de se développer. On les retrouve partout: dans les océans, sur la terre, dans le sol au milieu des déserts comme en Antarctique. On en connaît qu'une infime proportion - c'est un monde plein de surprises encore à découvrir !



Une bactérie est en moyenne 10 à 100 fois plus petite qu'une cellule humaine. Son matériel génétique ne se trouve pas dans un noyau comme c'est le cas chez les cellules animales ou végétales. Pour cette raison, on appelle les bactéries des procaryotes (avant le noyau). Les cellules à noyau (comme les cellules humaines) sont quant à elles dénommées des eucaryotes (vrai noyau).

Le monde bactérien, c'est une diversité infinie de formes et de couleurs. En bâtonnets ou arrondies, spiralées ou de structure non définies, les bactéries peuvent produire différents pigments leur conférant une grande variété de couleurs.

Staph. aureus F. Cavat, R. Martini,
K. Perron- UniGe

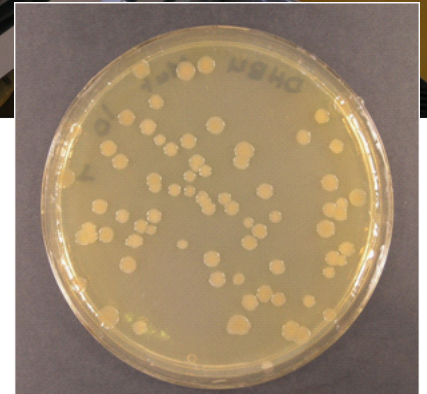


Une croissance exponentielle!

Pour se multiplier une bactérie se divise en 2, puis les 2 cellules se divisent et donnent 4 cellules et ainsi de suite. *Escherichia coli*, une bactérie commune de nos intestins se divise par exemple toutes les 20 minutes en conditions de laboratoire! En 24 heures cette bactérie donnera donc en 72 générations (3 générations par heure. $3 \times 24 = 72$), 2^{72} bactéries, soit plus de 4'700'000'000'000'000'000'000 descendants! Sachant qu'une bactérie pèse 0.000'000'000'000'5g (5×10^{-13} g), cela donnerait plus de 2'350 tonnes ! Dans la réalité, cela n'arrive pas. Heureusement la croissance bactérienne s'arrête car les cellules épuisent leur milieu de culture en nutriments et elles accumulent des produits toxiques dans leur environnement immédiat. Néanmoins la rapidité de croissance bactérienne, ajoutée à grande capacité métabolique fait des bactéries les organismes pionniers dans la colonisation de nouveaux espaces.



En laboratoire on peut facilement obtenir plusieurs milliards de bactéries en une journée

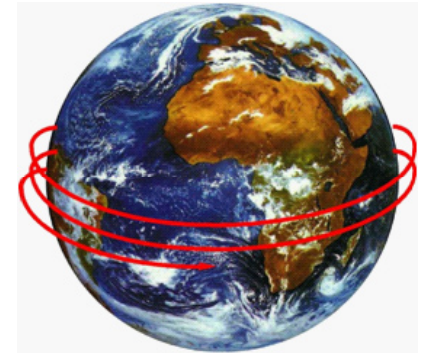


Nous sommes habités par une multitude de bactéries bienveillantes

Nous sommes composés d'environ dix mille milliards (10^{13}) de cellules qui forment les briques de nos tissus et de nos organes. Chacune de nos cellules porte dans son noyau un ruban d'ADN de près de 2 m de long qui contient le code génétique de nos 30'000 gènes. En nous regardant dans un miroir, s'il peut paraître évident que nous sommes constitués de ces nombreuses cellules, il est plus surprenant de savoir que nous sommes habités, tout au long de notre vie, par 10 fois plus de bactéries que de cellules humaines. On estime en effet le nombre de bactéries de notre flore normale à 10^{14} , soit cent mille milliards !

Ce nombre de bactéries est phénoménal. Si l'on considère qu'une bactérie fait environ 1 micromètre de long ou de diamètre, les 10^{14} bactéries de notre corps alignées les unes derrière les autres font un très long trajet !

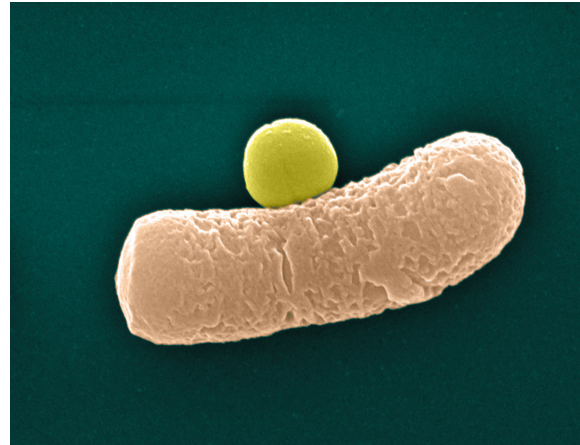
100'000'000'000'000	microns
100'000'000'000	mm
100'000'000	m
100'000	km = 2,5 tours de la Terre !



Dans notre corps, il y a très peu d'endroits stériles, c'est à dire sans bactérie: c'est le cas par exemple du liquide céphalorachidien (LCR) qui entoure notre cerveau, nos articulations et nos os, ainsi que nos tissus profonds (foie, rate, reins, etc.). Tous les autres endroits sont habités par plus ou moins de bactéries. L'organe le plus « peuplé » est notre gros intestin qui contient près de mille milliards (10^{12}) de bactéries par gramme de selles !

La biodiversité est en nous !

Ce n'est pas seulement leur nombre qui impressionne. C'est aussi la diversité des bactéries présentes dans notre corps. Ainsi, chaque endroit de notre organisme représente un habitat particulier avec une composition de populations bactériennes différentes. On estime ainsi qu'il y a plus que 700 espèces de bactéries différentes dans notre bouche et de 500 à 1000 espèces dans notre intestin. Avec environ 3000 à 4000 gènes par génome bactérien, le nombre de gènes est plus important que celui de nos cellules ! Cette énorme diversité commence à être mieux étudiée grâce au séquençage moderne de l'ADN. En effet la plupart de ces espèces bactériennes qui nous habitent ne peuvent pas être cultivées au laboratoire. Ceci s'explique par leurs besoins d'aliments extrêmement complexes ou encore de l'interdépendance des bactéries pour leur croissance. C'est un peu comme tenter de recréer un match de football en n'ayant que des défenseurs et pas de gardien, sur un terrain en pente ...



F. Cavat, R. Martini, K. Perron- UniGe

Notre flore bactérienne nous aide et nous protège

D'une manière assez logique, la flore intestinale est importante pour notre bien-être et ces bactéries jouent plusieurs rôles essentiels. Elles produisent des vitamines et nous aident dans la digestion de la nourriture. Les bactéries pathogènes sont plus facilement reconnues par notre système immunitaire, car il a eu la possibilité de s'exercer à reconnaître les nombreuses molécules différentes présentes à la surface des bactéries de notre flore. Ainsi, par leurs similitudes avec des pathogènes, les bactéries normalement présentes dans notre intestin tiennent notre système immunitaire éveillé. Certaines bactéries de la flore normale produisent des substances antibactériennes pour éliminer leurs concurrentes, et elles occupent ainsi l'espace et nous protègent contre des bactéries pathogènes.

Impossible pour une bactérie pathogène de se faire une place...



STIMULE NOTRE SYSTÈME IMMUNITAIRE
PRODUIT DE LA VITAMINE K
OCCUPE ET PRÉSERVE L'INTESTIN CONTRE
UN ENVAHISSEUR PATHOGENE
PRODUIT DES MOLÉCULES
ANTIBACTÉRIENNES

Bactéries et digestion

Les progrès de séquençage ont permis de mieux comprendre les interactions du microbiome (l'ensemble des bactéries dans un endroit donné) avec son hôte (= nous !). Maintenant que l'obésité et les maladies associées deviennent de plus en plus répandues, l'étude du comportement et l'influence de notre flore intestinale ne peuvent plus être négligées.

Dans un système animal il a été démontré que des souris élevées en l'absence de toute bactérie (« germ free » ou axéniques) sont résistantes à devenir obèses et gardent une réponse normale à l'insuline. Cependant ces souris prennent du poids et accumulent de la graisse suite à la colonisation de leur intestin par des bactéries intestinales, et ce malgré une diminution de l'apport de nourriture. Ceci est en parfaite corrélation avec l'idée que les bactéries intestinales nous aident à digérer certains produits alimentaires.

Dans le tractus gastro-intestinal, l'estomac est suivi par le duodénum (« douze » travers de doigt = 0,25m). La nourriture passe ensuite dans l'intestin grêle, composé par le jéjunum et l'iléon. L'intestin grêle est un lieu important pour l'absorption des nutriments, ce qui explique sa longueur (env. 6m) et sa surface (environ 250 mètres carrés, soit un terrain de tennis). Le côlon (= gros intestin) mesure environ 1.5 m de long. Son rôle est de stocker les déchets et de récupérer l'eau et certaines substances produites par des bactéries, comme la vitamine K.

La concentration bactérienne le long du tube digestif augmente jusqu'à atteindre 10^{12} bactéries par gramme de matière fécale.

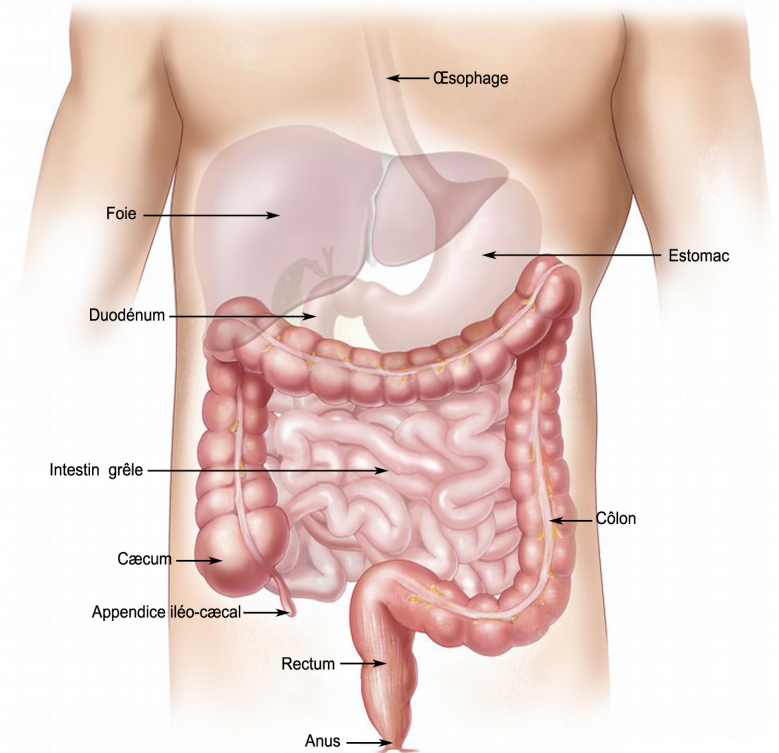
Concentration de bactéries dans l'intestin
(selon Cohen & Powderly) :

Estomac : $10^3 - 10^5$ bactéries/gramme

Duodénum : $10^3 - 10^5$ bactéries/gramme

Jéjunum $10^5 - 10^8$ bactéries/gramme

Côlon : $10^{10} - 10^{12}$ bactéries/gramme



National Cancer Institute

Des bactéries avec des capacités de digestion inattendues

Le groupe de Jeffrey Gordon a séquencé le génome de *Bacteroides thetaiotaomicron*, une bactérie intestinale symbiotique (c'est-à-dire qui vit en parfaite harmonie avec nous). Cette séquence a montré une abondance de gènes permettant de digérer des sucres que notre organisme est incapable de digérer à lui seul. Il est d'ailleurs intéressant de noter que le génome de cette bactérie code pour 4779 protéines dont 848 de fonction inconnue mais homologues à des protéines connues dans d'autres bactéries et 1149 sans aucun homologue connu dans les bases de données (en 2003, lors de la publication de ce génome). Cette bactérie est particulièrement intéressante parce qu'il a été démontré que sa présence dans l'intestin de souris axéniques stimule la croissance de nouveaux vaisseaux sanguins (=angiogenèse). Clairement la recherche pour comprendre le rôle de cette bactérie dans le métabolisme humain promet d'être excitante !

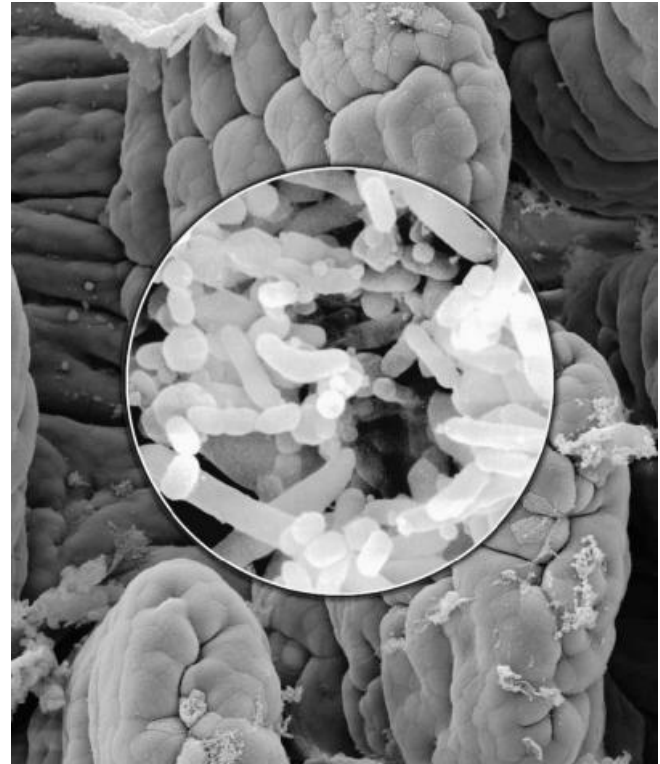


Image par microscopie électronique de la bactérie *B. thetaiotaomicron*, principale bactérie intestinale. *PLoS Biol.* 2007 July; 5(7): e199.

La composition du microbiome est différente chez des obèses

Le microbiome intestinal est composé majoritairement de deux types de bactéries, les *Firmicutes* (60%) et les *Bacteroidetes* (40%). Cette composition du microbiome dans une souris génétiquement obèse (ob/ob, cette souris porte une mutation dans le gène codant pour une hormone de satiété, la leptine) est différente du microbiome d'une souris normale (+/+). Ceci suggère fortement que le microbiome a une influence sur le métabolisme de son hôte et vice versa. Une expérience effectuée sur des souris élevées stérilement puis colonisées par des populations bactériennes provenant de souris obèses ou normales conforte cette hypothèse : les souris colonisées par la flore de souris obèses accumulent plus de graisse que leurs partenaires colonisés avec une flore « normale », et ceci sans que l'apport de nourriture ne soit augmenté ! On pourrait presque dire que ces souris « profitent mieux » de la nourriture qu'elles reçoivent. Ces expériences chez la souris ont probablement aussi une certaine relevance chez l'homme. En effet, le même groupe a publié une étude qui démontre que chez des personnes obèses les *Firmicutes* sont plus abondantes et les *Bacteroidetes* moins abondantes que chez les sujets normaux. Cependant pendant une période de diète de 52 semaines (!) la proportion des *Bacteroidetes* augmente et se rapproche de celle observée chez le sujet normal. Ces ajustements, dans un sens ou dans l'autre, ne sont pas dus à la prolifération d'une nouvelle espèce mais à des changements de proportions : où est le véritable point d'équilibre ?

15



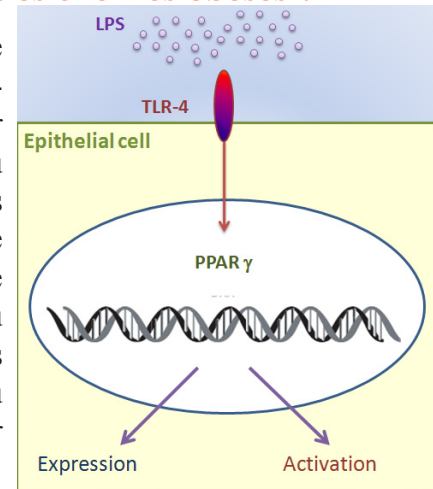
From the Kulkarni Lab Mouse Model Archives

La présence de bactéries influence l'expression des gènes humains

Le transfert du microbiome dans une souris élevée sous conditions stériles supprime l'expression d'un régulateur du métabolisme lipidique (nommé Angptl4 ou Fiaf, pour angiopoietin-like protein 4 ou fasting induced adipose factor). Ceci explique le stockage de graisses (triglycérides) dans des cellules graisseuses (adipocytes) suite à la colonisation par des bactéries intestinales. En plus, contrairement à une souris dite «sauvage», une souris mutée dans le gène codant pour ce régulateur du métabolisme lipidique (angptl4) n'est pas protégée contre le développement d'une obésité due à une surcharge nutritionnelle même en absence du microbiome. Il est donc clair que la flore intestinale peut influencer l'expression des gènes des cellules de l'hôte et ainsi avoir un impact sur le métabolisme de ce dernier. Les bactéries nous parlent et nos cellules répondent !

Une inflammation à bas niveau due aux bactéries intestinales chez les obèses ?

On peut observer chez les obèses une faible inflammation avec une augmentation d'un médiateur d'inflammation, le facteur TNF-alpha, qui peut causer une résistance à l'insuline. Une hypothèse pour l'explication de cette inflammation à bas niveau est la présence du lipopolysaccharide (LPS), un constituant de la surface de certaines bactéries. Dans cette hypothèse, le LPS est plus facilement transporté en dehors de la lumière de l'intestin (donc dans le sang) chez le sujet obèse. Ceci peut être dû directement à la nourriture ou au changement de composition des populations bactériennes intestinales (avec une baisse des Bifidobacteria). Cette hypothèse de l'effet du LPS est confortée par des souris mutantes pour un récepteur pour



le LPS, le Toll-like receptor 4, TLR4. Dans les souris déficientes pour ce récepteur (tlr4^{-/-}) ou pour le corécepteur CD14, le système immunitaire ne reconnaît plus la présence du LPS et donc la présence de certaines bactéries. Suite à cette mutation, ces souris sont devenues résistantes à l'induction de l'obésité par une surcharge nutritionnelle et ne développent pas de résistance à l'insuline.

(Image page de gauche: Le LPS bactérien se fixe sur un récepteur et stimule une cascade de signalisation qui active la réponse immune innée. Gut 2006;55:1341-1349 doi:10.1136/gut.2006.093484)

En conclusion, la flore intestinale est sensible aux changements nutritionnels et participe activement au développement de l'obésité et à la résistance à l'insuline. Dans certains cas le partage entre causes et effets n'est pas encore clairement établi mais il est évident que la génétique de l'individu et son environnement, ainsi que le type de nourriture influencent le développement de la flore intestinale et son effet sur le métabolisme de l'hôte.

Les bactéries au service de la dépollution
Les bactéries, ces grandes actrices
du développement durable



Les meilleures amies de l'Homme !

Les bactéries représentent la plus grande majorité de la biomasse terrestre. Elles sont impliquées dans de nombreux processus de biodégradation et de recyclage des éléments. Sans elles les feuilles mortes s'amoncelleraient et la matière organique s'accumulerait. Dans les stations d'épuration, les boues activées en sont remplies et permettent de dégrader nos propres déchets. Et oui, certaines de ces microscopiques cellules se nourrissent de composés divers et variés comme par exemple nos excréments, permettant d'assainir les eaux usées.

*Les boues activées de stations d'épuration contiennent de nombreuses bactéries et autres micro-organismes qui décomposent les matières fécales
(Brock : Biologie des micro-organismes, 11ème édition).*



Figure 28-6b Brock Biology of Microorganisms 11/e
© 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

De l'homme pollueur aux bactéries qui dépolluent

Les activités humaines amènent de nombreux composés toxiques dans l'environnement. Pollution par le pétrole avec notamment le récent exemple de la marée noire dans le golfe du Mexique où plus de 700 millions de litres de pétrole se sont déversés ! Pollution des sols et des eaux avec des composés organochlorés comme le DDT, un puissant pesticide extrêmement stable qui s'accumule dans les organismes vivants. Pollution par des métaux-lourds avec des conséquences terribles comme dans la baie de Minamata au Japon où plus de 900 personnes sont mortes d'intoxication au mercure.

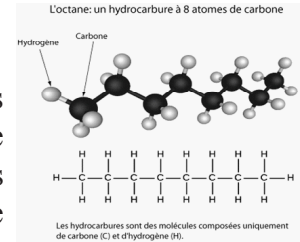
Différentes méthodes sont classiquement utilisées pour lutter contre la pollution : le confinement qui permet d'éviter la dispersion des composés toxiques dans l'environnement ou la destruction du polluant par des méthodes physico-chimiques. Ces méthodes sont souvent coûteuses et pas toujours efficaces. Alors dans bien des situations rien n'est fait et le polluant reste en place....puis, après quelque temps, disparaît par lui-même ! Mais alors comment notre planète arrive-t-elle à se débarrasser d'un afflux de composés toxiques ? Grâce aux plus grands dépollueurs de la planète : les bactéries !



<http://nautisseo.files.wordpress.com/2009/10/erika.jpg>

Du pétrole comme nourriture

De nombreux micro-organismes sont capables d'utiliser des composés polluants comme nourriture. Le pétrole brut, celui qui est déversé dans la mer lors d'une marée noire, est constitué de nombreuses molécules différentes composées d'atomes de carbone et d'hydrogène. Ce sont des hydrocarbures. Ces molécules peuvent être utilisées, métabolisées, assimilées par certains micro-organismes.



Lorsque des hydrocarbures sont déversés dans l'environnement la flore bactérienne est modifiée au profit de bactéries dégradant ces molécules. Elles oxydent, grâce à des enzymes particulières dénommées oxygénases, les hydrocarbures en molécules plus petites et libèrent du gaz carbonique (le CO_2). De nombreuses espèces bactériennes capables de dégrader le pétrole ont été découvertes ces dernières années. Certaines, comme le genre *Alcanivorax*, utilisent exclusivement les hydrocarbures comme nourriture!

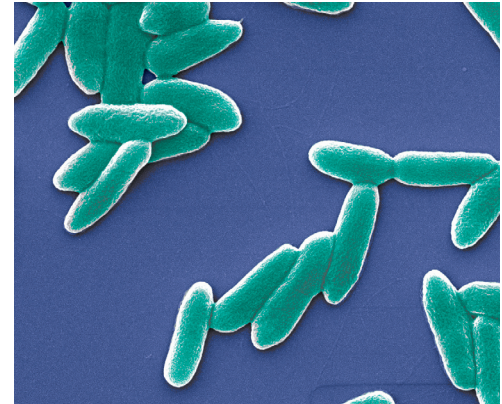
Un problème majeur à ces processus de **bioremédiations** est que les bactéries ne métabolisent pas forcément rapidement ces polluants. Différents procédés peuvent alors être mis en œuvre pour accélérer la dégradation du pétrole. Et ces procédés font de nouveau appel...aux bactéries ! La création d'émulsion (mélange de gouttelettes de pétrole dans de l'eau) augmente l'accessibilité et donc la dégradation des hydrocarbures. Les bactéries mangeuses de pétrole produisent naturellement des substances dénommées surfactants qui stimulent la formation des émulsions. Par exemple le pathogène opportuniste *Pseudomonas aeruginosa* est fréquemment isolé d'endroits contaminés en hydrocarbures. Il produit naturellement d'importants biosurfactants permettant une meilleure biodégradation du pétrole. Des biosurfactants purifiés de bactéries productrices peuvent être appliqués sur les zones contaminées.

La **biostimulation** est un procédé qui consiste à stimuler les bactéries mangeuses de pétrole. Du phosphate et des nitrates sont répandus sur des environnements contaminés en hydrocarbures ce qui a pour effet d'accélérer la croissance bactérienne et donc la dégradation du pétrole. Une autre possibilité dénommée **bioaugmentation** consiste à dispenser des micro-organismes adaptés à la dégradation du polluant.

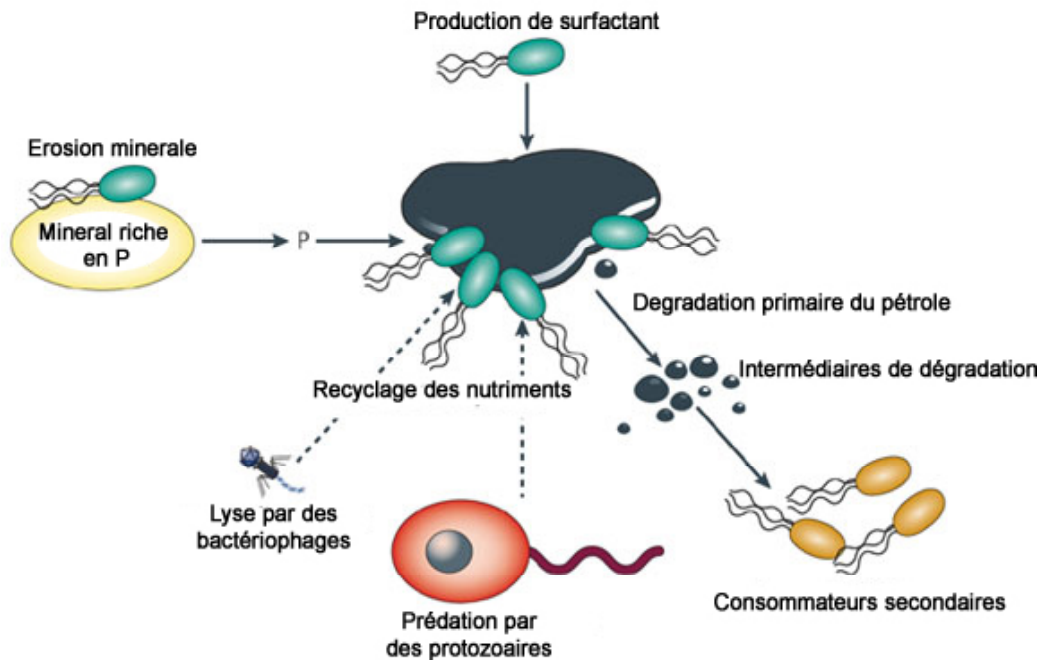


US Environmental Protection Agency

La zone rectangulaire (marquée d'une flèche) a été traitée par des nutriments inorganiques pour stimuler la bioremédiation du pétrole par des micro-organismes ; les zones situées à gauche et à droite n'ont pas été traitées (Brock : Biologie des micro-organismes, 11ème édition).



Pseudomonas aeruginosa, F. Cavat,
R. Martini, K. Perron, UniGE

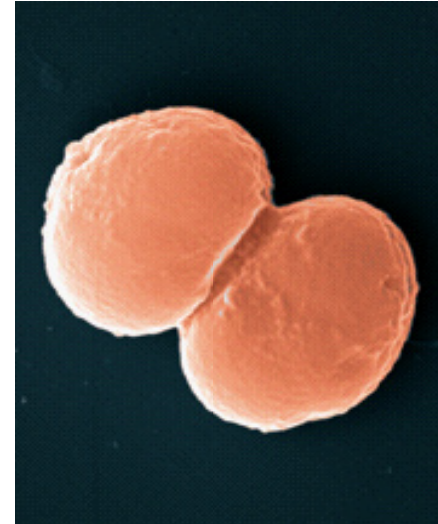


Head IM, Jones DM, Röling WF. (2006) *Nat Rev Microbiol.* 4, 173-82

Réseau de dégradation du pétrole. Des interactions complexes ont lieu entre les micro-organismes durant les processus de biodégradation du pétrole. Les bactéries en vert dégradent directement le pétrole brut, qui peut également subir des attaques de prédateurs comme des protozoaires ou être lysés par des bactériophages (virus). D'autres bactéries (en jaune) peuvent poursuivre la dégradation de composés intermédiaires (selon Head IM, et al. (2006))

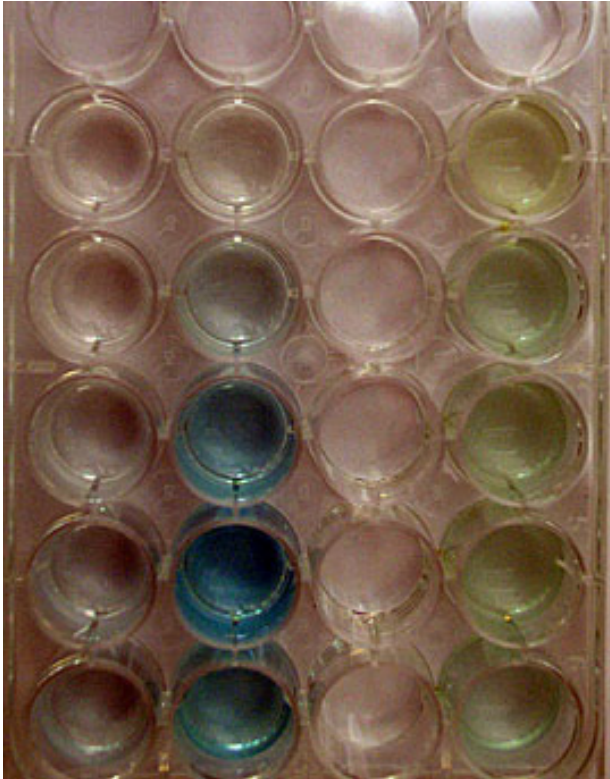
La biotechnologie bactérienne au service de la dépollution

Des bactéries modifiées génétiquement peuvent aussi être utilisées pour traiter des pollutions dans des environnements confinés. Dans la nature, des enzymes impliquées pour la dégradation de presque tous les polluants peuvent être détectées ! Il suffit de trouver l'organisme qui dégrade un polluant récalcitrant et les outils modernes de génie génétique permettent de mettre le doigt sur les gènes impliqués dans le processus. Les modifications permettent ensuite à des organismes d'élargir leur gamme de produits dégradés et d'augmenter l'efficacité des processus. De jolis exemples d'applications sont donnés par la bactérie *Deinococcus radiodurans*, un micro-organisme qui résiste à de très fortes doses d'irradiation. De manière à décontaminer des solvants présents sur des zones radioactives, des gènes de dégradation ont été transférés dans *D. radiodurans*. La même stratégie a également été utilisée pour détoxifier le mercure présent dans des sols radioactifs. De nombreuses autres stratégies sont utilisables. Bien que leur utilisation en milieux confinés (c'est-à-dire au laboratoire ou en usine de traitement) ne pose aucun problème, des études sont toujours nécessaires pour les applications sur le terrain afin de s'assurer de l'absence de risque pour l'être humain et pour l'environnement.



Deinococcus radiodurans, F. Cavat,
R. Martini, K. Perron, UniGE

Des détecteurs de pollution



(© Van der Meer, Uni Lausanne)

Puisque les bactéries sont capables de répondre spécifiquement à certains polluants en mettant en action des enzymes pour les métaboliser ou des systèmes pour les supporter, les chercheurs ont eu l'idée d'utiliser ces micro-organismes comme indicateurs de polluants. Par exemple, une bactérie qui possède un système de résistance à l'arsenic va induire ses mécanismes de détoxification en présence d'arsenic. En modifiant génétiquement cette bactérie, il est ainsi possible de lui faire également exprimer un autre gène dénommé 125 gène reporter, dont l'activité sera facilement mesurable. Cette bactérie devient ainsi un biosenseur capable, par exemple, d'émettre de la lumière en présence d'arsenic.

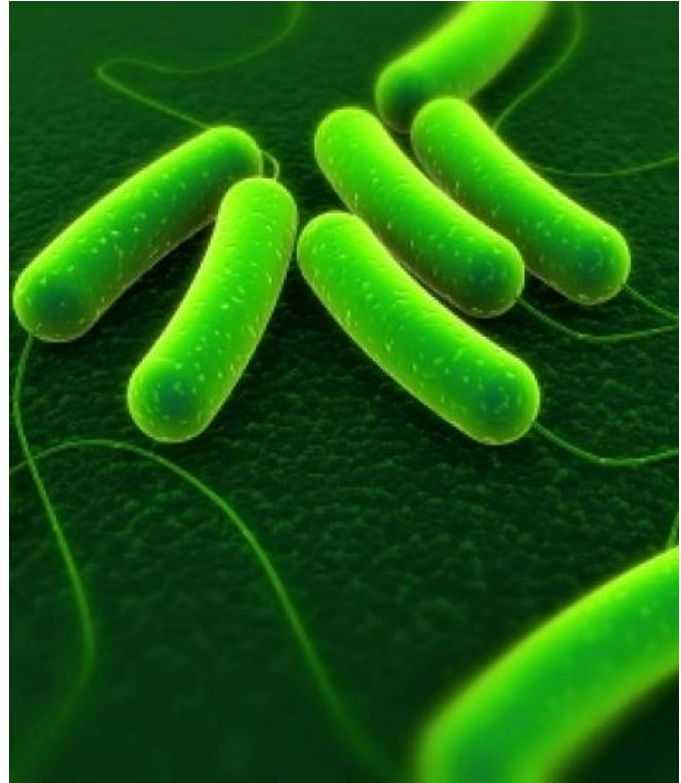
L'arsenic cause de graves problèmes de potabilité des eaux dans de nombreuses régions du monde. Cet exemple de biosenseur représente un cas concret, mis en place par le groupe du Professeur van der Meer, permettant de quantifier rapidement et à moindre coût la concentration de ce métal dans les eaux de consommation.

L'outil du développement durable

Ainsi l'ensemble des bactéries forme une énorme librairie d'activités enzymatiques indispensables à l'avenir de la planète.

Face à l'augmentation de composés xénobiotiques (substance toxiques d'origine synthétique) déversés dans l'environnement, la compréhension des ces mécanismes enzymatiques et la découverte de nouvelles voies métaboliques sont devenues une nécessité.

Les besoins énergétiques croissants nous obligent également à rechercher de nouvelles ressources. Le monde microbien est au premier plan pour ce qui est de production de biocarburant et d'énergies alternatives.

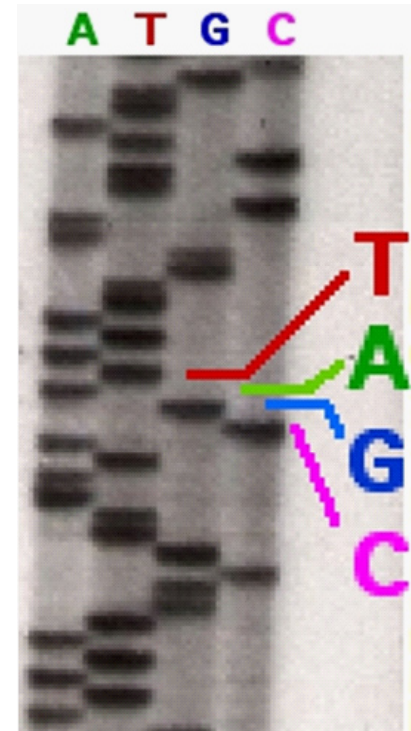


La gestion de la pollution de notre environnement et la maîtrise des énergies comptent parmi les plus grands défis de demain que l'Homme pourra accomplir grâce aux bactéries.

Du séquençage classique au séquençage à haut débit

28 | Nos connaissances sur la grande majorité des bactéries présentes dans les différents environnements biotiques (c'est-à-dire en relation avec un organisme vivant) et abiotiques (comme par exemple le fond d'une rivière) sont plutôt rares, car beaucoup de ces organismes ne peuvent pas être cultivés en laboratoire. Moins de 1% des bactéries du sol et moins de 0,01% des bactéries dans les océans peuvent croître facilement dans des milieux communs de culture et dans des conditions standard. Egalement, une large proportion de bactéries colonisant le corps humain n'a jamais été mise en culture dans des conditions de laboratoire. Par exemple, seulement la moitié des espèces de bactéries présentes dans la bouche sont cultivables. Et pourtant, ces bactéries sont nombreuses et importantes pour le maintien de notre santé.

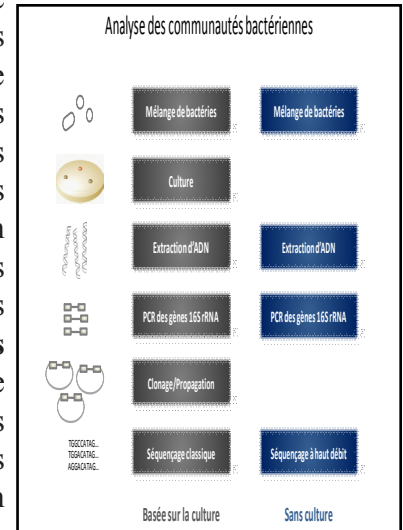
Le développement des nouvelles technologies de culture comme moyen d'étudier la totalité des membres des communautés bactériennes (appelées microbiote) est laborieuse et limitée par le manque de connaissances sur la physiologie de nombreuses bactéries non-cultivables. La métagénomique, basée sur l'analyse de séquences d'ADN (l'ensemble des génomes est appelé le métagénome) offre une alternative intéressante en contournant la nécessité de la culture bactérienne.



Séquençage classique par incorporation de nucléotides radioactifs et séparation des molécules par électrophorèse

Séquençage sans passer par une culture – séquençage à “l’aveugle”

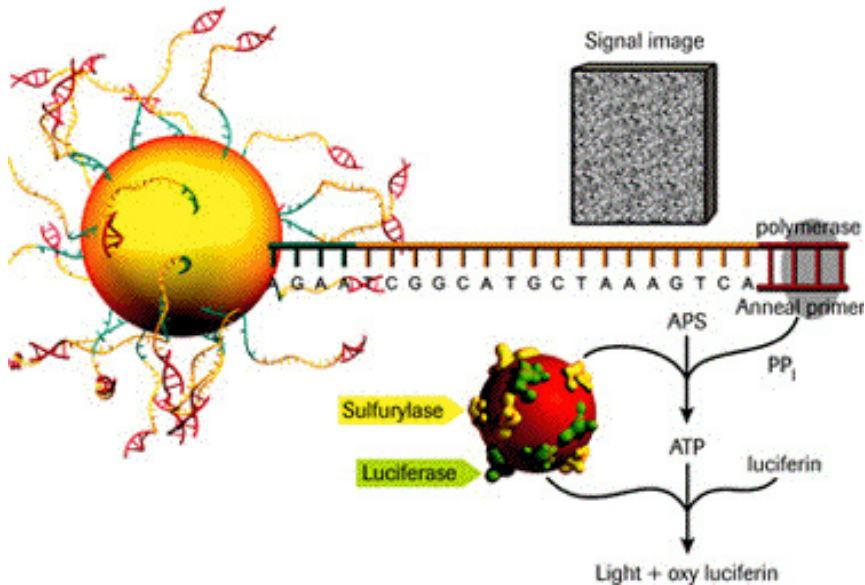
Pour obtenir le recensement le plus complet possible des groupes (taxa) microbiens dans un échantillon donné, la métagénomique peut inclure: **i) le séquençage aléatoire de fragments métagénomiques.** Le séquençage du métagénome donne une mesure d’abondance relative des espèces et des groupes bactériens. Il permet également de déterminer l’abondance relative des gènes impliqués dans les différents processus de vie des bactéries et reconstituer le potentiel métabolique de la communauté étudiée. Les gènes qui se trouvent plus souvent dans une collectivité que dans d’autres sont supposés conférer une fonction bénéfique à cette communauté. En outre, pour les communautés de faible complexité (dominées par quelques espèces) les génomes complets ou quasi-complets de leurs membres peuvent être reconstruits. **(ii) l’amplification par PCR et l’analyse des gènes bactériens 16S rRNA.** Cette approche de métagénomique ciblée est adaptée à l’analyse des communautés plus complexes telles que celles qui colonisent le corps humain et se composent de centaines d’espèces bactériennes. La molécule 16S rRNA est impliquée dans la traduction (synthèse des protéines), une fonction de base de tous les organismes vivants y compris les bactéries. Le gène 16S rRNA est composé de domaines qui sont conservés entre les espèces, et d’autres, très variables, permettant l’identification des espèces et la mesure des distances phylogénétiques (c’est-à-dire la mesure des liens de parenté entre les espèces étudiées).



La visualisation du séquençage

Les méthodes moléculaires basées sur l'analyse du gène 16S rRNA incluent l'extraction d'ADN à partir d'échantillons de l'environnement suivie de l'amplification de fragments spécifiques 16S rRNA (et parfois de régions voisines) par PCR. L'étude d'une grande variété d'organismes et de communautés d'organismes a résulté en plus d'un million de séquences du gène codant pour le 16S rRNA et accessibles dans des bases de données publiques. L'analyse de populations bactériennes par séquençage classique (séquençage di-deoxy développé par Fred Sanger, Prix Nobel 1980) et les méthodes liées à la préparation des échantillons restent trop laborieuses et trop coûteuses. En effet, les fragments d'ADN du métagénome et les produits PCR des gènes 16S rRNA sont d'abord insérés dans les vecteurs de clonage (plasmides), puis propagés dans la bactérie *Escherichia coli* afin d'obtenir l'ADN en nombre de copies suffisant pour déterminer sa séquence. Lors du séquençage classique, l'incorporation aléatoire des nucléotides G, A, T ou C modifiés empêche l'extension de la chaîne d'ADN par l'ADN polymérase. Ainsi, on obtient un mélange de chaînes d'ADN qui sont ensuite séparées selon leur taille.

Parmi les technologies de séquençage à haut débit, le pyroséquençage de la plateforme Roche/454 GS FLX Titanium fournit la plus grande longueur de séquences (400 bases). Grâce à ce système, plus d'un million de molécules simple brin d'ADN cible (provenant des fragments aléatoires métagénomiques ou d'une amplification par PCR des gènes 16S rRNA) sont immobilisés sur les microbilles dans des puits où la polymérase étend le brin d'ADN en cours de synthèse. L'ajout d'un ou de plusieurs des nucléotides identiques génère un signal lumineux qui est capturé par la caméra CCD. L'intensité des signaux générés (pyrogramme) est proportionnelle au nombre de nucléotides identiques incorporés en même temps. L'analyse des différentes images capturées permet de déduire la séquence d'ADN.



Les recherches de similitudes entre les séquences des fragments d'ADN aléatoires d'un métagenome et les gènes connus dans les bases de données permettent de prédire l'activité métabolique du microbiote. L'ensemble des fonctions métaboliques des différentes communautés bactériennes peut être comparé afin de définir les fonctions communes ainsi que celles qui sont propres à des microbiotes particuliers. L'approche métagénomique est couramment utilisée afin de déterminer l'impact des facteurs génétiques, physiologiques, environnementaux et pathologiques influant sur la composition des microbiotes de la peau, des muqueuses et de l'intestin humains.

Groupes de recherche de bactériologie de l'Université de Genève et des Hôpitaux Universitaires de Genève

L'Université de Genève ne rassemble pas moins d'une vingtaine de groupes de recherche travaillant sur une multitude d'aspects de la bactériologie. Du médical à l'écologie microbienne, de la microbiologie fondamentale aux applications industrielles, un large éventail de compétences et d'excellence qui fait de l'Université de Genève une place de renommée internationale dans le domaine de la bactériologie.

Groupe de Patrice François, Faculté de médecine

Le groupe étudie la régulation des gènes de virulence du pathogène opportuniste *Staphylococcus aureus* par des moyens de génomique et transcriptomique. Un aspect de cette recherche représente l'analyse du rôle des petites molécules d'ARN dans la régulation de l'expression de facteurs de virulence.

Patrice.Francois@genomic.ch

<http://www.genomic.ch/>

www.medecine.unige.ch/recherche/groupes/b_donnees/sujet_604_4.html

Groupe de Barja François, Faculté des sciences

Ce groupe de bactériologie appliquée étudie la production de vinaigre par la méthode dite «submergée» en utilisant des inocula qui proviennent de vinaigres produits de façon traditionnelle (méthode superficielle). Des méthodes moléculaires et biochimiques sont utilisées pour isoler et caractériser les bactéries acétiques impliquées dans ce processus.

Francois.Barja@unige.ch

www.unige.ch/sciences/biologie/biveg/microbio/themes/FrancoisBarja.html

Groupe de Dominique Belin, Faculté de médecine

Le groupe étudie le transport de protéines à travers la membrane cytoplasmique de la bactérie *Escherichia coli* et les gènes du bactériophage T4. Ce dernier, malgré le fait que son étude a contribué à l'essor de la biologie code pour une multitude de gènes pas encore caractérisés.

Dominique.Belin@unige.ch

www.cebug.ch

www.medecine.unige.ch/recherche/groupe/b_donnees/sujet_169_1.html

Groupe de Pierre Cosson, Faculté de médecine

Le groupe étudie les relations entre bactéries pathogènes et cellules eucaryotes. L'utilisation de l'amibe *Dictyostelium* comme cellule eucaryote modèle permet d'étudier génétiquement les mécanismes qui permettent à la cellule de résister aux bactéries pathogènes et de les tuer.

Pierre.Cosson@unige.ch

www.cebug.ch, www.medecine.unige.ch/recherche/groupe/b_donnees/sujet_140_1.html

Groupe d'Irène Garcia-Gabay, Faculté de médecine

Le groupe étudie les mécanismes de régulation du TNF afin de pouvoir contrôler son activité en tant que molécule de défense naturelle, en évitant sa toxicité cellulaire. Le travail porte sur l'analyse de la cascade de cytokines et médiateurs cellulaires générés par les molécules de la famille du TNF et leur régulation lors de l'infection par des mycobactéries.

Irene.Garcia-Gabay@unige.ch

www.medecine.unige.ch/recherche/groupe/b_donnees/sujet_500_1.html

Groupe de William Kelley, Faculté de médecine, Hôpital Universitaire de Genève

Le groupe est intéressé à comprendre sur un niveau moléculaire la survie intracellulaire et comment cette bactérie peu communiquer avec l'extérieur à travers des systèmes à deux composants.

William.Kelley@hcuge.ch

www.medecine.unige.ch/recherche/groupe/b_donnees/sujet_667_4.html

Groupe de Karl-Heinz Krause, Faculté de médecine, Hôpitaux Universitaires de Genève

Le groupe étudie la production de radicaux libres (aussi appelés formes réactives de l'oxygène) par les gènes de la famille NOX pour comprendre leur rôle dans la lutte contre des infections bactériennes et sur le vieillissement des cellules.

Karl-Heinz.Krause@unige.ch

www.medecine.unige.ch/recherche/groupe/b_donnees/sujet_60_1.html

Groupe de Daniel Lew et Adriana Renzoni, Faculté de médecine, Hôpital Universitaire de Genève

Le groupe étudie les mécanismes moléculaires qui contribuent à l'émergence de résistance à une classe d'antibiotiques, les glycopeptides, en utilisant des méthodes génétiques et l'analyse de transcriptome (= l'ensemble des ARN d'une cellule).

Daniel.Lew@hcuge.ch, Adriana.Renzoni@hcuge.ch

www.medecine.unige.ch/recherche/groupe/b_donnees/sujet_28_4.html

Groupe de Patrick Linder, Faculté de médecine

Le groupe étudie le transfert horizontal de l'ADN chez le pathogène opportuniste *Staphylococcus aureus* et le contrôle d'expression de gènes de virulence. En développant des outils de génétique moléculaire le rôle de l'ARN dans le contrôle d'expression génique est étudié en détail.

Patrick.Linder@unige.ch www.cebug.ch,

www.medecine.unige.ch/recherche/groupe/b_donnees/sujet_86_1.html

Groupe de Xavier Perret, Faculté des sciences

Ce groupe étudie les bases moléculaires des interactions symbiotiques entre les plantes de la famille des légumineuses et les bactéries du sol *Rhizobium*. En particulier, sont analysés les aspects génétiques de la fixation de l'azote par la bactérie à large spectre d'hôte *Rhizobium* sp. NGR234.

Xavier.Perret@unige.ch

www.unige.ch/sciences/biologie/biveg/microbio/themes/XavierPerret.html

Groupe de Karl Perron, Faculté des sciences

Ce laboratoire de bactériologie étudie la résistance aux antibiotiques induite par des polluants environnementaux tels que les métaux lourds. Des techniques de bactériologie moléculaire et de biochimie sont utilisées pour comprendre l'effet du zinc, du cadmium, du cobalt et du cuivre sur la bactérie *Pseudomonas aeruginosa*.

Karl.Perron@unige.ch

www.kperron.ch www.cebug.ch,

Groupe de Jérôme Pugin, Faculté de médecine, Hôpital Universitaire de Genève

Le groupe s'intéresse aux protéines de l'immunité innée qui permet de reconnaître la présence des bactéries et d'établir une première défense en l'espace de quelques minutes. En l'absence de cette première ligne de défense, comme c'est le cas chez les prématurés, le risque d'un choc septique est plus élevé.

Jerome.Pugin@unige.ch

www.medecine.unige.ch/recherche/groupes/b_donnees/sujet_587_4.html

Groupes de Didier Pittet, Faculté de médecine, Hôpital Universitaire de Genève

Les groupes s'intéressent à l'hygiène hospitalière pour prévenir des infections nosocomiales et la transmission de bactéries multi-résistantes comme le Staphylocoque doré résistant à la méthicilline. Ces groupes sont mondialement reconnus pour leurs efforts dans « clean care is safer care ».

Didier.Pittet@hcuge.ch, Stephan.Harbarth@hcuge.ch, Hugo.Sax@hcuge.ch

www.medecine.unige.ch/recherche/groupes/b_donnees/sujet_330_4.html

medweb1.unige.ch/recherche/groupes/b_donnees/sujet_865_4.html

Groupe de Jacques Schrenzel, Faculté de médecine, Hôpital Universitaire de Genève

Le groupe étudie différents aspects de la persistance des infections bactériennes et analyse des interactions entre les bactéries pathogènes et la flore normale. Ces recherches utilisent des méthodes modernes de l'analyse des génomes bactériens et de leur ARN.

Jacques.Schrenzel@genomic.ch

www.cebug.ch, <http://www.genomic.ch/>

www.medecine.unige.ch/recherche/groupes/b_donnees/sujet_604_4.html

Groupe de Thierry Soldati, Faculté des sciences

Ce groupe étudie la dynamique du cytosquelette et des membranes de l'amibe Dictyostellium durant le processus de phagocytose. Les activités de recherche ciblent également l'interaction de l'amibe avec des pathogènes du genre Mycobacterium, l'agent de la tuberculose.

Thierry.Soldati@unige.ch

cms.unige.ch/sciences/biochimie/-Thierry-Soldati-.html

Groupe de Mauro Tonolla, Faculté des sciences

L'activité de ce laboratoire de l'Institut cantonal de microbiologie du Tessin est centrée sur la phylogénie, le typage et la détection des micro-organismes dans les domaines de l'épidémiologie, la biosécurité en l'écologie microbienne (populations des systèmes hydriques stratifiés).

Mauro.Tonolla@unige.ch

www.unige.ch/sciences/biologie/biveg/microbio/themes/MauroTonolla.html

Groupe de Christian van Delden, Faculté de médecine, Hôpital Universitaire de Genève

Le groupe étudie le développement des facteurs de virulence du pathogène opportuniste *Pseudomonas aeruginosa* isolé chez des patients intubés pour une aide respiratoire. Cette analyse se fait sur un niveau moléculaire et utilise aussi le système modèle de *Dictyostelium*.

Christian.VanDelden@unige.ch

www.medecine.unige.ch/recherche/groupes/b_donnees/sujet_301_4.html

Groupe de Patrick Viollier, Faculté de médecine

Le groupe étudie la division asymétrique chez la bactérie *Caulobacter crescentus*. Lors de la division, cette bactérie produit une bactérie sessile et une bactérie mobile. Cette étude, en utilisant des méthodes de génétique classique et moderne, contribue à la connaissance du rôle de la polarité dans des cellules.

Patrick.Viollier@unige.ch

www.cebug.ch,

Contacts :

Dr Karl Perron
Département de Biologie végétale
Unité Microbiologie
Centre d'Excellence en Bactériologie de
l'Université de Genève, CEBUG
Sciences III
30, quai Ernest Ansermet
1211 Genève 4
Karl.Perron@unige.ch

Prof. Antoine Hadengue
Département de médecine interne
Service de Gastro-Entérologie
Hôpital Universitaire de Genève, HUG
Rue Gabrielle-Perret-Gentil, 4
CH-1211 Genève 14
Antoine.Hadengue@hcuge.ch



Fondation pour la recherche
en gastroentérologie et hépatologie

CEBUG Centre d'Excellence
de Bactériologie de l'Université de Genève

Dr Vladimir Lazarevic
Laboratoire de Recherche Génomique
Hôpital Universitaire de Genève, HUG
Rue Gabrielle-Perret-Gentil, 4
CH-1211 Genève 14
Vladimir.Lazarevic@genomic.ch

Prof. Jacques Schrenzel
Laboratoire central de Bactériologie
Laboratoire de Recherche Génomique
Centre d'Excellence en Bactériologie de
l'Université de Genève, CEBUG
Hôpital Universitaire de Genève, HUG
Rue Gabrielle-Perret-Gentil, 4
CH-1211 Genève 14
Jacques.Schrenzel@genomic.ch

Prof. Patrick Linder
Département de microbiologie et médecine moléculaire
Centre d'Excellence en Bactériologie de
l'Université de Genève, CEBUG
CMU
1, rue Michel Servet
1211 Genève 4
Patrick.Linder@unige.ch

