

Chapitre 2 : Cellule Bactérienne

Les bactéries sont les plus petits organismes connus, doués de métabolisme et capable de se croître et se diviser aux dépens de substances nutritives. Leur diamètre est habituellement d'environ 1µm. La cellule bactérienne est entourée d'une enveloppe rigide la paroi qui lui confère sa forme, sa résistance et qui entoure une seconde enveloppe beaucoup plus mince et plus délicate, la membrane cytoplasmique. Le Cytoplasme est en général très homogène, contient essentiellement des granulations d'acide ribonucléique, les ribosomes, parfois aussi des substances de réserves qui rendent sa structure plus grossière. Elle ne renferme aucun des organites décrits dans la cellule eucaryote (réticulum endoplasmique, mitochondries...)

Dans le cytoplasme, l'appareil nucléaire se distingue par son aspect fibrillaire, finement réticulé, il n'est pas entouré dans une membrane. La paroi, la membrane, le cytoplasme et l'appareil nucléaire représente les structures essentielles de la cellule, Elles sont toujours présentes. D'autres organites peuvent éventuellement s'y adjoindre : la capsule, enveloppe externe qui peut prendre un développement considérable, les flagelles de nature protéiques qui confèrent à la bactérie sa mobilité et enfin les pili ou fimbriae qui sont plus fins que les flagelles, rigide et cassant, certains sont appelés pili sexuels et qui jouent un rôle dans la conjugaison bactérienne (**Fig.1**).

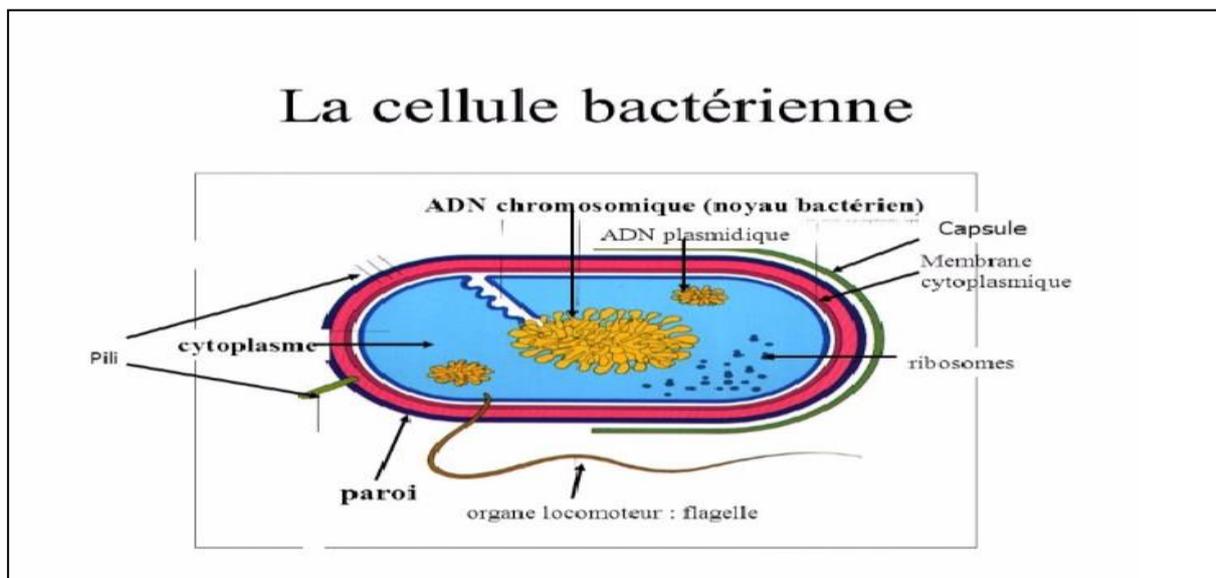


Figure 1: La cellule bactérienne.

1- Principales formes bactériennes :

Lorsque l'on observe des bactéries au microscope optique à partir d'un prélèvement pathologique ou dans un milieu de culture, on reconnaît rapidement la forme des cellules, leurs dimensions, enfin les arrangements ou les regroupements qu'elles constituent entre elles. Les dimensions des bactéries varient selon les espèces et les formes sont extrêmement diverses. Nous retiendrons trois principales : la forme sphérique ou coccidienne, la forme bacillaire ou cylindrique et la forme spirale ou hélicoïdale (**Fig.2**).

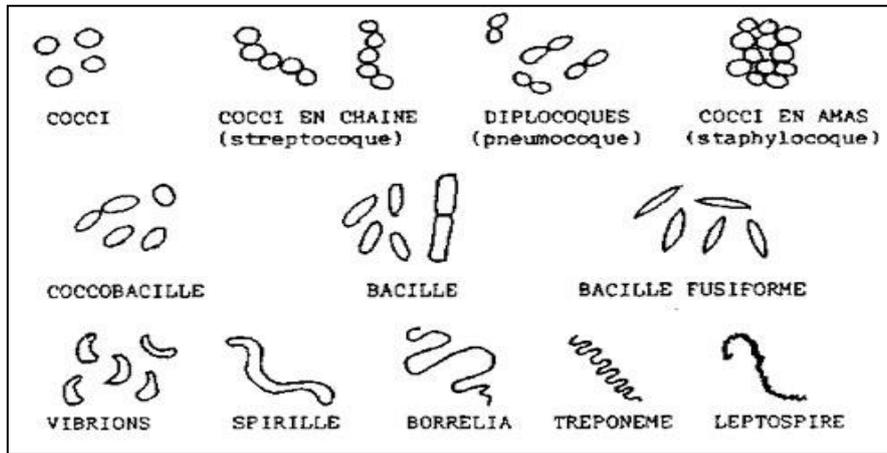
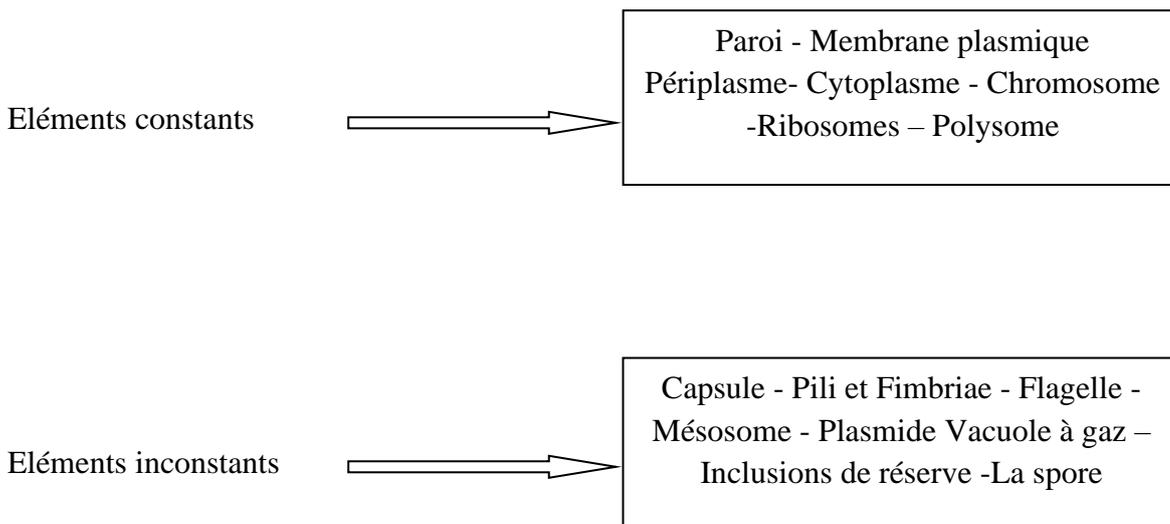


Figure 2 : Les formes des bactéries.

2- La morphologie cellulaire

Certaines structures sont présentes chez toutes les bactéries, ce sont les éléments « constants » ; d'autres sont retrouvés seulement chez certaines bactéries : ce sont les éléments « inconstants » ou « facultatifs »



2.1- La paroi

Malgré la forte pression osmotique (5 à 20 atmosphères) qui règne à l'intérieur du cytoplasme bactérien, la bactérie n'éclate pas grâce à l'existence d'une structure rigide, appelée paroi, de nature polymérique. Les polymères et leur mode de liaison varient selon les espèces bactériennes. Toutefois, une substance de base, *spécifique des bactéries*, est partout présente : c'est la muréine, appelée encore peptidoglycane. Elle joue un rôle important dans la division cellulaire et c'est à son niveau que se fait la distinction entre les bactéries Gram positive et bactéries Gram négatives.

2.1.1- Composition chimique :

-Chez les bactéries Gram positive

La paroi est épaisse de 20 à 80 nm et présente un aspect homogène en microscope électronique. L'élément structural principale est le peptidoglycane qui n'est qu'un glycosaminopeptide comportant une molécule d'acide N-acétyl-glucosamique et une molécule d'acide N-acétylmuramique, reliées entre elles par une liaison β -glucosidique. L'acide muramique est en outre associé à une courte chaîne peptidique de quatre acides aminés appelée tétrapeptide : deux alanines, un acide glutamique et une lysine.

-Chez les bactéries Gram négatives

La paroi est beaucoup plus mince (10 à 15 nm) et présente une structure stratifiée plus complexe. Outre le peptidoglycane de base, elle comprend trois autres structures polymériques externes ou reliées à ce peptidoglycane, on distingue en effet :

-Une couche phospholipidique dite membrane externe pour le différencier de la membrane cytoplasmique et qui contient des protéines importantes.

-Un lipopolysaccharide (LPS)

-Et une lipoprotéine assurant la liaison entre la membrane externe et le peptidoglycane et conférant une certaine solidité à l'ensemble

La paroi bactérienne porte un grand nombre d'antigènes spécifiques à chaque type de bactéries appelés antigènes pariétaux ou antigènes O.

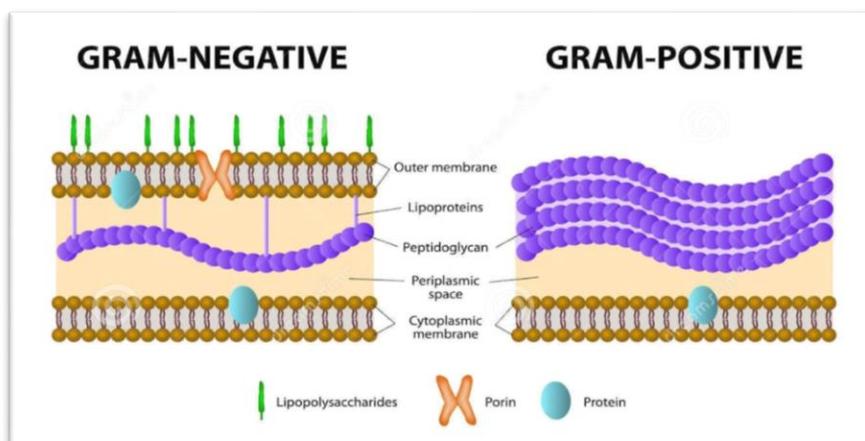


Figure 4 : Structure moléculaire de la paroi.

2.1.3- Fonction de la paroi

- La paroi confère à la bactérie sa morphologie véritable. Elle constitue le squelette externe de la bactérie et représente 25 à 35 % du poids total de la bactérie.
- La paroi contient la pression osmotique interne. Sans paroi, les bactéries prennent une forme sphérique appelée *protoplaste* s'il s'agit d'une bactérie à Gram positif, ou *sphéroplaste* s'il s'agit d'une bactérie à Gram négatif. Les bactéries peuvent survivre sans paroi et même se multiplier (on les appelle alors formes L) à condition d'être placées dans un milieu dont la pression osmotique est équilibrée avec la pression osmotique qui règne à l'intérieur de la bactérie.

- Elle joue un rôle déterminant dans la coloration de Gram. Chez les bactéries à Gram positif, la paroi bloque l'extraction du violet de gentiane et de l'iodure par l'alcool alors qu'elle ne bloque pas cette extraction chez les bactéries à Gram négatif.
- Elle joue un rôle déterminant dans la spécificité antigénique des bactéries.
- Elle est le support de l'action de certains enzymes exogènes (lysozyme) ou endogènes (autolysines) et de certains antibiotiques, notamment les bêtalactamines (pénicillines) qui inhibent la synthèse du peptidoglycane (voir tableau 1).
- Le lipopolysaccharide (LPS) et le peptidoglycane sont capables d'activer le complément par la voie alterne ce qui libère, entre autre, les fractions C3a et C5a (effet chimiotactique) et C3b (effet opsonisant par les récepteurs des phagocytes pour le C3b) qui jouent un rôle important dans la défense non spécifique contre l'infection.

2.1.4- Coloration de gram

Les différences de constitution et de structure chimique des parois Gram (+) et Gram (-) permettent d'établir le principe de la **coloration élaborée par Christian GRAM** (1884).

2.1.4.1- Procédure de la coloration de Gram

Après fixation du frottis on colore avec le **violet de gentiane**. On rince avec de l'eau. On rajoute un fixateur qui est le **Lugol**. On rince avec de l'eau distillée. On procède ensuite à une étape de décoloration par un mélange d'alcool et d'acétone. Ce dernier pénètre dans les bactéries Gram négatives et non dans les bactéries Gram positives dont les pores ont fermés par déshydratation par l'alcool. On rince et on procède à une contre coloration à la safranine. Les Gram positives vont apparaître **violet** et les Gram négatives **roses** (Fig.5).

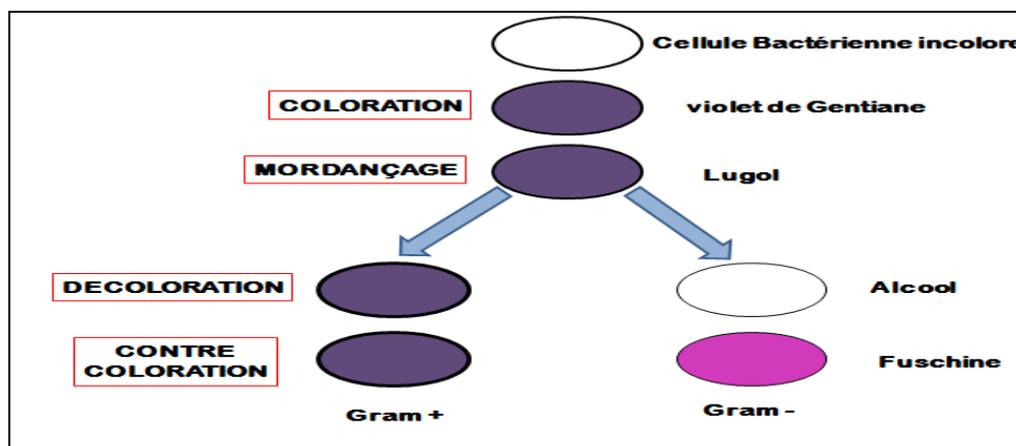


Figure 5 : Etapes de coloration de Gram

2.2- La membrane cytoplasmique

2.2.1- composition chimique :

Elle possède le même type de structure que celle d'une cellule eucaryote (bicouche phospholipidique) mais avec beaucoup moins de glucides et jamais de stérols (sauf chez les mycoplasmes). Elle est composée de 60 à 70 % de protéines et 30 à 40 % de lipides. La membrane plasmique contient les enzymes de la

chaîne respiratoire, les déshydrogénases et les enzymes associés: NAD⁺, FAD⁺, cytochromes, cytochrome oxydase. D'autres enzymes impliquées dans la synthèse des lipides et dans la réplication de l'ADN y sont localisées.

2.2.2- Structure de la membrane cytoplasmique

Les membranes cytoplasmiques isolées et observées au microscope en contraste de phase présentent un aspect homogène, de faible densité. Elles ont une épaisseur de 7,5 nm environ et comportent un feuillet interne transparent de nature lipidique pris en « sandwich » entre deux feuilles denses, opaques aux électrons, de nature protéique (**Fig.6**). L'analyse chimique de ces membranes révèle trois types de substance : lipide, protéine et glucides. Les molécules lipidiques sont de loin les plus abondantes (des phospholipides), en particulier le phosphatidylglycérol et/ou la phosphatidyléthanolamine. Les membranes des bactéries Gram positives contiennent l'un de ces composants ou les deux avec plusieurs autres substances de nature voisine. Les bactéries Gram négative ne renferment qu'un seul ou deux types de molécules lipidiques.

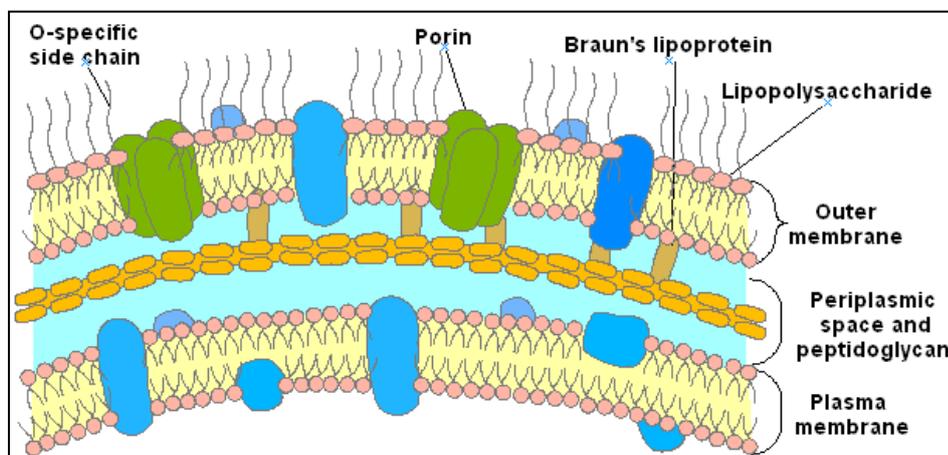


Figure 6 : Structure de la membrane bactérienne.

Les lipides sont à la base de la structure. Chaque molécule lipidique est amphiphile, elle est caractérisée par une partie hydrophobe soluble dans l'huile, insoluble dans l'eau et une partie hydrophile ayant les propriétés opposées et porteur d'un groupement phosphate chargé négativement. Ces molécules s'organisent spontanément en deux feuillets où les parties hydrophobes se font face et sont protégées du milieu aqueux tandis que les têtes hydrophiles externes y sont émergées. Ainsi chaque membrane est faite de deux couches hydrophiles séparées par une couche hydrophobe.

Les protéines membranaires sont composés d'acide aminés soudé bout à bout selon une séquence linéaire formant ainsi une chaîne fortement repliée sur elle-même. Les protéines extrinsèques dites protéine périphériques sont liées faiblement à la membrane et apparaissent sur l'une des deux faces du double feuillet et n'ont aucun groupement inséré dans la zone hydrophobe. Les protéines intrinsèques ou internes transvaseraient complètement le double feuillet membranaire pour apparaître sur les deux faces interne et externe de la membrane.

2.2.3- Fonction de la membrane cytoplasmique

- Perméabilité sélective et transport des substances solubles à l'intérieur de la bactérie : la membrane est à la fois une barrière osmotique et un lieu de transport actif grâce à des perméases ;
- Fonction respiratoire par transport d'électrons et phosphorylation oxydative dans les espèces bactériennes aérobies (rôle équivalent à celui des mitochondries des eucaryotes) ;

- Excrétion d'enzymes hydrolytiques, qui dégradent les polymères en sous-unités suffisamment petites pour pouvoir traverser la membrane cytoplasmique et être importés dans la bactérie ;
- Support d'enzymes et de transporteurs de molécules impliqués dans la biosynthèse de l'ADN, des polymères de la paroi et des lipides membranaires.

2.3- Les éléments du cytoplasme

2.3.1- Le cytoplasme

Est un hydrogel colloïdal de pH variant de 7 à 7.2. Il est composé d'une phase dispersante constituée par une solution de sels minéraux et de composés solubles de nature lipoprotéique et une phase dispersée formée de nucléoprotéines et de lipides.

2.3.2- ARN et ribosomes

Les ribosomes des bactéries sont des petites granulations sphériques de 10 à 30 nm de diamètre qui se dispersent dans tous le cytoplasme excepté les régions nucléaires. Ils sont le siège de la biosynthèse des protéines. Les particules des ribosomes sont souvent associés par un mince filament de ARNm.

Les ribosomes bactériens (constante de sédimentation 70S) se dissocient en deux sous-unités (**Fig.7**):

-La **petite sous unité** de CS 30S.

-La **grande sous unité**, de constante de sédimentation 50S.

Les ribosomes interviennent dans la **synthèse des protéines** sont associés en chapelets sur l'ARNm sous forme de **polysomes** (**Fig. 8**).

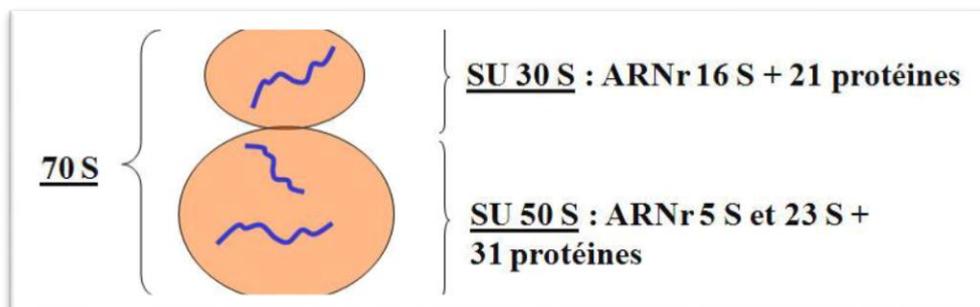


Figure 7 : Ribosome bactérien.

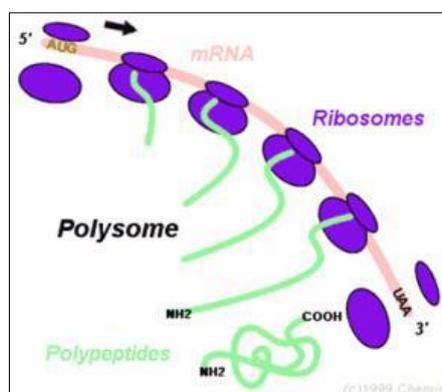


Figure 8 : Polysomes.

2.3.3- Granulations et substances de réserves

Les bactéries peuvent accumuler des matériaux organiques et inorganiques constituant généralement des réserves d'énergie. Lorsque ces substances atteignent des tailles suffisamment grandes, elles forment des granulations de réserves. D'une façon générale, chaque groupe bactérien synthétise une seule catégorie de substance. La bactérie peut stocker des réserves sous forme de glycogène ou d'amidon. Certaines bactéries telles que *Pseudomonas*, *Vibrio* ou *Micrococcus* peuvent synthétiser et stocker de l'acide poly-β-hydroxybutyrique.

2.3.3.1- Chromatophores

Chez les algues et les plantes supérieures, c'est au niveau des chloroplastes que s'effectue la photosynthèse, ce mécanisme qui préside à la conversion de l'énergie lumineuse émise par le soleil en énergie chimique. Chez les bactéries photosynthétiques, les organelles spécialisées qui remplissent cette activité sont dites chromatophores en raison, d'une part de leur structure différente de celle des chloroplastes, et d'autre part de la nature des pigments photosynthétiques.

2.3.3.2- Vacuoles à gaz

Le cytoplasme des trois groupes procaryotes photosynthétiques renferme dans leur cytoplasme des vacuoles à gaz (algues bleu-vert, bactéries pourpres, bactéries vertes). Elles permettent à ces micro-organismes d'habitat aquatique, de flotter et d'ascensionner à la surface de l'eau. Elles ont un contour irrégulier. En microscope électronique, elles ont une forme cylindrique.

2.4- Le chromosome bactérien

2.4.1- La morphologie du chromosome bactérien

Les éléments nucléaires mis en évidence chez les bactéries sont fréquemment appelés du nom « chromosome bactérien ». Les aspects morphologiques grossiers révélés par les techniques cytologiques ne nous apprennent rien sur leur structure intime. En revanche, l'observation des coupes ultrafines par le microscope électronique sur des cellules fixées, déshydratées puis incluses dans une solution résineuse (kellenberger) a révélé des faits du plus haut intérêt sur l'architecture supramoléculaire de ce chromosome :

- L'appareil nucléaire n'est pas entouré d'une membrane contrairement au noyau des cellules eucaryote et rien ne prouve qu'il existe plus d'un chromosome par noyau.
- Le corps chromatinien présente une structure fibrillaire. Les fibrilles ont un diamètre de 20 à 60 Å et ils sont constitués principalement sinon exclusivement d'ADN. Elles sont enroulées les une dans les autres en faisceaux parallèles, formant ainsi une véritable corde. Elles garderaient la même structure au cours du processus de division.

2.4.2- Le chromosome circulaire

Les expériences de transfert génétique et surtout le phénomène de conjugaison ont permis de mieux préciser les fonctions du matériel génétique de la bactérie. L'analyse de ces fonctions laisse supposer que les caractères héréditaires de la bactérie sont localisés sur un seul groupe génétique de liaison, autrement dit sur le chromosome qui n'aurait ni commencement ni fin. Le chromosome de la bactérie support des gènes serait donc circulaire. Ces observations sont aussi confirmées par les résultats obtenus par Cairnes en utilisant d'autres méthodes « technique d'autoradiographie », ou ils montrent que le chromosome bactérien est formé d'une longue et unique molécule d'ADN formant une structure continue.

Ces deux types d'expériences basées sur des principes différents et aboutissant à des mêmes conclusions ont montrés plus ou moins la structure du chromosome bactérien qui n'est autre qu'un filament fin, unique, continu et circulaire formé d'une double chaîne d'ADN. Son PM est de 3.10^9 et le nombre de paires de bases est de 5.10^6 environ, échelonnées le long de la double hélice. A l'image de l'ADN des cellules eucaryotes qui est couplé à des protéines basique telle que les histones, il est possible que l'ADN bactérien soit neutralisé, non par des histones qui d'ailleurs n'ont jamais été isolés chez les bactéries, mais des polyamines telles que la spermine et spermidine.

ADN bicaténaire et circulaire isolée avec précaution sous une forme native à partir des bactéries et des virus ou des plasmides présente une structure entrecroisée ou torsadée qu'on appelle encore superhélice. Il contient donc plus de paire de bases par unités de longueur que dans le cas de la double hélice. La rupture d'une chaîne suivie d'une soudure, ou l'insertion de certain agents chimique ou la fixation des protéines libèrent les forces contenues et donne naissance à un ADN dit relâché. Enfin après dénaturation, la double hélice devient linéaire.

2.4.3- Replication chimique «Le modèle de Jacob et Brenner»

La vitesse de progression de la fourche de réplication est constante dans les conditions expérimentales assez larges. Avec *E.coli* pour un temps de génération de 40 minutes à 37°C, le temps requis pour le doublement de la molécule d'ADN est de 40 minutes. Si, en revanche, des conditions plus favorables permettent un temps de génération plus court, par exemple, de 20 minutes, de nouvelle fourche de réplication sont formées avant que le premier cycle de duplication ne soit achevé. Il est facile d'enduire que le démarrage du cycle de réplication est soumis à un contrôle. Cette initiation nécessite, en effet, d'une protéine spécifique, l'initiateur. Il est vraisemblable que la programmation de cette synthèse intervienne au cours de la phase finale du cycle de division. Le site d'initiation de la synthèse autrement dit le point où commence la séparation de la double chaîne d'ADN (fourche) est appelé le **réplicateur**. Selon le modèle de **Jacob et Brenner**, le site réplicateur et le gène commandant la synthèse de l'initiateur formeraient une unité autonome de réplication appelée **réplicon**.

- Le modèle de Jacob et Brenner rend compte également de la séparation des chromosomes fils et de leur migration dans la cellule avant la division. Elle permet de comprendre d'une part le déroulement du duplex en même temps que la synthèse des nouvelles chaînes, d'autre part, leur séparation et leur localisation dans les deux cellules fille.
- Au début du cycle de réplication, le duplex est relié à la membrane cytoplasmique au niveau du site de réplicateur. Le système enzymatique est également localisé au point d'attachement chromosome-membrane. L'un des brins est fermé mais peut se dérouler à partir du site réplicateur qui sert de pivot. l'autre est coupé libérant à une extrémité un 5' phosphate et à l'autre un hydroxyl 3'.
- L'une des extrémités libre (5'P) se fixe à un nouveau site d'attachement voisin du précédent.
- Au niveau de la fourche de réplication ainsi constituée, la synthèse des deux nouvelles chaînes s'effectue selon le mécanisme enzymatique bien défini. L'ADN polymérase restant fixée au niveau de la membrane tandis que le duplex parental se déplace. Cet entrainement du duplex est provoqué par la synthèse de la membrane cellulaire dans la région qui sépare les deux sites d'attachement, ancien et nouveau.
- La croissance de la membrane se poursuit jusqu'au déroulement complet du duplex parental et par voie de conséquence jusqu'à la formation des deux duplex fils. Les deux chromosomes fils sont alors complètement séparés l'un de l'autre tandis que d'autres synthèse se sont poursuivies dans la bactérie qui s'est progressivement allongée. L'un des deux chromosomes

est totalement ouvert : les extrémités libres de l'un des brins doivent alors se souder pour reproduire le cercle fermé initial (**Fig.9**).

L'accomplissement du cycle de réplication du chromosome est immédiatement suivi par la formation d'un septum transversal de division. De même la synthèse complète du septum de division est le point de départ pour un nouveau cycle de réplication du chromosome.

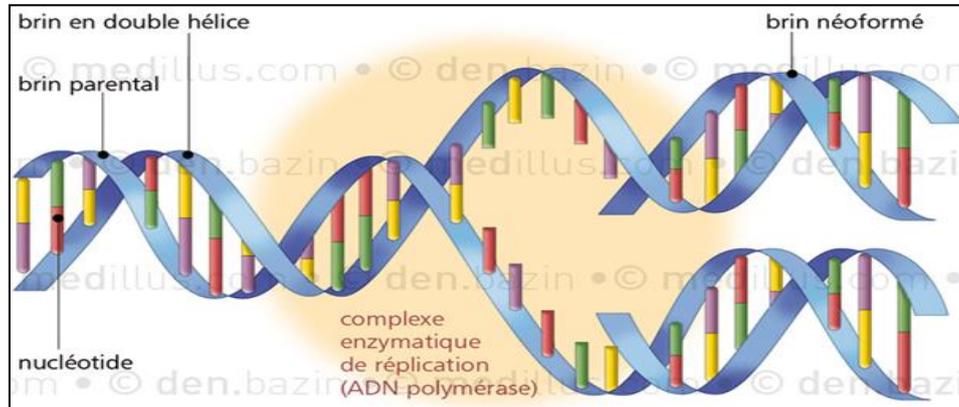


Figure 9 : Réplication semi conservative.

2.5- Plasmide

La cellule bactérienne peut contenir des éléments génétiques extrachromosomiques, capable d'autoreproduction, que Lederberg en 1952 a proposé d'appeler des Plasmides. Pour marquer leur caractère indépendant par rapport aux gènes portés par le chromosome. Cette définition à l'époque, s'appliquait uniquement aux facteurs sexuels F que Lederberg avaient découverts quelques années auparavant. Mais ce n'est uniquement en 1959 que la communauté scientifique a compris la véritable nature de ces éléments et son rôle biologique en découvrant chez les Shigelles une multirésistance aux antibiotiques.

2.5.1- Structure et propriétés physiques

Comme toute structure porteuse d'information génétique, le plasmide est une molécule d'ADN. Cet ADN peut être séparé de l'ADN chromosomique par centrifugation en gradient le chlorure de césium à partir d'un lysat bactérien. Globalement les molécules de l'ADN plasmidique sont de petites tailles, le 1/100 environ de celle du chromosome. Leur enroulement serré (torsadé) leur assure probablement un encombrement minimal et leur confère une grande résistance. Leur poids moléculaire varie d'environ de 1 mégadaltones (PM= 1 million) à plus de 100 mégadaltones, c'est-à-dire comparable à celui de l'ADN viral. La structure de l'ADN viral. La structure de l'ADN plasmidique peut être analysée grâce aux techniques récentes de génétiques moléculaires (**Fig.10**).

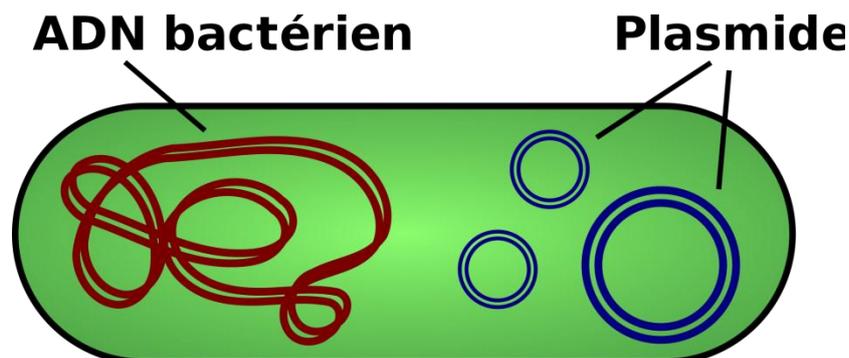


Figure 10: schéma d'ADN et plasmide bactérien.

2.5.2- Réplication

La réplication plasmidique est comme celle du chromosome ou du facteur F, étroitement régulée au niveau de sites membranaires. Le modèle de Jacob et Brenner est parfaitement applicable. Elle est sous la dépendance d'un grand nombre de gènes. Des plasmides auxquels de longs fragments d'ADN ont été excisés demeurent en effet viables. Il est possible de retirer les deux tiers du plasmide de Staphylocoque sans affecter ses fonctions de réplifications. Cependant une délétion au niveau d'une petite région, dite « région interdite » supprime la viabilité du plasmide. Cette région porteuse des gènes impliqués dans la réplication est appelés « unité de conduire de réplication ».

La réplication d'un plasmide et sa régulation pourrait se dérouler conformément au schéma suivant (Fig.11). Elle est déclenchée par une protéine dite initiateur sous la dépendance d'un gène de réplication. Celui-ci est contrôlé par une autre protéine, le répresseur, codée par un gène. Dans un premier temps, une ADN polymérase traverse la séquence origine au niveau du site promoteur, l'ARN formé sert d'amorce à la synthèse d'ADN. Par action seconde, elle dissocie les deux brins d'ADN qui constituent des boucles par appariement intracaténaire des bases. Ces boucles, reconnues par conduit à la synthèse de l'ADN plasmidique. Cette réplication est indépendante de la réplication du plasmide ; plus le plasmide est grand plus le nombre de copie d'un plasmide varie entre 1 et 100 selon la taille du plasmide ; plus le plasmide est grand plus le nombre de copie est faible. La transmission des plasmides de génération en génération doit naturellement mettre en œuvre un mécanisme assurant l'égale répartition (bipartition) des copies dans les cellules filles.

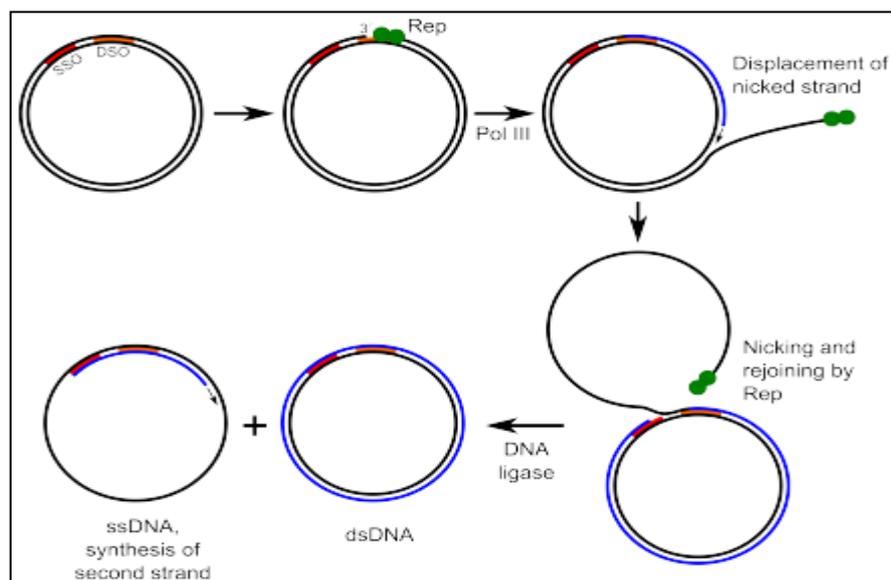


Figure 11 : Réplication du plasmide.

2.5.3- Propriétés des plasmides

La découverte des plasmides a conduit les biologistes à reconsidérer totalement les concepts de traditionnels de la génétique. La notion du potentiel génétique constant et stable au cours du temps devrait être remise en cause. De nombreux caractères génétiques de la cellule bactérienne sont en effet variables, labile puisque subissent des pertes ou des gains, et mobiles car transférables d'une cellule à une autre transposables en des sites différents d'une même cellule, ils doivent ces propriétés à leur insertion plasmidique.

2.5.3.1. Résistances aux antibiotiques et aux métaux lourds

Plusieurs mécanismes permettent d'expliquer la résistance aux substances toxiques induites par des gènes plasmidiques. Dans le cas le plus simple (pénicilline, aminosides, chloramphénicol) l'antibiotique est détruit par une enzyme. Dans d'autres cas, l'agent toxique ne peut accéder à la cible cellulaire...etc. Généralement, on estime que la résistance plasmidique intervient dans plus de 90% des cas observés en clinique, les 10% restant étant dus à la résistance chromosomique. La résistance plasmidique est aussi observée, de plus en plus fréquemment avec les métaux lourds. Les plasmides interviennent dans la résistance aux composés mercuriels et aux sels de cadmium et au plomb chez les Staphylocoques et chez les bacilles à Gram (-).

2.5.3.2. Production de substances à rôle pathogène

L'un des exemples les plus remarquables et les plus étudiés est rencontré chez *E. coli* ou on définit trois groupes responsables des diarrhées : se sont les *E. coli* entéro-pathogènes, les *E. coli* entérotoxiques et les *E. coli* entéro-invasifs. Le pouvoir pathogène de ces trois germes est sous la dépendance de déterminants plasmidiques responsables de la synthèse d'entérotoxine et de certaines substances qu'on appelle des facteurs de colonisation et qui assurent l'adhérence des bactéries à l'épithélium intestinal puis son envahissement.

2.5.3.3. Production des bactériocines

En 1915, Gratia décrit une action antagoniste spécifique entre deux souches d'*E. coli*. Les substances responsables sont dites bactériocines. Ce sont des protéines dont la biosynthèse est létale et dont l'adsorption est conditionnée par la présence d'un récepteur spécifique. Le nom des bactériocines est toujours dérivé de l'espèce bactérienne ou du genre bactérien sur le quel elles agissent ; colicine (*E. coli*), pyocine (*Pseudomonas*), vibriocines (*Vibrio cholerae*).

2.5.3.4. Caractères métaboliques

Un grand nombre de caractères biochimiques des bactéries sont d'origine plasmidique. Ils ont été particulièrement observés chez *Enterobacteriaceae*, utilisation du citrate, production d' H_2S , hydrolyse de l'urée, dégradation du saccharose, du lactose..... Les plasmides qui codent pour ces propriétés inhabituelles chez des souches sauvages sont dites plasmides métaboliques. Leur présence constitue une source d'erreur non négligeable pour l'identification des souches de microorganismes. D'autres fonctions ont aussi un support plasmidique ; il s'agit principalement de la fixation de l'azote chez les *Enterobacteriaceae*, la dégradation des produits chimiques par les *Pseudomonadaceae*, la production des pigments, la synthèse de la fibrinolysine, de l'hémolysine et de la coagulase chez les *Staphylococcus*.

2.6- Les Pili ou Fimbriae

2.6.1- Structure des Pili

L'existence d'appendices filiformes différents des flagelles a été révélée par le microscope électronique. Ils sont fréquentés chez les bacilles Gram négatifs, rares chez les formes Gram positives. On leur a donné le nom de Pili (fimbriae) (**Fig.12**). On en distingue deux catégories, de morphologie et de fonction distincte : **les Pili commun** (nommer aussi des fimbriae ou Pili de type I III et IV) et **Pili sexuels** (nommer aussi Pili de type II).

-Pili commun : sont distribués en grand nombre autour de la bactérie. Ils sont ténus, courts, rigides et donc cassants. Leur présence est en relation avec les activités hémagglutinantes de la bactérie.

-Pili sexuels : plus long et terminant par renflements. Leur nombre est faible, varie entre 1 et 4. Ils paraissent jouer un rôle définit. Ils sont aussi chez certains de bactéries, les streptocoques ils sont porteurs de protéine M antigéniques.

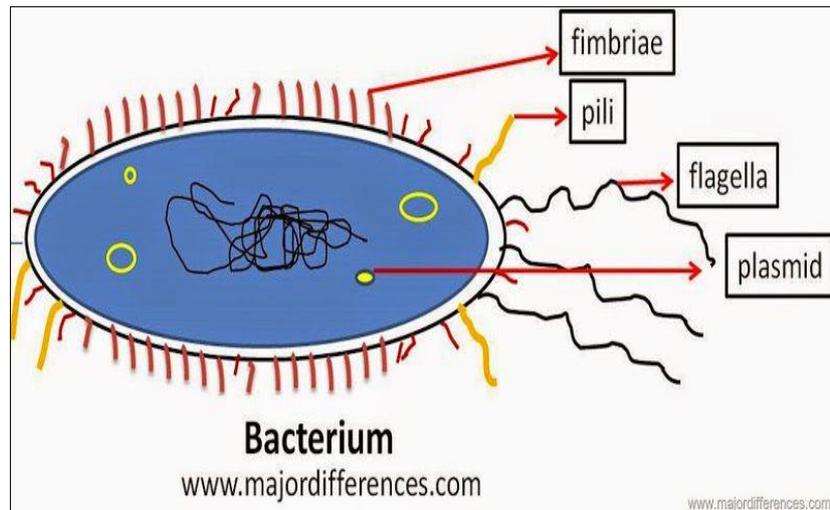


Figure 12 : Schéma représente le fimbriae et Pili.

2.6.2- Fonction des Pili

-Les fimbriae de type I, III, jouent un rôle dans l'adhésion des bactéries aux différents supports vivant ou non. Ils favorisent la formation de biofilm.

-Les fimbriae de type IV, retrouvés par exemple chez *Pseudomonas aeruginosa*, en plus de l'attachement, ils sont impliqués dans un autre mode de mobilité. On les retrouve au niveau des pôles des cellules bactériennes. Les fimbriae IV se contractent et se rétractent comme un ressort, pour permettre la mobilité de la bactérie.

-Le pili sexuel ou de type II: Il a un rôle dans la conjugaison bactérienne (un des 3 modes de transfert de matériel génétique d'une bactérie à une autre). Entraîner la création d'un pont cytoplasmique entre les 2 bactéries, permettant ainsi le passage d'une molécule de plasmide.

2.7- La capsule

2.7.1- Morphologie de la capsule

De nombreuses bactéries élaborent des substances organiques visqueuses qui entourent leur paroi d'une couche plus ou moins compacte. Cette couche est de nature gélatino-muqueuse est appelée Capsule. Toutes les bactéries ne produisent pas de capsule et chez une même souche, la formation est largement influencée par les constituants du milieu.

Les bactéries capsulées, après développement sur milieu gélosé, donnent des colonies lisses (appelées "S" pour "Smooth") ou muqueuses, alors que les bactéries non capsulées donnent des colonies rugueuses (dites "R" pour "Rough"); il s'agit dans ce dernier cas de bactéries ayant perdu la capacité de synthèse de la capsule suite à une mutation.

2.7.2- Composition chimique

Elle est habituellement de nature polysaccharidique (sucres sous forme d'acides uroniques tel l'acide galacturonique, l'acide glucuronique, mais aussi sous forme de sucres phosphorés), quoique dans le cas de *Bacillus anthracis* (le bacille du charbon) elle consiste en un polypeptide de l'acide D-glutamique.

2.7.3- Fonction de capsule

La capsule joue un rôle important non seulement dans l'attachement des bactéries mais aussi dans leur **virulence** en les protégeant contre la phagocytose. Les cellules non capsulées sont **avirulentes**.

NB/ La capsule est antigénique, les antigènes capsulaires sont dénommés **antigène K**. Leur étude permet la distinction de plusieurs sérotypes au sein de la même espèce bactérienne

2.8- Les cils et les flagelles

Les flagelles, encore appelés cils, sont des structures bactériennes facultatives. Ce sont des organes filamenteux, permettant la locomotion des bactéries. Chez les entérobactéries ils permettent une vitesse de déplacement de 10 à 20 micromètres par seconde; à l'échelle humaine, cette vitesse correspondrait à environ une soixantaine de km / h.

2.8.1- Mise en évidence

Indirecte : état frais (bactéries en mouvement) ou en milieu semi-gélosé. Plusieurs facteurs influence la mobilité tels que l'âge de la culture, la température (*Yersinia sp* est immobile à 37°C et mobile à 22°C).

Directe : en microscopie optique après avoir épaissi les flagelles par des colorations spéciales (Rhodes, Leifson : fuchsine basique) ; ou en microscopie électronique.

La meilleure méthode d'étude est l'observation au microscope électronique qui, seule, permet de détailler leur forme, leur mode d'insertion et leurs dimensions.

2.8.2- Structure des cils et flagelles

Ils sont longs d'une dizaine de μm et ont un diamètre qui varie entre 12 à 30 nanomètres. Ils sont composés de protéines (**flagellines**), d'un PM de 15 à 70 kDal. Leur nombre varie de 1 à 30 selon les espèces bactériennes. Ils sont souvent rencontrés chez les bacilles et rarement chez les coques. Ils jouent un rôle important dans la spécificité antigénique des bactéries (antigènes H). Vu leur faible épaisseur, pour pouvoir les observer au microscope photonique, on fait appel à des techniques de coloration spéciales qui permettent l'épaississement des flagelles (**Fig.13**).

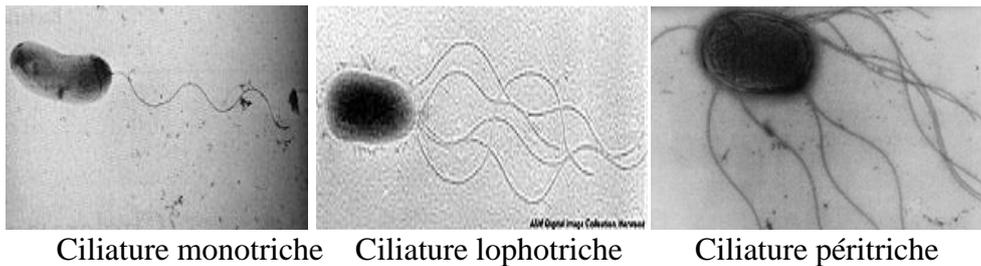


Figure 13 : Cellules flagellées de *Vibrio cholerae*.

Selon la disposition des flagelles (**Fig.15**) on distingue :

- Les bactéries **monotriches** (un seul flagelle polaire),
- Amphitriche** (un flagelle à chaque pôle),
- lophotriches** (une touffe de flagelles polaires)
- Péritriches** (flagelles répartis sur toute la surface de la bactérie).

Les spirochètes possèdent un flagelle interne appelé filament axial (**Fig.16**).



Ciliature monotriche

Ciliature lophotriche

Ciliature péritriche



Ciliature Amphitriche

Figure 15 : Différents systèmes ciliaires bactériens.

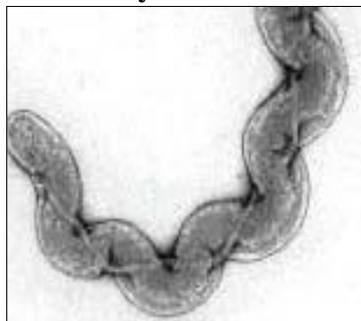


Figure 16: Leptospire avec flagelle interne.

2.8.3- Fonction des flagelles

Ils ont un rôle :

- Dans la **mobilité** de la bactérie (implantation **monotriche/polaire** ou **péritriche**).
- **Antigénique** : Les antigènes flagellaires (Ag H) déterminent différents sérotypes (exemple : sérotypage des *Salmonella*). La spécificité antigénique repose sur le nombre et la séquence des acides aminés de la flagelline.

2.9- La spore

Certaines bactéries ont le pouvoir de se transformer en petites unités ovales ou sphériques de résistance lorsque le milieu s'épuise en éléments nutritifs ou lorsque les conditions physico-chimiques extérieures changent, on les appelle « spores » ou « endospores » puisque leur formation est intracellulaire.

Les endospores caractérisent 3 principaux germes bactériens. *Bacillus*, *Clostridium* et *Sporosarcina*.

2.9.1- Morphologie de la spore :

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, subterminale (**Tab.1**). 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.

Tableau 1: les différentes formes et positions des spores

Forme	Position	Déformation
 Ovale	 Centrale	 Non déformante
 Sphérique	 Subterminale	 Déformante
	 Terminale	

2.9.2- Structure de la spore

Cette forme cellulaire est multicouche, chaque couche possédant des propriétés différentes (**Fig.17**).

- **Cellule sporale (core)**

La cellule sporale contient l'ensemble des structures cellulaires (ribosomes, ADN, ...). La cellule est très déshydratée (l'eau représente 25 à 55 % du poids humide). Elle est entourée par une membrane interne. L'ADN est protégé par des protéines (SAPS, *acid-soluble spore proteins* en anglais).

- ✓ **Membrane interne**

La membrane (interne) possède des lipides similaires à la cellule végétative, par contre, les protéines trouvées sont différentes. Ces modifications permettent de diminuer la perméabilité de la membrane.

✓ Cortex

Le cortex est composé de peptidoglycane. Sa composition est différente de celle du peptidoglycane de la cellule végétative.

✓ Membrane externe (Tunique)

La membrane externe se trouve entre le cortex et la tunique. Elle a un rôle important lors de la formation de la spore. Par contre elle ne possède pas de rôle connus dans les propriétés de résistances de la spore. Elle pourrait contenir des pigments servant à protéger des radiations ou servir de barrière de sélectivité.

✓ Exosporium

L'exosporium est une membrane très mince trouvée à la surface des spores de certaines bactéries. Son rôle est encore inconnu. Cette membrane pourrait servir de barrière contre les anticorps chez *Bacillus anthracis*.

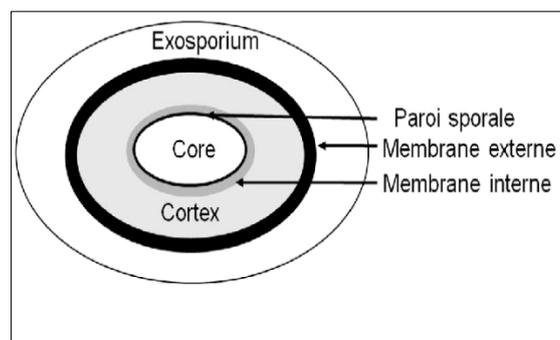


Figure 17: Structure générale d'une spore bactérienne.

2.9.3- Phénomène de sporulation

Durant la sporulation, la cellule végétative subit une déshydratation progressive du cytoplasme, par l'apparition de certains composés (dipicolinate de calcium), une densification des structures nucléaires et enfin la synthèse d'une paroi sporale épaisse, imperméable, et donc hautement résistante (**Fig.18**).

La spore qui prend naissance dans la cellule végétative est une cellule entièrement nouvelle et différente du point de vue structure, composition, chimique et enzymatique. La sporulation se fait à la fin de la phase exponentielle en un temps de sept heures et il se déroule en sept étapes :

Étape 1 : la sporulation débute par l'arrêt de la synthèse d'ADN, l'ARN et des protéines. Le premier changement consiste en la transformation du nucléotide en un filament chromatique axial qui s'étend sur toute la cellule.

Étape 2 : le filament nucléaire se condense à une extrémité et se brise. On remarque une autonomisation du futur noyau de la spore et division cellulaire asymétrique favorisée par un septum transversal subpolaire qui partage la cellule en deux parties inégales : le sporange et la future spore.

Etape 3 : la synthèse du septum se poursuit et elle aboutit à la formation d'une zone lisse, transparente, entièrement autonome, comprenant un noyau, un cytoplasme et une double membrane, l'une cytoplasmique, l'autre préfigurant la future paroi de la spore : c'est la préspore.

Etape de 4 à 7 : dans la sporange, la préspore va murir progressivement en s'entourant d'un certain nombre de téguments. Dans le cytoplasme de la spore mure individualisé et libéré la plupart des enzymes de cellule végétative sont dégradés et remplacés par un lot de constituant de spore à ce moment le cytoplasme est appelé core. Il contient un noyau comparable à celui de la cellule et tous le nécessaire à la synthèse des protéines et un système producteur d'énergie. Les enveloppes entourant le core sont au nombre de quatre : la paroi sporale (enveloppe interne= peptidoglycane). Le cortex (couche externe = lipoprotéine contenant 20% de sucre)

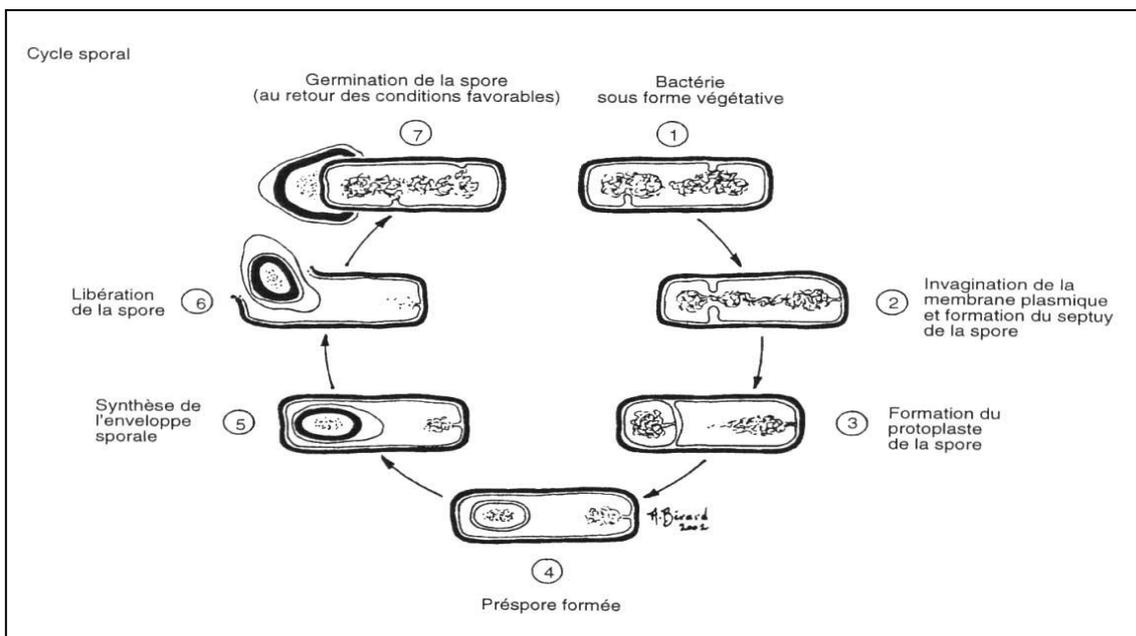


Figure 18: Etapes de l'endosporulation.

2.9.4- Propriétés de la sporulation :

La spore possède de nouvelles propriétés par rapport à la cellule végétative : dans la nature (conditions naturelles), la spore permet de résister aux manques d'eau et de nutriments. Expérimentalement on a démontré les propriétés suivantes :

- 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. Mais aussi **des toxines** (entérotoxine de *Clostridium perfringens*) ou des substances à activité biopesticide (toxines qui tue des insectes).

2.9.5- La Germination :

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

- **L'activation** : correspondant à une lésion des enveloppes sporales par des agents physiques (choc thermique) ou chimiques (acides, lysozyme) ou mécaniques (abrasion, choc).

- **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.

-**L'émergence de la nouvelle cellule végétative**, grâce à l'altération des enveloppes. (**L'excroissance**)