

## **CHAPITRE I :**

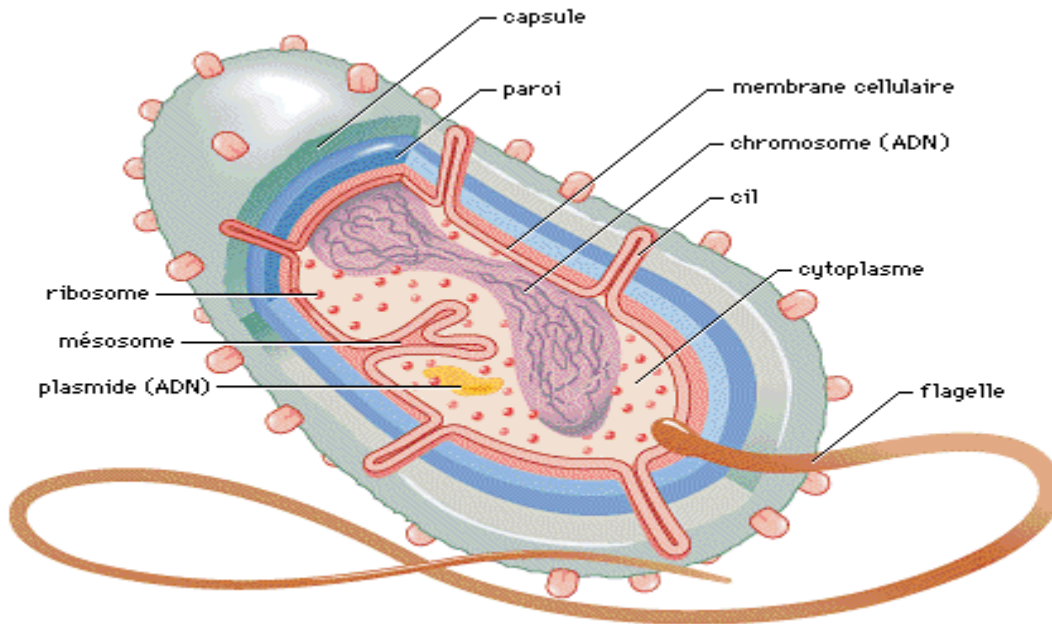
### **INTRODUCTION: BACTERIE, STRUCTURE et COMPOSITION**

#### **1. Introduction**

Malgré leur complexité et leur variété, toutes les cellules vivantes peuvent être classées en deux groupes selon leur ultrastructure, qui nous est révélée par la microscopie électronique. *Ces groupes sont les **Procaryotes** et les **Eucaryotes**.* Les plantes et les animaux sont entièrement composés de cellules eucaryotes. Dans l'univers microbien, les bactéries et les archéobactéries sont des procaryotes. Les autres microbes cellulaires-mycètes (levures et moisissures), protozoaires et algues sont des cellules eucaryotes.

Les cellules procaryotes et les cellules eucaryotes sont semblables sur le plan chimique, en ce sens qu'elles contiennent toutes des acides nucléiques, des protéines, des lipides et des glucides. Elles font appel aux mêmes types de réactions chimiques pour métaboliser la nourriture, fabriquer des protéines et stocker l'énergie. C'est avant tout, la structure des parois cellulaires et celle des membranes, ainsi que l'absence d'organites membranaires (structures cellulaires spécialisées ayant des fonctions précises), qui distinguent les procaryotes des eucaryotes.

L'observation aux microscopes optique et électronique a permis de caractériser les différentes structures cellulaires bactériennes (Fig. 01). L'analyse chimique globale des bactéries montre une composition en eau de 70 à 90%, alors que plus de 95% du matériel cellulaire est sous forme de macromolécules, dont la moitié au moins des protéines. La teneur en ARN des bactéries est aussi remarquablement élevée et elle est bien plus importante que de la plupart des cellules eucaryotes.



**Figure 01:** Cellule procaryote et ses principales structures

L'extrait sec bactérien est formé d'éléments chimiques élémentaires et moléculaires variés (Tab. 01), communs à l'ensemble des organismes vivants. A l'exception remarquable de certains composants moléculaires : peptidoglycane et acides téichoïques des bactéries à GRAM positif, lipopolysaccharide des bactéries à GRAM négatif, qui sont des composés exclusivement bactériens, inexistant chez les autres organismes vivants.

**Tableau 01 :** Composition brute moyenne d'un culot de culture bactérienne (% de poids sec)

Macromolécules principales	Eléments atomiques principaux	
Protéines : 50	C : 50	K : 2
Polysaccharides : 5-16	O : 20	S : 1
Lipides : 10	N : 14	Ca : 0.5
ARN : 10-20	H : 8	Mg : 0.4
ADN : 3-4	P : 3	Fe : 0.2

**N.B. :** Ce tableau est une moyenne représentative.

La structure interne procaryote est simple, comparativement à celle des eucaryotes. Les bactéries sont dépourvues de membrane nucléaire et leur cellule ne comporte pas les organites

intra-cellulaires, fonctionnellement spécialisés, caractéristiques des cellules eucaryotes, tels que : les mitochondries ou les chloroplastes, l'appareil de GOLGI, le réticulum endoplasmique, les lysosomes. Mais leurs structures cellulaires externes sont, en revanche, d'une grande complexité et douées de fonctions vitales.

## **2. Structure bactérienne à l'extérieur de la paroi cellulaire**

### **2.1. Paroi cellulaire**

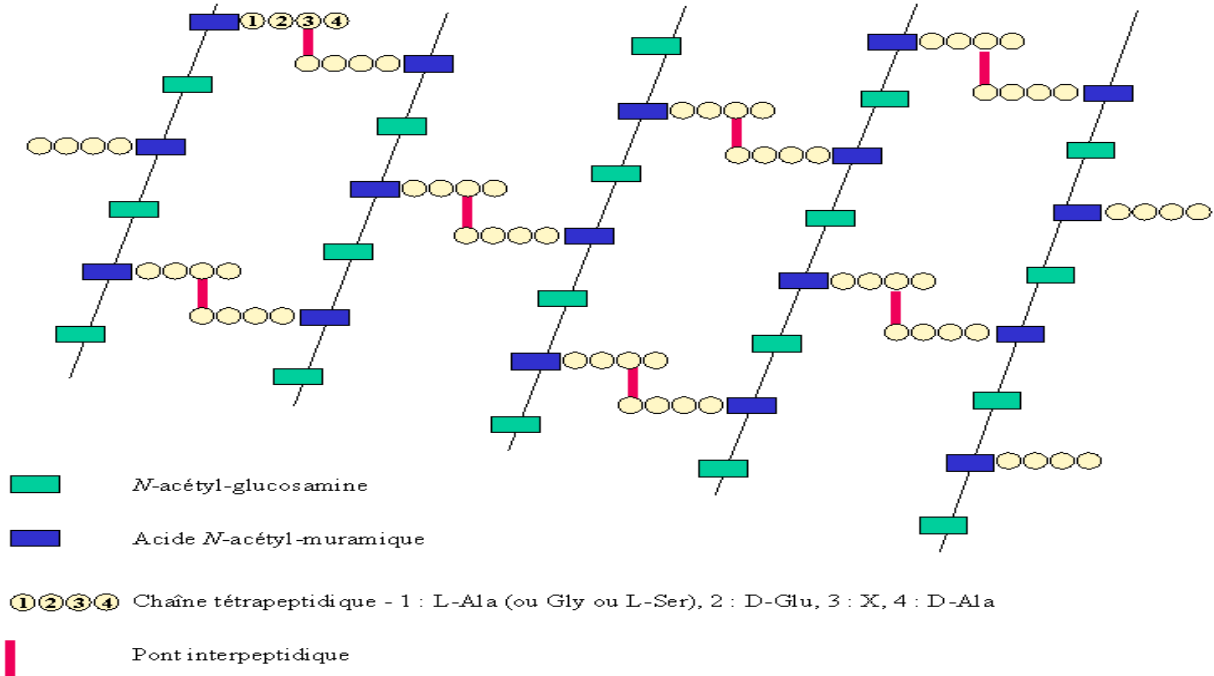
La paroi cellulaire de la bactérie est une structure semi-rigide complexe, qui confère forme et rigidité à la cellule; elle protège la fragile membrane plasmique (cytoplasmique) sous-jacente. Presque toutes les cellules procaryotes ont une paroi cellulaire (Fig. 01). Bien que les cellules de certains eucaryotes, dont les plantes, les algues et les mycètes, possèdent des parois cellulaires, leurs parois sont différentes de celle des procaryotes au point de vue chimique.

#### **2.1.1. Composition et caractéristiques**

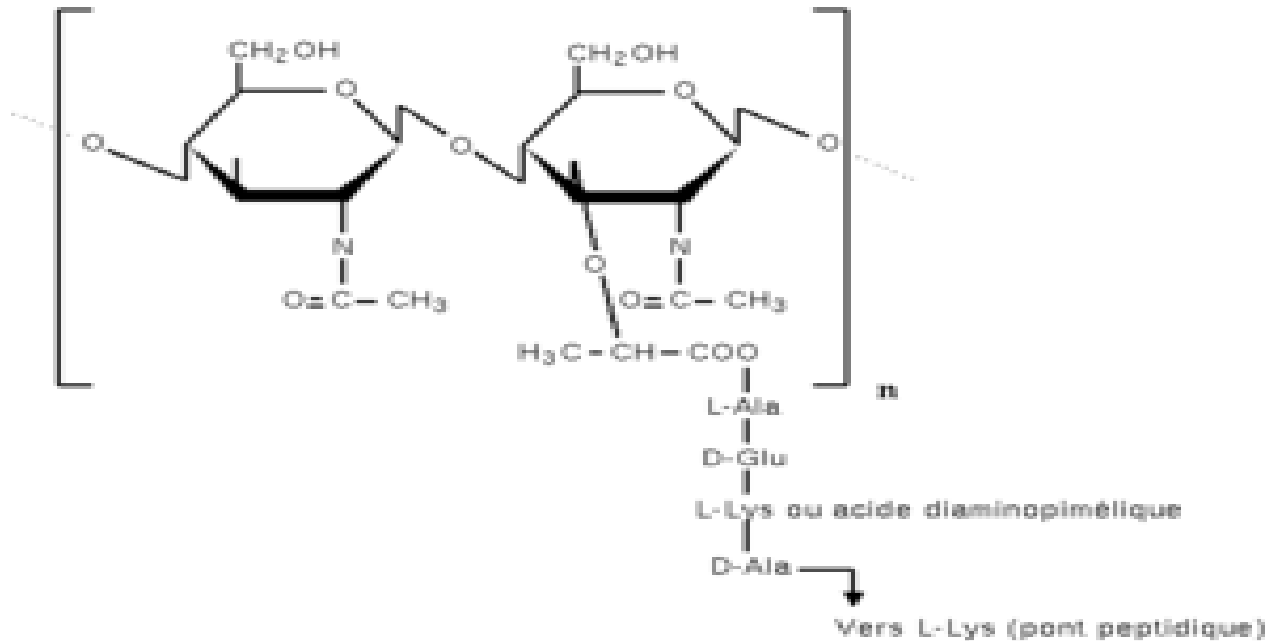
La paroi cellulaire bactérienne est composée d'un réseau macromoléculaire, le peptidoglycane (aussi appelé *muréine*), qui est présent seul ou associé à d'autres substances. Le peptidoglycane est constitué d'un disaccharide qui se répète pour former les chaînes reliées entre elles par des polypeptides. Cet assemblage en treillis enveloppe toute la cellule et la protège. Le disaccharide est composé de monosaccharides appelés N-acétylglucosamine (NAG) et acide N-acétylmuramique (NAM) (de *murus*, mur), qui sont apparentés au glucose. Les formules développées de NAG et de NAM sont présentées à la figure ci-dessous (Fig. 02).

Les divers composants du peptidoglycane sont assemblés dans la paroi cellulaire (Fig. 02). Les molécules de NAM et de NAG se suivent en alternance pour former des rangées de 10 à 65 sucres qui constituent un « squelette » glucidique (la partie glycane du peptidoglycane). Les rangées adjacentes sont reliées par des polypeptides (la partie peptide du peptidoglycane). La structure du lien polypeptidique varie mais elle comprend toujours un tétrapeptide latéral, composé de quatre acides aminés reliés aux NAM du squelette. Ces courtes chaînes sont formées d'une alternance d'isomère D et d'isomère L (Fig. 03), ce qui est particulier au monde bactérien parce que les acides aminés des autres protéines sont de la forme L. Les tétrapeptides parallèles peuvent

être liés directement les uns aux autres ou au moyen d'un *pont peptidique*, constitué d'une petite chaîne d'acides aminés.



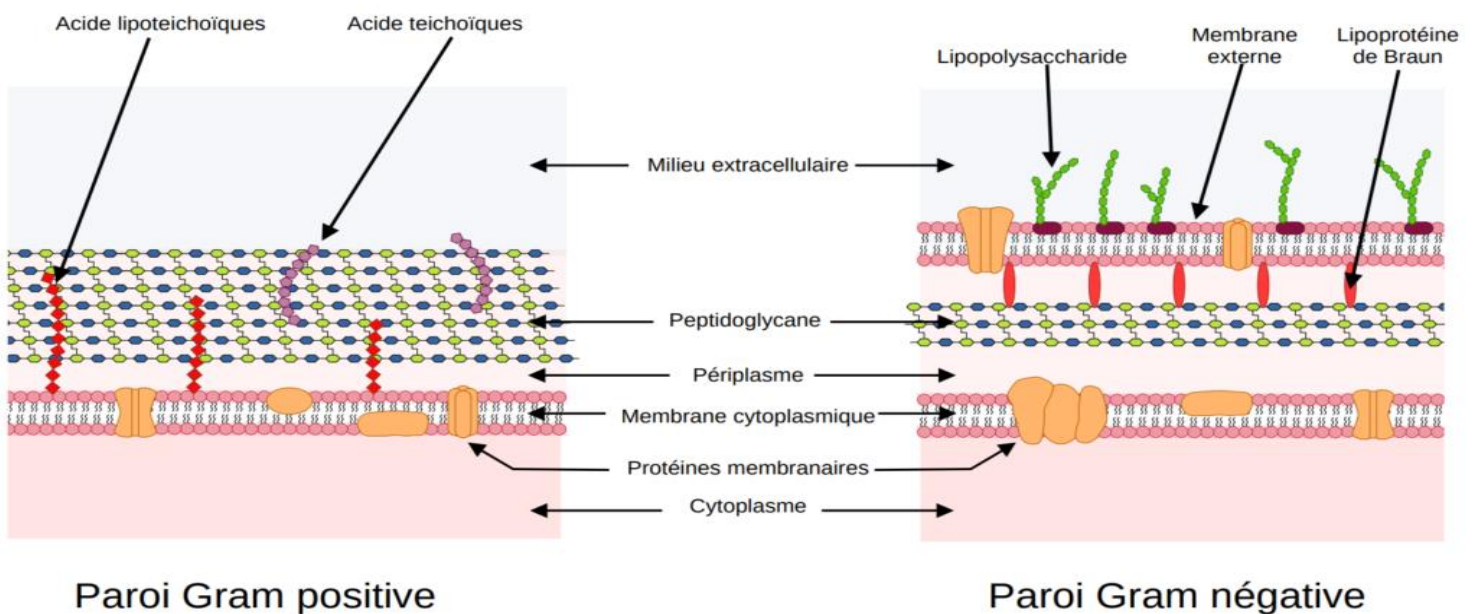
**Figure 02:** Structure chimique du peptidoglycane



**Figure 03:** Structure d'un térapeptide

En microbiologie médicale, la lutte contre les microbes est constante. Etant donné que la paroi cellulaire est essentielle à la bactéries, toute action qui perturbe l'intégrité de sa structure va porter préjudice à la bactérie et finira par provoquer sa destruction. Par exemple, la pénicilline perturbe les liens entre les rangés de peptidoglycane et les ponts peptidiques (Fig. 02). En conséquence, la paroi cellulaire se trouve très affaiblie et, comme elle ne plus protéger la bactérie, cette dernière est soumise à la **lyse**, c'est à dire que la bactérie est détruite par suite de la rupture de sa membrane plasmique et de la perte de son cytoplasme.

Nous avons vu que, en laboratoire, la coloration de Gram permet de distinguer deux types de bactéries selon l'affinité particulière de la paroi pour les colorants, soit les bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif (Fig. 04). Le tableau 02 met en parallèle certaines caractéristiques des bactéries à Gram positif et à Gram négatif.



**Figure 04:** Différence structurale entre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif

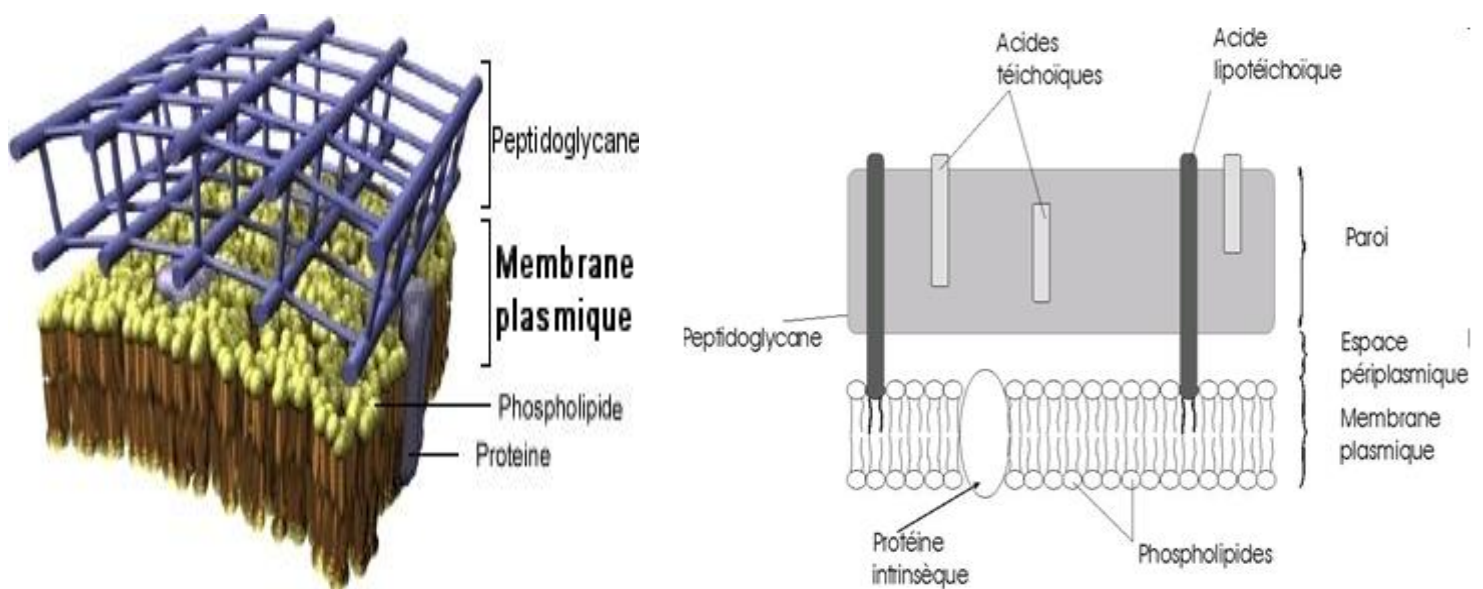
### 2.1.1.1. Paroi cellulaire à Gram positif

Chez la plupart des bactéries à Gram positif, la paroi cellulaire est composée de multiples couches de peptidoglycane, qui forment une structure homogène, épaisse et rigide (Fig. 05). Par

comparaison, la paroi des bactéries à Gram négatif contient seulement une mince couche de peptidoglycane (Fig. 06).

De plus, la paroi cellulaire des bactéries à Gram positif contient des *acides téichoïques*, qui sont formés principalement d'un alcool (tel que le glycérol ou le ribitol) et de phosphate. Il y a deux classes d'acides téichoïques: l'acide lipotéichoïque, qui traverse la couche de peptidoglycane et se lie aux lipides de la membrane plasmique, et l'acide téichoïque de paroi, qui se fixe à la couche de peptidoglycane. Leurs fonctions ne sont pas toutes connues, mais :

- En raison de leur charge négative due aux groupements phosphate, on croit que les acides téichoïques se lient aux cations (ions positifs) et assurent la régulation de leur entrée dans la cellule et de leur sortie ;
- Il est possible qu'ils jouent aussi un rôle dans la croissance de la cellule, empêchant la détérioration massive de sa paroi et sa lyse éventuelle.
- Les acides téichoïques confèrent à la paroi la majorité de sa spécificité antigénique et rendent ainsi possible l'identification des bactéries par certains tests de laboratoire



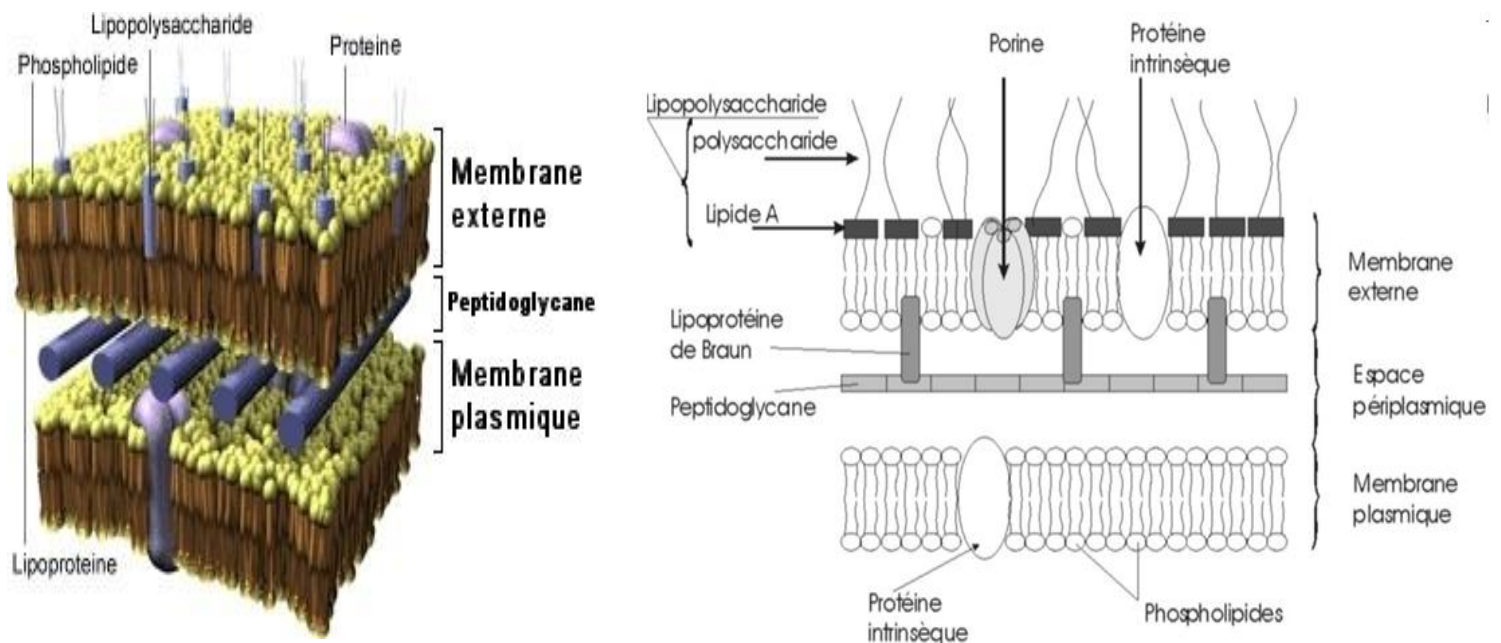
**Figure 05:** Structure de la paroi d'une bactérie à Gram positif

Les bactéries acido-alcoolo-résistantes, telles que *Mycobacterium* contient jusqu'à 60% d'acide mycolique, un lipide cireux, le reste étant du peptidoglycane. Ces bactéries retiennent le violet de crystal de la coloration de Gram et sont considérées comme des

bactéries à Gram positif.

### 2.1.1.2. Paroi cellulaire à Gram négatif

La paroi cellulaire à Gram négatif comprend une couche, ou quelques couches seulement, de peptidoglycane ainsi qu'une membrane externe (Fig. 06). La membrane externe contient des **lipoprotéines** - lipides unis par des liaisons covalentes à des protéines - qui sont liés au peptidoglycane sous-jacent, de telle sorte que les deux structures forment un tout. Entre la membrane externe et la membrane cytoplasmique se trouve l'**espace périplasmique**, région remplie d'un liquide appelé périplasma. L'espace périplasmique contient une concentration élevée d'enzyme de dégradation et transporteurs protéiques et abrite la couche de peptidoglycane. La paroi des bactéries à Gram négatif n'a pas d'acide téichoïque. En raison de la faible quantité de peptidoglycane qu'elle contient, elle risque d'avantage de se briser quand elle est soumise à un effort mécanique et à des variations de pression osmotique.



**Figure 06:** Structure de la paroi d'une bactérie à Gram négatif

En plus des lipoprotéines, la membrane externe de la bactérie à Gram négatif est composée de **lipopolysaccharides** (LPS) et **phospholipides** (Fig. 06). Elle accomplit plusieurs fonctions spécialisées :

- Sa forte charge négative est un facteur important qui permet à la bactérie d'échapper à la phagocytose et à l'action du complément (groupe d'enzymes sériques qui lysent les bactéries et favorisent la phagocytose).

- Une barrière protégeant la bactérie contre certains antibiotiques (par exemple, la pénicilline) et contre les enzymes digestives telles que le lysozyme, les désinfectants, les métaux lourds, les sels biliaires et certaines teintures.

- Perméable de toutes les substances de l'environnement puisque les nutriments doivent la traverser pour soutenir le métabolisme de la cellule. Sa perméabilité est due en partie à des protéines membranaires, appelés **porines**, qui forment des canaux. Les porines laissent passer des molécules telles que les nucléotides, les disaccharides, les peptides, les acides aminés, la vitamine B12 et le fer.

L'un des deux éléments de la membrane externe, les **lipopolysaccharides (LPS)**, est à l'origine de deux caractéristiques importantes des bactéries à Gram négatif. Premièrement, la partie glucidique est composée de sucres, appelés **polysaccharides O**, qui jouent le rôle d'antigènes et permettent de différencier les espèces de bactéries à Gram négatif. Deuxièmement, la partie lipidique du lipopolysaccharide, appelée **lipide A**, porte aussi le nom d'**endotoxine**. La toxicité du lipide A s'exerce quand des bactéries pathogènes à Gram négatif sont détruites. La mort cellulaire entraîne la dispersion de fragments de la paroi cellulaire ; l'endotoxine est alors libérée et devient toxique quand elle se trouve dans la circulation sanguine ou le tube digestif de l'hôte.

### **2.1.3. Parois cellulaires et mécanisme de la coloration de Gram**

Ce mécanisme est fondé sur les différences structurales entre les parois cellulaires des bactéries à Gram positif et à Gram négatif, et sur les effets que produisent sur elles les divers réactifs utilisés dans la coloration. Le violet de cristal, qui est le colorant primaire, confère une couleur violette aux deux types de bactéries, qu'elles soient à Gram positif ou à Gram négatif, parce qu'il pénètre jusqu'au cytoplasme des deux types de cellules. Quand l'iode (le mordant) est ajouté, il forme avec le colorant des cristaux (complexe violet-iode) qui sont trop gros pour s'échapper en traversant la paroi. La solution d'isopropanol et d'acétone (ou éthanol à 95%) qu'on ajoute par la suite déshydrate l'épaisse couche de peptidoglycane des bactéries à Gram positif, ce qui rend leur paroi encore plus imperméable aux cristaux du complexe violet-iode ; ces bactéries conservent alors la coloration violette initiale, d'où leur nom de bactéries à Gram positif. L'effet de ce



traitement sur les bactéries à Gram négatif est assez différent. L'alcool dissout la membrane externe des bactéries à Gram négatif et laisse même de petits trous dans la mince couche de peptidoglycane, par lesquels les cristaux du complexe violet-iode diffusent et sortent des bactéries ; leur paroi perd alors la couleur violette, d'où leur nom de bactéries à Gram négatif. Les bactéries à Gram négatif étant incolores après le traitement à l'isopropanol-acétone, on ajoute de la safranine (contre coloration), ce qui les fait apparaître en rose.

Dans toute population de bactéries, certaines cellules à Gram positif réagissent comme si elles étaient des cellules à Gram négatif. Ce sont habituellement des cellules mortes. Toutefois, il existe quelques genres à Gram positif qui présentent une proportion croissante de cellules à Gram négatif au fur et à mesure que la culture vieillit. *Bacillus*, *Clostridium* et *Mycobacterium* sont les mieux connus de ce groupe et sont souvent appelés cellules à Gram variable.

**Tableau 02:** Comparaison de certaines caractéristiques des bactéries à Gram positif et à Gram négatif

Caractéristiques	A Gram positif	A Gram négatif
Réaction à la coloration de Gram	Les bactéries retiennent le violet de cristal et se colorent en violet ou en pourpre foncé	Les bactéries se décolorent pour accepter la contre-coloration (safranine) et apparaître en rose (ou en rouge)
Couche de peptidoglycane	Epaisse (multiples couches)	Mince (une seule couche)
Acides téichoïques	Souvent présents	Absents
Espace périplasmique	Absent	Absent
Membrane externe	Absente	Présente
Quantité de lipopolysaccharide (LPS)	Presque nulle	Elevée
Quantité de lipide et de lipoprotéines	Faible (les bactéries acidorésistantes ont des lipides liés au peptidoglycane)	Elevée (en raison de la membrane externe)
Structure des flagelles	Corpuscule basal à deux canaux	Corpuscule basal à 4 anneaux
Toxines produites	Exotoxines surtout	Endotoxines surtout

Résistance à la rupture par les agents physique	Elevée	Faible
Altération de la paroi cellulaire par le lysozyme	Importante	Légère (nécessite un traitement préalable pour déstabiliser la membrane externe)
Sensibilité à la pénicilline et au sulfamide	Elevée	Faible
Sensibilité à la streptomycine, au chloramphénicol et à la tétracycline.	Faible	Elevée
Inhibition par les colorants basiques	Elevée	Faible
Sensibilité aux détergents anioniques	Elevée	Faible
Résistance à l'azoture de sodium	Elevée	Faible
Résistance à l'assèchement	Elevée	Faible

#### **2.1.4. Altérations de la paroi cellulaire**

Les produits chimiques qui endommagent la paroi cellulaire des bactéries, ou nuisent à sa synthèse, épargnent souvent les cellules de l'hôte animal parce que la paroi bactérienne possède une composition chimique qui n'existe pas dans la cellule eucaryote. En conséquence, la synthèse de la paroi cellulaire est la cible de certains médicaments antimicrobiens. On peut fragiliser la paroi en l'exposant au lysozyme (enzyme digestive qui fait normalement partie de certaines cellules eucaryotes et qui est un constituant des larmes, du mucus et de la salive).

L'action du lysozyme s'exerce particulièrement sur le peptidoglycane, composant majeur de la paroi de la plupart des bactéries à Gram positif, rendant celles-ci vulnérables à la lyse. Le lysozyme catalyse l'hydrolyse des liaisons entre les sucres des chaînes de disaccharides polymérisés qui forment le « squelette » du peptidoglycane. C'est comme si on coupait les supports d'acier d'un pont avec un chalumeau : la paroi de la bactérie à Gram positif est presque complètement détruite par le lysozyme. Le contenu cellulaire encore enveloppé par la membrane plasmique reste intact s'il n'y a pas de lyse ; on appelle cette cellule sans paroi un **protoplaste**. En

règle générale, le protoplaste est sphérique, car il a perdu sa forme rigide ; quoique très fragile, il est encore capable de métabolisme.

Quand on expose des bactéries à Gram négatif au lysozyme, la paroi n'est habituellement pas atteinte aussi gravement que celle des bactéries à Gram positif. Une partie de la membrane externe est aussi épargnée. Dans ce cas, le contenu de la cellule, la membrane plasmique et la couche de paroi externe restante forment une cellule également sphérique appelée **sphéroplaste**. Pour que le lysozyme exerce son action sur les bactéries à Gram négatif, on doit traiter ces dernières au préalable avec de l'acide Ethylène-Diamino-Tétra-Acétique (EDTA). L'EDTA affaiblit les liaisons ioniques de la membrane externe et produit des brèches par lesquelles le lysozyme accède à la couche de peptidoglycane.

Sans paroi cellulaire pour les protéger, les protoplastes et les sphéroplaste éclatent dans l'eau distillée ou les solutions de sel ou de sucre très diluées parce que les molécules d'eau du liquide ambiant pénètrent massivement dans la cellule, dont la concentration interne en eau est beaucoup plus faible, et la font gonfler. Cette rupture s'appelle lyse osmotique et sera étudiée en détail un peu plus loin. La présence de la paroi cellulaire assure donc à la bactérie une bonne protection contre la lyse osmotique.

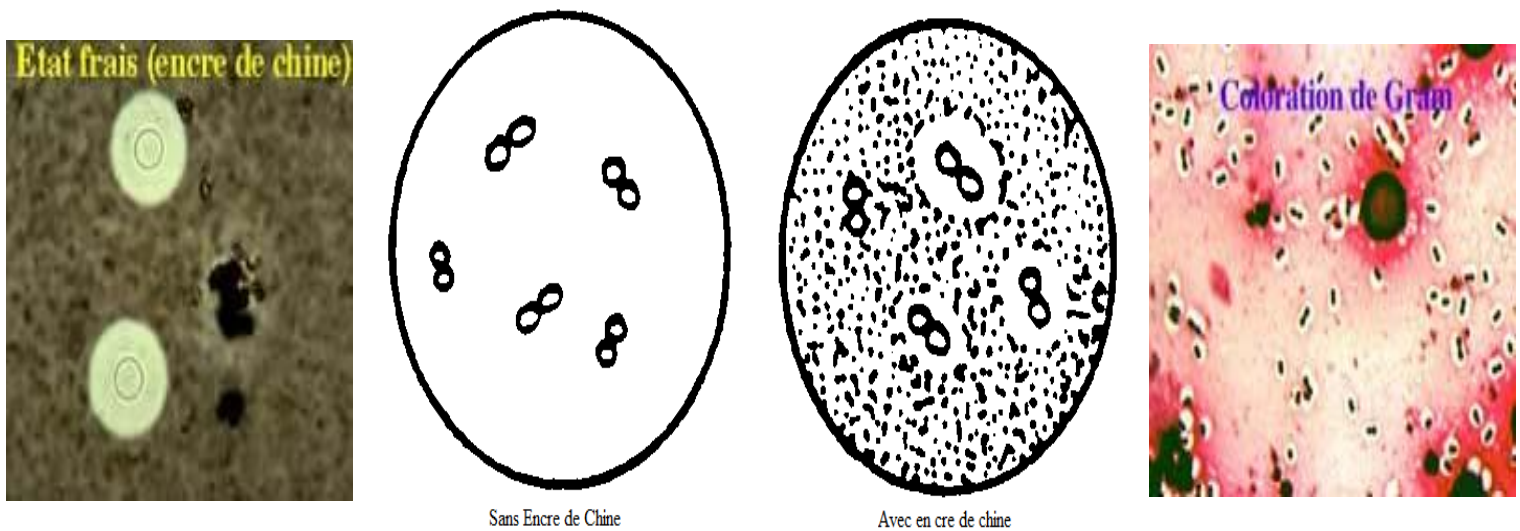
Nous avons indiqué plus haut que certains antibiotiques, tels que la pénicilline, détruisent les bactéries en perturbant la mise en place des ponts peptidiques du peptidoglycane, empêchant ainsi la formation d'une paroi cellulaire fonctionnelle. La plupart des bactéries à Gram négatif ne sont pas aussi sensibles à la pénicilline que les bactéries à Gram positif parce que leur membrane externe constitue une barrière qui s'oppose à l'entrée non seulement de la pénicilline mais d'autres substances également, et parce qu'elles possèdent moins de ponts peptidiques. En revanche, les bactéries à Gram négatif sont assez sensibles à d'autres antibiotiques, dont certaines bêta-lactamines qui pénètrent mieux la membrane externe que la pénicilline.

## **2.2. Capsule**

### **2.2.1. Introduction**

De nombreuses bactéries synthétisent et secrètent des polymères organiques très divers qui se déposent et s'accumulent en couches externes, autour de leurs parois, formant ainsi l'élément structural le plus périphérique de ces bactéries. Elle recouvre donc le peptidoglycane des bactéries

à GRAM positif ou la membrane externe des bactéries à Gram négatif mais leur présence reste **facultative**. Ces excréctions forment la capsule qui se présente sous une forme amorphe et généralement de forte viscosité, avec une épaisseur très variable selon les espèces et la nature du milieu. La capsule est communément mise en évidence au microscope optique par une **coloration négative** à l'encre de chine ou à la nigrosine, la capsule ne prenant pas ces colorants elle apparaît en clair sur fond noir (Fig. 07). La présence de la capsule détermine des propriétés écologiques et physiopathologiques particulières.



**Figure 07:** Apparition de la capsule bactérienne sous colorants

### 2.2.2. Composition

La capsule est de nature **gélino-muqueuse**, le plus souvent composée de **polysaccharides**: homopolymères ou hétéropolymères, à l'exemple des **dextranes** des *Leuconostoc* ou des **levanes** des *Pseudomonas* et des *Xanthomonas*. Ces polysaccharides sont essentiellement formés des acides uroniques, galacturonique, gluconique et hyaluronique et de glucides phosphatés comme le ribitol phosphate.

Les capsules formées de polyosides sont désignées par le terme de **glycocalix** qui est plus ou moins épais et rigide, en fonction de sa composition chimique, généralement formé de glycoprotéines et d'une large variété de polysaccharides incluant des polyalcools et des glucides

aminés. Actuellement, le glycocalix est utilisé de plus en plus comme terme générique pour désigner tous les types de capsules. Dans de rare cas, principalement dans le genre *Bacillus*, la capsule est de nature polypeptidique. Alors que certaines bactéries et des archaébactéries développent au-dessus de leur paroi une couche de structure régulière de protéines et de glycoprotéines, appelée **couche S**.

### **2.2.3. Structure**

Les polymères de la capsule sont plus ou moins fortement liés à la bactérie et ne sont pas structurés. Ils ne constituent donc pas une enveloppe cellulaire du même type que la paroi mais plutôt une sorte d'exsudat périphérique. Son élaboration est fortement liée à la composition du milieu et notamment à ses constituants glucidiques.

Le matériel capsulaire peut aussi être excrété sous la forme de couches muqueuses fortement visqueuses, de nature *glycoprotéique*, appelées **slimes**. Ils ont des propriétés physiques différentes de celles des capsules et sont moins fortement liés aux bactéries. Ils sont même parfois complètement libérés dans le milieu.

La capsule peut être aisément éliminé par hydrolyse enzymatique, par lavage avec une solution saline et même souvent par le seul effet mécanique d'une simple agitation d'une suspension bactérienne. Sa présence donne aux colonies bactériennes, obtenues sur milieu gélosé, un aspect muqueux très caractéristique.

### **2.2.4. Fonction**

La capsule n'a pas de fonction vitale pour les bactéries, puisqu'elles peuvent croître et se multiplier après l'avoir perdue. Mais sa présence détermine diverses propriétés spécifiques.

#### **2.2.4.1. Adhésion**

C'est une fixation (adsorption) plus ou moins spécifique à toutes sortes de supports, inertes ou vivants, assurés en particulier par les polysides fibreux du glycocalix. Cette adhésion constitue la première étape de la colonisation d'un écosystème. Ainsi, les bactéries de l'eau, du sol, du tube digestif et d'autres milieux sont toujours pourvues de glycocalix. C'est lui qui leur permet de se développer en micro-colonies adhérentes aux surfaces à leur contact, que ces surfaces soient de nature organique ou minérale, vivantes ou inertes.

#### **2.2.4.2. Protection**

La capsule, en formant une sorte d'enveloppe externe supplémentaire, constitue un élément significatif de protection des bactéries vis-à-vis de leur environnement et spécifiquement à l'égard de certains facteurs physico-chimiques antagonistes du milieu comme la dessiccation. La capsule empêche aussi la fixation des bactériophages et protège les bactéries de la prédation des protozoaires de leur milieu.

La couche S protégerait aussi les bactéries de divers aléas du milieu : fluctuation du pH et de la force ionique, stress osmotique et mécanique, enzymes hydrolytiques.

#### **2.2.4.3. Pathogénicité**

La pathogénicité des capsules est, en particulier, reliée à leur propriété d'adhésion qui constitue aussi la première étape de l'infection.

La présence du glycocalyx favorise aussi, en elle-même, le pouvoir infectieux des bactéries en rendant inopérantes les cellules phagocytaires qui subissent un effet répulsif des bactéries capsulées. Le ribitol phosphate serait responsable de l'effet anti-phagocytaire des capsules.

Les composants capsulaires déterminent aussi une antigénicité spécifique et la capsule peut constituer en elle-même aussi un facteur de virulence. Ainsi, les pneumocoques non capsulés ne sont pas pathogènes, contrairement aux pneumocoques capsulés.

Le métabolisme de synthèse des capsules peut être ciblé et altéré par les antibiotiques, au même titre que les autres composants cellulaires bactériens.