

## Chapitre II : La cellule bactérienne (suite)

### La membrane cytoplasmique

Appelée aussi membrane interne. Elle est en contact direct avec le cytoplasme qu'elle délimite de manière continue et s'étend sous la paroi des bactéries à Gram positif et à Gram négatif.

#### Structure et composition chimique

La membrane plasmique de la bactérie possède le même type de structure que celle d'une cellule eucaryote (bicouche phospholipidique).

C'est une structure mince d'épaisseur de 8 nm environ, à la fois souple et résistante et comporte deux feuillets denses limitant un feuillet interne transparent (structure en double feuillet).

L'analyse chimique révèle trois types de substances : des lipides, des protéines et des glucides :

- Environ 30 à 40% des molécules constituant la membrane sont des lipides (phospholipides) qui forment une bicouche lipidique. Ils ont une structure asymétrique avec deux extrémités distinctes : une extrémité polaire qui interagit avec l'eau (hydrophile) et une autre extrémité non polaire (hydrophobe).

A la différence des eucaryotes, les stérols (notamment le cholestérol) qui stabilisent la structure des membranes cytoplasmiques sont absents chez les procaryotes. Ce rôle est probablement assuré par des lipides appelés les **hopanoïdes**.

- Les protéines membranaires sont les molécules majoritaires de la membrane (60% à 70%). On distingue les protéines **périphériques** associées avec des liaisons faibles à la membrane avec un caractère polaire (solubles dans l'eau), et les protéines **transmembranaires** (intrinsèques) qui présentent un caractère amphipatique.

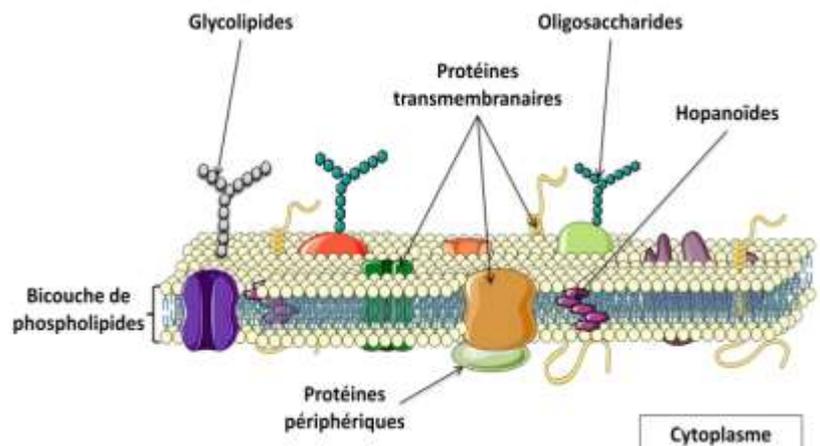


Figure : La structure de la membrane cytoplasmique bactérienne

- Les glucides sont quantitativement des constituants mineurs et souvent associés aux lipides (glycolipides) ou aux protéines (glycoprotéines).

#### Fonction de la membrane cytoplasmique

La membrane cytoplasmique des bactéries remplit plusieurs rôles essentiels :

- ✓ Elle sépare le cytoplasme de l'environnement extérieur, agissant comme **une barrière perméable et sélective**. Elle permet le passage de molécules lipophiles tout en empêchant le passage des molécules hydrophiles.
- ✓ La membrane cytoplasmique des bactéries abrite des systèmes spécifiques de **transport actif**, nécessitant de l'énergie (généralement fournie sous forme d'ATP). Ces systèmes permettent le déplacement de différentes molécules, y compris les ions et les sucres, dans les deux sens.
- ✓ **Fonction respiratoire** : La membrane cytoplasmique des bactéries joue un rôle équivalent à celui des mitochondries chez les cellules eucaryotes par transport d'électrons et phosphorylation oxydative chez les espèces bactériennes aérobies.

- ✓ 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 ;
- ✓ Elle est le support d'enzymes et de transporteurs de molécules impliqués dans la biosynthèse de l'ADN, des polymères de la paroi et des lipides membranaires.
- ✓ Elle représente le site de fixation des flagelles et de l'initiation de leur mouvement.

L'invagination de forme vésiculaire, tubulaire ou lamellaire de la membrane cytoplasmique que constitue le **Mésosome** porte un site d'attachement du chromosome bactérienne. Il semble intervenir dans la régulation de la division cellulaire.

La cellule se divise par scissiparité, la séparation commence par une invagination de la membrane cytoplasmique qui est progressivement tapissée par la paroi (formation septum), le septum se clive et les cellules se séparent.

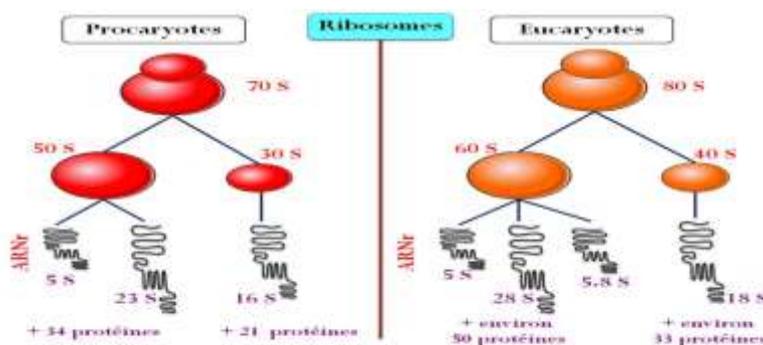
## Le cytoplasme

Le **cytoplasme** est un élément constant présent chez toutes les bactéries. Il occupe tout l'espace intracellulaire et se présente comme un hydrogel colloïdal qui contient 80 % d'eau et des substances organiques et minérales, à une pression interne considérable (5 à 20 atmosphères).

La structure du cytoplasme bactérien est beaucoup plus simple que celle du cytoplasme des cellules eucaryotes, ne possédant pas de structures intracellulaires distinctes et ne contenant pas de mitochondries. Il contient en suspension le matériel génétique bactérien (chromosome et plasmide), ainsi qu'une grande quantité d'ARN solubles (ARN messager et ARN de transfert) et surtout d'ARN particulaire ou ribosomal, et quelques inclusions facultatives.

### a) Ribosomes

Au nombre de 15000 environ par bactérie, ce sont les organites les plus abondants et importants du cytoplasme granulaire. Dans les cellules procaryotes, les ribosomes représentent 90% de l'ensemble de l'ARN. Les ribosomes procaryotes ont un coefficient de sédimentation de 70 S. Cette différence

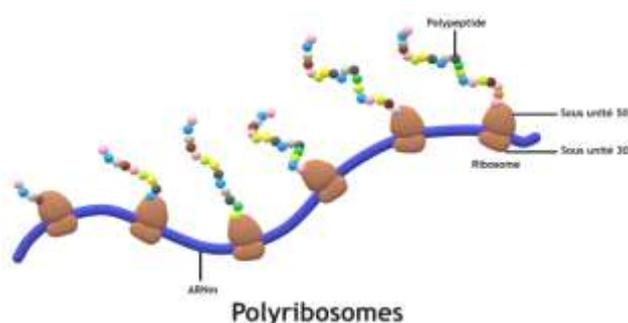


Composition des ribosomes procaryotes vs ribosomes eucaryotes

est due à la taille plus petite des sous-unités ribosomiales chez les procaryotes (30 S et 50 S) par rapport aux eucaryotes (40 S et 60 S).

Les ribosomes bactériens sont composés d'environ 33% de protéines ribosomiales et 67% d'ARN (ARNr16S, ARNr23S et ARNr5S). La sous-unité 30S contient de l'ARNr16S et est la cible des aminosides et des cyclines ; la sous-unité 50S est constituée d'ARNr23S et l'ARNr5S et est la cible des macrolides et apparentés.

Lorsque les cellules sont métaboliquement actives, les ribosomes peuvent former des **polyribosomes**, une chaîne de ribosomes liés à une seule molécule d'ARN messager.



### b) Chromatophores

Le chromatophore des bactéries photosynthétiques joue le rôle de chloroplaste des plantes supérieures. Ils contiennent des pigments photosynthétiques appelés **bactériochlorophylles** qui assurent la conversion de l'énergie lumineuse en énergie chimique.

### c) Granulations et Substances de réserves

Les bactéries peuvent accumuler des matériaux organiques ou inorganiques consistant généralement des réserves d'énergie. Lorsque ces substances atteignent une taille suffisante, elles forment des granulations. Les principales substances de réserve retrouvées sont : le glycogène, le fer et le soufre, le  $\beta$ -hydroxybutyrate et les polyphosphates inorganiques.

### d) Vacuole à gaz

Ces vésicules remplies de gaz sont rencontrées chez les membres des trois principaux groupes procaryotes photosynthétiques : les cyanophycées, bactéries pourpres et les bactéries vertes. Elles permettent à ces micro-organismes d'habitat aquatique, de flotter et d'ascensionner à la surface de l'eau.

## L'appareil nucléaire

### Morphologie

Toute bactérie possède au moins un **chromosome** qui, associé à des protéines constitue l'appareil nucléaire ou le génome bactérien et représente le support de toute l'information génétique nécessaire à la vie et à la reproduction de la cellule bactérienne.

L'ADN chromosomique est constitué d'une double hélice d'**acide désoxyribonucléique (ADN) circulaire**. Cet ADN bicaténaire est pelotonné et organisé en 50 à 100 boucles super-enroulées, stabilisées par des protéines qui assurent sa condensation en une structure visible au microscope appelée **nucléotide**. L'ADN bactérien n'est pas enfermé dans une membrane nucléaire et n'est pas lié à des histones. Il est attaché à la membrane cytoplasmique. La taille de ce chromosome diffère selon les genres, les espèces ou les souches. Il mesure à près de 1 mm de long (1000 fois la longueur de la bactérie) et 3 à 5 nanomètres de large.

- Le chromosome d'*E. coli* comprend environ 4700 kpb
- Le chromosome de *Clostridium perfringens* comprend 3500 kpb
- Le chromosome de *Mycoplasma pneumoniae* comprend 600 kpb



Certains procaryotes contiennent jusqu'à 4 chromosomes de taille inégale, par exemple les génomes des espèces *Vibrio cholerae* et *Brucella melitensis* contiennent deux chromosomes circulaires.

## Composition chimique

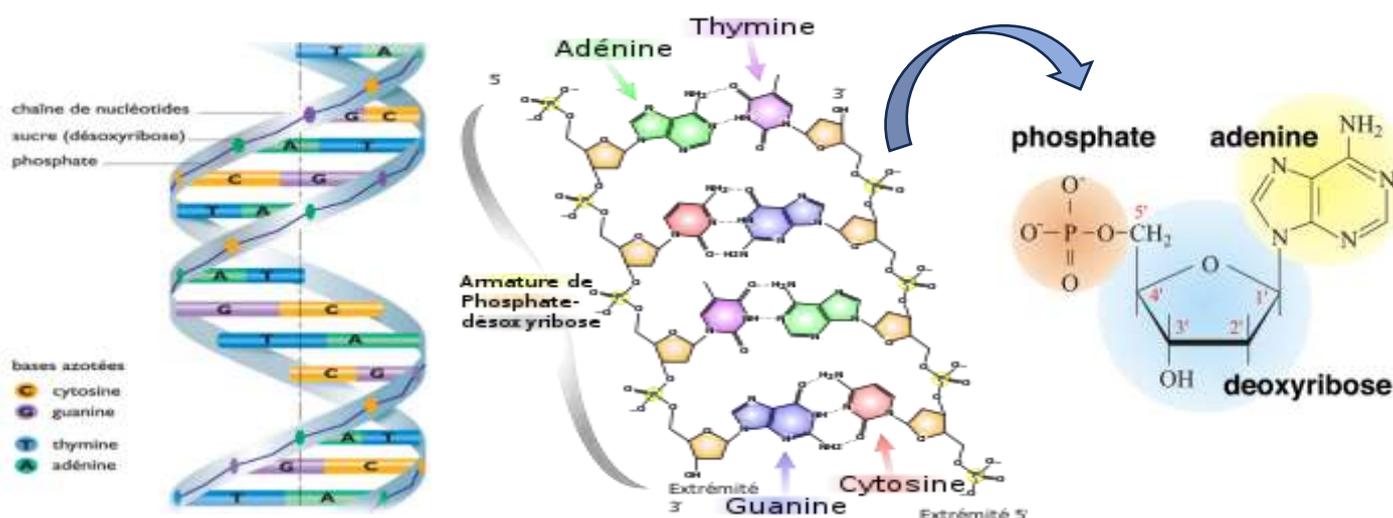
L'analyse chimique de l'appareil nucléaire indique qu'il est composé de 60 % d'ADN (le chromosome), de 30 % d'acide ribonucléique ou ARN (rôle de structuration) et d'environ 10 % de protéines. Ces dernières sont représentées en particulier par les ADN polymérases, les topo-isomérases (surtout les ADN gyrases) et des ARN polymérases.

L'ADN ou acide désoxyribonucléique est un polymère de PM élevé, composé d'unités appelées nucléotides. Le Nucléotide est formé par la combinaison de trois substances :

- Une base purique (Adénine A et Guanine G) ou pyrimidique (Cytosine C et Thymine T),
- Un sucre (désoxyribose)
- Le groupement phosphoré : est un phosphate diester en 3' et 5' du désoxyribose.

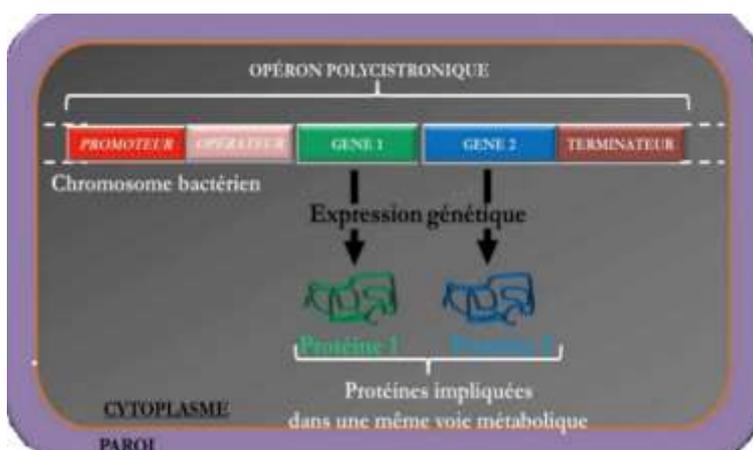
Le rapport (A+T)/G+C) mieux connu sous le nom de coefficient de Chargaff varie selon les espèces. On l'exprime en GC% : 50% chez *E.coli*, 60% chez *Pseudomonas*, 25 à 45% chez *Clostridium*....

La molécule d'ADN est très riche en charges électrique négatives (riche en résidus phosphate), mais elle est complexée à des cations  $Mg^{2+}$  et  $Ca^{2+}$  et avec des protéines basiques (polyamines ou protéines P, voisines des histones de l'ADN des eucaryotes), assurant la neutralité électrique et la stabilité de l'ADN. Les deux brins d'ADN antiparallèles sont maintenus en une double hélice par des liaisons hydrogènes entre les bases azotées de manière spécifique (complémentarité de bases : A=T et C=G).



Les chromosomes sont composés de **gènes** qui sont des segments d'ADN qui déterminent la synthèse des protéines (4300 gènes chez *Escherichia coli*). Les séquences non codantes représentent en moyenne 12% du génome.

Contrairement au chromosome des eucaryotes la plupart des génomes procaryotes sont organisés en **opérons**, qui sont des unités fonctionnelles de gènes adjacents dont l'expression est coordonnée par un même **promoteur** et qui codent pour des protéines impliquées dans une même fonction physiologique.



## Réplication

Chez les bactéries, la réplication du chromosome doit avoir lieu une seule fois par cycle cellulaire. Dans de bonnes conditions de croissance, la bactérie *Escherichia coli* se divise toutes les 20 minutes ; le matériel génétique doit être dupliqué avant la division cellulaire.

La réplication est « **semi-conservatrice** ». Sur les deux brins de toute molécule d'ADN, il y a toujours :

- Un brin d'ADN ancien qui provient de l'un des 2 brins d'ADN de la cellule mère.
- Un brin d'ADN jeune, nouvellement formé.

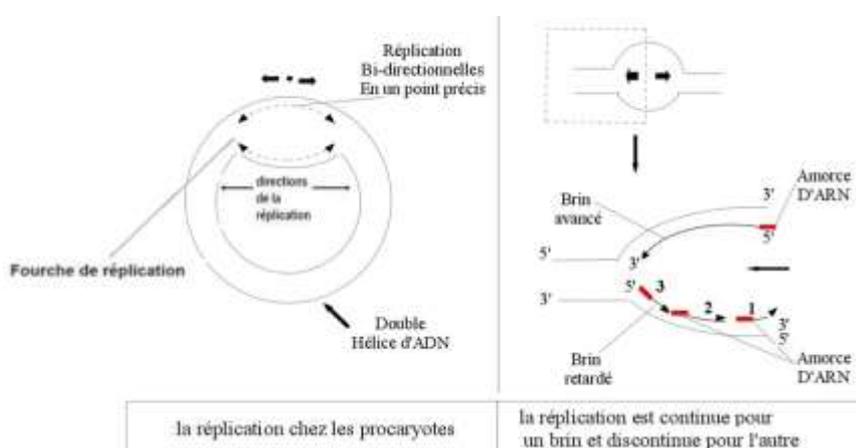
La réplication de l'ADN bactérien se déroule selon le mécanisme suivant :

### a. Point d'initiation ou origine de la réplication

Chez les procaryotes (bactéries), la réplication débute en un point précis du chromosome dit point **d'initiation** ou **origine de la réplication (ORI)**.

La réplication est **bidirectionnelle** selon le modèle **Thêta ( $\theta$ )**, à partir de ce point d'initiation, la réplication procède dans les deux directions en formant deux **fourches de réplication** du fait de leurs structure en forme d'**Y**.

Ainsi, ces 2 fourches commencent à chaque origine et se déplacent dans des directions opposées, chacune s'éloigne de son origine jusqu'à ce que l'ADN du chromosome bactérien circulaire soit répliqué ».



### b. Addition des nouveaux nucléotides (élongation)

La réplication de l'ADN se produit de façon **antiparallèle** :

- Dans le sens **5' – 3'**.
- De façon complémentaire, selon les règles classiques d'appariements : **A – T** et **C – G**.

### c. La réplication est discontinue pour l'un des deux brins.

La réplication est continue pour un brin, il est dit **brin précoce** ou avancé et discontinue pour l'autre brin, il est dit **brin retardé**.

En effet, la synthèse d'un brin d'ADN n'est possible que dans le sens **5' – 3'**. De ce fait les nucléotides peuvent se lier, de façon continue au niveau de l'extrémité libre **3'** de l'un des 2 brins parentales. Par contre, pour l'autre brin parental les nucléotides ne peuvent pas se lier à l'extrémité **5'**. La solution à ce problème se fait par addition successive de petits fragments d'ADN, appelés fragments d'**OKAZAKI**. Ces petits fragments sont synthétisés dans le sens contraire de la direction générale de propagation, mais sont bien synthétisés de manière antiparallèle (par rapport au brin modèle d'ADN).

Cette synthèse discontinue (du brin suiveur) est légèrement en retard par rapport à la synthèse continue de l'autre brin (meneur), d'où les appellations de brins « **retardé** » et brin « **précoce** ».

#### d. Les enzymes nécessaires à la réplication

##### • Hélicases et protéines SSB

La progression de la réplication implique le déroulement de la double hélice parentale, avec intervention de plusieurs enzymes :

1. Les hélicases : déroulent une double hélice d'ADN en supprimant les liaisons hydrogène qui unissent les bases complémentaires.

2. Les protéines SSB (single strand DNA binding) qui se fixent sur chacune des chaînes de l'hélice parentale dès que le déroulement se produit empêchant ainsi que les 2 chaînes se réappariant. De plus, elles empêchent qu'une chaîne se replie sur elle-même en formant une boucle.

##### • ADN primase (ARN polymérase ADN-dépendante)

L'addition de nucléotides pour former un brin d'ADN est catalysée par l'ADN polymérase. Cependant, l'ADN polymérase ne peut pas initier la synthèse d'un brin d'ADN par elle-même, elle est uniquement capable d'allonger un brin existant de nucléotides en ajoutant un nucléotide à l'extrémité 3'OH d'un acide nucléique. Alors, c'est là qu'une **ARN polymérase** appelée **ADN-primase** capable de commencer (**amorcer**) une chaîne d'acide nucléique (ARN ou ADN) entre en jeu. Ainsi, la synthèse d'un nouveau brin d'ADN commence par un petit fragment d'ARN, appelé "**amorce**", synthétisé par l'**ADN-primase** (car "amorce" se dit "primer" en anglais).

##### • L'ADN polymérase III

Cet enzyme prendra ensuite le relais, allongeant donc l'amorce par de l'ADN. Le brin précoce n'a besoin que d'une amorce au niveau du site de réplication. Par contre, pour le brin tardif, ces amorces sont produites à intervalles réguliers où elles sont prolongées par l'ADN polymérase III pour initier chaque fragment d'OKAZAKI. La synthèse de chaque fragment se termine lorsque cette ADN polymérase III rencontre l'amorce d'ARN attachée à l'extrémité 5' du fragment précédent.

##### • ADN polymérase I : Hydrolyse et remplacement des amorces d'ARN

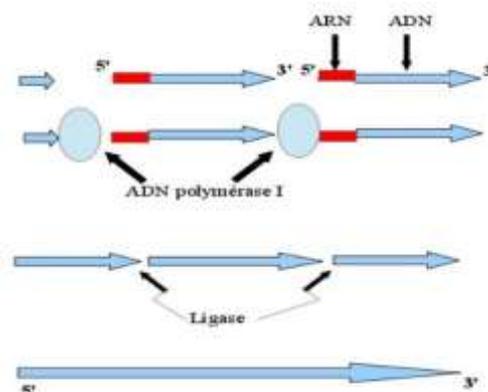
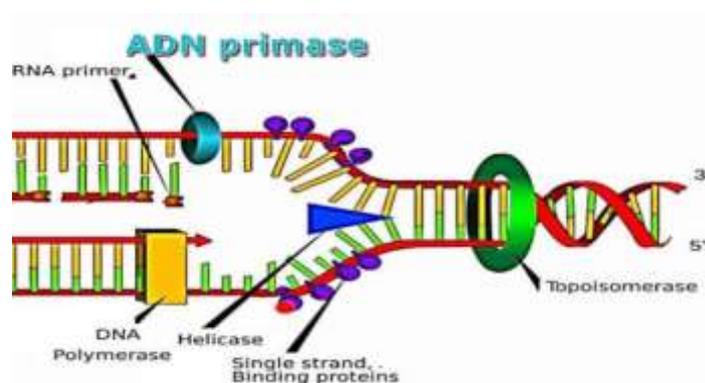
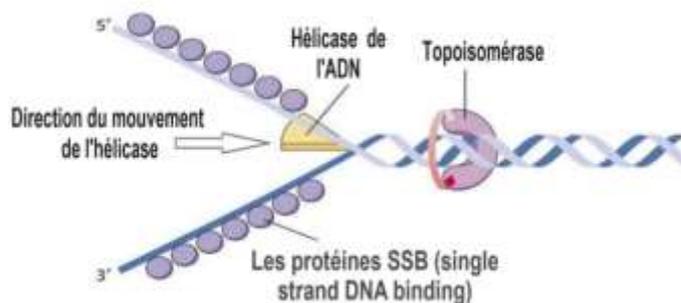
Les amorces d'ARN seront ensuite détruites, hydrolysées et remplacées par l'ADN. L'ADN polymérase I est douée à la fois :

1. de propriétés exonucléases **5'-3'**, qui servent à hydrolyser les amorces d'ARN.

2. de propriétés polymérasiques, permettant d'ajouter des désoxyribonucléotides en **3'** du fragment d'ADN précédent.

##### • Ligase

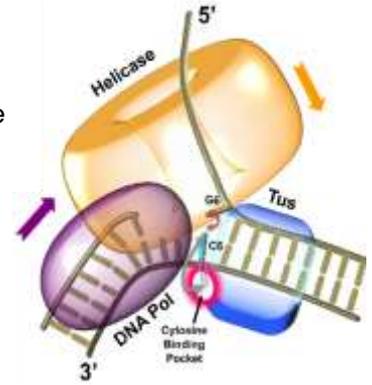
Les fragments d'ADN libérés de leur amorce d'ARN seront soudés les uns aux autres par une ligase.



Hydrolyse et remplacement des amorces d'ARN

### e. La terminaison de la réplication

- La terminaison a lieu lors de la rencontre des deux fourches.
- Elle se fait au niveau d'une séquence **TER** située à l'opposé de l'origine de réplication reconnue par la **protéine Tus**, Le complexe **Ter-Tus** bloque les fourches, mettant fin à la réplication
- Lorsque la réplication d'un chromosome circulaire est terminée, les 2 molécules obtenues sont reliées ensemble, comme les maillons d'une chaîne (concaténées).
- La séparation et la ligation se font par une **topoisomérase IV**



### L'ADN plasmidique

#### Structure et caractères

En plus du matériel génétique présent dans le nucléoïde, beaucoup de bactéries possèdent des molécules d'ADN extra-chromosomiques appelées "**Plasmides**". Ce sont de petites molécules **circulaires** d'ADN bicaténaire indépendant du génome bactérien, avec un nombre de nucléotides inférieur à 10 kb. Ils se trouvent quasi-exclusivement dans les bactéries, à l'exception notable du plasmide 2Mu que l'on trouve hébergé par le microorganisme eucaryote *Saccharomyces cerevisiae* (levure du boulanger).

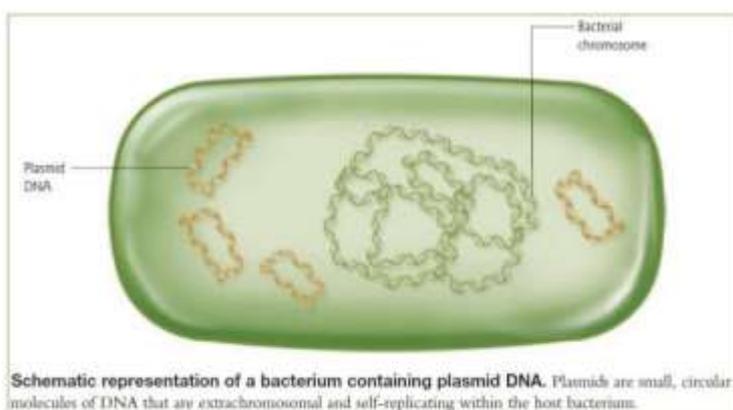
La taille des plasmides varie énormément. Le plasmide F d'*Escherichia coli* est assez moyen à cet égard et représente environ 1% de la taille du chromosome d'*E. coli*.

Les plasmides ont relativement peu de gènes, généralement moins de 30. Leur information génétique n'est pas nécessaire à la survie de la cellule hôte, mais les gènes qu'ils portent peuvent donner à la cellule un avantage sélectif dans certains milieux.

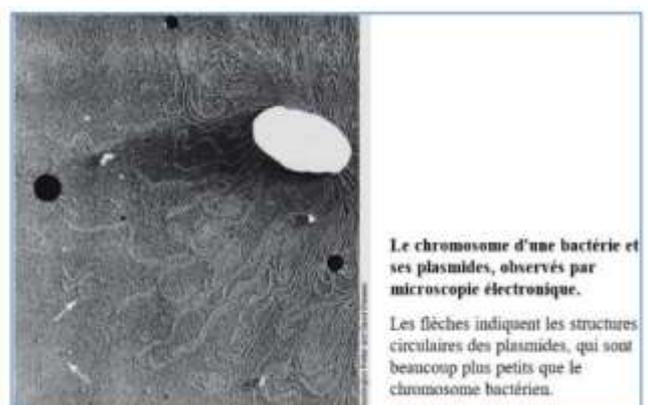
Certains plasmides sont capables de s'intégrer aux chromosomes ; on appelle ces plasmides des **épisomes**.

Les plasmides peuvent se transmettre d'une bactérie à une autre grâce à la conjugaison bactérienne par l'intermédiaire de **pili sexuels**. Lors de la division cellulaire, les plasmides se répartissent dans les cellules filles de façon totalement **aléatoire** (contrairement aux chromosomes).

Les plasmides peuvent être éliminés des cellules. Ce **curage** se fait spontanément ou il est induit par des traitements qui inhibent la réplication des plasmides sans affecter la reproduction de la cellule hôte.



Schematic representation of a bacterium containing plasmid DNA. Plasmids are small, circular molecules of DNA that are extrachromosomal and self-replicating within the host bacterium.



Le chromosome d'une bactérie et ses plasmides, observés par microscopie électronique. Les flèches indiquent les structures circulaires des plasmides, qui sont beaucoup plus petits que le chromosome bactérien.

## Réplication

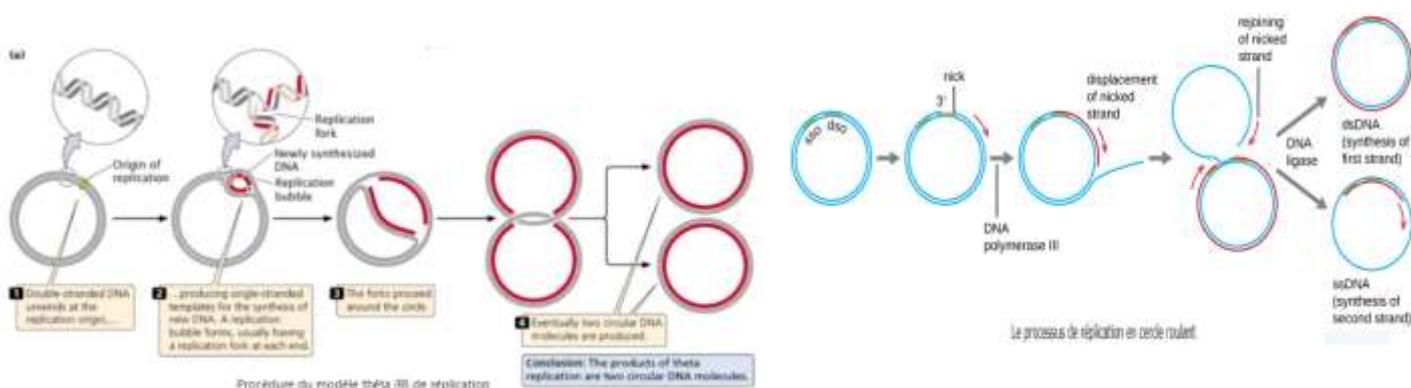
Les plasmides sont des unités de réplication autonome. Ils possèdent leur propre **origine** de réplication et se répliquent en général de manière indépendante du chromosome bactérien.

Une substance appelée « **initiateur** », codée par le plasmide lui-même, déclenche la réplication.

### Modèles de réplication

Alors que de nombreux plasmides bactériens se répliquent par un processus similaire à celui du chromosome bactérien (modèle  $\theta$ ), d'autres plasmides utilisent la réplication **en cercle roulant**.

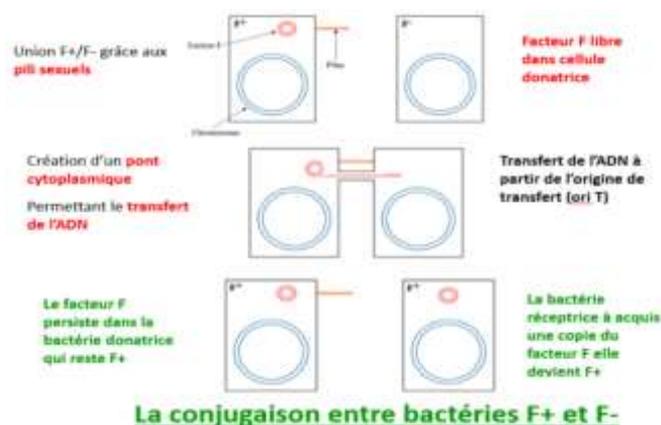
La réplication en cercle roulant commence par l'**entaille** enzymatique d'un brin de la molécule circulaire bicaténaire sur le site d'origine bicaténaire (*dso*). Chez les bactéries, l'ADN polymérase III se lie au groupe 3'-OH du brin entaillé et commence à répliquer l'ADN de manière unidirectionnelle en utilisant le brin non entaillé comme matrice, déplaçant ainsi le brin entaillé. L'achèvement de la réplication de l'ADN sur le site de l'entaille initiale entraîne le déplacement complet du brin entaillé, qui peut ensuite se recirculariser en une molécule d'ADN monocaténaire. L'ARN primase synthétise ensuite une amorce pour initier la réplication de l'ADN sur le site d'origine (*sso*) de la molécule d'ADN monocaténaire, ce qui donne une molécule d'ADN double brin identique à l'autre molécule d'ADN circulaire.



## Propriétés codées par les plasmides

### • Plasmides conjuguatifs (plasmides F ou facteurs de fertilité)

Ces plasmides confèrent à la bactérie hôte la capacité de synthèse de pili sexuels. Par l'intermédiaire de ces pili, la bactérie donneuse peut transférer une copie du plasmide F par processus de conjugaison bactérienne. Les plasmides F possèdent au minimum une origine de réplication et tous les gènes nécessaires à la synthèse des pili et du transfert du plasmide. Certains plasmides F sont des épisomes.



### • Plasmides de résistance (facteurs R)

Ils codent des résistances aux antibiotiques et aux métaux lourds. Ces plasmides peuvent protéger la cellule par différents moyens tels que la modification des cibles, la résistance enzymatique et l'imperméabilité de l'enveloppe cellulaire.

- **Plasmides métaboliques**

Ils portent des gènes permettant l'utilisation de certains nutriments. Chez *E. coli*, les gènes portés par ces plasmides sont par exemple : l'utilisation du citrate comme source de carbone, la production de soufre, l'hydrolyse de l'urée. Chez les salmonelles on a observé la dégradation du lactose ce qui est totalement inhabituel chez ce genre bactérien.

- **Plasmides de virulence**

Très souvent **conjugatifs**, ces plasmides portent des gènes codant des facteurs de virulence, ayant un rôle dans le pouvoir pathogène des bactéries. Par exemple :

- ✚ Les *Escherichia coli* entérotoxigéniques (ETEC) hébergent au moins deux plasmides, l'un portant les gènes codant un facteur de colonisation, l'autre codant des toxines.

- ✚ Les déterminants du pouvoir invasif des *Shigella* sont portés par un plasmide (*pInv*).

- ✚ Chez *Salmonella*, ces plasmides codent un complexe protéique pili-adhésine situé sur la paroi qui permet à la bactérie d'adhérer sur la surface de certaines cellules eucaryotes notamment les *entérocytes*.

- **Plasmides de bactériocines et de résistance aux biocides ou à des polluants**

Ils codent la synthèse d'une protéine extracellulaire dont la biosynthèse est létale pour la bactérie productrice ainsi que pour les autres bactéries non-productrices environnantes. Cependant, ces plasmides codent aussi une deuxième protéine intracellulaire de résistance à cette première toxine. Les bactériocines agissent sur des fonctions vitales de la bactérie.

Chez *E. coli*, on trouvera différentes catégories de bactériocines (colicines codées par les plasmides *col*). Le gène *colE1* code une endonucléase et le gène *colE3*, une ribonucléase qui inactive les ribosomes.

## Les pili

### Structure

De nombreuses bactéries à **Gram -** (exceptionnellement des bactéries à Gram +) possèdent des appendices à la surface de leur paroi. Ces appendices appelées pili (de pilus = poil) sont plus courts et plus fins que les flagelles, et prennent naissance dans la membrane plasmique.

Ce sont des filaments protéiques **creux** qui hérissent la surface extérieure des bactéries. Ils sont constitués de monomères de protéines nommées les **pilines**.

### Fonction

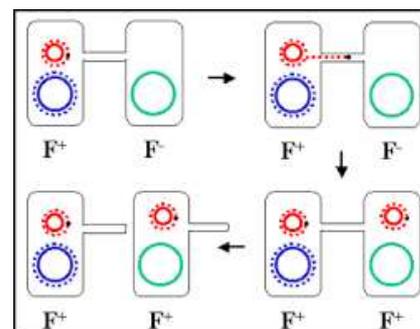
#### Les pili communs (ou fimbriae)

Ce sont les plus courants et les plus nombreux (plusieurs centaines autour de la bactérie). Ces pilis sont des structures protéiques filamenteuses, de 2 à 3  $\mu\text{m}$  de long, disposés régulièrement à la surface de la bactérie. Ils sont constitués par la polymérisation d'une même sous-unité polypeptidique, la **piline**, assemblée à des polypeptides mineurs dont **l'adhésine**. Les pili permettent la fixation de certaines bactéries sur les muqueuses, ce qui conditionne leur pouvoir pathogène (ex. fixation de *Escherichia coli* sur la muqueuse vésicale, du vibron du choléra sur les entérocytes...). Ces pili sont hautement antigéniques, il déclenche la production d'anticorps spécifiques qui en ce complexant à ces pili empêche leur attachement sur la cellule hôte.

#### Les pili sexuels

Plus longs mais beaucoup moins nombreux (1 à 4) que les pilis communs, sont codés par des plasmides (facteur F). Ils jouent un rôle essentiel dans l'attachement des bactéries entre elles au cours de la conjugaison. Ces pilis sexuels servent également de récepteurs de bactériophages spécifiques.

**Figure.** Mécanisme de conjugaison pour le croisement F<sup>+</sup> et F<sup>-</sup>



## La capsule

### Structure

C'est une couche externe **visqueuse** amorphe entourant la paroi de certaines bactéries. sa composition peut changer d'une souche bactérienne à une autre. Elle est souvent constituée de polysaccharides et parfois de polypeptides. Sa présence donne aux colonies obtenues en milieu solide un aspect muqueux caractéristique, colonies de type « M ». Elle peut entourer une bactérie isolée ou une chaînette de bactéries.

### Fonction

Bien que la capsule ne soit pas essentielle à la survie de la bactérie, elle lui confère un avantage compétitif dans divers environnements naturels.

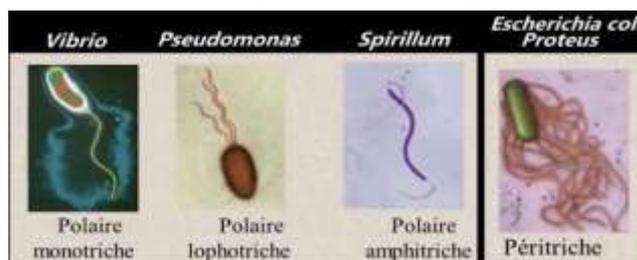
- Un facteur de virulence, ceci est possible en :
  - ✓ Empêchant la phagocytose de la bactérie par les macrophages par un effet chimiotactique négatif.
  - ✓ Les bactéries rendues glissantes grâce à leurs capsules échappent à l'absorption par ces cellules.
  - ✓ Elle confère à la bactérie une résistance aux enzymes protéolytiques.
- Un facteur d'adhésion à des surfaces, elle permet souvent à la bactérie de coloniser une niche particulière. Par exemple :
  - ✓ Formation de biofilm sur les dents par *Streptococcus mutans*
  - ✓ Formation de biofilms sur des surfaces inertes telles que les conduites d'égouts.
- La capsule fournit une protection contre la dessiccation, car elle agit comme une réserve d'eau.

## Les flagelles

Ce sont des appendices filamenteux, composés entièrement de protéines, de 6 à 15  $\mu\text{m}$  de long sur 12 à 30 nanomètres d'épaisseur. Les protéines flagellaires sont appelées **flagellines** (protéine fibreuse). Elles permettent aux bactéries de se déplacer dans un milieu liquide ou semi-solide. Ils sont souvent rencontrés chez les bacilles et rarement chez les coques.

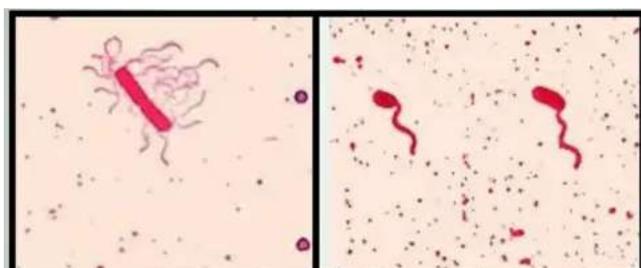
Certaines bactéries possèdent un seul flagelle, d'autres une dizaine tandis que certaines comme *Candidatus Ovobacter propellens* en possèdent plus de 400. La position des flagelles sur la bactérie peut aussi changer. Le terme **ciliature** est utilisé pour désigner la position des flagelles. On distingue :

- **Ciliature polaire**
  - ✓ Monotriche = un seul flagelle polaire
  - ✓ Lophotriche = une touffe de flagelles polaires
  - ✓ Amphitriche = 1 flagelle à chacun des pôles
- **Ciliature péritriche** = plusieurs flagelles entourant la bactérie

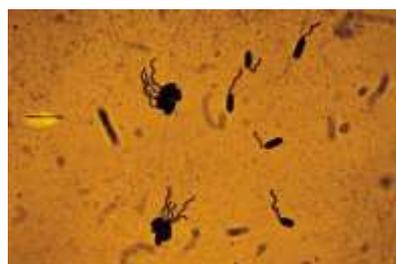


### Mise en évidence

Pour pouvoir observer les flagelles au microscope photonique, on fait appel à des techniques de coloration spéciales qui permettent de les foncer : coloration de **Leifson** avec de la Fushine basique, on voit les flagelles en rouge. Ou bien la coloration de **Rhodes** avec du Nitrate d'Argent qui donne des dépôts argentiques sur les flagelles et les bactéries sont sombres.



Coloration de **Leifson**



Coloration de **Rhodes**

## Structure

Les flagelles sont attachés dans le cytoplasme bactérien par une structure complexe. Ils sont constitués de trois parties :

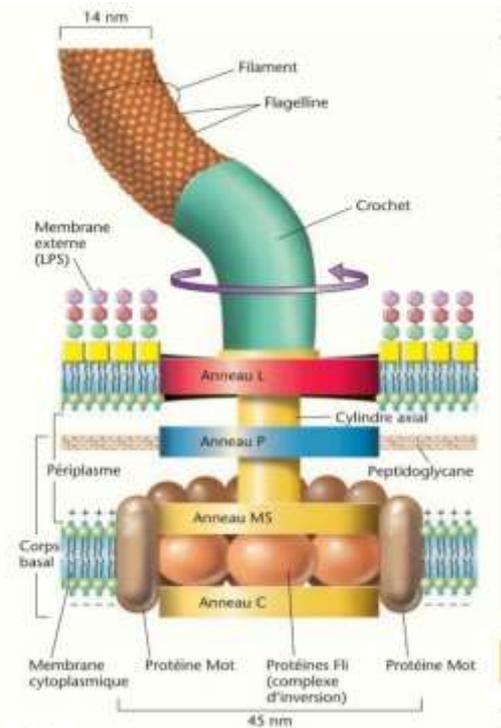
✚ **Le filament** : C'est un cylindre creux constitué d'une seule protéine multimérique : la **flagelline**. Il se positionne en hélice rigide qui tourne à la manière de l'hélice d'un bateau.

✚ **Le crochet** sert de lien entre le filament et le corpuscule basal. Il a la même composition que le filament, mais à cet endroit, la flagelline présente une structure hélicoïdale différente, formant un **coude**. Le crochet est plus court que le filament, mais plus large. Très flexible, il permet d'induire le mouvement de la bactérie.

✚ **Le corpuscule basal** joue le rôle d'un moteur rotatif capable de tourner dans un sens puis dans un autre. Il est entièrement logé dans la cellule et terminé par un système complexe d'anneaux qui sont responsables de son ancrage intracellulaire. Ceux-ci ont été nommés selon leur emplacement dans la cellule :

- ✓ L'anneau L est inséré dans la membrane externe (lipopolysaccharide),
- ✓ L'anneau P dans le peptidoglycane.
- ✓ L'anneau MS s'insère dans la membrane cytoplasmique,
- ✓ L'anneau C dans le cytoplasme.

Les protéines **Mot** sont impliquées dans la rotation (moteur flagellaire), les protéines **Fli** forment le complexe d'inversion. La rotation des flagelles permet de propulser la bactérie dans le milieu.



## Fonctions du flagelle

- La locomotion : Mise en évidence sur des milieux semi-gélosés (diffusion dans la gélose) ou sur milieu solide (envahissement de la surface de la boîte. Ex : *Proteus*).
- Rôle antigénique : les antigènes flagellaires (Ag H) déterminent différents sérotypes (exemple : sérotypage des *Salmonella*).
- Le chimiotactisme : Certaines substances attirent les bactéries mobiles, d'autres les repoussent.

## L'endospore (spore)

C'est une structure de résistance, facultative, formée à l'intérieur de certaines bactéries à Gram positif, notamment les genres *Bacillus* et *Clostridium*, lorsque les conditions deviennent défavorables. Elle permet aux bactéries sporulantes de survivre dans des conditions difficiles et extrêmes de l'environnement, avec conservation de toutes les aptitudes génétiquement déterminées. Elle permet de se protéger :

- De carence nutritive (épuisement du milieu en substrats nutritifs)
- De la chaleur
- D'agents chimiques (ex : antibiotiques) ou physiques
- Du vieillissement cellulaire
- De radiations UV ou gamma

## Morphologie

Les spores sont de petites unités **ovales** ou **sphériques**. Elles peuvent **déformer** ou **non** le corps végétatif. Leur position dans la cellule est variable : centrale, terminale, subterminale.

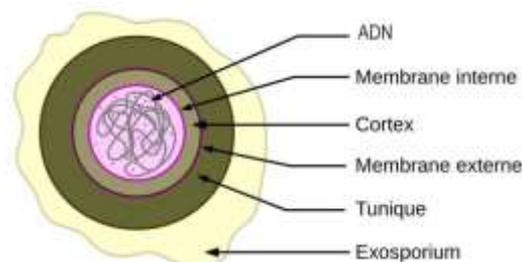
La spore peut être **libre** ou non. La recherche de tous ces caractères se fait dans un but taxonomique.

Forme	Position	Déformation
Ovale	Centrale	Non déformante
Sphérique	Subterminale	Déformante
	Terminale	

## Structure de la spore

Cette forme cellulaire est multicouche, elle est composée de :

- Un **cytoplasme** de texture homogène, il contient l'ensemble des structures cellulaires (ribosomes, ADN) et pauvre en ARN, en enzymes et en eau.
- Une **membrane interne** qui possède des lipides similaires à la cellule végétative, par contre, les protéines trouvées sont différentes. Ce qui permet de diminuer la perméabilité de la membrane.
- Un **cortex** composé de peptidoglycane de composition différente de celle du peptidoglycane de la cellule végétative. Il contient la quasi-totalité d'un constituant spécifique des spores, l'**acide dipicolinique** sous forme de dipicolinate de calcium.
- Une **membrane externe** qui a un rôle important lors de la formation de la spore.
- La **tunique** contient des protéines formant de fines couches concentriques et ayant un rôle de barrière. Elles réduisent la perméabilité des molécules de haut poids moléculaires comme des enzymes.
- L'**Exosporium** qui est une membrane trouvée à la surface des spores de certaines bactéries. Cette membrane pourrait servir de barrière contre les anticorps chez *Bacillus anthracis*.



## Propriétés

Les propriétés de résistance des spores peuvent être attribuées à leur état de déshydratation, à la présence de **dipicolinate de calcium** et à l'abondance de **ponts disulfures** dans leurs tuniques. Les spores démontrent effectivement une grande longévité et une résistance considérable. Il est difficile d'évaluer précisément leur longévité, mais certaines espèces de *Bacillus* pourraient survivre pendant plusieurs milliers d'années. La thermorésistance varie considérablement en fonction des espèces, des souches, de l'âge des cultures et des conditions de culture. En outre, les spores sont capables de résister aux radiations, aux pressions, aux antibiotiques, aux antiseptiques et aux désinfectants.

## Phénomène de sporulation

### - Le cycle sporal

Il représente le passage de la forme végétative à la forme sporulée et inversement.

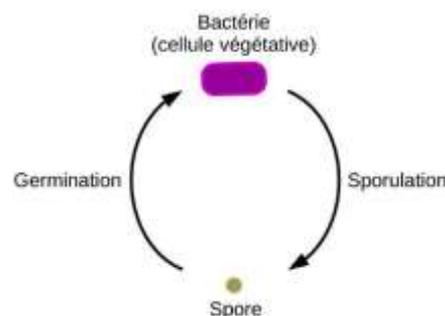
La **sporulation** est le phénomène de formation de la spore. Elle est provoquée par l'épuisement du milieu en substrats nutritifs et elle peut nécessiter des conditions particulières : absence d'oxygène pour les *Clostridium*, présence d'oxygène au contraire pour *Bacillus anthracis*.

La **germination** est le phénomène inverse de retour à la forme végétative.

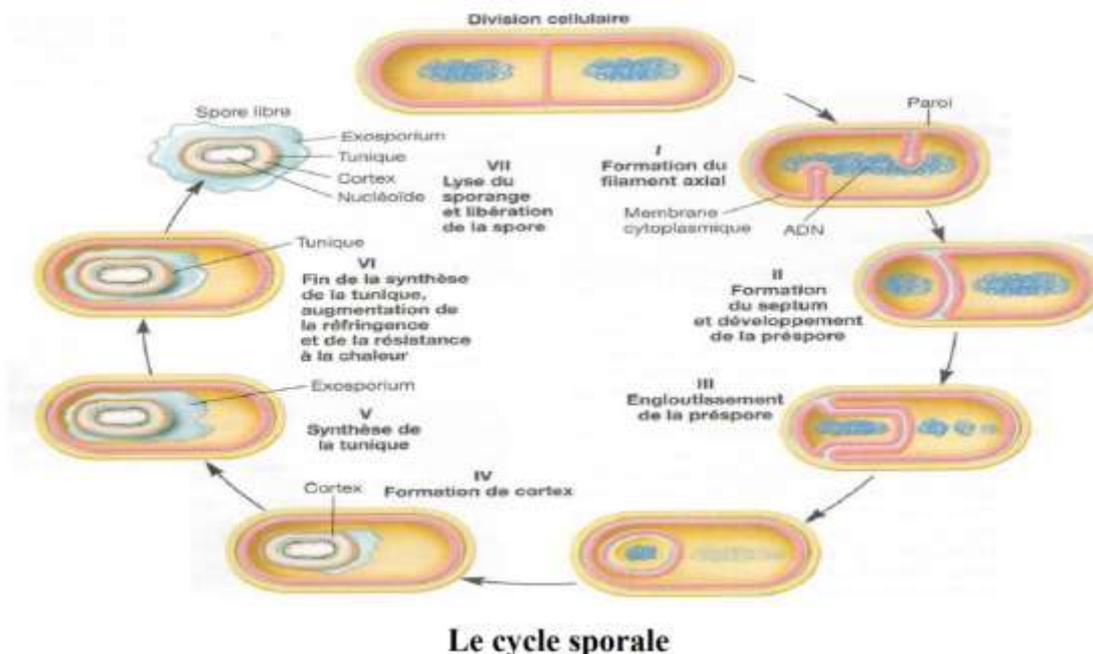
### - Les étapes de la sporulation

L'ensemble du phénomène dure environ 7 à 10 heures. Le processus de sporulation se déroule en plusieurs étapes :

- Stade 1 : formation du filament axial : la division nucléaire n'étant pas suivie d'une division cellulaire, les deux génomes se condensent donnant un filament chromatique axial
- Stade 2 : les deux génomes se séparent et en même temps que 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 inégaux.
- Stade 3 : la membrane de la grosse cellule englobe la petite cellule qui est finalement endocytée. La petite cellule est appelée prés-pore, elle est entourée d'une double membrane.



- Stade 4 : la cellule mère produit des composants proches du peptidoglycane qui viennent s'accumuler entre les 2 membranes pour former le cortex.
- Stade 5 : Chez certaines espèces, une autre couche protéique plus externe est synthétisée, c'est l'exosporium (structure facultative).
- Stade 6 : la cellule mère est lysée sous l'effet des enzymes lytiques. Elle libère la spore mûre.



### Germination

Lorsque la spore est placée dans des conditions favorables de croissance, elle subit une série de transformations progressives et devient une nouvelle cellule végétative. Ce processus comprend 3 étapes :

**a. L'activation** : elle correspond à une lésion des enveloppes sporales par des agents :

- ✓ Physiques : Chaleur (choc thermique)
- ✓ Chimiques : acides, lysozyme ...
- ✓ Mécaniques : choc, phénomène d'abrasion...

Remarque : l'activation thermique est mise à profit au cours de la tyndallisation.

**b. L'initiation** : elle n'intervient qu'en conditions favorables :

- ✓ Forte teneur en eau,
- ✓ Milieu riche contenant des métabolites effecteurs (adénine, adénosine, magnésium, ...).

Ces éléments pénètrent à travers les enveloppes endommagées et déclenchent un processus autolytique avec dégradation du peptidoglycane du cortex et libération de l'acide dipicolinique. Alors la spore se gonfle d'eau et perd ses caractéristiques.

**c. L'émergence de la nouvelle cellule végétative** :

Après sa réhydratation, la spore donne une nouvelle cellule végétative qui entre en phase active de biosynthèses : la synthèse de l'ADN reprend, la cellule double son volume, elle devient à nouveau capable de se multiplier.