

## Chapitre II : La cellule bactérienne (Partie 2).

### 4.4. Le matériel génétique : l'appareil nucléaire

Le matériel génétique d'une bactérie comprend :

- Un chromosome ou nucléoïde (structure constant) ;
- Des éléments extra-chromosomiques ou plasmides (structure facultatif).

#### 4.4.1. Le chromosome (ADN)

Comme tous les protistes procaryotes, les bactéries possèdent un appareil nucléaire constitué d'acide desoxyribonucléique (ADN) qui est le support de l'information génétique (héréditaire) de la cellule, appelé aussi, génome.

- **Morphologie et structure**

Le chromosome bactérien est une unique molécule d'ADN circulaire fermée et très longue (environ 1000 fois plus longue que la bactérie : 1360  $\mu\text{m}$  chez *E.coli*), libre et pelotonnée dans le cytoplasme. L'ADN chromosomique est constitué d'une double hélice d'ADN circulaire. Cet ADN est associé à des protéines notamment des topoisomérases qui interviennent dans le repliement de la molécule d'ADN, par contre on ne trouve pas d'histones comme chez les eucaryotes.

- **Composition**

L'ADN ou acide desoxyribonucléique est un polymère de poids moléculaire élevé, composé d'unités appelées nucléotides. Un nucléotide est composé d'un phosphate, d'un sucre pentose (désoxyribose) et d'une base purique (A ou G) ou pyrimidique (C, T). Il y a autant de « A que de T » et autant de « C que G » .

- **Rôle**

Le chromosome bactérien est doué de propriétés génétiques fondamentales puisqu'il est le vecteur des caractères héréditaires de la bactérie. Toute protéine synthétisée qui passe par la voie ribosomale est codée par un gène au niveau de l'ADN. Ce dernier est transcrit en ARNm et traduit en protéine par les ribosomes.

- **Réplication**

L'ADN se réplique, c'est-à-dire qu'il se reproduit lui-même. La séquence sur une chaîne détermine automatiquement la séquence sur l'autre chaîne.

**-La réplication est semi-conservative :** Chaque chaîne parentale reste associée à la nouvelle chaîne pour qui elle sert de matrice.

**-Le mécanisme de réplication :** La réplication peut être divisée en trois étapes principales : l'initiation, l'élongation et la terminaison.

**a) L'initiation de la réplication :** a lieu à l'origine de réplication. La première étape débute par la fixation de la protéine DnaA (protéine capable de reconnaître les origines chez les procaryotes) sur l'origine de réplication. Il s'ensuit un enroulement de l'ADN autour de la protéine qui provoque une dénaturation locale des deux brins. Une hélicase s'y engouffre et sépare les brins dans les deux sens en rompant les liaisons hydrogène (ou « ponts hydrogène ») entre les deux brins de la double hélice d'ADN. Deux fourches de réplication sont ainsi créées, délimitant l'œil de réplication. D'autres protéines se lient à l'ADN simple brin (monocaténaire) ainsi formé et évitent la reformation de la double hélice. Ce sont les protéines SSB (*single strand binding*) chez les bactéries.

De part et d'autre des deux fourches de réplifications, une gyrase (topoisomérase de classe II) enlève les supertours positifs engendrés par la formation de l'œil de réplification.

### b) Élongation ou la synthèse d'ADN

C'est au cours de cette phase qu'il y a formation des brins complémentaires d'ADN. L'élongation de l'ADN progresse toujours dans le sens 5' vers 3' pour le brin en création. C'est l'ADN polymérase, qui ajoute à l'extrémité 3' de la molécule en formation, des désoxyribonucléotides.

Il existe ainsi un « brin direct », ou « brin précoce » (*leading strand*) et un « brin indirect », ou « retardé », ou « tardif » (*lagging strand*) :

- le « brin direct » est le brin complémentaire du brin parental orienté 3' vers 5' (le « brin direct » est donc orienté 5' vers 3'). Il est donc créé de façon continue, dans le sens 5' vers 3' ;
- le « brin indirect » est le brin complémentaire du brin parental orienté 5' vers 3' (le « brin indirect » est donc orienté 3' vers 5'). Il est créé de façon discontinue, sous forme de fragments d'Okazaki, dans le sens 3' vers 5'.

L'ADN polymérase a besoin d'une amorce pour fonctionner, parce qu'elle ne commence à synthétiser que par une extrémité 3'OH Libre. Et c'est l'amorce ARN qui va fournir cette extrémité libre. La primase va en effet créer ces amorces d'ARN. Il y aura donc sur le brin retardé des jonctions ARN-ADN, qui seront par la suite éliminées par une RNase H. Des ADN polymérases particulières vont ensuite combler les lacunes laissées par l'ARN.

### C) Terminaison

Cette phase correspond à l'arrêt de la réplification lorsque deux fourches de réplification se rencontrent ou lorsqu'une fourche rencontre un signal de terminaison de la réplification. Il y a « ter » : terA terD terB terC qui freine les fourches de réplification.

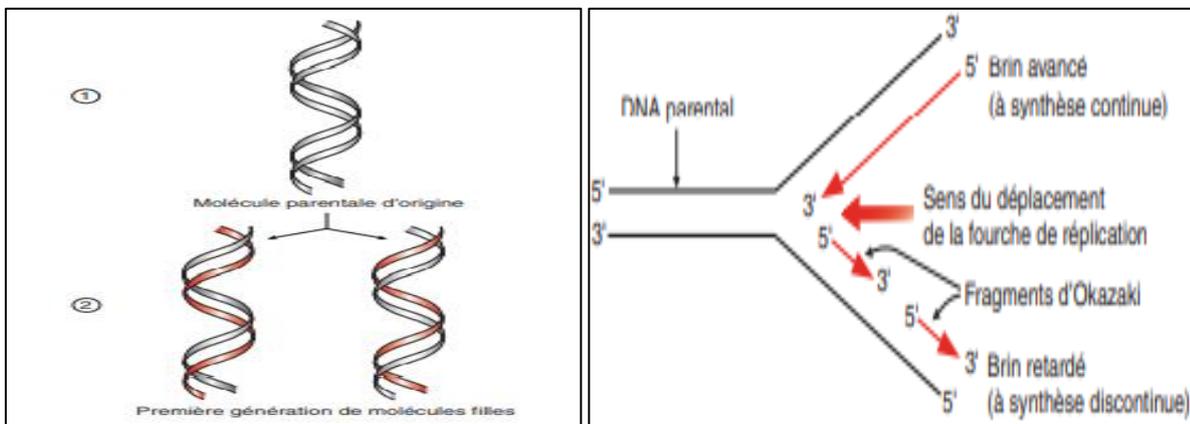


Figure 06 : la réplification d'ADN

### 4.4.2. Les Plasmides

La cellule bactérienne peut contenir des éléments génétiques extrachromosomiques capables d'autoreproduction que Lederberg en 1952 proposa d'appeler les plasmides.

#### • Structure

Ce sont des molécules d'ADN bicaténaire, extra-chromosomiques, plus petites que le chromosome bactérien.

Certains plasmides peuvent s'intégrer au chromosome bactérien : on les appelle des épisomes.

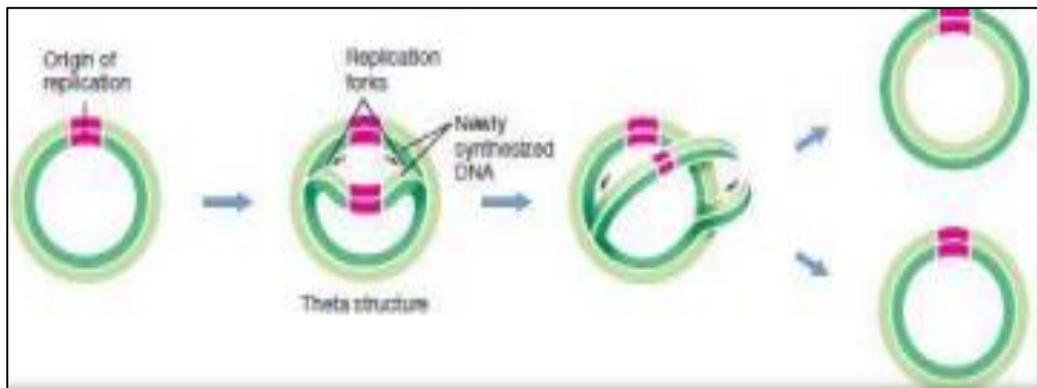
Une bactérie peut héberger plusieurs types de plasmides, mais leur nombre est en relation inverse avec leur taille (plasmides de grande taille en petit nombre dans la cellule, par contre, les plasmides de petite taille en grand nombre).

- **Rôle**

Les plasmides apportent du matériel génétique supplémentaire à la bactérie, qui code pour des caractères additionnels, mais non indispensables au métabolisme normal de la cellule bactérienne. Non indispensables à la survie de l'espèce, ces plasmides confèrent aux bactéries qui les hébergent des avantages sélectifs importants : ils portent des gènes codant des résistances aux antibiotiques, à des métaux lourds, des gènes codant des voies métaboliques nouvelles comme la possibilité d'utiliser des hydrocarbures et des dérivés organiques complexes (très fréquents chez les bactéries du genre *Pseudomonas*).

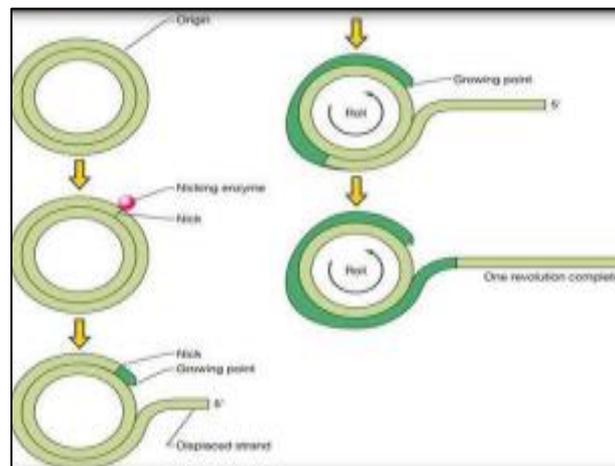
- **Réplication**

Le plasmide peut se répliquer selon deux modèles : **La réplication de type Thêta  $\theta$** , uni ou bidirectionnelle, à partir d'une origine de réplication en utilisant l'équipement enzymatique de la bactérie hôte (**Fig.07**).



**Figure 07** : Réplication de Type Thêta  $\theta$  [11].

Une réplication de type « **Rolling cercle** » ou cercle déroulant. Un brin est coupé par une nucléase. Ce brin va se dérouler autour de l'autre brin dans le sens 5'P et la bactérie va synthétiser un brin complémentaire simultanément aux deux brins parents (**Fig. 08**).

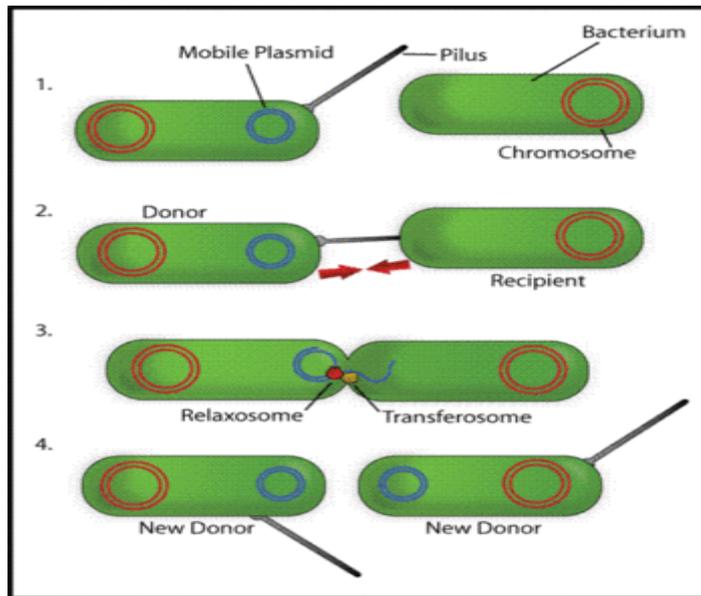


**Figure 08:** Réplication de type « Rolling cercle »

- **Le transfert plasmidique**

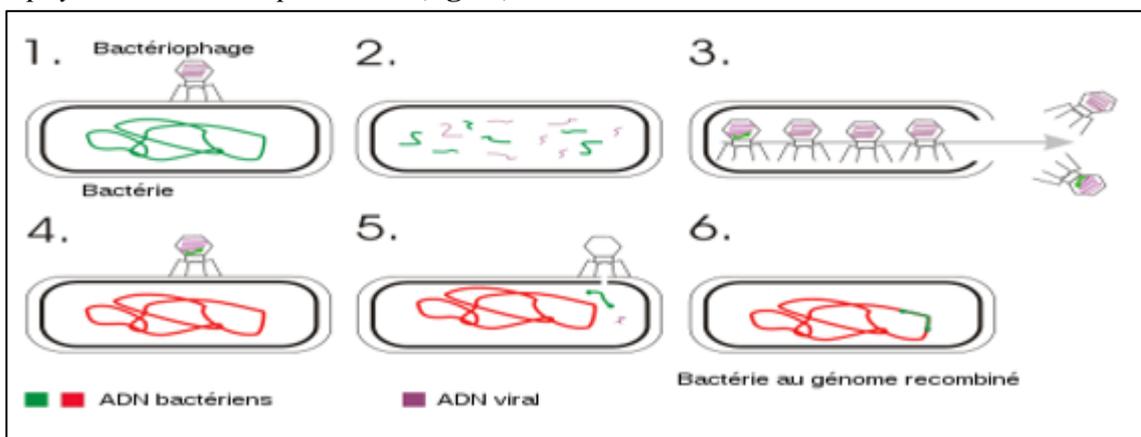
Le transfert des plasmides d'une bactérie donneuse à une bactérie receveuse peut se faire par plusieurs modes de transfert telles que la conjugaison bactérienne (via un pili sexuel), la transduction (via un bactériophage), et la transformation (absorption d'un ADN nu).

➤ **Conjugaison** : Certains plasmides sont conjuguant, qui signifie qu'ils sont capable d'effectuer leur propre transfert durant le processus de conjugaison entre deux cellules par contact physique (pili sexuel) où la bactérie donatrice transfère une copie de l'ADN plasmidique à une bactérie réceptrice, sans fusion (**fig. 09**).



**Fig. 09 :Le transfert plasmidique par conjugaison.**

➤ **Transduction** :La transduction concerne les bactéries proches phylogénétiquement et le transfert des plasmides (ou d'autres gènes) se fait par l'intermédiaire d'un bactériophage. Ce mode de transfert est souvent utilisé pour le transfert des caractères de résistance aux antibiotiques chez les genres *Staphylococcus* et *Streptococcus* (**fig.10**).



**Fig.10 :Le transfert plasmidique par transduction.**

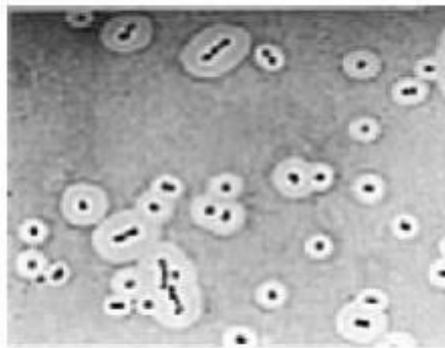
➤ **Transfert par transformation** : La transformation est le transfert de gènes par résultat de l'absorption d'ADN nu. Certains genres bactériens comme *Bacillus*, *Haemophilus*, *Neisseria*, *Pneumococcus* peuvent absorber de l'ADN à partir de l'environnement, et l'ADN absorbé peut être incorporé dans le chromosome ou dans le plasmide de la bactérie receveuse.

- **Propriétés**

- a) **Résistance aux antibiotiques** (90% plasmidique) les 10% restant (chromosomique).
- b) **Résistance aux métaux lourds** (mercure, sels de cadmium, bismuth, de plomb, d'antimoine et arsénites).
- c) **Production de substances à rôle pathogène.** L'exemple le plus étudié est rencontré chez les *Escherichia coli*, responsables de diarrhées.
- d) **Le pouvoir pathogène** dans les 3 cas est contrôlé par une information génétique portée par un plasmide, codant pour des entérotoxines et des facteurs de colonisation permettant l'attachement des bactéries à la surface de l'intestin (épithélium intestinal).
- e) **Production de bactériocines.**
- f) **Caractères métaboliques :** un grand nombre de caractères biochimiques des bactéries sont d'origines plasmidiques.

#### 4.5. La Capsule

De nombreuses bactéries élaborent des substances organiques visqueuses qui entourent leur paroi d'une couche plus ou moins compacte appelée capsule. La capsule est généralement de nature polysaccharidique et rarement polypeptidique. Pour sa mise en évidence, on procède habituellement à la coloration à l'encre de Chine : la capsule apparaît alors en clair sur fond noir (**Fig.11**).



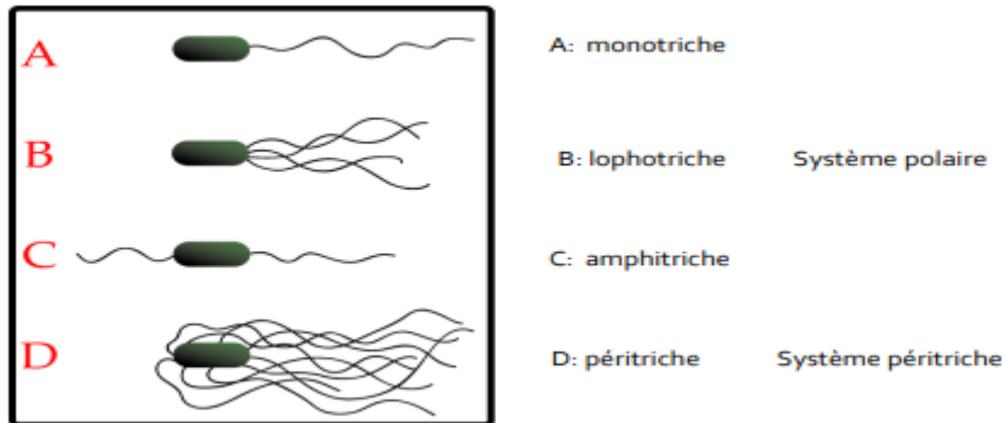
**Fig. 11 : Streptocoques avec capsule (coloration à l'encre de Chine).**

- **Fonctions :** La capsule n'a pas de fonctions vitales pour les bactéries, puisqu'elles peuvent croître et se multiplier après l'avoir perdue. La présence de la capsule détermine des propriétés particulières : l'adhésion, la pathogénicité et la protection.
  - ✓ **L'adhésion :** c'est une fixation (adsorption, attachement) spécifique à différents supports (inertes ou vivants).
  - ✓ **La pathogénicité :** constitue le plus souvent la première étape de l'infection.
  - ✓ **La protection :** la capsule formant une enveloppe externe supplémentaire, constitue un élément de protection des bactéries vis-à-vis de leur environnement (facteurs physicochimique antagonistes du milieu comme la dessiccation). Elle empêche la fixation des bactériophages et protège les bactéries de la prédation des protozoaires du milieu.

#### 4.6. Cils et flagelles

Ce sont des filaments de plusieurs  $\mu\text{m}$  constitués d'une seule protéine, la flagelline, permettant le mouvement des bactéries (1 à 30 flagelles par bactérie, à localisation polaire ou péritriche).

- Dans le **système polaire**, le ou les cils sont insérés à une ou aux deux extrémités de la cellule. La cellule est :
  - **Monotriche** si l'on ne rencontre qu'un seul flagelle à l'une de ses extrémités
  - **Amphitriche** lorsqu'un flagelle émerge à chacun des pôles
  - **Lophotriche** lorsqu'une touffe de cils apparaît à l'une ou aux deux extrémités
- Dans le **système péritriche**, la bactérie porte de très nombreux cils insérés sur tout le pourtour de la cellule.



**Fig. 12 : Différents systèmes ciliaires bactériens.**

- **Fonctions**
  - Le rôle principal des flagelles est **la mobilité**.
  - Les flagelles possèdent d'autres rôles autres que la mobilité tel que **le chimiotactisme**. Le système du chimiotactisme permet à la bactérie de sentir le milieu environnemental (attractif ou répulsif).
  - Enfin, **un rôle antigénique** est attribué aux flagelles grâce aux flagellines qui sont antigéniques.

#### 4.7. Les Pili

Il s'agit d'appendices de surface plus fins que les flagelles que l'on trouve fréquemment chez les bactéries à Gram négatif et rarement chez les bactéries à Gram positif.

- **Structure**

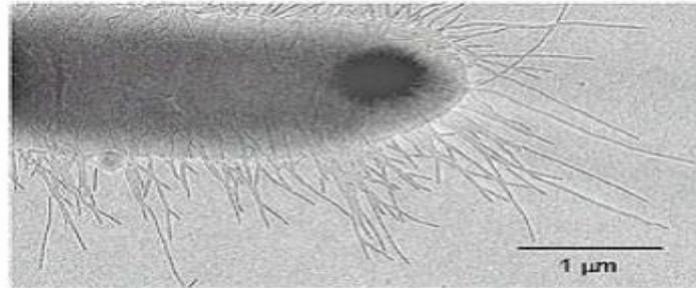
Bien qu'une cellule puisse être couverte de 1000 fimbriaes, on ne les voit qu'au microscope électronique à cause de leurs petites tailles. Ils apparaissent comme de minces tubes composés de sous unités protéiques arrangés en hélices et ils ont à peu près 3 à 10 nm de diamètre sur plusieurs  $\mu\text{m}$  de long. Il s'agit de la polymérisation d'une sous-unité polypeptidique (piline) assemblée à des polypeptides mineurs comme l'adhésine.

- **Fonction**

On en distingue deux catégories, de morphologie et de fonction distincts : Pili communs et Pili sexuels.

**4.7.1. Les pili communs (ou fimbriae):** Courts et cassants, très nombreux (parfois quelques centaines par bactérie), de 2 à 3  $\mu\text{m}$  de long, disposés régulièrement à la surface de la bactérie (fig.13). Ils jouent un rôle dans l'agglutination des bactéries et leur attachement aux

muqueuses des cellules eucaryotes qu'elles colonisent. Exemples : *E. coli*, *Salmonella* dans la muqueuse intestinale, *Corynebacteriumdiphtheriae* au niveau de la gorge.



**Fig. 13 : Pili communs chez *Escherichia coli*.**

**4.7.2. Les pili sexuels :** Plus longs que les pili communs (jusqu'à 20 µm) mais en nombre plus restreint (1 à 4). Ils sont codés par des gènes plasmidiques (le prototype = facteur F). Ils existent uniquement chez les bactéries mâles (donatrices). Ils jouent un rôle essentiel dans l'attachement des bactéries entre elles au cours de la conjugaison. Ils peuvent aussi servir de support de fixation pour certains bactériophages (**fig.14**).



**Fig.14 : Bactéries en conjugaison, liées par un pili sexuel.**

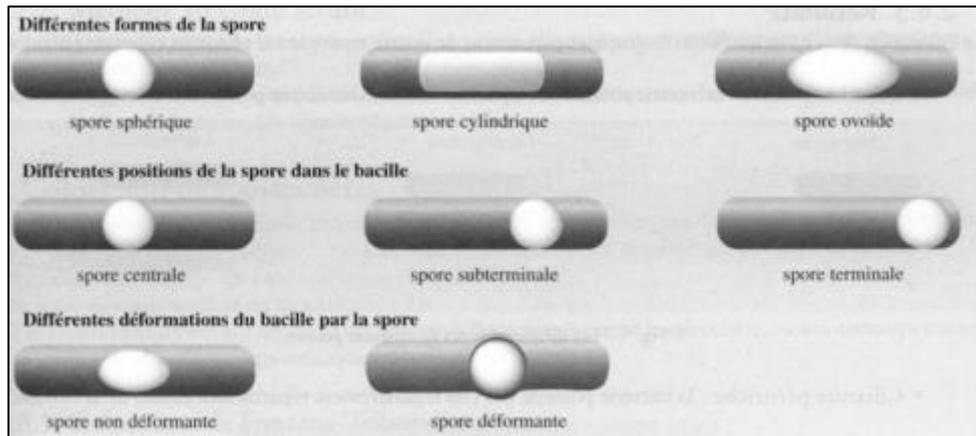
#### **4.8. La spore bactérienne**

Les bactéries appartenant à certains genres, notamment les genres *Bacillus* et *Clostridium*, placées dans des conditions défavorables de survie, (lorsque leur milieu s'épuise, par exemple), forment des **endospores** ; on parle alors de **sporulation**.

La spore est donc une forme de résistance aux conditions défavorables de vie, avec conservation de toutes les aptitudes génétiquement déterminées.

- **Morphologie**

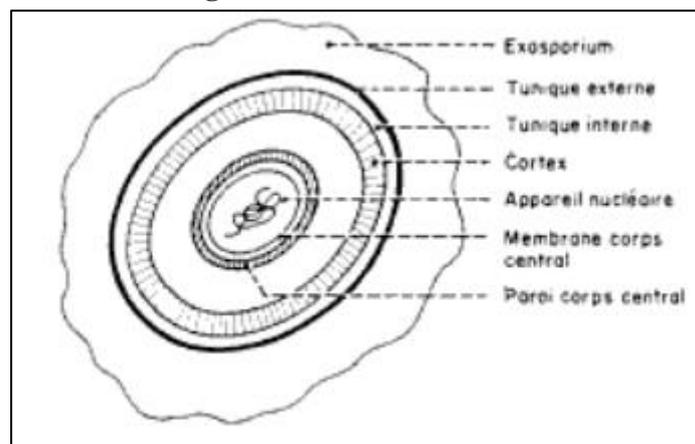
Les spores sont de petites unités **ovales** ou **sphériques**. Elles peuvent déformer ou non le corps bactérien. Leur position dans la cellule est variable : centrale, terminale, subterminales (**Fig. 15**). Elles servent également dans l'identification bactérienne. La spore peut-être libre ou non. La recherche de tous ces caractères se fait dans un but taxonomique.



**Figure 15** : Les différentes formes et positions de la spore bactérienne.

- **Structure de la spore**

La spore possède une paroi et une membrane plasmique identiques à celle de la cellule végétative. L'enveloppe la plus externe est mince, appelée **exosporium**. Sous l'exosporium on trouve le manteau ou **la tunique**, composée de plusieurs feuillets protéiques. **Le cortex** est localisé juste sous la tunique. Enfin **le protoplaste** (cytoplasme) ou cœur de la spore, contient les ribosomes, le nucléoïde et des enzymes inactives (**Fig. 16**).



**Figure 16** : structure de la spore bactérienne.

- **Phénomène de sporulation**

Le phénomène de sporulation est déclenché par l'épuisement des ressources nutritives dans un contexte physico-chimiques qui peut être variable selon les espèces : absence d'oxygène pour les *Clostridium*, présence d'oxygène au contraire pour *B. anthracis*.

Le processus de sporulation débute à la fin de la phase exponentielle et se déroule en 6 étapes :

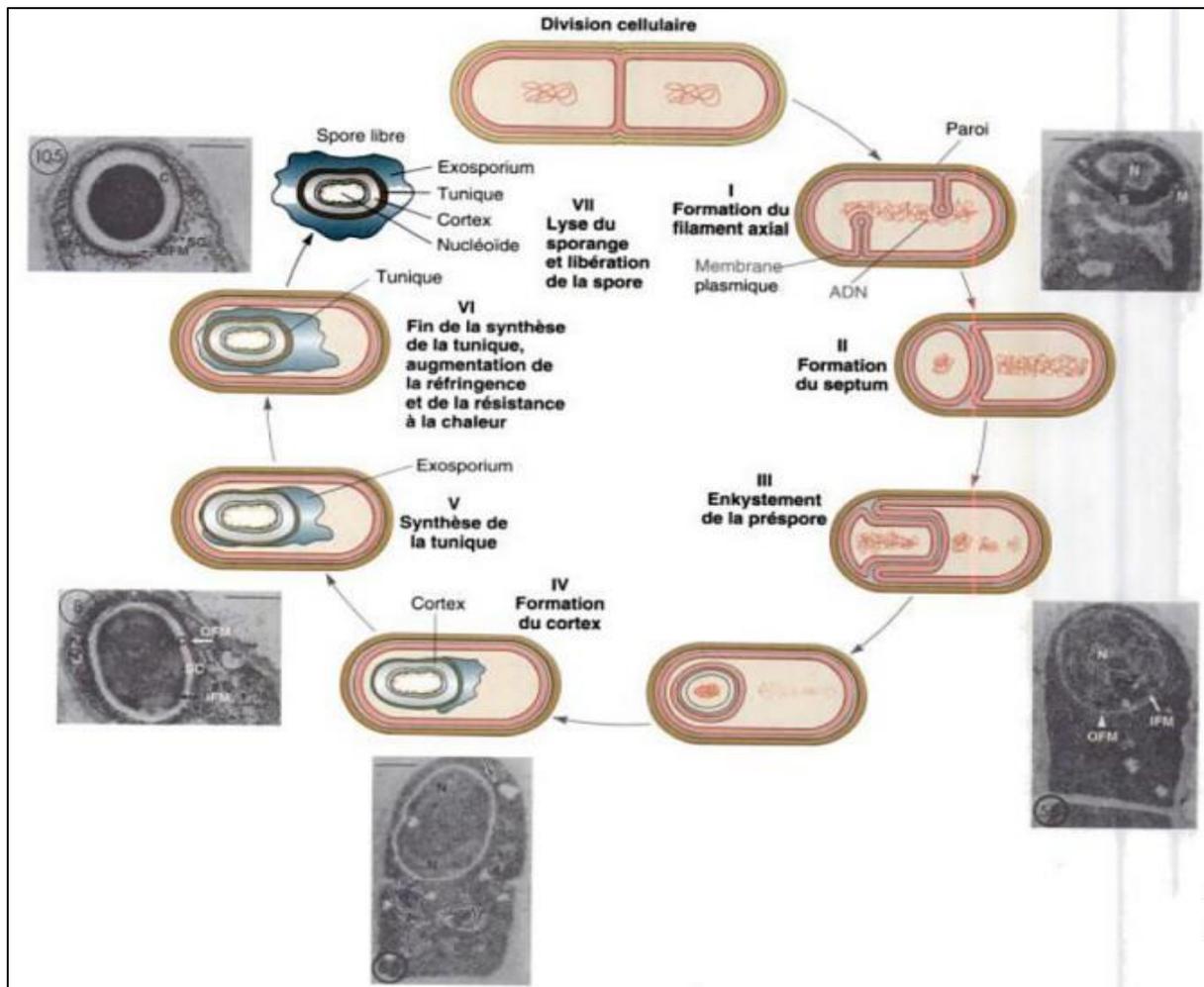
**Stade I** : formation du filament axial ; la division nucléaire n'étant pas suivie d'une division cellulaire, les deux génomes fusionnent donnant un filament chromatique axial.

**Stade II** : les deux génomes se séparent et en même temps la membrane cytoplasmique s'invagine près d'un pôle de la cellule pour former un septum de sporulation qui partage la cellule en deux parties inégales. Ce septum va envelopper le cytoplasme de la plus petite partie pour former une pré-spore caractéristique.

**Stade III** : Englobement du pré spore. **Stade IV** : entre les deux membranes limitant le pré spore se forme la paroi sporale puis apparaît rapidement le cortex.

**Stades V and VI :** apparition des tuniques et développement de l'exosporium.

**Stade VII :** la cellule végétative se lyse et libère la spore.



**Figure 17:** Le cycle sporale.

- **Propriétés**

La spore possède de nouvelles propriétés par rapport à la cellule végétative :

- **La thermo résistance :** La spore résiste en général à des températures de 70-80°C pendant 10 minutes, parfois plus. Cette propriété est due à la présence de l'acide dipicolinique, la déshydratation de la spore et aux protéines « SASP » (petites protéines acides et solubles pouvant se fixer à l'ADN).
- **Résistance aux agents physiques et chimiques :** La spore résiste aux rayons Ultraviolets, aux rayons gamma (Calcium, et SASP). Aux antiseptiques, désinfectants, antibiotiques (la tunique).
- **Synthèse d'antibiotiques :** Certaines bactéries synthétisent des antibiotiques au début de la phase de sporulation. Exemple : *Bacillus licheniformis* synthétise ainsi la Bacitracin ; *Bacillus polymyxa* la polymyxine. Mais aussi des toxines (entérotoxines de *Clostridium perfringens*) ou des substances à activité bio pesticide (toxines qui tue des insectes).

- **Germination**

Lorsque la spore est placée dans des conditions favorables de croissance, elle subit une série de transformations progressives et devient finalement une cellule végétative. Ce processus appelé : **la germination**. Elle comprend trois stades :

- a) Activation:** correspondant à une lésion des enveloppes sporales par des agents physiques (choc thermique) ou chimiques (acides, lysozyme) ou mécaniques (abrasion, choc). L'activation thermique est particulièrement bien connu au cours de la tyndallisation qui consiste à chauffer 3 fois le produit à stériliser : 30 min à 60°C (destruction des formes végétatives et induction de la germination d'éventuelles spores), le deuxième chauffage à 60°C et pendant 30 minutes, tue les spores issues de la germination et induit la germination des spores résiduelles. Le troisième chauffage dans les mêmes conditions, détruit les dernières formes végétatives.
- b) L'initiation :** débute en présence de conditions favorables d'hydratation et de métabolites effecteurs (alanine, magnésium, adénosine) qui pénètrent à travers les enveloppes endommagées. Des enzymes hydrolytiques dégradent les constituants de la spore ; il y a libération du dipicolinate de calcium. Le cortex ainsi détruit, la spore s'imbibe d'eau et gonfle.
- c) Excroissance :** c'est un gonflement visible qui résulte de la réhydratation, par osmose, de la spore et de la synthèse de nouvelles molécules de protéines, d'ADN, d'ARN et autres. La cellule végétative peut s'engager dans un processus de croissance, si les conditions nutritionnelles et physico chimiques du milieu sont favorables.