

CHAPITRE I :

INTRODUCTION: BACTERIE, STRUCTURE et COMPOSITION

2.3. Flagelles

Certaines cellules procaryotes ont des **flagelles** (= fouet). Il s'agit de minces et longs appendices filamenteux qui permettent aux bactéries de se déplacer (Fig. 08). Les bactéries peuvent posséder un nombre variable des flagelles : de 1 à 50 de dispositions différentes, spécifique d'une espèce bactérienne à l'autre et détermine un facteur d'identification important.

Il y a quatre types d'arrangements des flagelles bactériens (Fig. 08) : **monotriche** (un seul flagelle polaire), **amphitriche** (un ou plusieurs flagelles aux deux extrémités de la cellule), **lophotriche** (deux ou plusieurs flagelles à une extrémité de la cellule) et **péritriche** (des flagelles répartis sur toutes la surface de la cellule).

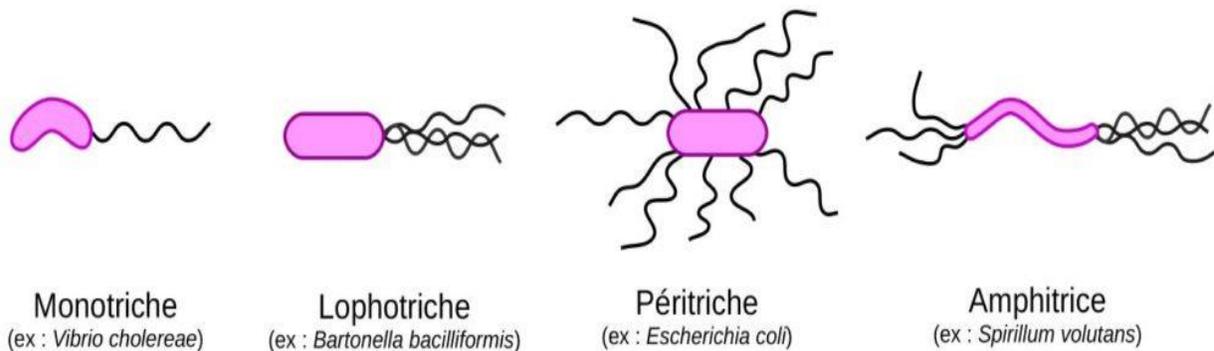


Figure 08 : Mode d'insertion des flagelles bactériens

Le flagelle est un filament de plusieurs microns de long (3-12 μ m), de vingtaines de nanomètres de diamètre et comprend trois parties principales (Fig. 09). Le **filament** est la partie visible du flagelle qui s'étend à partir de la surface de la bactérie. C'est un long segment de diamètre constant, en forme de cylindre creux et composé de flagelline (une protéine globulaire, plus ou moins sphérique et se dispose en sous unités répétitives). Cette protéine est assemblée en plusieurs chaînes entrelacées formant une hélice autour d'un centre vide, d'où la forme de cylindre creux. Chez la plupart des bactéries, les filaments ne sont pas recouverts d'une membrane, ou gaine, comme dans le cas des filaments des cellules eucaryotes. Le filament est fixé à un **crochet** un peu

plus large, constitué d'une protéine différente. La troisième partie du flagelle est le *corpuscule basal*, qui ancre la structure dans la paroi cellulaire et la membrane plasmique.

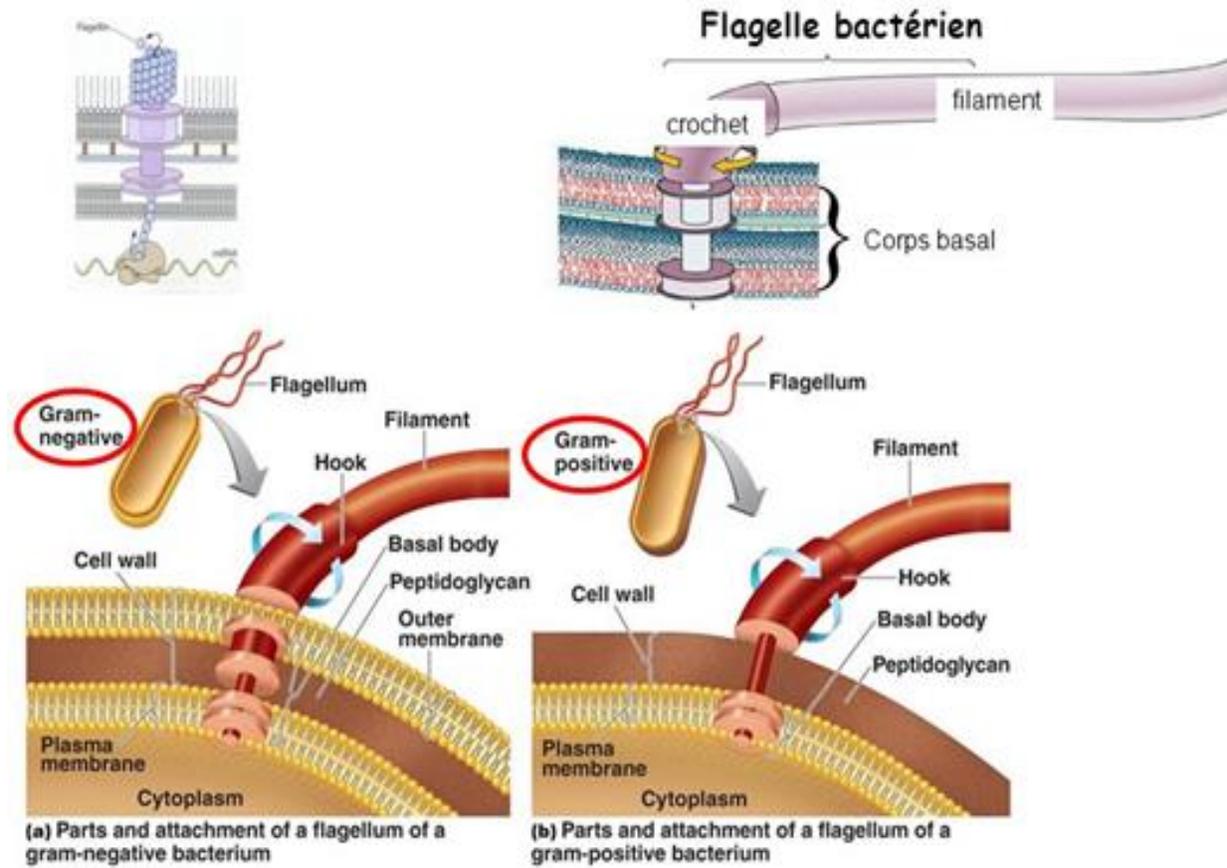


Figure 09 : Structure et insertion du flagelle chez les bactéries à Gram (+) et à Gram (-)

Le corpuscule basal est composé d'une petite tige centrale insérée dans une série d'anneaux, les bactéries à Gram négatif contiennent deux paires d'anneaux ((L/P et S/M); la paire externe (L/P) est ancrée à différentes parties de la paroi cellulaire et la paire interne (S/M), à la membrane plasmique. Chez les bactéries à Gram positif, seule la paire interne est présente (S et M).

La croissance des flagelles se fait alors par leur extrémité distale. Leurs sous unités constitutives sont synthétisées dans le cytoplasme, puis migrent à travers le canal central creux du filament, jusqu'à son extrémité ou elles s'ajoutent aux éléments déjà fixés par le même mécanisme.

Les bactéries munies des flagelles sont mobiles, c'est-à-dire qu'elles sont en mesure de se déplacer sans aide. Chaque flagelle des cellules procaryotes est une structure hélicoïdale semi-

rigide qui fait avancer la cellule en tournant sur lui-même à partir du corpuscule basal (voir section Mobilité et Chimiotactisme).

On peut identifier certaines bactéries pathogènes grâce à leurs **protéines flagellaires**. La protéine flagellaire appelée **antigène H** permet de distinguer les sérotypes, c'est-à-dire les variations au sein d'une même espèce, de bactéries flagellées à Gram négatif. Par exemple, il y a au moins 50 antigènes H différents chez la bactérie *Escherichia coli*. Les sérotypes *E. coli* O157:H7 sont associés aux épidémies diffusées par les aliments, par exemple la maladie du hamburger.

2.4. Pili et Fimbriae

Les pili (pluriel de **pilus** / **pili sexuels**) sont des structures externes de nature protéique, plus courtes, plus minces et plus rigides que les flagelles. Ils sont aussi appelés **fimbriae** (fimbria au singulier / fimbriae ou **pili communs**) et n'ont pas de fonction locomotrice. Il en existe de nombreux types, aux fonctions spécifiques et pour la plupart mal connues (Fig. 10).

Les pili sont présents chez la plupart des bactéries à Gram négatif et principalement chez les Entérobactéries. Les deux principaux types de pili sont : les *pili communs* (fimbriae) et les *pili sexuels* (Fig. 10).

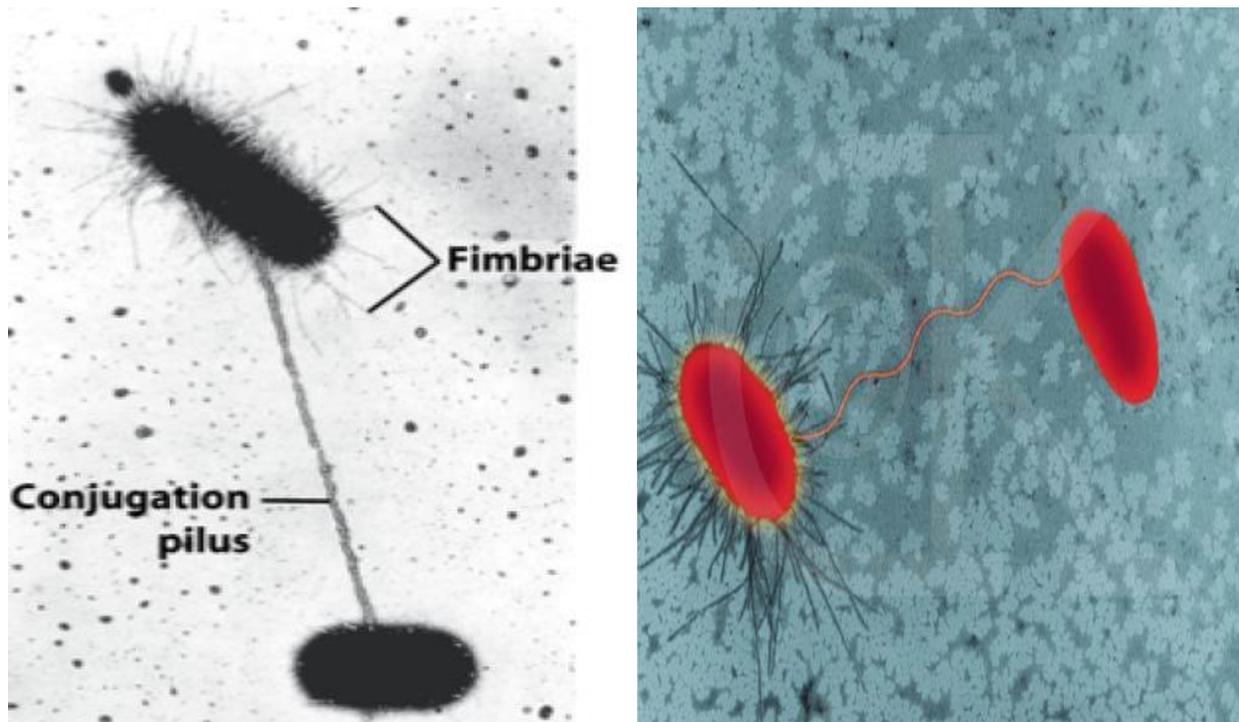


Figure 10: Pili sexuels et fimbriae

Ils sont formés d'un polymère d'une même protéine structurale spécifique, *la piline*. Leur diamètre varie de 3 à 10 nm, pour une longueur pouvant atteindre à la base de leurs unités constitutives. Ils sont ancrés dans la membrane cytoplasmique mais ne possèdent pas de corps basal de fixation, du type existant chez les flagelles.

2.4.1. Pili communs

Les pili communs sont appelés **fimbriae** par certains auteurs. Leur nombre par bactérie varie de quelques unités à plusieurs centaines. Leur propriété principale est de permettre l'adhésion des bactéries à divers supports et particulièrement à la surface des cellules eucaryotes qu'elles colonisent, accomplissant ainsi la première étape de l'infection. C'est pourquoi les pili communs sont aussi qualifiés d'**adhésines**. Cette propriété joue un rôle majeur dans le maintien de certaines bactéries dans leurs écosystème spécifiques. C'est le cas des entérobactéries, dont les espèces entéropathogènes d'*E. coli*, qui adhèrent aux cellules villosités intestinales, évitant ainsi d'être chassées en aval par les mouvements continus du péristaltisme digestif.

L'adhésion par les pili est spécifique et se fait par des protéines périphériques différentes de la piline, de structure chimique adaptée à des récepteurs, eux aussi spécifiques et situés au pourtour des membranes des cellules intestinales cibles (fig. 2.10). Leur implication dans les processus de colonisation constitue un facteur de virulence bactérienne. Ils sont également responsables de la tendance des bactéries, qui en sont pourvues, de se développer à la surface des milieux liquides en formant des pellicules visqueuses ou film bactérien.

2.4.2. Pili sexuels

Les pili sexuels sont également désignés par le terme de **pili F (facteur de fertilité F)**. Leur nombre est considérablement réduit, 1 à 4 chez *E. coli*. Mais ils sont plus développés, jusqu'à 13nm de diamètre et 20nm de long. Présents seulement chez les bactéries males (F+), ils jouent un rôle fondamental dans le processus de conjugaison entre bactéries de signe opposé (F+ et F-) et dans le transfert de matériel génétique entre elles. Le pili F est terminé par un bouton adhésif dont la présence est indispensable au processus de conjugaison bactérienne. Par ailleurs, les pili F fournissent des sites de fixation de certains bactériophages inhibiteurs de phénomènes de sexualités bactériennes.

Il a longtemps été admis que la bactérie F+ transfère à la bactérie F- un fragment d'ADN chromosomique ou plasmidique à travers le canal central du pili sexuels. Mais il est maintenant avéré que l'ADN est en fait transféré ailleurs, au niveau de zone spécifiquement perméables de la membrane cytoplasmique.

3. Structure bactérienne à l'intérieur de la paroi cellulaire

3.1. Membrane cytoplasmique

La membrane cytoplasmique entoure et délimite de manière continue le cytoplasme qu'elle sépare du périplasme. Elle constitue une barrière hautement sélective, permettant d'une part aux bactéries d'absorber et de concentrer les substrats nécessaires à leur croissance et, d'autre part, d'expulser dans l'autre sens les métabolites devenus inutiles. Elle est aussi le siège des fonctions métaboliques vitales, dont certaines exclusives comme les fonctions respiratoires productrices d'énergie métaboliques.

Toute lésion de la membrane cytoplasmique provoque la perte de l'intégrité du continu cellulaire, avec pour conséquence la mort de la cellule.

3.1.1. Composition

La membrane plasmique (cytoplasmique), ou membrane interne, est une structure mince, à la fois souple et résistante, qui s'étend sous la paroi cellulaire et qui enveloppe et retient le cytoplasme de la cellule (fig. 4.5). Chez les procaryotes, elle est composée principalement de **phospholipides** (Fig. 11), qui sont les molécules les plus abondantes de la membrane, et de **protéines**. La membrane plasmique eucaryote contient en plus des glucides et des stérols, tels que le cholestérol. Étant dépourvue de stérols, la membrane plasmique procaryote est moins rigide que celle des eucaryotes. Mycoplasma, un procaryote sans paroi, fait exception à cet égard : sa membrane contient des stérols.

La membrane cytoplasmique est essentiellement formée de phospholipides (30 à 40%) et de protéines (60 à 70%).

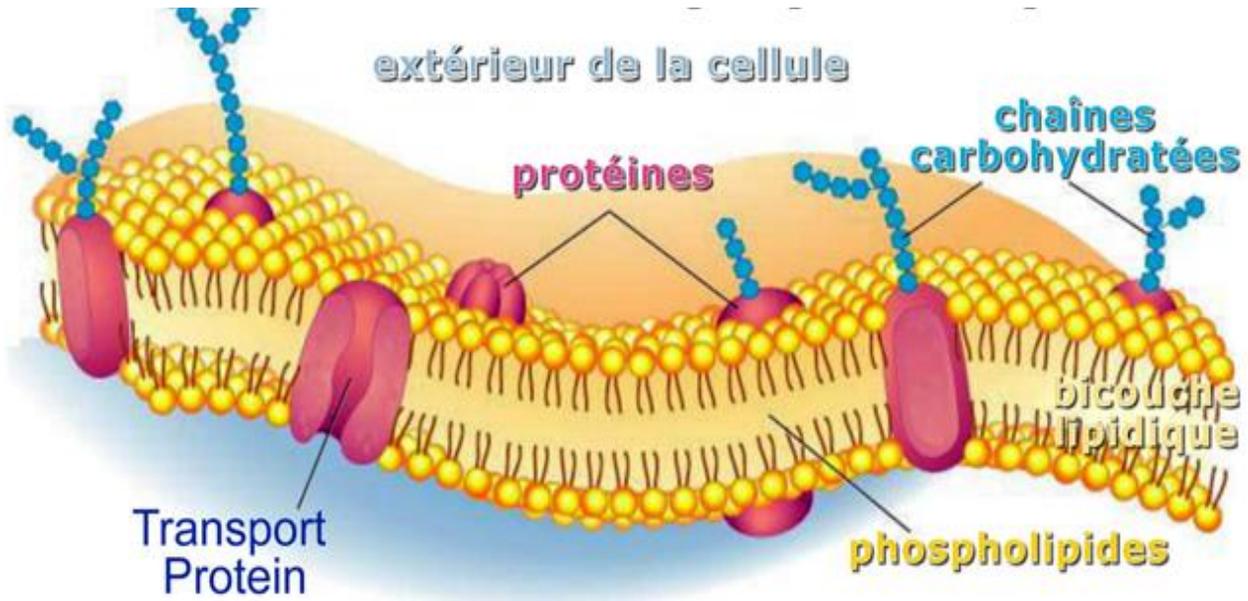


Figure 11 : composition de la membrane cytoplasmique

a. Lipides : les lipides membranaires constituent les principaux lipides des bactéries. Leur composition est spécifique et différente chez les archaébactéries. Contrairement aux cellules eucaryotes et à l'exception des Mycoplasmes, la membrane cytoplasmique des bactéries et des archaébactéries n'intègre pas de stérol dans sa composition.

- *Chez les bactéries*, les lipides se composent principalement de phospholipides : phosphatidyl-glycérol et/ou phosphatidyl-éthanolamine. La nature **amphiphile** (ou **amphipatique**) des phospholipides membranaires résulte de leur différenciation en une partie hydrophile (leur tête) et une partie hydrophobe (leur queue). Elle explique leur disposition typique, avec leurs groupements moléculaires hydrophiles exposés en surface au contact de milieux aqueux et leurs chaînes hydrophobes (chaînes d'acide gras ou unités isoprènes des archaébactéries) dirigées vers l'intérieur.

- *Chez les archaébactéries*, la membrane cytoplasmique a la même structure mais elle est formée de lipides spécifiques. En effet, contrairement aux bactéries et à l'ensemble des cellules eucaryotes, dont les lipides membranaires sont formés d'acides gras estérifiés sur le glycérol (glycérides), les lipides membranaires des archaébactéries ne comportent pas d'acides gras. Ils sont remplacés par des unités isoprènes, liées par des liaisons éther au glycérol (glycérol diéther, glycérol tétra-éther) (Fig. 12).

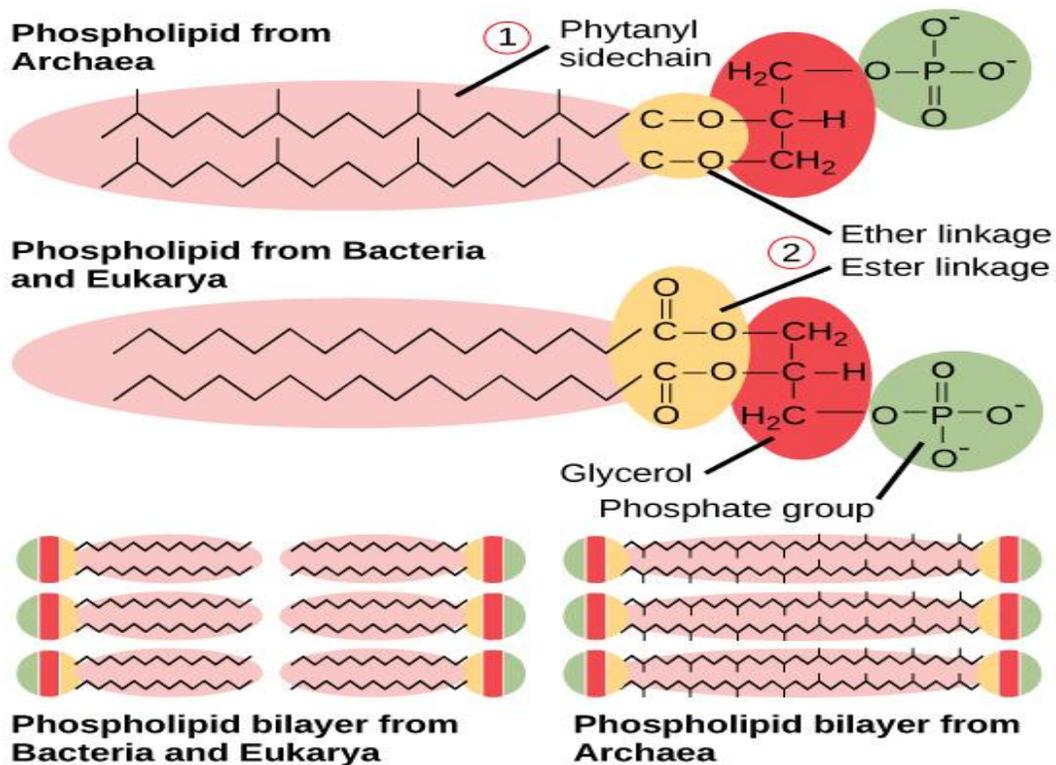


Figure 12 : Différence des lipides des bactéries et Archaébactéries

b. Protéines : des protéines sont disséminées sur l'ensemble de la membrane cytoplasmique, chez les bactéries et les archaébactéries. Elles sont partiellement ou totalement immergées, sous la forme de nombreuses particules dont la masse peut atteindre 70% de la masse membranaire, soit une proportion considérablement plus élevée que celle des cellules eucaryotes. Ces protéines, qui peuvent être de 200 types différents chez *E. coli*, sont hydrophobes et structurellement intégrées à la bicouche lipidique, leurs parties hydrophobes étant orientées au contact du milieu externe, aqueux : cytoplasme ou périplasme.

Les protéines membranaires sont classiquement distinguées en deux catégories : **les protéines extrinsèques** se positionnent sur l'un ou l'autre face de la structure lipidique en bicouche de la membrane, alors que les **protéines intrinsèques** traversent de part en part le double feuillet lipidique membranaire.

Les protéines membranaires assurent des fonctions fondamentales pour les bactéries : transports du substrats, respiration cellulaire et production d'énergie, propriétés antigéniques des chaînes osidiques externes des glycoprotéines.

3.1.2. Structure

Au microscope électronique, la membrane cytoplasmique apparaît d'une épaisseur de 8nm, avec une **structure en bicouches** : deux feuillets denses limitent de part et d'autre un feuillet transparent.

La membrane cytoplasmique a un caractère dynamique, rendu possible par son état semi-fluide en conditions normales. Cette structure est conforme au modèle dit de la « **mosaïque fluide** » (théorie de SINGER), commun à la plupart des membranes biologiques (Fig. 11). Dans chacune de leurs deux couches monomoléculaires, les phospholipides peuvent échanger latéralement leurs positions à très haute fréquence (de l'ordre d'un million de fois par seconde). Il semble, cependant, que certains phospholipides ne soient pas concernés par ce mouvement car ils sont fortement liés à des protéines membranaires localisées, d'où la présence probable d'aire différenciées dans la membrane cytoplasmique.

La stabilité structurale de la membrane cytoplasmique est en particulier assurée par les interactions hydrophobes établies entre les chaînes d'acides gras des phospholipides et par les liaisons hydrogène de leurs résidus hydrophiles. La membrane cytoplasmique constitue 8 à 18% du poids sec cellulaires.

3.1.3. Fonction

Les bactéries ne possèdent pas de structures membranaires fonctionnellement spécialisées, en dehors de leur membrane cytoplasmique. Celle-ci est le siège de nombreuses fonctions fondamentales, assurées par des organites intra-cellulaires spécifiques chez les cellules eucaryotes (Tab. 02).

Outre son rôle dans le transport des substances, joué aussi et dans les mêmes conditions, par la membrane cytoplasmique des cellules eucaryotes, la membrane cytoplasmique des bactéries remplit plusieurs fonctions spécifiques : biosynthèse des macromolécules à localisation extra-cytoplasmique (périplasma, paroi, ...), respiration, intégration et transfert des signaux induits par le milieu environnant. La membrane cytoplasmique porte aussi des sites de liaisons spécifiques des ADN bactériens, jouant ainsi probablement un rôle dans la répartition des chromosomes chez les bactéries en division.

Tableau 02 : Principales fonctions de la membrane cytoplasmique bactérienne

Fonction	Structures impliquées
Perméabilité sélective	Transporteurs spécifiques : perméases, phosphotransférases, sécrétion des protéines extra-cytoplasmiques (extra-cellulaires, périplasmiques ou restant liées à la paroi).
Métabolisme respiratoire	Localisation des enzymes et coenzymes respiratoires de transport des électrons : oxydase, réductase, hydrogénases, cytochromes, quinones,
Pompes ioniques	Translocation de protons, translocation d'autres ions (Na ⁺ , K ⁺).
Photosynthèse	Pigments photosynthétiques, centres réactionnels de la photosynthèse.
Biosynthèse	Synthèse et/ou assemblage des constituants de la membrane et de la paroi : lipides membranaires, peptidoglycanes, LPS, pili.
Mobilité	Ancrage de la partie motrice basale des flagelles.
Récepteurs	Protéines de détection des facteurs physico-chimiques régissant le chimiotactisme, probable rôle dans la ségrégation des chromosomes durant leur réplication.

3.1.4. Destruction de la membrane plasmique par les agents antimicrobiens

La membrane plasmique étant vitale pour la cellule bactérienne, toute action qui perturbe l'intégrité de sa structure va porter préjudice à la bactérie et finira par provoquer sa destruction ; il n'est donc pas étonnant qu'elle soit la cible de plusieurs agents antimicrobiens. En plus des substances chimiques qui endommagent la paroi cellulaire et exposent ainsi indirectement la membrane interne aux lésions, beaucoup de composés s'attaquent directement à la membrane plasmique. Ils comprennent certains alcools et composés d'ammonium quaternaire, qui servent de désinfectants. Un groupe d'antibiotiques appelés polymixines perturbent l'intégrité de la structure des phospholipides membranaires et provoquent ainsi des fuites du contenu intracellulaire qui finissent par tuer la cellule.

3.2. Formes de résistance - Endospore

Dans un milieu aux conditions nutritionnelles et physico-chimiques optimales, les bactéries se multiplient en un cycle de reproduction exponentielle, jusqu'à l'épuisement des ressources nutritives ou la modification irrémédiablement défavorable des facteurs physico-chimiques. Leur

croissance est alors stoppée. Elles peuvent survivre dans tel milieu pendant un temps plus ou moins long, selon les espèces, puis meurent et sont lysées. Et c'est le cas de la plupart des bactéries.

Cependant, dans une telle situation de milieu, certaines espèces bactériennes ne meurent pas. Elles suivent une autre voie qui leur permet de préserver dans le temps leur structure essentielle. Ces bactéries s'engagent dans un cycle de transformation évolutive de leurs structures et de leurs fonctions. Ce cycle est constitué de plusieurs phases qui transforment les bactéries et les différencient (**sporulation**) en une **forme de résistance, la spore** (identiques dans le principe mais s'expriment dans des structures variées et caractéristiques, possédant chacune une capacité de résistance spécifique). La plus remarquable des formes de résistance bactérienne est l'**endospore** (Fig 13).

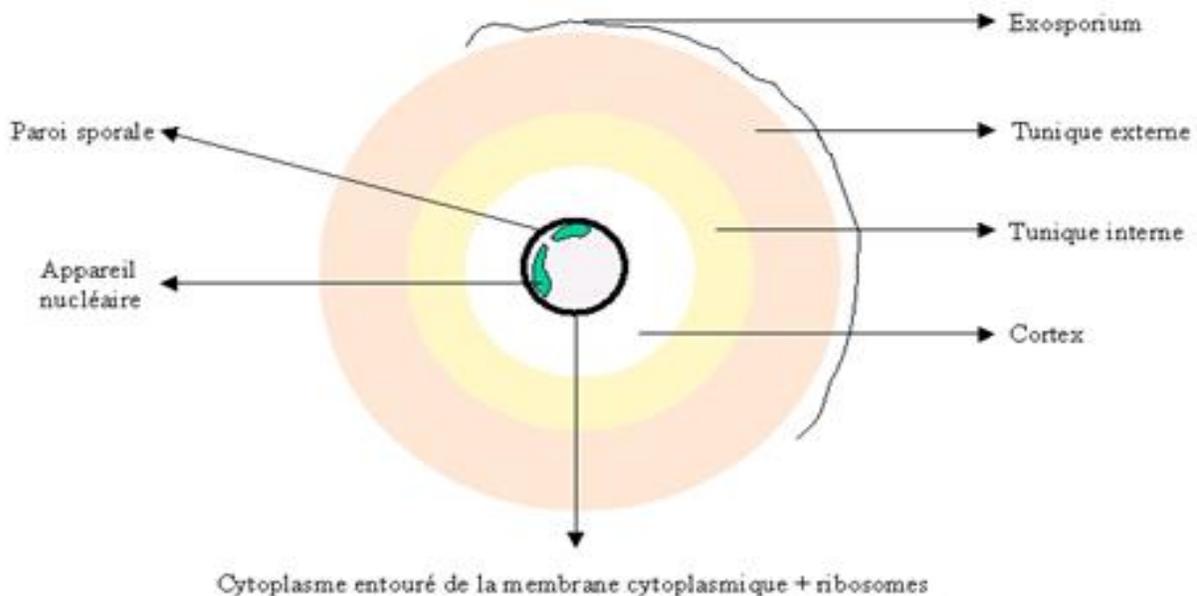


Figure 13 : Structure de l'endospore

Cette dernière est alors capable de se maintenir en état de dormance dans un milieu hostile, jusqu'au retour de condition favorable de l'environnement. Dans ce dernier cas, ces bactéries subissent alors un nouveau cycle de différenciation leur permettant de revenir à leur état végétatif initial, avec le recouvrement de l'ensemble de leurs propriétés structurales et physiologiques d'origine.

La **sporulation**, ou **sporogénèse** est un phénomène peu répandu chez les bactéries mais relativement commun des bactéries du sol.

Les principales bactéries capables de produire des spores intra-cellulaires, appelées endospores, sont à Gram positif du genre *Bacillus* (aérobie) et du genre *Clostridium* (anaérobie). Mais d'autres genres appartiennent également à ce groupe : *Oscillospira*, *Plectridium*, *Sporolactobacillus*, *Desulfolomaculum*, *Sporosarcina*.

Chaque cellule végétative engendre la formation d'une seule spore, aisément reconnaissable au microscope optique grâce à sa forte réfringence. L'étendue de la résistance des endospores est largement liée à leur **thermorésistance** mais aussi à leur persistance dans le milieu pendant des périodes exceptionnellement longues, durant lesquelles elles gardent intacte leur propriété de retour à leur état végétatif initial. En effet, et alors que les formes végétatives bactériennes sont normalement détruites par un chauffage de 10 minutes à 80°C, certaines endospores résistent à plusieurs heures d'ébullition.

En plus de la chaleur, la résistance des endospores s'exprime également vis-à-vis d'autres facteurs antagonistes exercés dans le milieu : dessiccation, radiation agents chimiques.

3.2.1. Sporulation

Selon les espèces sporulantes considérées, l'endospore a une forme ovale ou ronde et se positionne soit au centre, soit à l'un des deux pôles de la cellule qu'elle peut déformer ou non (Fig. 14). Elle occupe environ le tiers du volume cellulaire mais concentre la presque totalité de son extrait sec.

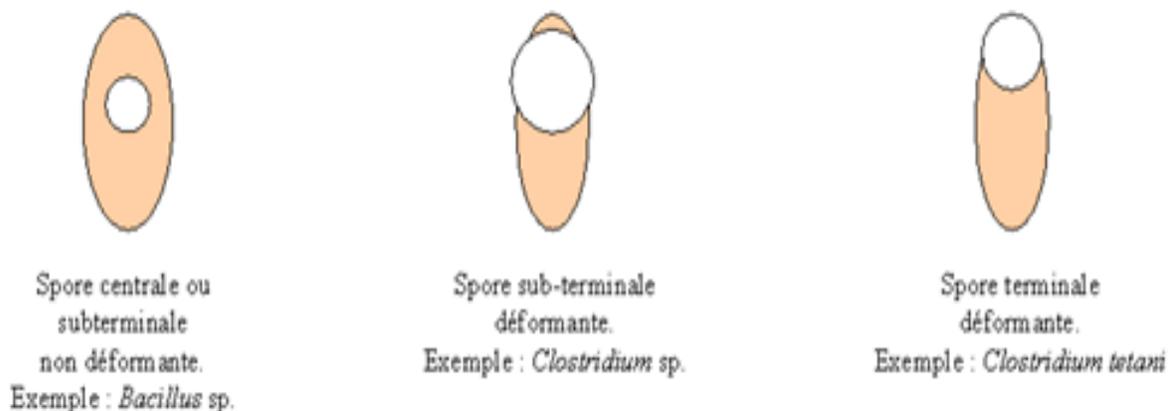


Figure 14 : Position de formation de l'endospore chez différents genres bactériens

Le processus de sporulation se déclenche à la fin de la phase de croissance exponentielle ou en début de la phase stationnaire. Il ne survient que chez les bactéries sporulantes. Devenues incapables de se diviser en raison de l'évolution irrémédiablement défavorable de leur milieu. La sporulation dure de 7h à 10h, où la cellule subit parallèlement de profondes modifications métaboliques et morphologiques qui aboutissent à la spore.

a. Modifications morphologiques

Elles sont généralement différenciées en 7 stades de transformations morphologiques (Fig. 14) :

1. A la fin de la phase de croissance, la cellule possède deux génomes formant une structure allongée unique, souvent appelée filament chromatique axial ;
2. Après séparation du filament axial, un des deux génomes (renferment l'intégralité du patrimoine génétique de la bactérie) gagne un pôle de la cellule en même temps qu'apparaît une invagination de la membrane cytoplasmique seule, formant un septum sub-polaire qui finit par cloisonner la cellule en deux compartiments asymétriques.
3. Le septum se détache de la membrane cytoplasmique et donne une préspore ovoïde, progressivement entourée de la membrane de la cellule mère ou elle baigne, enveloppée alors d'une double membrane dont la **membrane sporale** ;
4. Entre ces deux membranes apparaît d'abord une **paroi sporale** (ébauche de la future paroi) puis le **cortex**, tous deux composés de plusieurs couches d'une sorte de peptidoglycane différent par sa composition en acides aminés du peptidoglycane de la cellule végétative ;
5. Il se forme alors des enveloppes de nature essentiellement protéique : les **tuniques sporales**. D'abord une **tunique interne** ;
6. Puis une **tunique externe** ;
7. Après une maturation progressive de la spore, la cellule mère se lyse et libère la **spore mûre**. Elle possède son propre cytoplasme et son ADN sporal.

Arrivée à ce stade, la cellule est dépourvue de toute activité métabolique détectable mais elle est douée de toutes ses propriétés de résistance.

Chez quelques bactéries comme *Bacillus cereus*, il existe une enveloppe supplémentaire, composé de lipoprotéines et de glucides, l'**exosporium**. Il surmonte alors la tunique externe.

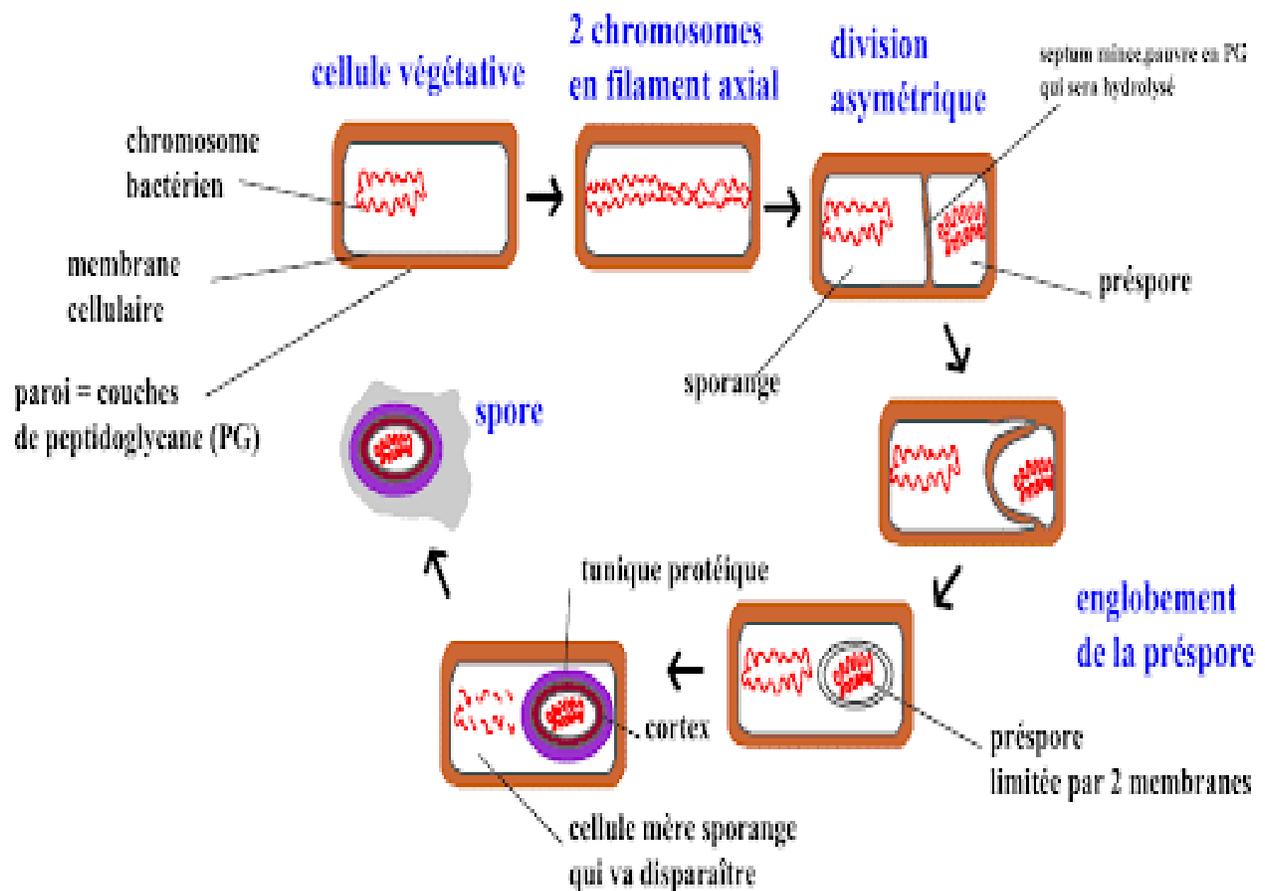


Figure 14 : Evolution de différents stades de formation de l'endospore.

b. Modifications métaboliques

Parallèlement aux différentes étapes de différenciations morphologiques sporales, les biosynthèses cellulaires subissent d'importants bouleversement, en particulier caractérisés par l'accumulation de matériels protéiques et de substance de réserves. Ce phénomène est accompagné, parfois chez certaines espèces, de l'apparition de virulence, de la production de toxines ou encore l'antibiotiques.

En général et pendant les cinq premières heures, l'essentiel des protéines de la cellule végétative est dégradé alors qu'apparaît un composé nouveau, absent des cellules végétatives : l'**acide dipicolinique**. En même temps que s'accumule dans la cellule sporulante les ions Ca^{2+} dont la majeure partie se combine avec l'acide dipicolinique pour former le dipicolinate de calcium. Ce complexe peut atteindre jusqu'à 10% du poids sec de l'endospore.

c. Résistance de l'endospore

La résistance des spores se développe progressivement, parallèlement à l'apparition des changements morphologiques et métaboliques de la cellule végétative. Elle s'exprime à la fois vis-à-vis à la **chaleur** (thermorésistance) et des **agents physico-chimiques** (agents chimiques antibactériens, radiations).

Cette résistance est principalement due à la composition chimique particulière de la spore et à la multiplicité des enveloppes sporales qui représentent globalement plus de 50% de son poids sec.

- **La thermorésistance** résulte de l'effet concerté de plusieurs facteurs. En particulier de la faible teneur en eau des spores (20% en moyenne de la teneur initiale de la cellule végétative et seulement 15% chez *Bacillus megaterium*), les acides nucléiques et les protéines étant très difficiles à dénaturer à l'état déshydraté. Cette déshydratation confère également une résistance chimique en inactivant les enzymes intra-sporales par la limitation considérable de la solubilisation des composés actifs potentiellement solubles. La présence spécifique dans la spore de dipicolinate de calcium joue aussi un rôle important dans leur thermorésistance, puisque son remplacement par des composés autres mais de même nature chimique rend les spores thermosensibles ;

- Les spores sont aussi résistantes aux **agents physiques** (rayonnement X et ultra-violet, ultrasons) et aux **agents chimiques** (désinfectants, antiseptiques, antibiotiques). Cette résistance serait le fait de la multiplicité et de la nature des tuniques sporales, particulièrement résistance aux rayonnements et rendues imperméables aux agents chimiques par la présence de dipicolinate de calcium. L'action des agents chimiques est également contrariée par la faible teneur en eau des spores qui empêche à la fois leur mobilité et la solubilité des substrats et des enzymes.

3.2.2. Germination

Après une période de dormance, pouvant durer des millénaires et probablement beaucoup plus, l'endospore peut retourner rapidement à son état initial de cellule végétative, en recouvrant l'ensemble de ses propriétés morphologiques et physiologiques d'origine.

Le processus de germination de spores implique trois étapes : **activation**, **initiation** et **excroissance**. Sa durée est de quelques minutes seulement, alors que la sporulation prend des

heures. La spore subit alors un cycle de nouvelle différenciation lui permettant de retourner rapidement à l'état végétatif bactérien, après l'élimination de ses différentes enveloppes.

a. Activation : met fin à l'état de dormance et survient seulement dans des conditions favorables de milieu et à la suite d'une activation exercée soit par des chocs physiques (abrasion des enveloppes), soit par des chocs mécaniques ou chimiques (présence de métabolites spécifiques (la L-alanine, les ribosides, le pyruvate, divers glucides).

L'activation résulte donc principalement d'une lésion des tuniques sporales qui peut aussi résulter d'un chauffage de quelques minutes à température élevée mais sub-létale ou d'un stockage de plusieurs semaines à température ambiante.

b. Initiation : l'initiation des spores déjà activées intervient dès qu'elles sont mises en présence des nutriments spécifiques et dans des conditions d'hydratation favorable. Les métabolites effecteurs pénètrent alors la spore à travers les lésions occasionnées aux enveloppes sporales durant la phase d'activation et déclenche un processus autolytique.

Cette phase d'initiation implique pour la spore : la perte de sa réfractilité, la perte de sa résistance, parallèlement à la libération de dipicolinate de calcium et à l'autolyse du cortex et des tuniques sporales.

Le stade suivant est un gonflement visible qui résulte de la réhydratation par osmose de la spore et de la synthèse de nouvelle molécule de la protéine, d'ADN, d'ARN et des autres composés vitaux.

c. Excroissance : la cellule végétative bactérienne, dans ses caractéristiques morphologiques et physiologiques initiales, émerge alors des enveloppes sporales : c'est l'excroissance.

Elle est dotée de toutes ses aptitudes d'origine et peut s'engager dans un processus de croissance, si les conditions nutritionnelles et physico-chimiques du milieu sont favorables.