

## Chapitre II : La cellule bactérienne

### 1- Généralités

La cellule bactérienne est une structure unicellulaire procaryote avec une diversité de formes et de structures. Bien qu'elle soit plus simple que les cellules eucaryotes, elle est néanmoins capable d'effectuer des fonctions essentielles à la survie et à la reproduction des bactéries.

### 2- Techniques d'observation des bactéries

L'étude des bactéries exige des techniques et un processus à suivre :

**2.1. La culture bactérienne** : la croissance bactérienne peut être obtenue au laboratoire dans des milieux de culture, composés de nutriments, réunissant toutes les substances requises pour la croissance (carbone, énergie, azote, oligoéléments et autres).

**2.2. L'observation** : on distingue 2 types

#### 2.2.1. Observation macroscopique : (description des colonies)

Elle s'effectue à l'œil nu et consiste à la description des **colonies** ainsi que leur dénombrement.

L'aspect des colonies dépend du milieu, de la durée et la température d'incubation. Il ne pourra être décrit convenablement qu'à partir des colonies bien isolées. La description des colonies doit mentionner plusieurs éléments :

- La taille : punctiforme, petite, moyenne ou grande ;
- La forme : bombée, plate, ombiliquée, à centre surélevé ;
- L'aspect de la surface : lisse, rugueux, muqueux ;
- L'opacité : opaque, translucide, transparent ;
- La consistance : grasse, crémeuse, sèche, muqueuse ;
- Pigmentation (la couleur)

#### 2.2.2. Observation microscopique

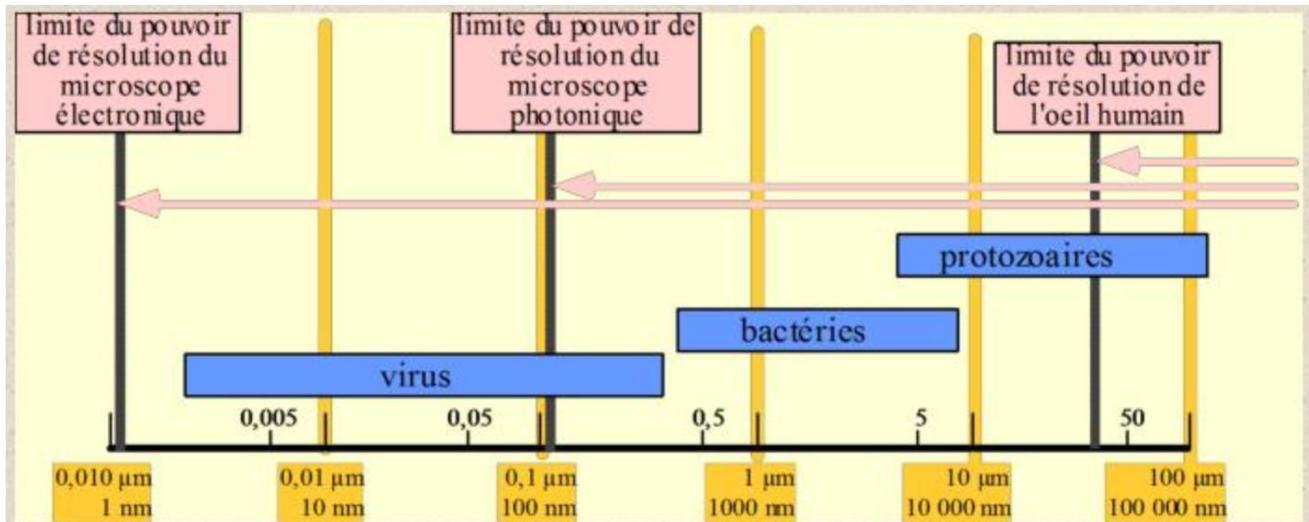
Compte tenu de leur taille (de l'ordre du micron), les **cellules bactériennes** sont visualisées au **microscope** sans ou avec coloration. L'observation microscopique permet la caractérisation de la morphologie et de certaines structures cellulaires.

✚ Observation directe (à l'état frais) : C'est l'examen microscopique des micro-organismes vivants entre lame et lamelle, sans aucune préparation de l'échantillon, permet d'observer la forme, la mobilité et le type de regroupement cellulaire.

✚ Observation par coloration : il permet d'observer des bactéries fixées (tuées) sur une lame (frottis bactérien) et ayant subi l'action d'un ou plusieurs colorants. Les colorations, réalisées sur des frottis sèches et fixes, sont classées en :

- **Coloration simple** : obtenue par l'utilisation d'un seul colorant (ex : bleu de méthylène), permet d'apporter des informations sur la forme, la taille et le type d'arrangement cellulaire.
- **Coloration différentielle** : permet la séparation des bactéries en groupes distincts, sur la base de propriétés spécifiques de coloration (ex : coloration de Gram, coloration de Ziehl Nielson, ...) ou des colorations spécifiques pour l'observation microscopique de structures cellulaires particulières (ex: coloration des endospores par le vert de malachite)

Ces observations concernent la microscopie photonique (optique), mais le pouvoir de résolution reste encore limité, pour révéler des éléments d'une taille de 5 à 10 nm, on fait appel à la microscopie électronique (la propriété des différentes structures de retenir ou de laisser passer un faisceau électrons).



### 3- La morphologie cellulaire

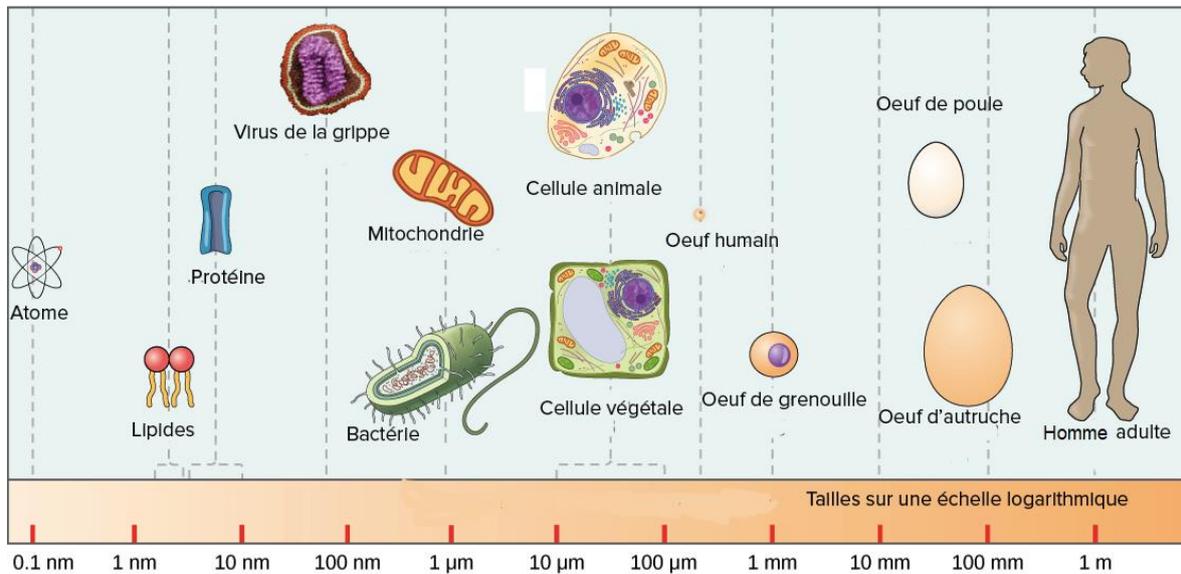
Les bactéries sont des êtres vivants unicellulaires, et leur structure fait encore l'objet de recherches. La cellule bactérienne est une structure incroyablement complexe malgré sa petite taille. Elle est constituée de plusieurs composants et organites qui lui permettent de mener à bien ses fonctions vitales.

Le terme **morphologie** réfère à la **forme** qu'adopte la cellule bactérienne elle-même. **L'arrangement** correspond au type d'organisation simple que prennent les cellules bactériennes entre elles. La morphologie des cellules bactériennes peut varier considérablement d'une espèce à l'autre,

#### 3.1. La taille

- La taille des bactéries peut varier considérablement, allant de quelques micromètres à quelques centaines de micromètres. En moyenne la taille se situe entre 1 et 10 μm
- Les bactéries les plus petites ont une taille d'environ 0,2 μm (*Chlamydia*)
- Les plus longues (certains spirochètes) peuvent atteindre 250 μm de long.

En moyenne la taille se situe entre 1 et 10 μm. Ce sont les plus petits organismes vivants doués d'autonomie.



### 3.2. La forme

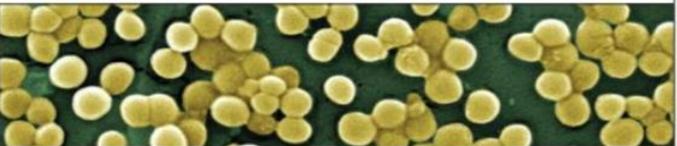
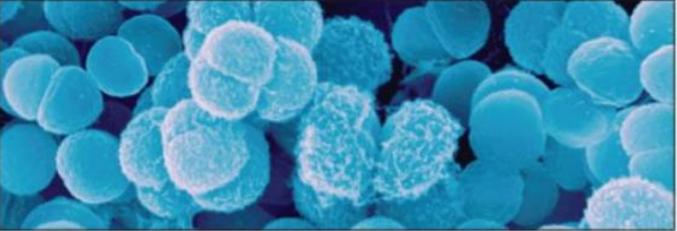
Le nom "bactérie" vient du grec "*bacteria*" qui signifie **bâtonnets** mais les bactéries peuvent présenter des formes très variées. Il existe de très nombreuses combinaisons de formes et d'arrangements chez les bactéries. D'ordinaire, des bactéries de la même espèce adoptent toutes la même forme et le même arrangement. Les bactéries peuvent être classées en différentes catégories. Les plus courantes sont :

- **Les cocci** : ce sont des bactéries sphériques (forme ronde) qui peuvent se présenter sous différentes formes, notamment :
  - ✓ des coques solitaires : les *Coccus*
  - ✓ des paires : les diplocoques
  - ✓ des chaînettes: les streptocoques
  - ✓ en amas (grappe de raisin) : les staphylocoques.
- **Les bacilles** : ce sont des bactéries de forme allongée, ressemblant à des bâtonnets. Ils peuvent être droits (bacilles droits) ou incurvés (bacilles courbés) et peuvent également former des chaînes (streptobacilles) ou des palissades (bacilles en palissade). Exemple : *E.coli*, *Salmonella*, *Bacillus* etc...
- **Les coccobacilles**: ce sont les bactéries dont la forme est **intermédiaire** entre celle d'un coccus (sphérique) et celle d'un bacille (allongé). Ex: *Yersinia*, *Pasteurella*, *Brucella*, *Acinetobacter*, *Moraxella*.
- **Les spirilles** : Ce sont des bactéries en forme de spirale ou de tire-bouchon. Elles sont généralement plus grandes que les Cocci ou les bacilles et peuvent être rigides ou flexibles. Certains spirilles peuvent également présenter une forme hélicoïdale.

Les bactéries spiralées présentent une ou plusieurs courbes ; elles ne sont jamais droites.

- ✓ Celles qui ont la forme d'un bâtonnet incurvé et qui ressemblent à des virgules s'appellent vibrions (*Vibrio cholerae*).
- ✓ D'autres, appelées spirilles (*Campylobacter jejuni*), ont une forme hélicoïdale, et un corps relativement rigide.
- ✓ Un troisième groupe est caractérisé par une forme flexible en hélice plus longue ; ce sont les spirochètes (*Treponema pallidum*).

- **Les pléomorphes** : Certaines bactéries peuvent adopter différentes formes selon les conditions environnementales. Elles peuvent passer d'une forme sphérique à une forme allongée, en fonction des facteurs de stress ou des changements de milieu.

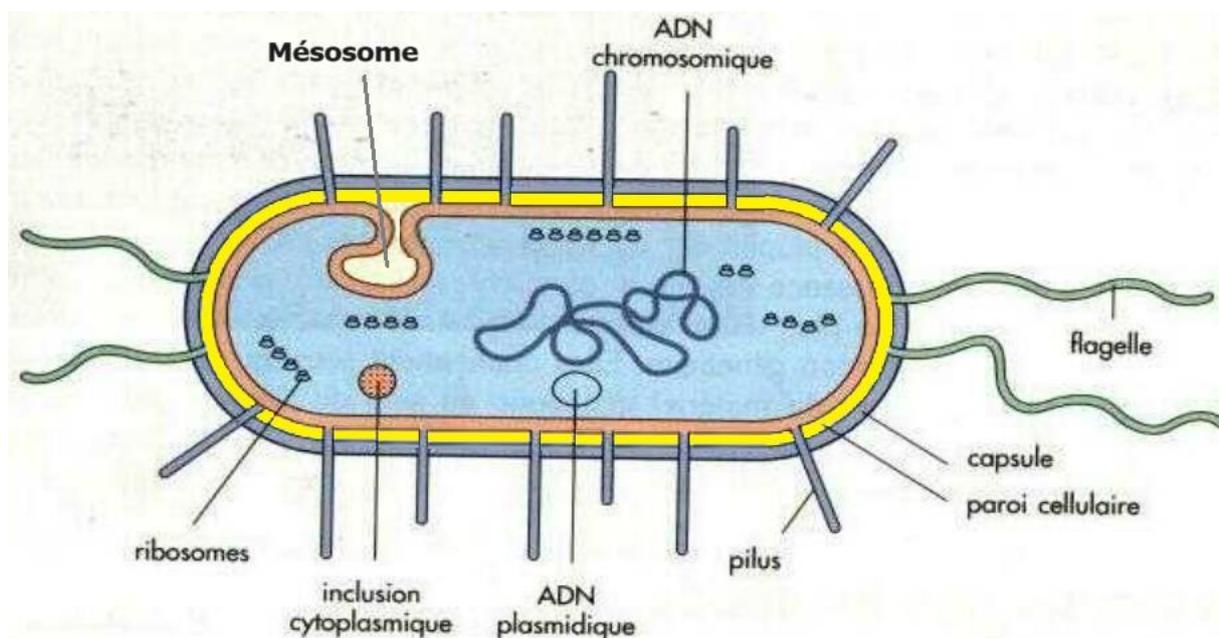
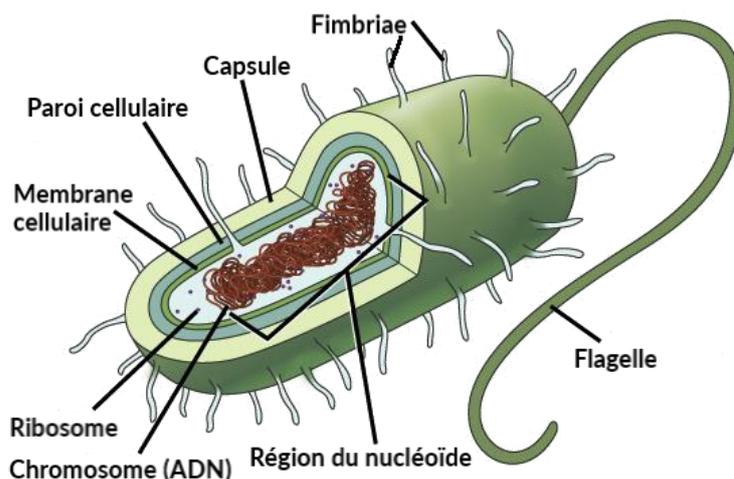
Formes et arrangements fréquents chez les bactéries		
<b>Formes bactériennes courantes</b>		
On appelle <i>morphologie bactérienne</i> la forme de la cellule bactérienne elle-même.		
Bacille		
Coque		
Vibron		
Spirille		
Spirochète		
N.B. Certains auteurs regroupent les formes vibron, spirille et spirochète sous le vocable de <i>formes spiralées</i> . De même, on rencontre parfois ce que certains auteurs appellent des <i>coccobacilles</i> , c.-à-d. des bactéries de forme ovale, intermédiaire entre la coque et le bacille.		
<b>Arrangements bactériens courants</b>		
L'arrangement correspond à l'organisation simple qui caractérise un ensemble de bactéries de la même espèce. Cet arrangement est souvent tributaire du mode de répllication des bactéries.		
<b>Arrangements en paires (Diplo-)</b>		
Diplobacille		
Diplocoque		
<b>Arrangements en chaînettes (Strepto-)</b>		
Streptobacille		
Streptocoque		
<b>Arrangements en grappe (Staphylo-)</b>		
Staphylocoque		
<b>Arrangements en tétrade ou en cube</b>		
Tétrade		
Sarcine		

### 3.3. Caractéristiques structurales essentielles des bactéries

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.

Concernant les structures **obligatoires**, on trouve le **cytoplasme**, généralement homogène 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** qui **se distingue par son aspect fibrillaire finement réticulé et n'est pas entouré d'une membrane**. La **membrane cytoplasmique** une enveloppe mince et délicate entoure le cytoplasme et possède deux feuillets phospholipidiques contenant des protéines. Au-dessus de la membrane cytoplasmique, on trouve la **paroi** qui forme une enveloppe rigide.

Les structures facultatives peuvent éventuellement s'y ajouter, tels que la **capsule**, qui est une couche externe protectrice, les **flagelles** qui confèrent à la bactérie sa mobilité, et enfin les **pili** ou **fimbriae**, qui sont plus fins que les flagelles, ou des structures génétiques comme les **plasmides** (molécules d'ADN extra chromosomiques).



Structure générale d'une bactérie

## La paroi

C'est une structure qui entoure la cellule, elle caractérise toutes les espèces bactériennes à l'exception des mycoplasmes qui sont des bactéries nues. C'est un véritable « **exosquelette** » qui confère à la cellule sa forme et sa rigidité. Cette consistance rigide est due à la présence d'une couche composée de **peptidoglycane** (appelé aussi muréine ou mucopeptide) qui est un **hétéropolymère** de molécules de protéines et de sucres qui fournit une forme et un soutien structurel à la cellule.

### Composition chimique de la paroi

Sur la base de la composition chimique de la paroi cellulaire, les bactéries peuvent être classées en deux groupes majeurs, les bactéries **Gram positif** et les bactéries **Gram négatif**. La coloration de Gram révèle de manière simple ces différences.

### Composition chimique de la paroi des bactéries à Gram<sup>+</sup> et à Gram<sup>-</sup>

	Bactéries à Gram +	Bactéries à Gram -
<b>Osamines (NAG) et (NAM)</b>	+++	+
<b>Acides aminés</b>	24-35%	50% env.
<b>Nombre</b>	4 à 10	16 à 17
<b>Acides teichoïques</b>	+++	-
<b>Oses</b>	20-60%	20-60%
<b>Lipides</b>	1-2.5%	10-22%

- **Osamines (sucres aminés)** : Ils sont liés par une liaison osidique pour former le peptidoglycane, qui est constitué de deux types d'osamines :
  - NAG = N-acétyl-glucosamine ;
  - NAM = acide N-acétyl-muramique.
- **Oses simples** : ils sont nombreux, glucose, galactose, mannose
- **Acides aminés** : Quatre acides aminés courants, D-alanine, L-alanine, acide glutamique et lysine ou acide diaminopimélique (structure analogue à la lysine mais possède une fonction -COOH sur le dernier carbone).
- **Des acides téichoïques** : Ils sont inclus dans le peptidoglycane des bactéries à Gram positif par le carbone 6 de la NAM. Les acides téichoïques sont composés de phosphates associés au glycérol ou au ribitol. Ainsi, on distingue : le polyglycérol phosphate, et le polyribitol phosphate.
- **Les lipides** : Ils sont quasiment absents chez les bactéries à Gram +. Il y a du lipopolysaccharide en quantité importante chez les bactéries à Gram -.

### Structure moléculaire de la paroi

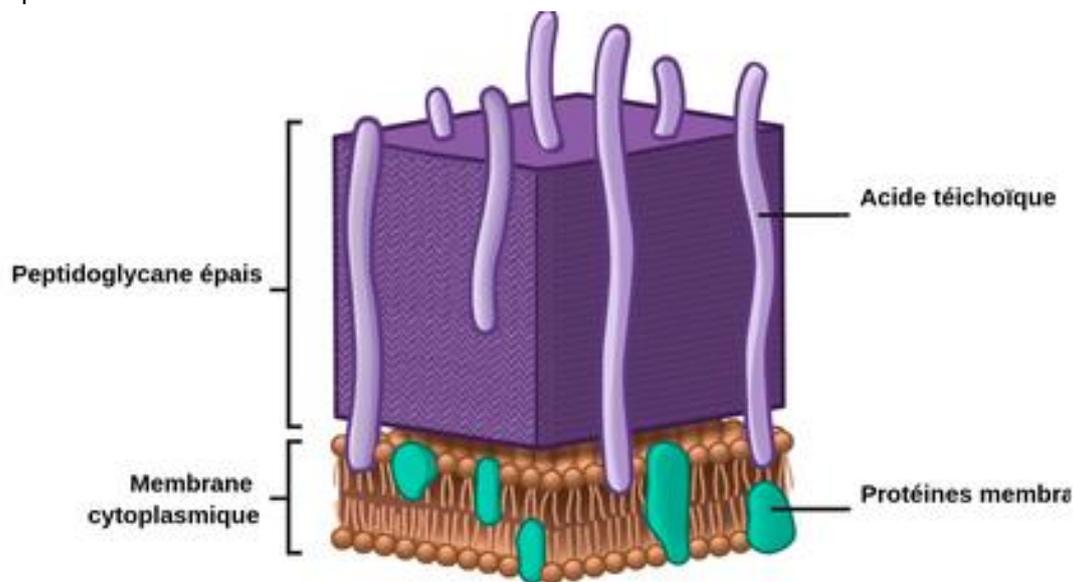
En microscopie électronique, on observe une différence notable dans la structure des parois des bactéries Gram positif et Gram négatif.

### - La paroi des bactéries Gram positives

Elle est en général plus épaisse (de 20 à 80 nm) et d'aspect plus homogène. Elle est constituée principalement de **peptidoglycane**. Des polysides, les acides teichoïques et lipoteichoïques (associés à la membrane plasmique par liaison avec les glycolipides) traversent cette couche de peptidoglycane. Les acides **téichoïques** ont de nombreuses fonctions, notamment :

- ✓ L'ancrage de la couche de peptidoglycane à la membrane plasmique sous-jacente
- ✓ La stabilisation de la paroi cellulaire.

D'autres polysides (polyoside C chez les streptocoques) ou des protéines (protéine M chez les streptocoques, protéine A et récepteur du fibrinogène chez *Staphylococcus aureus*) peuvent être associés à la paroi.



Structure de la paroi des bactéries à Gram positif

### - La paroi des bactéries Gram négatives

Elle est hétérogène, complexe et plus fine (de 6 à 15 nm) et constituée de :

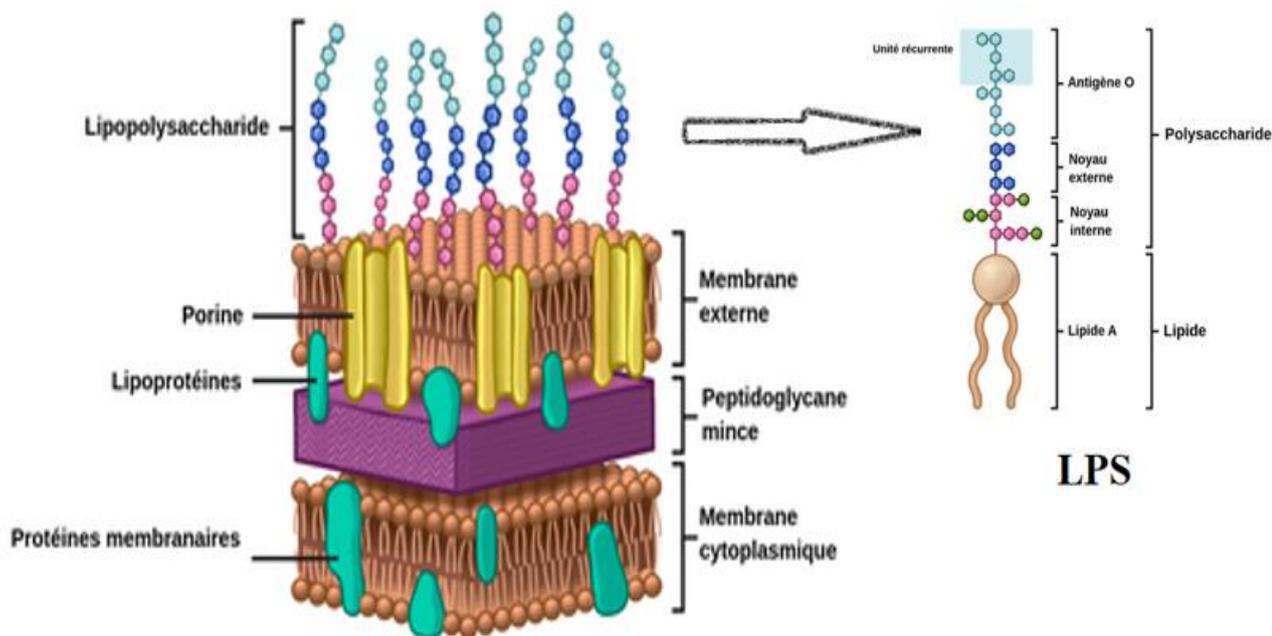
- ✓ L'espace périplasmique : il se trouve entre la membrane extérieure et la membrane cytoplasmique. Il est constitué d'une matrice semblable à un gel qui contient tout un éventail de protéines impliquées dans diverses fonctions cellulaires.
- ✓ Une fine couche de peptidoglycane, située dans l'espace périplasmique
- ✓ Une **membrane externe** constituée d'une double couche de phospholipides. Elle protège la bactérie et agit comme une barrière contre certains antibiotiques. Dans la membrane extérieure, on retrouve :

✚ **Des porines** : sont des protéines qui pénètrent la membrane extérieure des bactéries à Gram négatif et forment des pores qui permettent la diffusion passive de molécules hydrophiles entre la bactérie et son environnement extérieur.

✚ **Des lipopolysaccharides (LPS)** sont les composants majeurs de la membrane externe des bactéries à Gram négatif, et correspondent à l'**endotoxine** des bactéries Gram négatives.

Le LPS est constitué de trois parties

- ❖ La chaîne latérale O, contenant de nombreuses unités osidiques répétées et déterminant la spécificité antigénique (**antigène O**),
- ❖ Le polysaccharide central ou « core » : elle est commune à toutes les bactéries Gram négatif ;
- ❖ Le lipide A, enchâssé dans la membrane externe et support de la toxicité de la molécule.



Structure de la paroi des bactéries à Gram négatif

### Le peptidoglycane

Le constituant commun à toutes les parois des eubactéries est le peptidoglycane. C'est une macromolécule constituée de :

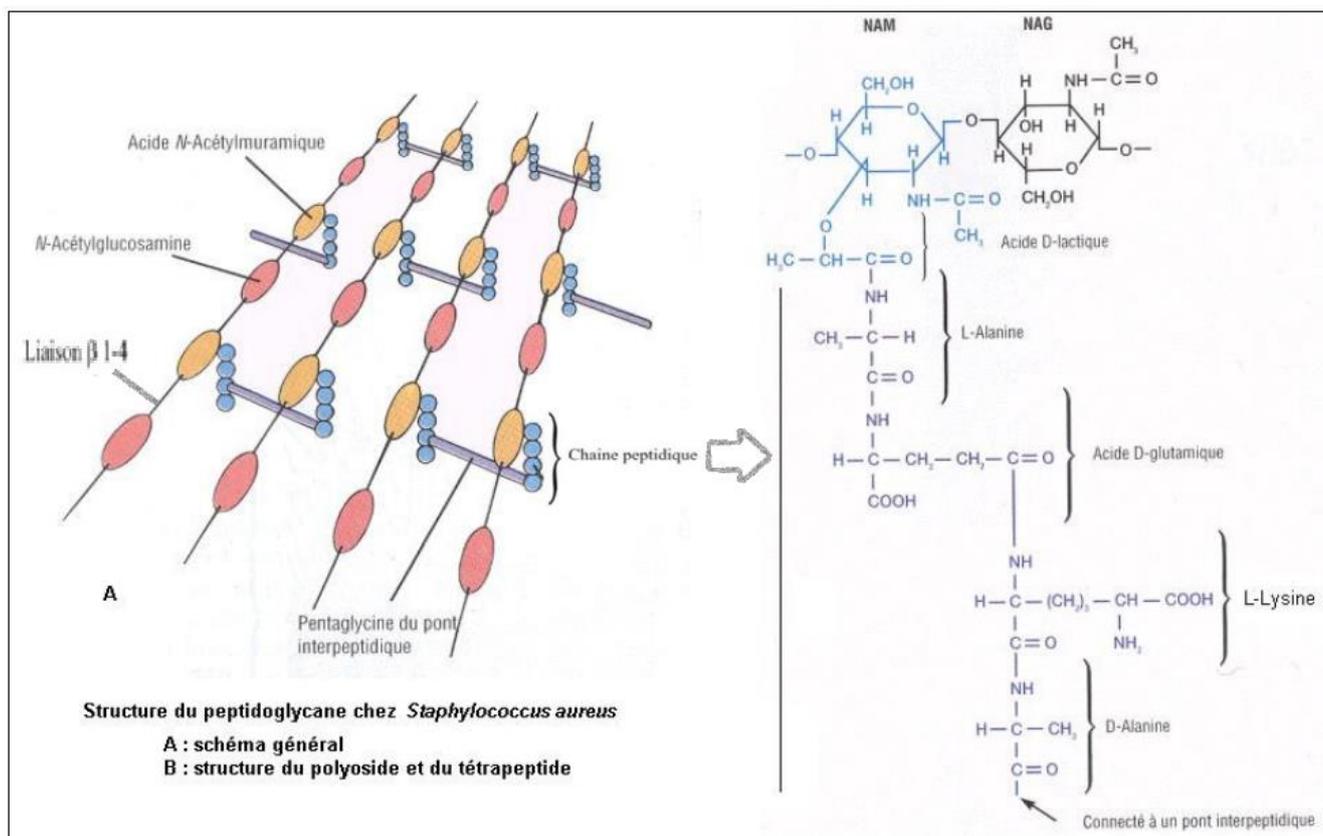
1- Des chaînes poly-osidiques parallèles. Chaque chaîne est un polymère alterné de **N-acétylglucosamine (NAG)** et d'**acide N-acétylmuramique (NAM)** unis par des liaisons glycosidiques **bêta 1-4**. La NAG est un glucose N-acétylé, tandis que le NAM est un glucose N-acétylé unie à une molécule d'acide lactique.

2- Des ponts tétra-peptidiques reliant les chaînes poly-osidiques les unes aux autres. Ce tétra-peptide substituant le carboxyle du NAM est un peptide constitué de quatre acides aminés qui peuvent être les suivants :

- ✓ La L-alanine,
- ✓ L'acide D -glutamique,
- ✓ La L-lysine ou l'acide diamino-pimélique (qui est un dérivé de la lysine)
- ✓ La D-alanine.

3- Des ponts inter-peptidiques reliant les tétra-peptides entre deux polysides afin d'assurer la cohésion des chaînes polysidiques entre elles. En particulier, chez *Escherichia coli*, l'acide diaminopimélique d'un tétra-peptide est uni au D-alanine d'un autre tétra-peptide. Chez certaines espèces deux rangées ne sont pas liées directement mais par l'intermédiaire d'une chaîne peptidique par exemple la pentaglycine chez *Staphylococcus aureus*.

L'ensemble forme un réseau tridimensionnel (3D) tout autour de la cellule bactérienne.



Structure moléculaire du peptidoglycane

Le peptidoglycane est synthétisé par des enzymes situées dans le cytoplasme, la membrane plasmique et l'espace périplasmique. Certaines de ces enzymes, appelées protéines liant la pénicilline (PLP ou PBP), sont la cible des antibiotiques de la famille des  $\beta$ -lactamines (pénicillines et céphalosporines), qui inhibent donc la synthèse du peptidoglycane.

### Fonctions de la paroi

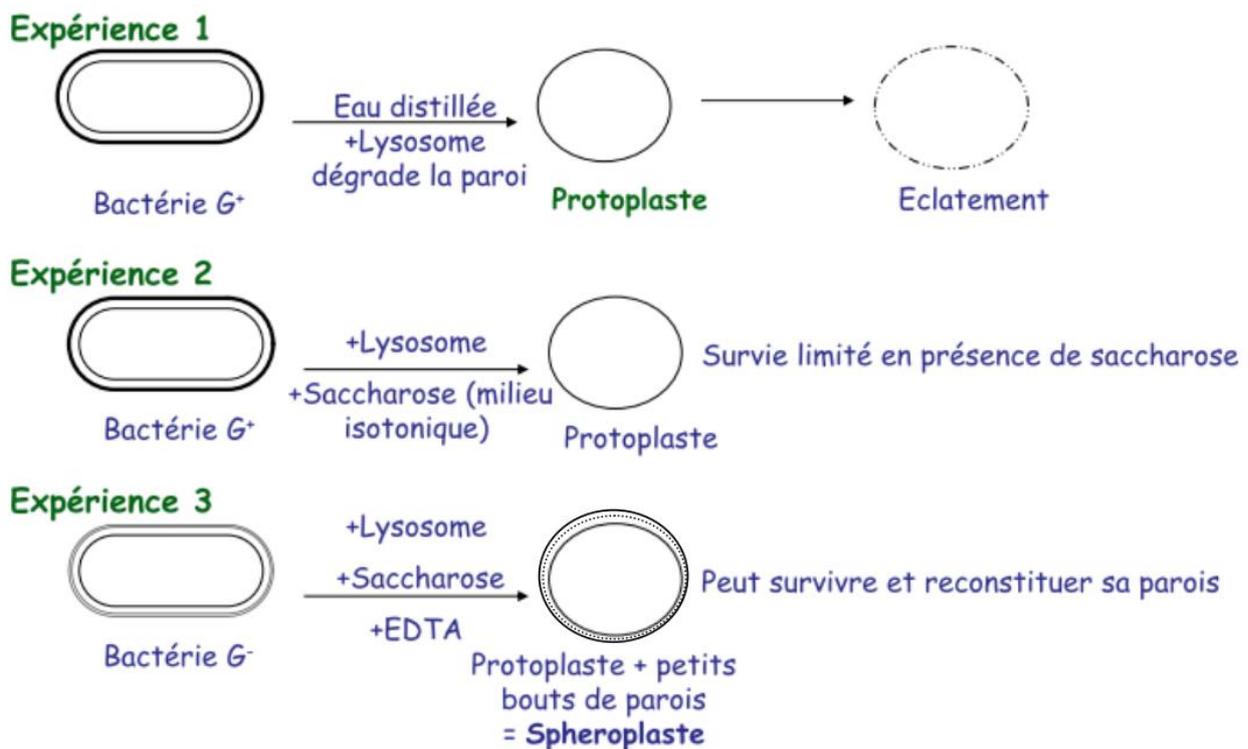
La paroi bactérienne est une structure dynamique, qui joue un rôle crucial dans leur survie et leur fonctionnement. Son rôle est de :

- Conférer l'intégrité structurale et de la forme des bactéries
- Élément essentiel de l'identification (Gram+ et Gram-).
- Elle représente l'origine de la formation du septum de division cellulaire des bactéries
- La paroi possède également des propriétés antigéniques (Ag O du LPS)
- Elle porte des récepteurs de bactériophages (lysotypie) et d'antibiotiques (la pénicilline agit au niveau de la paroi et perturbe l'assemblage du peptidoglycane ce qui provoque l'éclatement de la bactérie).
- Protéger la bactérie contre les agressions extérieures (rôle protecteur) et permet le maintien d'une grande **pression osmotique** à l'intérieur de la bactérie ce qui lui permet de garder une forme stable, et résister à l'éclatement.

Pour mettre en évidence cette fonction, on peut utiliser le lysozyme, substance communément présente dans les liquides biologiques tels que les sécrétions (larmes, salives, etc.) ou dans le cytoplasme des cellules phagocytaires. Le lysozyme clive les liaisons  $\beta$  (1-4) entre le NAM et le NAG. Il en résulte une

destruction totale du peptidoglycane chez les bactéries Gram(+), et une fragmentation de celui-ci chez les Gram(-) car le peptidoglycane est moins accessible à cause de la membrane externe.

- 1- On place une souche de *Bacillus subtilis* (bacille Gram+) en milieu hypotonique : la bactérie se comporte de façon normale.
- 2- Si on ajoute du lysozyme à cette suspension, les bactéries éclatent.
- 3- On fait la même expérience en milieu isotonique (saccharose), les bactéries n'éclatent pas en présence de lysozyme, mais elles prennent une forme sphérique appelée : **PROTOPLASTE**. Les protoplastes ne possèdent plus les propriétés antigéniques de la bactérie, ne se divisent plus, ne fixent plus les bactériophages et sont incapables de mobilité.
- 4- On fait la même expérience avec *Escherichia coli* (bacille Gram-) : en milieu isotonique additionné du lysozyme en plus de l'EDTA pour fragiliser la membrane externe, les bactéries prennent une forme sphérique appelée : **SPHEROPLASTE**. Les sphéroplastes conservent toutes les propriétés initiales de la bactérie. Ils peuvent restaurer leur paroi et retrouver leur forme initiale et leur protection contre la lyse osmotique.



**Protoplaste:** Cellule bactérienne libérée de sa paroi mucopolysaccharidique

**Sphéroplastes:** Protoplaste isolé des cellules bactériennes Gram-

### Coloration de Gram

C'est une méthode de coloration différentielle développée par le scientifique danois Hans Christian Gram en 1884, pour classer les bactéries en deux catégories distinctes : Gram positives et Gram négatives. Ceci est possible en colorant 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. Décoloration par l'alcool ou un mélange alcool + acétone.

Après cette étape, certaines bactéries restent colorées en violet, elles sont dites Gram+ ; d'autres se décolorent, elles sont dites Gram-.

Pour pouvoir bien observer les bactéries décolorées, on utilise la fuchsine (contre coloration) après le traitement par l'alcool.

Les bactéries Gram+ gardent leur coloration violette alors que les Gram- prennent une coloration rose.

Ceci montre qu'il existe des différences (de structure et/ou chimiques) entre ces deux types de bactéries :

- Les parois des bactéries à **Gram négatif** ont un taux élevé de **lipides** et une fine couche de peptidoglycane. L'alcool contenu dans le décolorant extrait le lipide, ce qui rend la paroi des bactéries à Gram négatif plus **poreuse**, et **incapable** de retenir le complexe **violet-lugol**, décolorant ainsi la bactérie.
- Le peptidoglycane plus épais et le degré de réticulation plus élevé piège le complexe violet-lugol plus efficacement, ce qui rend la paroi **Gram positif** moins sensible à la décoloration.

