

Chapitre II : La cellule bactérienne (partie 1).

1. Définition

La cellule bactérienne est un microorganisme procaryote unicellulaire simple, de morphologie variable et de très petite taille, présentant des caractéristiques propres :

- L'absence de noyau : le matériel génétique (ADN) est libre dans le cytoplasme.
- Sa taille varie entre 1 et 10 μm
- La présence d'un seul chromosome circulaire.
- L'absence des organites sauf les ribosomes.
- Son mode de reproduction : division simple par scissiparité (y'a pas de mitose et de méiose).

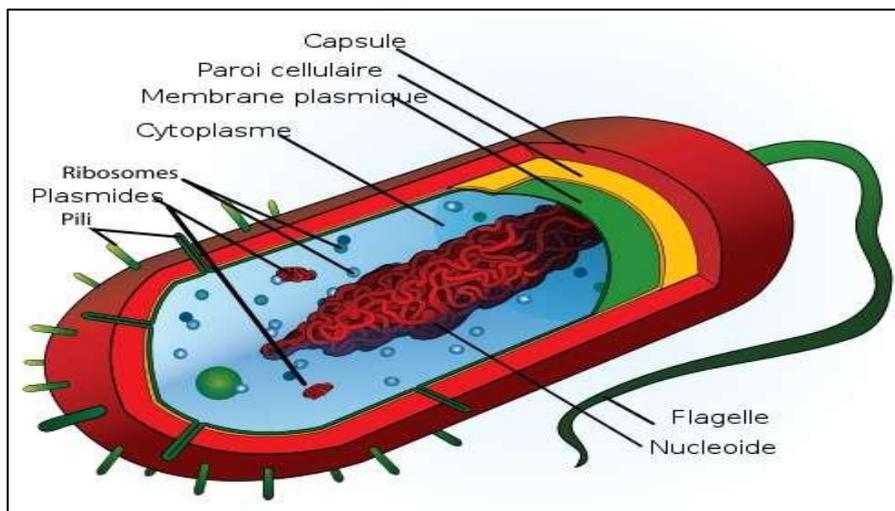


Figure 1 : Schéma d'une cellule bactérienne.

2. Techniques d'observation de la cellule bactérienne

Compte tenu de leur taille (de l'ordre du micron), les bactéries sont visualisées au microscope optique sans coloration (état frais) ou après coloration (état coloré).

-Observation à l'état frais : Les méthodes fondées sur la technique de l'état frais correspondent à l'observation d'un matériel biologique ou d'une suspension bactérienne entre lame et lamelle à l'objectif 40, sans fixation préalable du matériel par la chaleur ou l'alcool. C'est une méthode rapide consiste à observer principalement la forme et la mobilité des bactéries.

-Observation à l'état coloré : Observation des frottis séchés, fixés et colorés. Diverses techniques de coloration existent, mettant en évidence des affinités tinctoriales différentes telle la coloration de Gram, coloration de Ziehl-Nielsen.

➤ Les étapes de la coloration

a. La préparation des frottis

Sur une lame propre, il faut étendre une mince couche de l'échantillon à analyser contenant les microorganismes. Il faut respecter les conditions d'asepsie totale. Le frottis doit être séché à l'air à proximité du bec benzène.

b. La fixation des frottis

On fixe le frottis par passage rapide (plusieurs fois) au dessus de la flamme d'un bec bunsen. Cette opération entraîne à la fois, la mort du microorganisme et son adhérence à la lame. Elle préserve certaines structures cellulaires dans leur état naturel et ne les déforme que très peu.

c. La coloration

On couvre le frottis par un colorant, on le laisse agir puis on rince avec de l'eau. Les colorants se fixent aux cellules par des liaisons chimiques. Certains colorants sont des sels composés d'ions positifs (colorant basique) ou d'ions négatifs (colorant acide) qui se lient aux cellules par interaction ionique. À pH neutre, les bactéries sont légèrement chargées négativement.

3. Morphologie Bactérienne

Lorsqu'on observe des bactéries au microscope optique à partir de prélèvements pathologiques ou d'un milieu de culture, on reconnaît rapidement la forme des cellules, leurs dimensions, enfin les arrangements ou les groupements qu'elles constituent entre elles. Toutes ces informations définissent la morphologie bactérienne et constituent un des critères de reconnaissance et d'identification.

➤ La taille

La taille des bactéries varie autant que leur forme. En moyenne, la taille se situe entre 1 et 10 μm . Les plus petits ont environ 0,3 μm de diamètre (quelques membres du genre *mycoplasma*), approximativement la taille des plus grands virus (les poxvirus). Les nanobactéries ont un diamètre de 0,2 μm de diamètre environ à moins 0,05 μm . Certaines bactéries sont vraiment grandes. Certains Spirochètes peuvent atteindre 500 μm de longueur.

➤ **La forme :** Les formes des bactéries sont extrêmement diverses (**Fig. 02**). Nous en retiendrons trois principales :

- **La forme sphérique ou coccoïde :** Elle caractérise les cocci. Leur mode de division donne naissance à des groupements typiques, utiles à observer du point de vue diagnostique
- **La forme cylindrique ou en bâtonnet :** On en distingue deux principales : Le bâtonnet droit ou bacille et le bâtonnet incurvé ou vibrion.

- **La première (bacille)** caractérise de nombreuses bactéries : les entérobactéries aux extrémités arrondies, les Bacillus beaucoup plus gros et nettement rectangulaires. Parfois ces bacilles peuvent être de très petite taille et se confondre avec des cocci, on leur donne le nom de coccobacilles (exemple : Brucella) ;
- **La deuxième forme cylindrique est celle du vibron**, bacille incurvé, en virgule. Les vibrions ne constituent qu'un seul genre réunissant de nombreuses espèces aquatiques et quelques espèces pathogènes pour l'homme (*Vibrio cholerae*)

- **La forme spiralée ou hélicoïdale** : On la rencontre chez un petit groupe de microorganismes possédant une structure typique, un corps hélicoïdal et extrêmement allongé.

- **Association cellulaire** : Toutes ces formes peuvent être retrouvées seules, associées par deux (diplococoques, diplobacilles), en chaîne (streptocoques, streptobacilles), en amas (groupées), en tétrades (par quatre), amas en grappe de raisin,...etc.

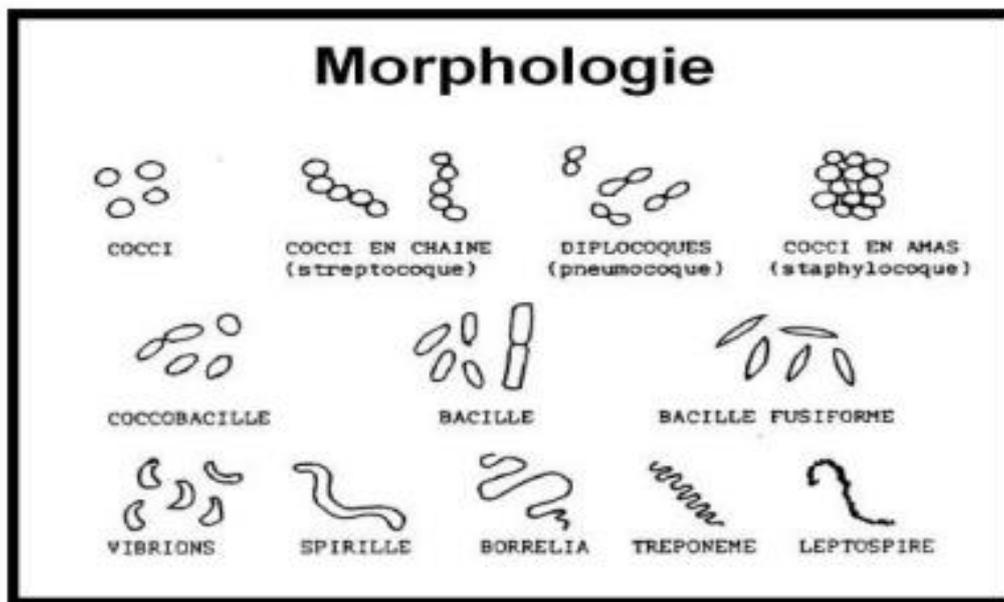


Figure 02 : Les différentes formes et associations bactériennes.

4. Structure de la cellule bactérienne

Chez les bactéries, on distingue des structures obligatoires, présentes chez toutes les bactéries et des structures dont la présence est facultative et caractérisent certains groupes bactériens (**Fig.3**).

A- Les structures Constants : on trouve le **cytoplasme**, généralement constitué d'un hyaloplasme où baignent essentiellement **des ribosomes** et parfois des éléments supplémentaires comme les substances de réserve. Dans le cytoplasme, on trouve l'**appareil nucléaire** diffus non entouré par une membrane.

La **membrane cytoplasmique** qui entoure le cytoplasme possède deux feuillets phospholipidiques contenant des protéines. Au-dessus de la membrane cytoplasmique, on trouve la **paroi** qui forme une enveloppe rigide.

B- Les structures facultatives, quant à elles, peuvent être des polymères de surface comme la **capsule**, des appendices comme les **flagelles** et les **pili** ou des structures génétiques comme les **plasmides** (molécules d'ADN extra chromosomiques). Les **endospores** caractérisent quelques genres bactériens (*Bacillus* et *Clostridium*).

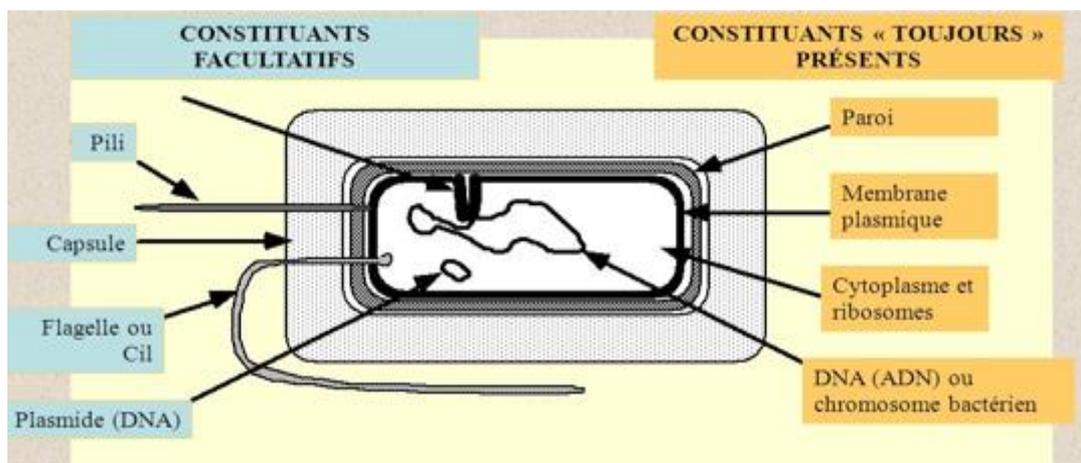


Figure 3 : Représentation schématique montrant les différentes structures bactériennes.

4.1. La paroi bactérienne

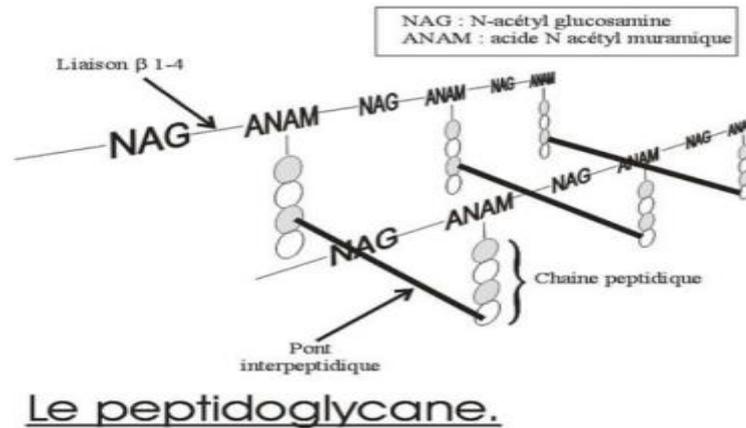
C'est une enveloppe rigide assurant l'intégrité de la bactérie, responsable de la forme des cellules. Elle constitue le squelette externe de la bactérie et représente environ 30 % du poids total de la bactérie. La partie commune de toutes les parois bactériennes est le peptidoglycane (ou muréine). Elle est mise en évidence par la coloration de Gram.

La paroi permet la différenciation de deux grands types de bactéries : les bactéries **Gram positif** et **Gram négatif**.

4.1.1. Composition chimique de la paroi

L'un des constituants essentiels qui caractérisent les parois bactériennes est le peptidoglycane ou la muréine (mucopeptide). Il s'agit d'un hétéropolymère complexe formé de 3 éléments différents :

1. une structure composée d'une alternance de molécules de N-acétyl glucosamine et d'acide N-acétyl muramique.
2. des chaînes latérales peptidiques, composées de 4 acides aminés et attachées à l'acide N-acétyl muramique ;
3. un ensemble de ponts inter-peptidiques.



La composition de la paroi n'est pas constante chez toutes les bactéries. En effet, dans le domaine des « Bacteria », il existe deux types de parois que l'on rencontre chez les bactéries dites "à Gram positif" et les bactéries dites "à Gram négatif" (**Tab 1**). Ces différences de structure bien visibles en microscopie électronique à transmission sont à la base de la coloration de Gram.

Tableau 1 : Comparaison entre parois des bactéries à Gram positif et à Gram négatifs.

	Paroi Gram ⁺	Paroi Gram ⁻
Epaisseur	20 à 80 nm	10 à 15 nm
Aspect en microscopie électronique	Une couche épaisse	Deux couches séparées par un espace clair
Membrane externe	-	+
Espace périplasmique	-	+
Muréine	Épais	Mince
Acides téichoïques	+++	-
Osamines	++	+
Acides aminés :		
- Nombre	- 4 à 10 AA différents	- 16 à 17 AA différents
- Pourcentage	- 24 à 35 %	- 50 %
Lipides	1 à 2,5 %	10 à 22 %

4.1.2. La coloration de Gram

En 1884, le médecin danois, Christian Gram a fait la distinction entre deux types de bactéries : Les bactéries à Gram positif (Gram +) et les bactéries à Gram négatif (Gram -).

Ceci a été possible après avoir coloré un frottis bactérien comme suit :

1. Coloration des bactéries par le violet de Gentiane ;
2. Addition d'une solution de lugol (solution iodo-iodurée, de mordantage) ;
3. Traitement par l'alcool ou un mélange alcool + acétone. Après la troisième étape, certaines bactéries restent colorées en violet, elles sont dites Gram+ d'autres se décolorent, elles sont dites

Gram-. Ceci montre donc qu'il existe des différences structurales et/ou chimiques entre ces deux types de bactéries.

4. Pour pouvoir bien observer les bactéries décolorées, on utilise un deuxième colorant, la fuchsine de couleur rosâtre. Les bactéries à Gram+ gardent leur coloration violette alors que les Gram- prennent une nouvelle coloration celle de la fuchsine et apparaissent ainsi de couleur rose (fig.4).

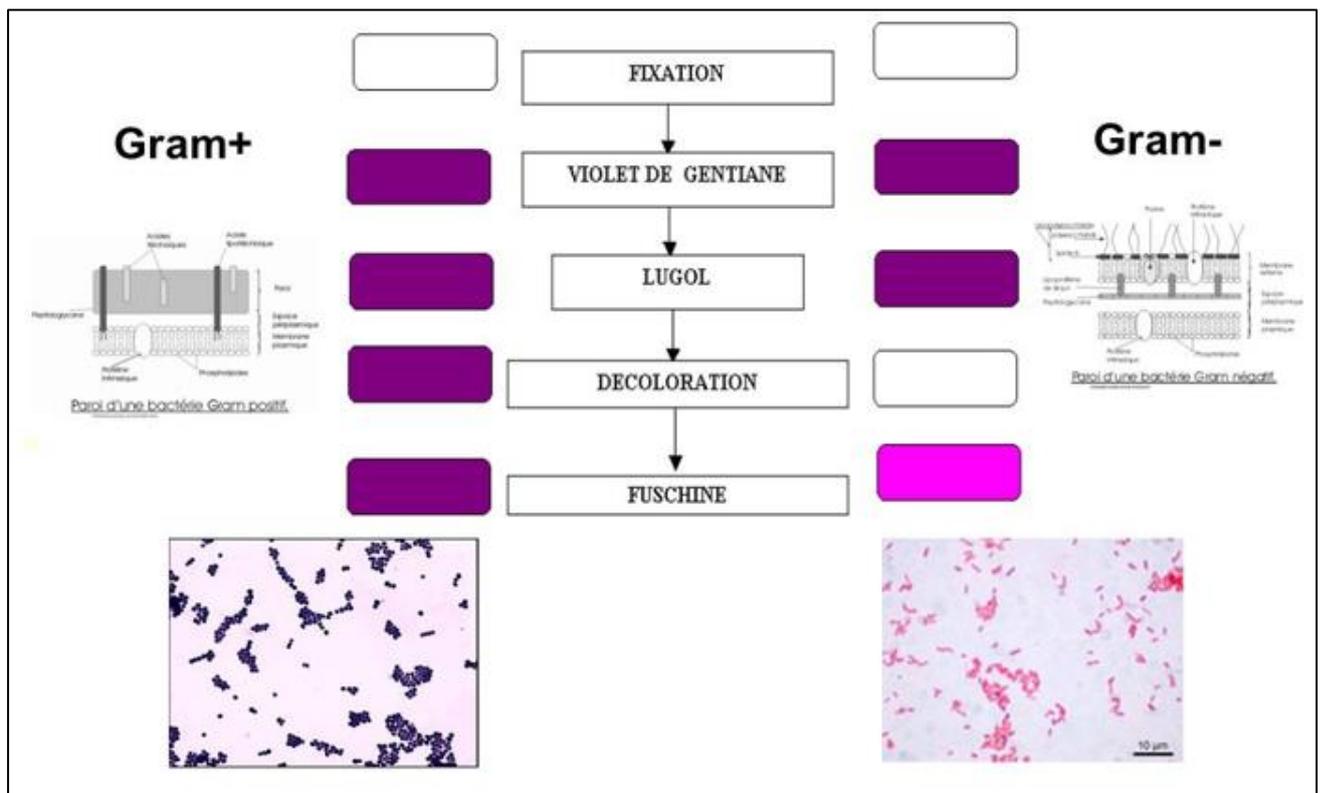


Figure 4 : Les étapes de la coloration de Gram.

4.1.3. Fonctions de la paroi

- * **La forme** : la paroi confère aux bactéries la forme, qui est un élément essentiel de leur identification. Sa rigidité et sa résistance sont dues à la présence du peptidoglycane.
- * **La protection** : la paroi assure la protection physique des cellules contre les agents externes et préserve la membrane cytoplasmique non résistante, de l'éclatement sous l'effet de la pression osmotique.
- * **Perméabilité** : La paroi laisse passer de petites molécules de faible poids moléculaire et hydrophobes comme l'eau, les sels minéraux ou des métabolites simples. Par contre, elle est plus ou moins perméable à certains solvants. Cette perméabilité laisse les structures membranaires sous-jacentes, semi perméable, jouer leur rôle dans le contrôle sélectif des échanges de substrats et de métabolites avec le milieu environnant.

- * **Un rôle immunologique** par ces propriétés antigéniques grâce au LPS et au peptidoglycane, qui jouent un rôle important dans la défense non spécifique contre l'infection (activation du complément).
- * **Permettre la fixation du bactériophage.**

4.2. La membrane cytoplasmique

La membrane plasmique entoure le cytoplasme de la cellule. Elle est le point principal de contact avec l'environnement cellulaire et est ainsi responsable des apports avec le monde extérieur.

4.2.1. Composition chimique et structure moléculaire

L'analyse chimique de la membrane plasmique révèle la présence de trois types de substances : les protéines, les lipides et les glucides avec des proportions de 60 à 70 % de protéines et 30 à 40 % de lipides.

La plupart des lipides de la membrane plasmique sont structurellement asymétrique avec un côté polaire et un côté non polaire (appelé Amphipathiques). Cette caractéristique permet aux lipides de former une double couche dont la surface externe est hydrophile tandis que les extrémités hydrophobes sont enfouies à l'intérieur, à l'abri de l'eau.

Les protéines existent sous de très nombreuses formes : protéines intrinsèques ou interne qui traversent complètement les deux feuillets membranaires et les protéines extrinsèques ou périphériques qui apparaissent sur une de deux faces du double feuillet.

Les glucides (glucose, glucosamine, ..etc), faiblement représentés, sont quantitativement des constituants mineurs (**fig.5**).

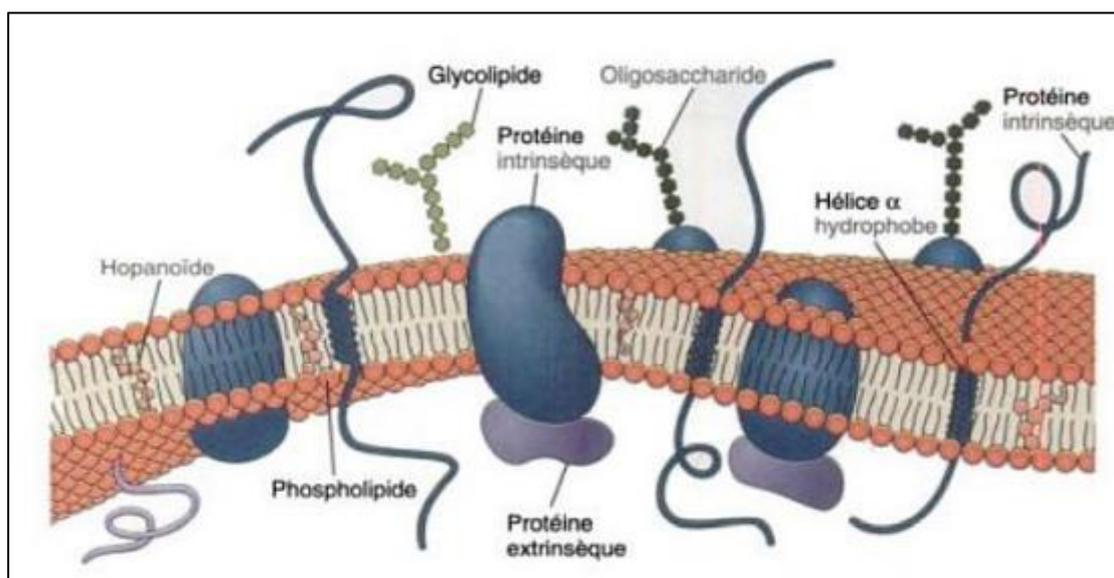


Figure 5 : La structure de la membrane plasmique d'une cellule bactérienne.

4.2.2. Fonction de la membrane plasmique

La membrane plasmique assure plusieurs rôles dans la cellule bactérienne :

- Maintien le cytoplasme et le sépare du milieu extérieur.
- Sert de barrière perméable sélective (barrière semi-perméable) permettant le passage de molécules lipophiles et empêche le passage des molécules hydrophiles.
- Possède des systèmes de transport de beaucoup d'éléments incapables de traverser seuls la membrane (nutrition, rejet de déchets, sécrétion). On distingue 2 grands types de transport :
 - **Le transport passif** : se fait dans le sens du gradient de concentration sans exigence d'énergie.
 - **Le transport actif** : se fait en sens inverse du gradient de concentration des molécules, ce qui nécessite l'utilisation d'énergie généralement fournie sous forme d'ATP.
- Site de beaucoup de processus métaboliques (respiration, photosynthèse, synthèse lipidique et constituants de la paroi...)
- **Biosynthèse des macromolécules** : la membrane est le siège de la synthèse des lipides et renferme les enzymes de la synthèse des constituants macromoléculaires de la paroi (acides teichoïques, peptidoglycane et LPS).
- Site de fixation des flagelles.

4.3. Le Cytoplasme

Le cytoplasme des bactéries est plus simple que celui des cellules eucaryotes. Il est constitué de :

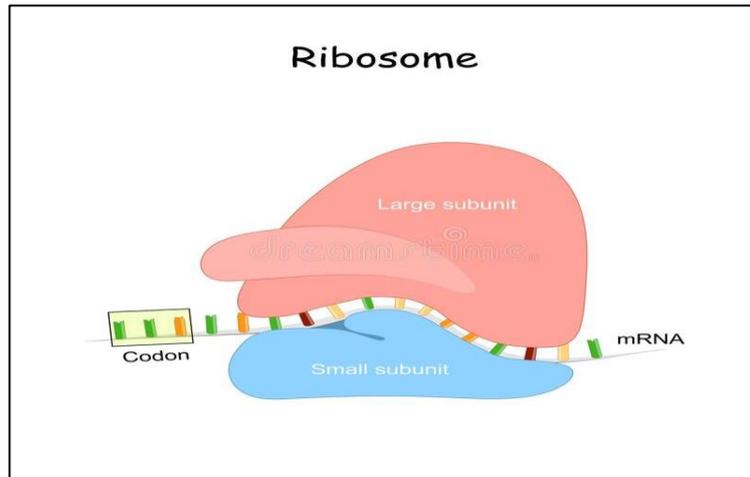
- Protéines cytoplasmiques (protéines de structures et enzymatiques)
- Granulations de réserve (Glycogène, polyphosphate, β -hydroxybutirate...)
- ARN solubles (ARN messenger et ARN de transfert) et surtout en ARN ribosomal (Ribosomes).
- Vacuole à gaz.

L'ensemble des constituants cytoplasmiques est placé dans un gel colloïdal, qui contient 80 % d'eau et des substances organiques et minérales, à une pression interne variable (5 à 20 atmosphères).

4.3.1. Les ribosomes

Ce sont des particules sphériques, de 20nm de diamètre, présents en très grand nombre dans le cytoplasme bactérien. Les ribosomes contiennent environ 66% d'ARN ribosomal (ARNr) et 33% de protéines. Ils sont présents en grand nombre dans le cytoplasme (environ 18 000 chez *Escherichia coli*).

Les ribosomes sont le lieu de traduction du message génétique en protéines.



4.3.2. Les granules de réserve

Certaines bactéries accumulent au cours de leur croissance des produits de réserve qui forment des granulations, parfois visibles au microscope. Leur rôle dans la cellule bactérienne c'est de magasiner certains nutriments (les réserves) sous forme de granules de réserve qui constituent ainsi un stock disponible. Ces granules sont limités par une mince enveloppe lipidique et qui peuvent être de plusieurs natures.

4.3.3. Vacuoles à gaz

Elles se présentent sous forme de cylindres entourés de paroi protéique, perméable seulement au gaz. Si ces vacuoles sont pleines de gaz, elles plongent car leur PM est grand et si elles sont vides elles flottent. Elles permettent aux bactéries aquatiques de flotter à la surface de l'eau.

