

Une bactérie est un être unicellulaire (procaryote) de petite taille, de morphologie variable qui présente des caractéristiques propres. La taille d'une bactérie varie entre 1 à 10  $\mu\text{m}$ . Le poids d'une bactérie est d'environ  $10^{-12}$  g. Elle contient 70% d'eau. Rapporté au poids sec, une bactérie est constituée de protéines (55%), de lipides (10%), de lipopolysaccharides (3%), de peptidoglycane (3%), de ribosomes (40%), d'ARN (20%) et d'ADN (3%).

**1. Techniques d'observation de la cellule bactérienne :** l'étude des bactéries exige des techniques et un processus à suivre :

**1.1. Culture bactérienne :** la croissance bactérienne peut être obtenue au laboratoire dans des milieux de culture, composés d'une solution aqueuse de nutriments, réunissant toutes les substances requises pour la croissance (carbone, énergie, azote, oligoéléments et autres).

**1.2. Observation :** on distingue 2 types :

Observation macroscopique s'effectue à l'œil nu et consiste à la description des colonies (forme, pourtour, couleur, surface ...), ainsi que le dénombrement.

Observation microscopique permet la caractérisation de la morphologie et de certaines structures cellulaires.

- Observation directe : à l'état frais 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 : l'échantillon subit avant son observation un traitement de préparation, comprend une fixation et une coloration qui mette en évidence une structure cellulaire donnée.

Coloration simple : obtenue par l'utilisation d'un seul colorant (ex : bleu de méthylène), permet de déterminer 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. Il existe des colorations spécifiques pour l'observation microscopique de structures cellulaires particulières : capsule (coloration de BORREL), flagelle (coloration de LEIFSON ou RHODES), granules de réserves (coloration de NEISSER), noyau (coloration de MAY-GRUNWALD-GIEMSA), spores (coloration de MOELLER) et la paroi (coloration de GRAM).

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

**2. La morphologie cellulaire :** les bactéries se présentent sous des formes et des tailles diverses, génétiquement déterminées et caractéristiques de l'espèce (figure 1).

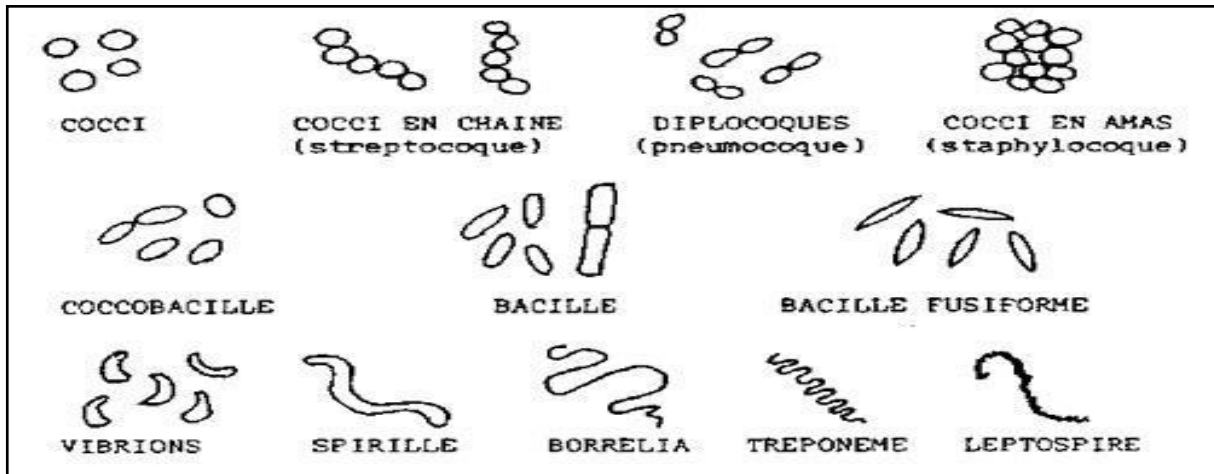
**2.1. Forme:** les bactéries sont des organismes unicellulaires de formes variées.

-**Sphérique ou cocci**, isolées, en chaînette ou en amas (nombre variable de cellules) : *Staphylocoques*, *Streptocoques* ...

-**Bâtonnet ou bacille**, isolée, en chaînette ou en amas, de longueur et de diamètre variables : *E.coli*, *Salmonella*, *Bacillus*.

- **Spiralée : spirilles, spirochètes**, comme *Treponema*.

-**Filamenteuse** : ayant une organisation biologique de champignons (mycélium) : les Actinomycètes.



**Figure1** : Les différentes formes et associations bactériennes.

**2.2. Taille** : les bactéries sont les plus petits des microorganismes : 0.1 à 2 $\mu$ m de diamètre pour 0.5 à 5 $\mu$ m de long. Les plus grandes des bactéries (certains Spirochètes peuvent atteindre 250  $\mu$ m de long.) atteignent la taille d'une algue, les plus petites ont des dimensions analogue ou même inférieur à celles de certains virus (une taille d'environ 0,2  $\mu$ m des Chlamydia). En moyenne la taille se situe entre 1 et 10  $\mu$ m.

**2..3 Associations cellulaires** : une espèce bactérienne peut apparaître sous forme de cellules isolées séparées ou en groupements caractéristiques variables selon les espèces : association par paires, en amas réguliers, en chaînette, par quatre (tétrades).

### 3. Eléments constants (obligatoires) et non constants (facultatifs) des bactéries

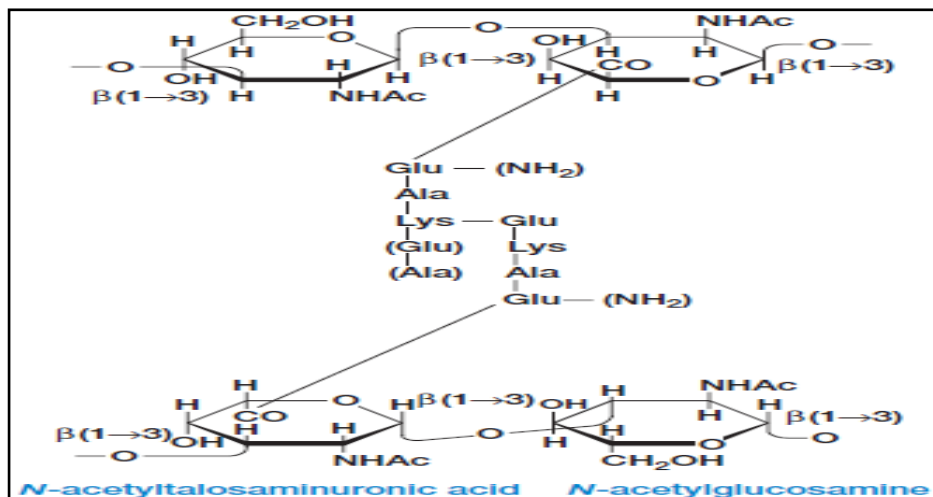
Eléments constants	Eléments non constants
Paroi	Capsule
Membrane plasmique	Plasmide
cytoplasme	Vacuole à gaz (bactéries aquatiques)
Périplasma (espace périplasmique)	Inclusions de réserves
Ribosomes	Pili (fimbriae)
Polysomes	Flagelles (cils)
Appareil nucléaire (chromosome)	Chromatophore (B <sup>+</sup> photosynthétiques)
	Endospore (bactéries sporulant)
	Mésosome

**3.1. La paroi** : tous les protistes procaryotes ont une paroi, à l'exception de l'ordre des Mycoplasmatales chez les bactéries et de l'ordre des Thermoplasmatales chez les archaebactéries. Elle est responsable de la forme et de la rigidité de leurs cellules, et elle assure la protection physique de leur membrane cytoplasmique sous-jacente. C'est l'enveloppe rigide externe des bactéries, elle représente 20% de son poids sec total.

**3.1.1. Composition et structure :** les parois des bactéries et des archaebactéries sont de composition différentes.

\* Bactéries : l'élément structural principal de la paroi des bactéries est un complexe macromoléculaire, appelé « Peptidoglycane, muréine ou mucopeptide ». En plus du peptidoglycane, leur paroi contient d'autres constituants qui varient selon les espèces. Parmi ces constituants, on note : le lipopolysaccharide (LPS) et les acides teïchoïques et lipoteïchoïques qui sont des composés exclusifs des bactéries.

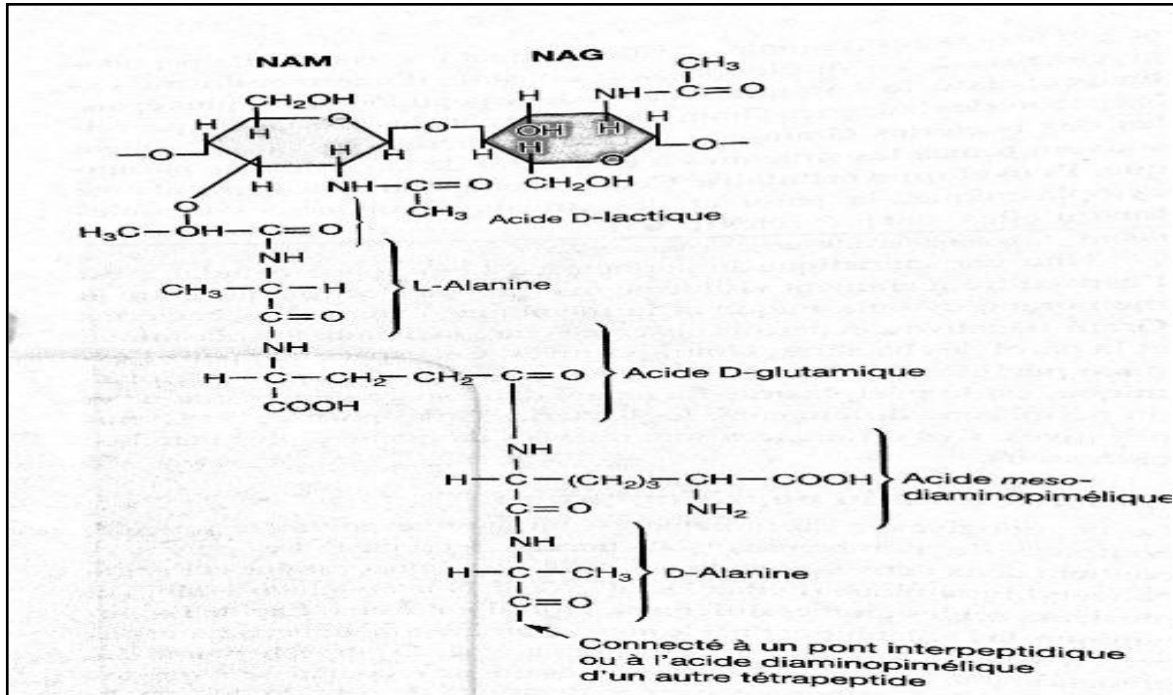
\* Archaeobactéries : leur paroi est dépourvue de peptidoglycane, qui est remplacé par une structure complexe, appelée « pseudopeptidoglycane ». Ce dernier est dépourvu de l'acide N-acétyl muramique, remplacé par l'acide N-acétyl talosaminuronic. De même qu'il ne contient pas les acides aminés de la série D spécifique du peptidoglycane (figure 2).



**Figure 2 :** Structure chimique de la pseudomuréine des archéobactéries.

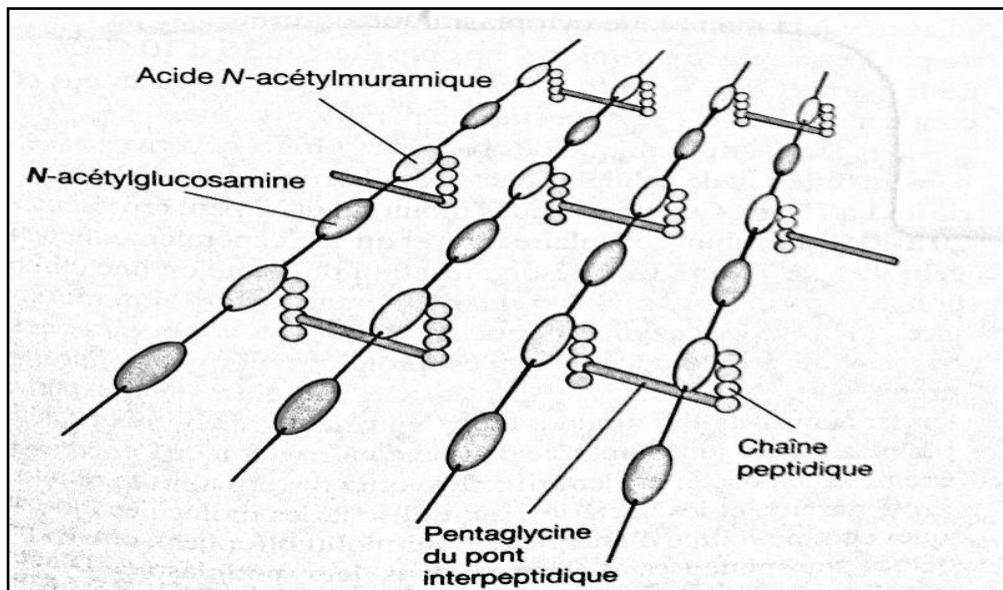
\* Peptidoglycane : C'est un composé macromoléculaire de composition chimique complexe et de structure régulière et répétitive.

\* Composition : Le peptidoglycane est un hétéro polymère, formé de chaînes linéaires alternées de deux dérivés glucidiques appelés les « osamines » : N-acétyl glucosamine et l'acide N-acétyl muramique, liés en  $\beta$  (1-4) par des ponts glycosidiques. Ces polyosides sont associés entre eux par des tetrapeptides d'un petit groupe d'acides aminés formés de : L-alanine et D-alanine, L-lysine, acide m-diaminopimélique, acide D-glutamique. Parmi ces acides aminés trois sont spécifiques au peptidoglycane et n'entrent dans la composition d'aucune protéine : D-alanine, acide D-glutamique, acide m-diaminopimélique. L'acide N-acétyl muramique est un composé spécifiquement bactérien (figure 3).



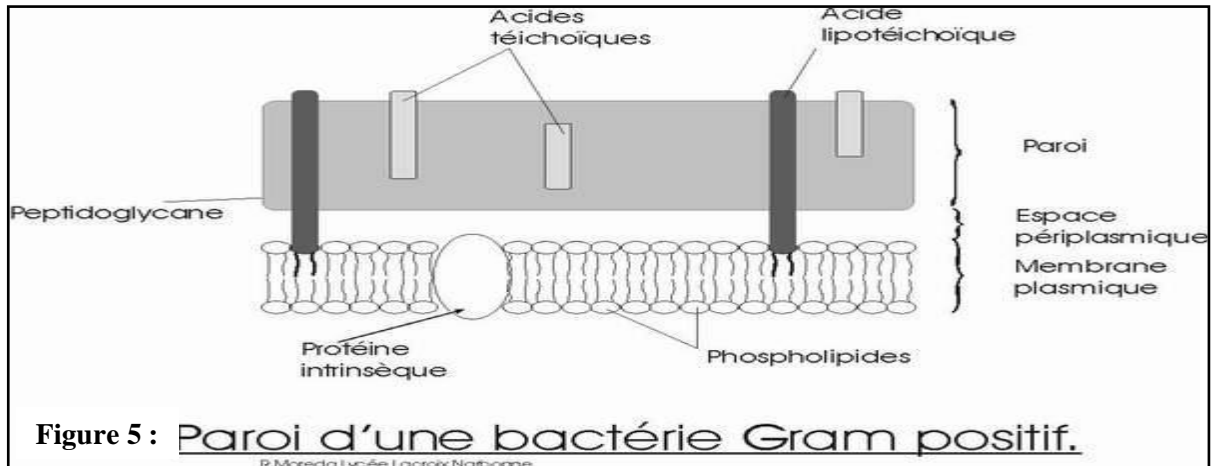
**Figure 3 :** Principaux constituants chimiques de la paroi.

\*Structure : Le peptidoglycane se présente comme un véritable réseau où la lysine et l'acide diaminopimélique jouent un rôle structural important, grâce à leur capacité de contracter des liaisons peptidiques par leurs deux groupements amines. Les chaînes de peptidoglycane ainsi formées sont reliées entre elle par des liaisons interpeptidiques, engendrant la formation d'un réseau multicouche, maillé et rigide. La structure spécifique de la paroi bactérienne explique sa résistance mécanique et osmotique exceptionnelle (figure 4).

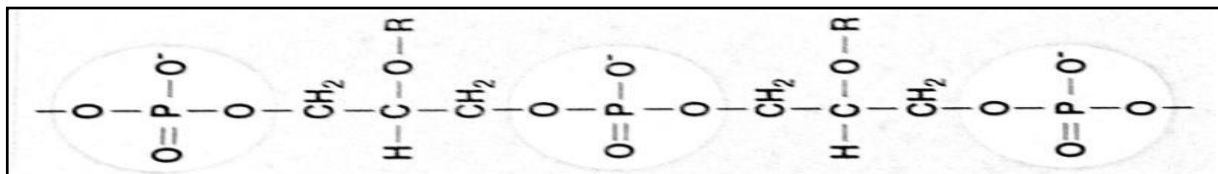


**Figure 4 :** Dessin schématique du peptidoglycane.

\* Bactéries à GRAM positif : La paroi des bactéries à GRAM positif a une épaisseur de 20 à 80nm. Elle est principalement composée du peptidoglycane, disposé en une vingtaine de couches superposées (30 à 70% de son poids sec). La paroi contient des protéines, elle est pauvre en lipides mais riches en constituants secondaires : les acides teïchoïques et les acides teïchuroniques (figure 5).

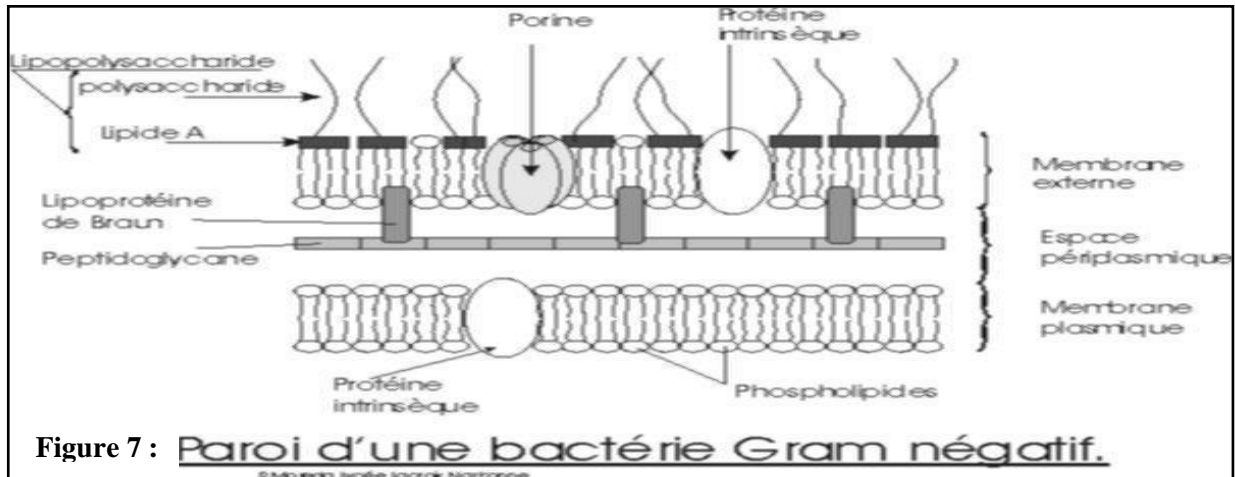


\* Acides teïchoïques et teïchuroniques : ces polymères de ribitol phosphate ou de glycérol phosphate peuvent exister sous la forme de un ou de plusieurs types chez une même bactérie. Certains sont liés par covalence aux glycolipides de la membrane cytoplasmique et sont aussi appelés : acides lipoteïchoïques. La paroi peut contenir une part limitée d'acides teïchuroniques, composés d'acide glucuronique et de N-acétyl glucosamine (figure 6).



**Figure 6 :** Structure d'un acide teïchoïque : Phosphate + glycérol + R (Alanine, Glucose...).

\*Bactéries à GRAM négatif : La paroi des bactéries à GRAM négatif est plus fine et plus complexe. Elle est composée de deux éléments : **le peptidoglycane** et **une membrane externe**. Le peptidoglycane est présent en une seule couche de 1 à 5nm d'épaisseur (moins de 10% du poids sec de la paroi) (figure 7).



La membrane externe surmonte le peptidoglycane, comporte deux feuillets et présente des caractères particuliers et une composition complexe de protéines, de phospholipides et de lipopolysaccharides. Il ya plusieurs types de protéines dans la membrane externe, en particulier les porines qui résultent de l'association de 3 sous unités avec un canal centrale. Ces porines rendent la membrane externe perméable contrairement à la membrane cytoplasmique. On trouve dans la membrane externe un complexe appelé lipoprotéine majeure ou lipoprotéine de BRAUN, localisé dans la couche interne de la membrane externe et rattaché au peptidoglycane par covalence. Il confère à l'enveloppe externe une meilleure stabilité. Le feuillet interne est composé de phospholipides similaires à ceux de la membrane cytoplasmique, le feuillet externe est composé de : lipopolysaccharides ou LPS, responsable de la spécificité antigénique de surface des bactéries à GRAM négatif. Le LPS est composé de trois parties :

- Le lipide A : inséré dans la membrane externe, et constitué de plusieurs unités de D-glucosamine-phosphate, substituées d'acides gras hydroxylés. C'est la partie la plus stable du LPS, qui donne la pathogénicité des bactéries GRAM négatif.

- La partie centrale ou core : composée de 10 à 15 unités glucidiques dont des hexoses et des heptoses et un octose (l'acide 2-céto-3-désoxyoctulosonique (CDO), commun à la plupart des bactéries à GRAM négatif et spécifique des protistes procaryotes.

- La partie périphérique, appelée antigène O : Elle est formée d'une chaîne flottante de plusieurs unités formée de 4 à 6 glucides. Elle est responsable du pouvoir immunogène des bactéries à GRAM négatif.

### 3.1.2. Fonctions :

- \*La forme : la paroi confère aux bactéries la forme, qui est un élément essentiel de leur identification. Sa rigidité et sa résistance sont dues à la présence du peptidoglycane.

- \*La protection : la paroi assure la protection physique des cellules contre les agents externes et préserve la membrane cytoplasmique non résistante, de l'éclatement sous l'effet de la pression osmotique.

\*L'antigénicité : la paroi est aussi le support de l'antigène somatique O (LPS) et des sites de reconnaissance et de fixation des bactériophages.

\*Action du lysozyme : le lysozyme est une enzyme antibactérienne. Il agit en attaquant spécifiquement les liaisons glycosidiques du peptidoglycane qui est détruit par la perte de sa structure. Ajouté à une culture bactérienne, il provoque la destruction des cellules par la dissolution complète de leur paroi. Les bactéries se lysent par l'éclatement de leur membrane cytoplasmique sous l'effet de leur pression osmotique interne. Le traitement au lysozyme dans un milieu de PO= ou légèrement > à la PO intracellulaire, les bactéries perdent leurs formes et deviennent sphériques mais elle ne se lysent pas. Les bactéries à GRAM positif apparaissent en sphères limitées par leur membrane cytoplasmique. Elles sont appelées « Protoplastes ». Les bactéries à GRAM négatif constituent des sphères entourées par leur membrane externe surmontant la membrane cytoplasmique. Elles sont qualifiées de « Sphéroplastes ».

R : Les protoplastes sont dépourvus de tous les résidus de paroi, alors que les sphéroplastes conservent des fragments de peptidoglycane qui restent insérés entre leur membrane externe et leur membrane cytoplasmique.

\*Action de la pénicilline : la pénicilline est un antibiotique, qui inhibe la synthèse du peptidoglycane. Elle n'agit donc que sur des cellules en phase de croissance. La pénicilline est active sur les bactéries à GRAM positif à cause de l'accessibilité directe de leur peptidoglycane. Son effet s'exerce sur les bactéries à GRAM négatif dont elle traverse la membrane externe par les porines pour s'attaquer au métabolisme de synthèse du peptidoglycane. Son action conduit aussi à la formation de protoplastes et de sphéroplast.

\* Perméabilité : La paroi laisse passer de petites molécules de faible poids moléculaire et hydrophobes comme l'eau, les sels minéraux ou des métabolites simples. Par contre, elle est plus ou moins perméable à certains solvants. Cette perméabilité laisse les structures membranaires sous-jacentes, semi perméable, jouer leur rôle dans le contrôle sélectif des échanges de substrats et de métabolites avec le milieu environnant

\* La paroi a aussi, un rôle immunologique par ces propriétés antigéniques grâce au LPS et au peptidoglycane, qui jouent un rôle important dans la défense non spécifique contre l'infection (activation du complément).

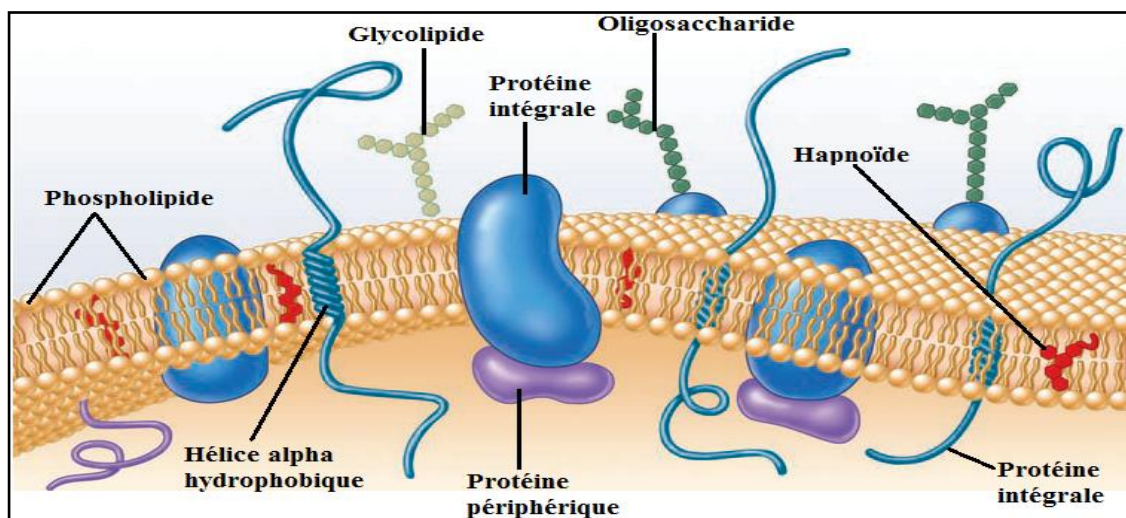
**3.1.3. Coloration de GRAM :** la coloration de GRAM permet de distinguer deux groupements principaux de bactéries, répondant différemment à une même coloration, parce que leur paroi est de structure et de composition différentes. Christian GRAM découvrit, qu'après leur coloration au cristal violet, certaines bactéries sont décolorées par un traitement aux solvants organiques, alors que d'autres restent insensibles à cette opération.

Le cristal violet pénètre toute les bactéries, se fixe dans le cytoplasme et le colore. Les bactéries à GRAM négatif se décolorent sous l'action des solvants organiques, à cause de leur paroi rendue poreuse par la dissolution des lipides qui constituent son composant principal. Les bactéries à GRAM positif gardent leur coloration initiale au cristal violet.

**L'espace péri plasmique :** c'est l'espace hydrophile situé entre la membrane externe et la membrane cytoplasmique chez les bactéries à GRAM négatif et entre la paroi et la membrane plasmique chez les bactéries à GRAM positif. Contient des enzymes qui participent à la nutrition (hydrolases) et des protéines qui sont impliquées dans le transport de molécules à l'intérieur de la cellule. Les bactéries G (+) excrètent plutôt les enzymes hors de la cellule (exoenzymes). Celles des G (-) sont retenues entre les membranes interne et externe.

**3.2. La membrane cytoplasmique :** elle est au contact direct du cytoplasme qu'elle délimite de manière continue. Elle constitue aussi une barrière permettant d'une part aux bactéries d'absorber les nutriments nécessaires à leur croissance et, d'autre part, d'excréter les métabolites devenus inutiles. La membrane plasmique contient les enzymes de la chaîne respiratoire, les déshydrogénases et les coenzymes associés : NAD<sup>+</sup>, FAD, cytochromes, cytochrome oxydase. D'autres enzymes de la synthèse des lipides et la réplication de l'ADN.

**3.2.1. Composition chimique :** la membrane cytoplasmique est formée de phospholipides (30 à 40%) et de protéines (60 à 70%), à l'exception des Mycoplasmes qui ont des membranes contenant des stérols. Les protéines sont disséminées sur l'ensemble de la membrane cytoplasmique, on distingue, des protéines périphériques situées à la surface interne ou à la surface externe de la membrane, qui peuvent agir comme des enzymes catalyseurs des réactions chimiques ou des molécules structurales. L'autre type est les protéines intrinsèques (intégrales) implantées dans la bicouche de phospholipides. Ces protéines peuvent traverser la membrane et appelées protéines transmembranaires. Certaines de ces protéines forment des canaux de transport des substances. Les lipides membranaires forment l'essentiel des lipides cellulaires et composés principalement de phospholipides : phosphatidyl-glycérol et/ou phosphatidyl-éthanolamine, disposés avec leurs groupements hydrophiles (leur tête polaire composée d'un groupement phosphate et de glycérol) exposés en surface, et leurs chaînes hydrophobes (chaînes d'acides gras hydrophobes : queue non polaire) dirigées vers l'intérieur. Les lipides sont à la base de la structure de la membrane. Chaque molécule de lipide est amphipathique ; formée d'une partie hydrophobe soluble dans l'huile insoluble dans l'eau et une partie hydrophile ayant des propriétés opposées et portant un groupement phosphate chargé négativement (figure 8).



**Figure 8 :** Structure de la membrane plasmique d'une cellule bactérienne.



De nombreuses membranes bactériennes contiennent des stéroïdes pentacycliques, les hopanoïdes, qui ont un rôle de stabilisation des membranes.

**3.2.2. Structure :** l'examen au microscope électronique montre que la membrane cytoplasmique a une épaisseur de 8 nm, et une grande similitude avec la membrane cytoplasmique des cellules eucaryote. La membrane cytoplasmique constitue 8 à 18% du poids sec cellulaire. Elle a une structure en bicouche : Ces deux couches moléculaires induisent une organisation en double feuillet. Cette organisation n'est pas statique (caractère dynamique par son état semi-fluide), elle répond au modèle dit en mosaïque fluide (Les phospholipides et les protéines peuvent se déplacer latéralement en échangeant leurs places).

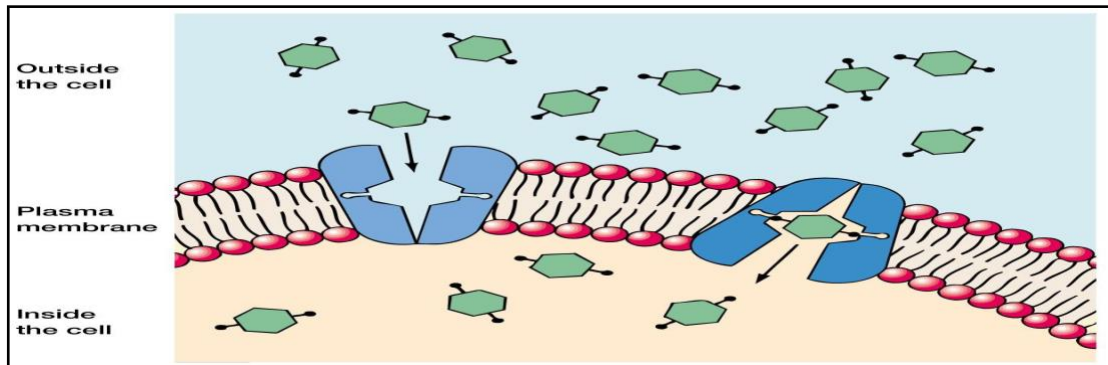
**3.2.3. Fonctions :** La membrane cytoplasmique est responsable des échanges de substances entre la bactérie et son environnement. Elle se comporte comme une barrière semi-perméable qui empêche la sortie libre des constituants cytoplasmiques ainsi que l'entrée des composés extracellulaires. La membrane remplit 3 fonctions majeures : le transport, la respiration et la biosynthèse des macromolécules.

**1. Transport de substances :** l'entrée et la sortie des substances dépend de plusieurs facteurs : la taille et la nature des molécules échangées ainsi que leurs concentrations intra et extra cellulaire, le pH et la force ionique. Les bactéries disposent de plusieurs systèmes (moyens) de transports membranaires de substrats, qui sont pour la plus part des cas des protéines spécifiques de transport appelées perméases. Il existe 2 systèmes principaux de transport de substances : passif et actif. Dans le processus passif, les substances traversent la membrane suivant un gradient de concentration où elles se dirigent de la région la plus concentrée vers la région la moins concentrée, en substances, sans consommation d'énergie (ATP). Par contre, dans le processus actif, le transport des molécules s'effectue contre le gradient de concentration, d'une zone de faible concentration vers la zone la plus concentrée, avec consommation d'énergie (ATP).

**Le système passif** comprend : la diffusion simple (passive), la diffusion facilitée et l'osmose.

- **La diffusion passive :** Cette diffusion concerne les petites molécules électriquement neutres, échangées de part et d'autre de la membrane cytoplasmique par osmose, du milieu le plus concentré (hypertonique) vers le milieu le moins concentré (hypotonique), jusqu'à l'équilibre (isotonique) des concentrations. Se fait sans consommation d'énergie. Ex : diffusion de l'O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, eau, CO<sub>2</sub>, urée...
- **La diffusion facilitée :** Se fait du milieu le plus concentré vers le milieu le moins concentré sans dépenses énergétiques, mais elle est facilitée (accélérée) par une enzyme appelée perméase qui est le moyen de transport (dotées de sites de reconnaissance et de

fixation spécifique pour les substances transférées) (figure 9).

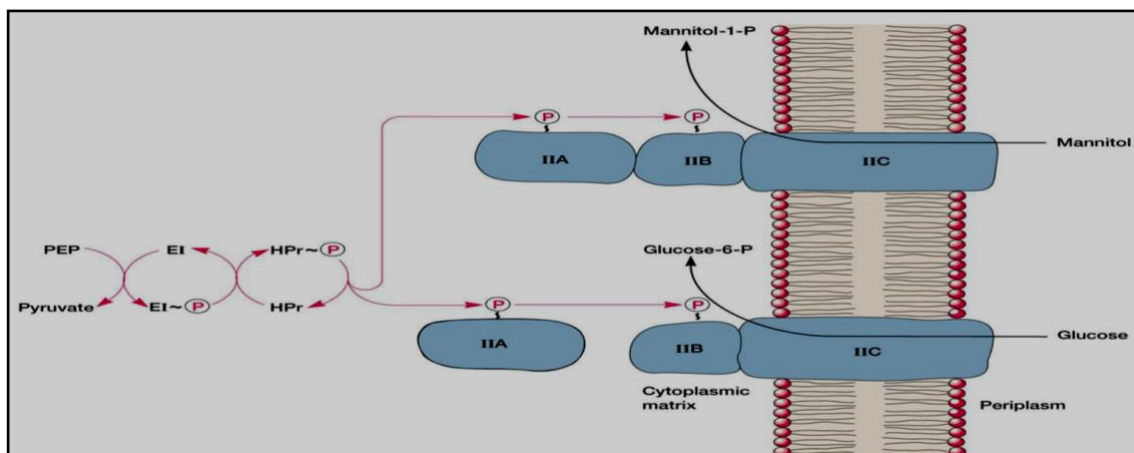


**Figure 9 :** Diffusion facilitée.

- **L'osmose :** est la diffusion de l'eau d'une région où la concentration des molécules d'eau est élevée vers une région où la concentration des molécules d'eau est faible. L'osmose est aussi définie par rapport à la concentration en solutés: c'est le déplacement de l'eau d'une région dont la concentration de solutés est faible à une région de concentration plus élevée de solutés. L'osmose se produit à travers une membrane perméable ou à travers une membrane à perméabilité sélective.

**Le système actif :** lorsque la cellule se retrouve dans un milieu à faible concentration en nutriments, elle doit utiliser des processus actifs qui sont : le transport actif et la translocation de groupe

- **Transport actif :** c'est l'accumulation et la concentration de substances contre le gradient de concentration avec consommation d'énergie, de l'extérieur vers l'intérieur de la cellule, et fait intervenir des protéines spécifiques de transport. Ce moyen a une importance majeure et concerne le transport des acides aminés, des glucides, des acides organiques, des ions organiques...
- **Translocation de groupe :** les composés transférés sont chimiquement modifiés durant leur transfert. C'est un système accumulatif fonctionnant contre le gradient de concentration, avec consommation d'énergie. Le système de la phosphotransférase est le mieux connu des systèmes de translocation de groupe, il s'agit d'un complexe multienzymatique fonctionnant en cascade avec le PEP (phosphoénol pyruvate) comme source d'énergie (figure 10).



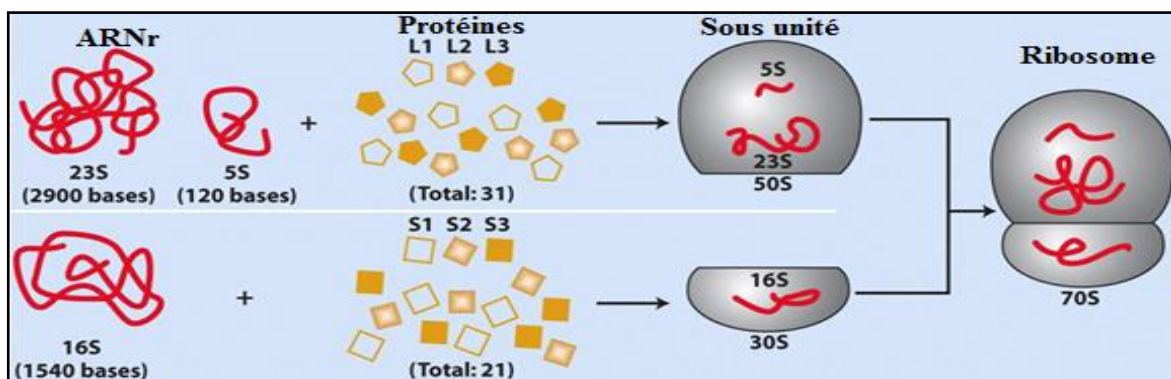
**Figure 10** : Translocation de groupe.

**2. Respiration** : la membrane joue un rôle important dans la dégradation des nutriments et la production de l'énergie. C'est le site de localisation des enzymes respiratoire de la chaîne d'oxydoréduction phosphorylante, des cytochromes et des enzymes du cycle tricarboxylique. C'est aussi le site d'activités photosynthétique, composé de pigments photosynthétiques et des centres réactionnels.

**3. Biosynthèse des macromolécules** : la membrane est le siège de la synthèse des lipides et renferme les enzymes de la synthèse des constituants macromoléculaires de la paroi (acides teïchoïques, peptidoglycane et LPS).

**3.3. Le cytoplasme** : est un hydrogel colloïdal à pH neutre (7 à 7.2). Il est dépourvu de mitochondries et de chloroplastes, et comporte en suspension le matériel génétique (chromosome et plasmides), des ribosomes, des granules de réserve, des ions, des métabolites organiques, des enzymes, des glucides, des lipides et d'autres composés solubles. C'est le lieu de la plupart des réactions métaboliques cellulaires notamment: la glycolyse et les voies de biosynthèse et de dégradation des macromolécules.

**3.3.1. Les ribosomes** : les cellules bactériennes peuvent contenir de 5000 à 50000 ribosomes, ce nombre dépend du taux et de la phase de croissance des bactéries. Ce sont des particules sphériques de 18 nm de diamètre. Les ribosomes forment la structure cellulaire de synthèse des protéines. Ils peuvent être séparés par ultracentrifugation et se caractérisent par un coefficient de sédimentation de 70 S (unité SVEDBERG) par opposition à celui des cellules eucaryotes qui est de 80 S. Ils peuvent être divisés en deux sous unités : une petite sous unité 30 S et une grande sous unité 50 S, formés globalement de 65% d'ARN (ARN ribosomal et ARN m) et de 35% de protéines. Les deux sous unités sont maintenues par des ions  $Mg^{2+}$  (à concentration élevée en  $Mg^{2+}$  les sous unités sont liées, à faible concentration en  $Mg^{2+}$  c'est la dissociation des sous unités) (figure 11).

**Figure 11** : Structure et constitution du ribosome bactérien.

Le  $Mg^{2+}$  assure l'intégrité structurale et le bon fonctionnement des ribosomes 70 S. Les ribosomes restent associés entre eux sur un brin d'ARNm et forment des structures en chapelet appelées polysomes.

**3.3.2. Les substances de réserve :** leurs rôle dans la cellule bactérienne c'est de magasier certains nutriments (les réserves) sous forme de granules de réserve qui constitues ainsi un stock disponible. Ces granules sont limitées par une mince enveloppe lipidique et qui peuvent être de plusieurs nature : réserves non azotées (carbonées, phosphatées, soufre et fer) et réserves azotées.

#### 1. Réserves non azotées :

**1.1. Carbonées :** de nature glucidique telle que le glycogène et l'amidon, rencontrées chez les entérobactéries, mais le plus souvent stockées sous forme lipidique structurées en acide  $\beta$ -hydroxybutyrique chez les bactéries des genres *Vibrio*, *Azotobacter* et *Pseudomonas*. Ces réserves peuvent servir de source d'énergie et de carbone en cas d'absence de nutriments dans le milieu de croissance.

**1.2. Phosphatées :** dans la région nucléaire, se trouve des inclusions de vultine qui est un polymère de phosphate et d'oxygène (ortho-phosphate). Les vultines peuvent servir pour la phosphorylation qui est une étape importante pour la vie de la cellule bactérienne. Le phosphore est intégré dans la composition des acides nucléiques, des phospholipides, des acides teichoïques, et des nucléotides (ATP, NAD<sup>+</sup>...).

**1.3. Soufre :** certaines bactéries oxydent le sulfure d'hydrogène (H<sub>2</sub>S) et stockent le soufre élémentaire dans leur cytoplasme sous forme de globules. Ce sont les bactéries photosynthétiques pourpres (*Chromatium*), les bactéries filamenteuses mobiles par glissement (*Beggiatoa*) et des bactéries incolores du soufre (*Thiobacterium*). Le soufre sert pour la synthèse des acides aminés soufrés (cystéine et méthionine) et de coenzymes.

**1.4. Fer :** Les bactéries oxydant le fer (bactéries ferro oxydantes) contiennent des inclusions cytoplasmiques d'hydroxyde ferrique (Fe(OH)<sub>3</sub>). Le fer est présent dans la structure des transporteurs d'électrons (cytochromes) et dans certaines protéines.

**2. Réserves azotées :** beaucoup de bactéries aquatiques photosynthétiques (les cyanobactéries) accumulent dans leur cytoplasme la cyanophicine. C'est un polymère d'arginine et d'aspartate, et constitue une réserve directe pour la biosynthèse d'autres acides aminés et acides organiques du cycle de KREBS.

**3.3.3. Les vacuoles à gaz :** les bactéries aquatiques photosynthétiques (cyanobactéries) et les bactéries halophiles possèdent des vacuoles intra cytoplasmiques à gaz, dont le nombre varie de quelque unités à plusieurs centaines, elles sont de forme cylindrique, entourées d'une membrane protéique rigide de 2 nm, imperméable à l'eau mais perméable aux gaz. Ce sont des organes de flottaison permettant aux bactéries de se maintenir dans l'eau à une profondeur appropriée pour recevoir suffisamment d'oxygène, de lumière et de nutriments.

#### 3.4. Le chromosome :

**3.4.1. Morphologie et structure :** comme tous les protistes procaryotes, les bactéries possèdent un appareil nucléaire constitué d'acide desoxyribonucléique (ADN) qui est le support de l'information génétique (héréditaire) de la cellule, appelé aussi, génome. L'ADN

chromosomique est constitué d'une double hélice d'ADN circulaire. Cette double hélice est pelotonnée, surenroulée dans le cytoplasme grâce à l'action des topo isoméras (au nombre de 4 chez les bactéries). Déplié, le chromosome bactérien a près de 1 mm de long (1000 fois la longueur de la bactérie) et 3 à 5 nanomètres de large. Les deux chaînes de nucléotides se répliquent selon le schéma de Watson et Crick, chaque chaîne assurant la répllication de la chaîne complémentaire selon un mode semi-conservatif. L'analyse chimique de l'appareil nucléaire indique qu'il est composé à 60 % d'ADN (le chromosome), à 30 % d'acide ribonucléique ou ARN (rôle de structuration) et à 10 % de protéines. Ces dernières sont représentées en particulier par les ADN polyméras qui copient les doubles brins d'ADN, les topo isoméras, surtout les ADN gyrases, qui les déroulent pour permettre l'action des polyméras, et des ARN polyméras qui assurent la synthèse des divers ARN. 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), équilibrent ces charges et assurent la neutralité électrique et la stabilité de l'ADN.

**3.4.2. Composition :** l'ADN ou acide désoxyribonucléique est un polymère de PM élevé, composé d'unités appelées nucléotides.

**Nucléotide :** « Groupement phosphoré + sucre désoxyribose à 5 C + une base purique ou pyrimidique ».

**Bases puriques :** Adénine A et Guanine G.

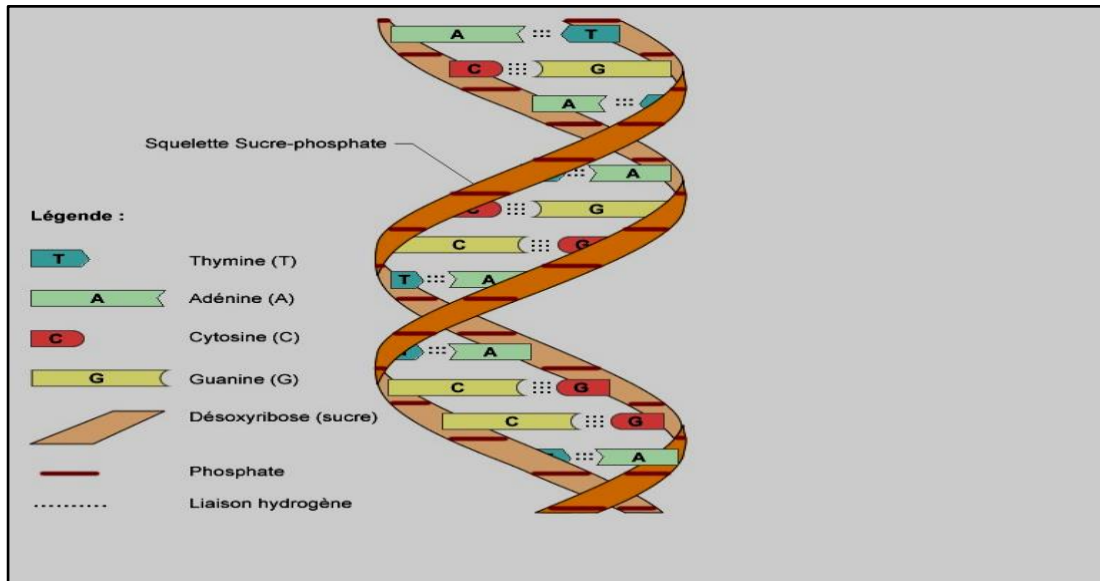
**Bases pyrimidiques :** Cytosine C et Thymine T.

**Le 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*....

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). Cette structure complémentaire de l'ADN rend possible la duplication précise de l'ADN durant la division cellulaire. Les chromosomes sont composés de gènes qui sont des segments d'ADN qui déterminent la synthèse des protéines (figure 12).



**Figure 12 :** Représentation schématique de la double hélice d'ADN.

**3.4.3. Réplication chimique :** la réplication est bidirectionnelle et semi-conservative : chaque chaîne parentale reste associée à la nouvelle chaîne pour qui elle sert de matrice. Plusieurs enzymes sont impliquées :

**ADN polymérase I, II, III :** catalysent l'addition de désoxyribonucléotides à l'extrémité d'une chaîne d'ADN, elles ont aussi une activité exonucléasique. La III est la plus active.

**ADN ligase :** unit les extrémités de deux chaînes d'ADN en catalysant la synthèse d'un pont phosphodiester entre un 3'OH et 5'P. Elle répare les coupures d'ADN et circularise l'ADN bactérien.

**Hélicase:** elle ouvre les chaînes d'ADN avant la réplication.

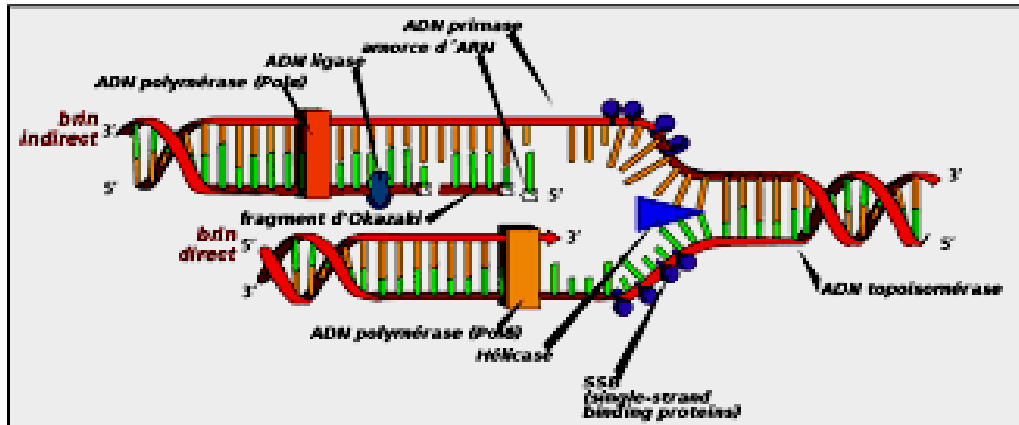
**Gyrase ou Topo isomérase II :** La **Gyrase** fait une coupure au niveau de l'un des brins, ce qui induit la désenroulement de l'ADN superenroulé en molécule circulaire enroulée.

La réplication débute en un point spécifique (le point origine ou point d'initiation).

Au niveau de la fourche de réplication, l'un des deux brins est synthétisé dans le sens de déplacement (3'OH libre), catalysé par la DNA polymérase III. Il est appelé brin précoce ou avancé. L'autre à extrémité 5' sera synthétisé par fragments d'Ogasaki et il est appelé brin tardif. Ces fragments de 1000 à 2000 résidus nécessitent des amorces d'ARN synthétisées par une ARN polymérase DNA dépendante appelée primase.

Ensuite ces amorces ARN sont excisées par l'ADN polymérase I (activité exonucléasique) et les délétions sont remplacées par de l'ADN par cette même enzyme.

Enfin l'ADN ligase relie les différentes séquences au niveau de leurs extrémités 3'OH et 5'OH libre. Durant toutes ces étapes, les d'ADN matrice sont maintenus déroulés et stabilisés par des protéines appelées « DNA binding proteins » (figure 13).



**Figure 13 :** La réplication de l'ADN.

**3.5. Les plasmides :** en plus du chromosome, la bactérie peut contenir des éléments génétiques (ADN) de petite taille (0,5 à 5 % du chromosome bactérien), cytoplasmiques extra-chromosomiques. Ces éléments, appelés plasmides, ne sont pas indispensables à la vie de la bactérie dans les conditions habituelles de croissance, mais peuvent assurer un meilleur fonctionnement de la cellule bactérienne, car ils sont dotés de fonctions supplémentaires. Ils se répliquent de manière autonome (indépendante) et en général plus rapidement que le chromosome bactérien. On les détecte lorsque les gènes qu'ils transportent confèrent à la bactérie de nouvelles propriétés.

**3.5.1. Structure :** ce sont des molécules d'ADN bicaténaire fermées, circulaires et surenroulées, d'un poids moléculaire de 0.5 à 400 Md (1/20 la taille du chromosome). Une bactérie peut héberger plusieurs types de plasmides, mais leur nombre est en relation inverse avec leur taille (plasmides de grande taille en petit nombre dans la cellule, par contre, les plasmides de petites taille en grand nombre).

**3.5.2. Réplication :** la réplication des plasmides se fait selon deux modes :

1. Réplication des plasmides de grande taille : elle est synchrone c'est-à-dire se fait simultanément que celle de l'ADN chromosomique, avec toute la machinerie enzymatique.

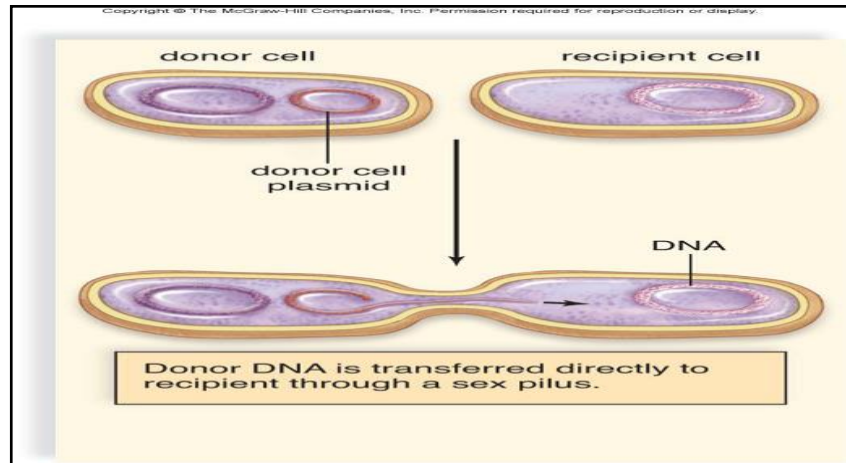
2. Réplication des plasmides de petite taille : elle se fait indépendamment du système de réplication de l'ADN.

La transmission de plasmides se fait selon deux modes : transfert vertical et transfert horizontal.

**Transfert vertical :** les plasmides sont transmis de la cellule mère aux cellules filles, en nombre égal au moment de la division cellulaire.

**Transfert horizontal :** c'est-à-dire de cellule à cellule présente dans le même milieu et appartenant ou non à la même espèce. Dans ce cas le transfert se fait selon deux mécanismes : la conjugaison ou la mobilisation.

**Conjugaison :** certains plasmides sont conjuguants, qui signifie qu'ils sont capables d'effectuer leur propre transfert durant le processus de conjugaison entre deux cellules par contact physique où la bactérie donatrice transfère une copie de l'ADN plasmidique à une bactérie réceptrice, sans fusion (figure 14). Ce mécanisme concerne les plasmides de grande taille. Ex : Le facteur sexuel ou facteur de fertilité F, les plasmides de résistance aux antibiotiques ou facteurs R.



**Figure 14 :** Transfert de plasmides par conjugaison.

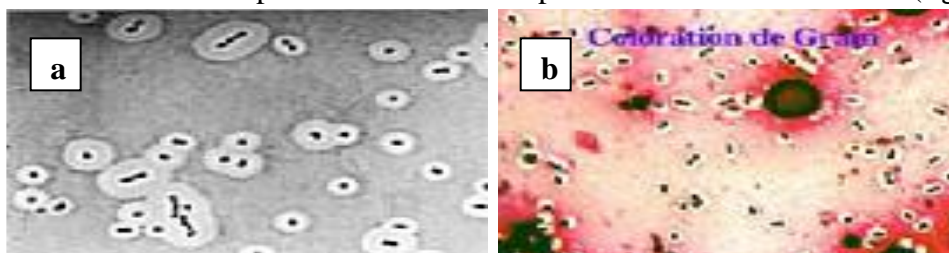
**Mobilisation :** d'autres types de plasmides sont non conjuguant, ils sont les plus petits et les plus nombreux dans la cellule bactérienne (> 10). Ils sont incapables d'assurer seuls leur transfert qui ne peuvent se faire que par la mobilisation d'un plasmide conjuguant cohabitant dans la même cellule. La mobilisation implique une insertion par liaison covalente du plasmide non conjuguant au plasmide conjuguant donnant ainsi un ADN plasmidique hybride capable de conjugaison.

**3.5.3. Propriétés :** certains plasmides portent plusieurs gènes donnant ainsi, plusieurs propriétés phénotypiques à la cellule hôte. Les principales fonctions codées par les plasmides sont :

- Production de toxines, de facteurs de pathogénicité, de facteurs de virulence...
- Production d'antibiotiques et de bactériocines (protéines telle que la colicine d'*E.coli*. Les bactériocines permettent à la bactérie de tuer des souches très proches systématiquement d'*E.coli*).
- Résistance aux antibiotiques et à divers agents antagonistes, métaux lourds (mercure, sels de cadmium, de plomb et arsénites), rayonnements, bactériophages...
- Propriétés métaboliques diverses : dégradation de composés spécifiques, synthèse de métabolites d'intérêt économique, nodulation (la fixation de l'azote chez *Rhizobium*)...

**3.6. La capsule :** c'est un constituant facultatif rencontré chez certaines espèces bactériennes (ex : *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*).

**3.6.1. Morphologie :** certaines bactéries synthétisent et secrètent des polymères organiques qui s'accumulent en couches amorphes et visqueuses à l'extérieur de leur paroi sorte d'exsudat périphérique appelé capsule Il s'agit de l'élément le plus superficielle de ces bactéries. Sa mise en évidence s'effectue par coloration négative (encre de Chine par exemple); la capsule apparaît alors en clair sur fond noir. On peut aussi l'observer après la coloration de GRAM (figure 15).





**Figure 15 :** Streptocoques avec capsule (coloration à l'encre de Chine) (a). Coques capsulées (coloration de GRAM) (b).

**3.6.2. Composition chimique :** la capsule est généralement de nature polysaccharidique (ex : chez *E. coli*), rarement polypeptidique (ex: chez *Bacillus anthracis*) et glycoprotéique ou glycopeptidique (ex : chez *Yersinia*). Les capsules formées de glycoprotéines et de polysaccharides incluant des polyalcools et des acides aminés, sont désignées par le terme de glycocalyx (qui est épais et rigide).

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

**3.6.3. Fonctions :** la capsule n'a pas de fonctions vitales pour les bactéries, puisqu'elles peuvent croître et se multiplier après l'avoir perdue. La présence de la capsule détermine des propriétés particulières : l'adhésion, la pathogénicité et la protection.

**1. L'adhésion :** c'est une fixation (adsorption, attachement) spécifique à différents supports (inertes ou vivants), elle est assurée par les polysaccharides du glycocalyx et constitue la première étape de la colonisation d'un écosystème (eau, sol, tube digestif) qui permet à ces bactéries de se développer en microcolonies adhérentes aux surfaces.

**2. La pathogénicité :** constitue le plus souvent la première étape de l'infection.

La présence du glycocalyx favorise le pouvoir infectieux des bactéries, qui rend les cellules phagocytaires inactives. La capsule est antigénique, les antigènes capsulaires sont dénommés antigène K. Leur étude permet la distinction de plusieurs sérotypes au sein de la même espèce bactérienne. Le métabolisme de synthèse des capsules peut être ciblé et altéré par des antibiotiques.

**3. La protection :** la capsule formant une enveloppe externe supplémentaire, constitue un élément de protection des bactéries vis-à-vis de leur environnement (facteurs physico-chimiques antagonistes du milieu comme la dessiccation). Elle empêche la fixation des bactériophages et protège les bactéries de la prédation des protozoaires du milieu.

### 3.7. Les flagelles :

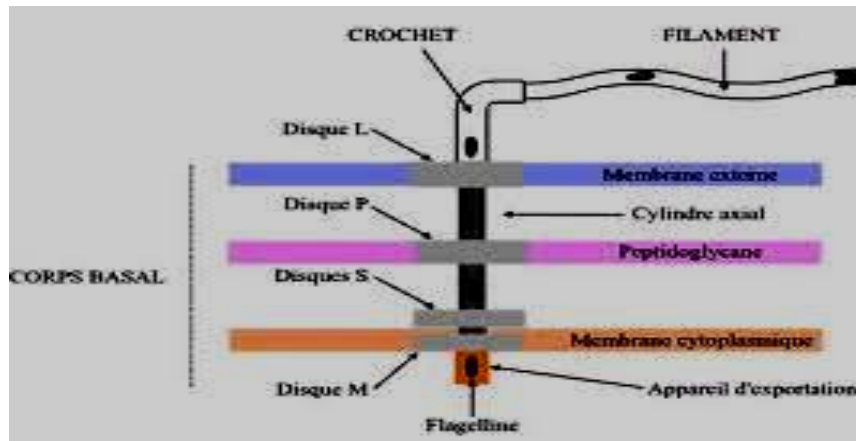
**3.7.1. Structure :** les flagelles, encore appelés cils, sont des structures bactériennes facultatives. Ce sont des organes filamenteux, permettant la locomotion des bactéries. Chez les entérobactéries ils permettent une vitesse de déplacement de 10 à 20 micromètres par seconde; à l'échelle humaine,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

Ils sont longs d'une dizaine de  $\mu\text{m}$  et ont un diamètre qui varie entre 12 à 30 nanomètres. Ils sont composés de sous unités répétitives en protéines : flagellines, disposées en sous unités hélicoïdales, d'un poids moléculaire de 15 à 70 k Dal. Leur nombre varie de 1 à 30 selon les espèces bactériennes. Ils sont souvent rencontrés chez les bacilles et rarement chez les coques. Ils jouent un rôle important dans la spécificité antigénique des bactéries (antigènes H).

Les flagelles sont attachés dans le cytoplasme bactérien par une structure complexe (figure 16). Ils sont constitués de trois parties: un filament hélicoïdal externe, un crochet (hook) qui fixe le filament à la cellule et un corps ou granule basal implanté dans la cellule et terminé par un système d'anneaux qui sont responsables de son ancrage intracellulaire :

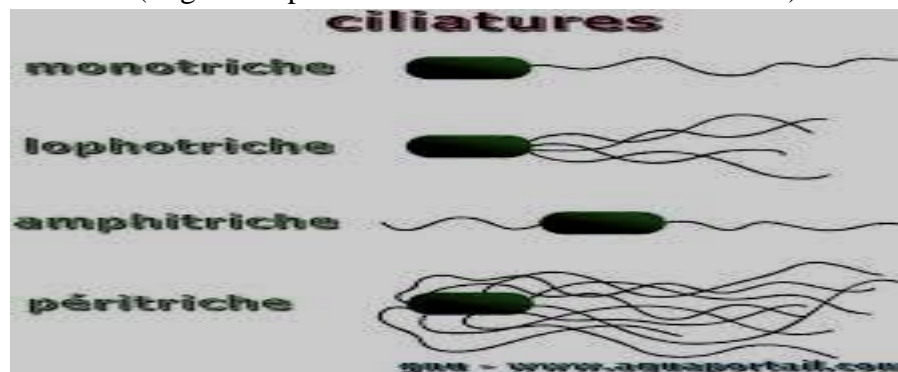
Chez les bactéries GRAM positif : une paire d'anneaux S et M fixe le flagelle à la membrane cytoplasmique.

Chez les bactéries GRAM négatif : deux paires d'anneaux (L/P et S/M) fixent le flagelle : L dans la membrane externe (au niveau du LPS), P dans le peptidoglycane (PG), S et M dans la membrane cytoplasmique.



**Figure 16 :** Structure et insertion des flagelles chez les bactéries : GRAM négatif et GRAM positif.

Selon la disposition des flagelles (figure 17), on distingue les bactéries **monotriches** (un seul flagelle polaire), **amphitriche** (un flagelle à chaque pôle), **lophotriches** (une touffe de flagelles polaires) ou **péritriches** (flagelles répartis sur toute la surface de la bactérie).



**Figure 17 :** Disposition des flagelles bactériens.

### 3.7.2. Fonctions :

**1. La locomotion ou la mobilité :** mises en évidence sur des milieux semi-gélosés (diffusion dans la gélose) ou sur milieu solide (envahissement de la surface de la boîte. Ex : *Proteus*). Elle est assurée par la rotation du crochet flagellaire qui anime le filament pour un mouvement hélicoïdal. Le sens du mouvement est en réponse à un stimulus du milieu permettant aux bactéries de nager dans des sens définis.

**2. Rôle antigénique :** les antigènes flagellaires (Ag H) déterminent différents sérotypes (exemple : sérotypage des *Salmonella*). La spécificité antigénique repose sur le nombre et la séquence des acides aminés de la flagelline.

**3. Fixation des bactériophages :** les flagelles sont le lieu de fixation de certains bactériophages.

**4. Contrôle du mouvement :** divers facteurs physiques et chimiques du milieu sont capables de stimuler ou d'inhiber sa direction, ce dernier est orienté vers les zones les plus favorables. En absence de stimulus, le mouvement des bactéries prend une allure aléatoire.

**Chimiotactisme (chimiotaxie) :** En présence d'un gradient de concentration de substrats nutritifs, des bactéries se dirigent sélectivement vers la zone aux concentrations les plus favorables. Le chimiotactisme s'exerce aussi par répulsion en présence de substances toxiques dans le milieu.

**Phototactisme :** certaines bactéries phototrophes (photosynthétiques) se positionnent sélectivement dans les aires les plus illuminées de leur milieu pour optimiser leur photosynthèse.

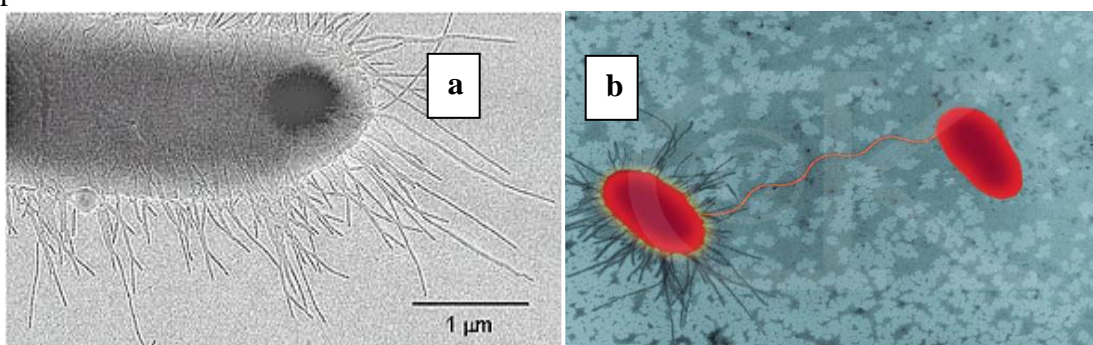
**Aérotactisme :** les bactéries aérobies nagent en surface au contact des couches oxygénées, les bactéries microaérophiles dans les zones moins exposées à l'oxygène et en profondeur, dans les zones dépourvues en oxygène pour les bactéries anaérobies.

**3.8. Les pili :** pili en latin signifie cheveu, pili pluriel de pilus. Il s'agit d'appendices de surface plus fins que les flagelles que l'on trouve fréquemment chez les bactéries à Gram négatif et rarement chez les bactéries à Gram positif.

**3.8.1. Structure :** ce sont des structures externes de nature protéique, plus courtes, plus minces et plus rigides que les flagelles, leur diamètre vari de 3 à 10 nm pour une longueur de 2  $\mu\text{m}$ , et n'ont aucune fonction locomotrice. Les pili sont constitués d'une protéine spécifique : la piline.

**3.8.2. Types de pili :** on distingue deux types :

- **Les pili communs** (ou fimbriae : mot latin, signifie filament): courts et cassants, très nombreux (parfois quelques centaines par bactérie), de 2 à 3  $\mu\text{m}$  de long, disposés régulièrement à la surface de la bactérie (figure 18 a). Ils jouent un rôle dans l'agglutination des bactéries et leur attachement aux muqueuses des cellules eucaryotes qu'elles colonisent. Exemples : *E. coli*, *Salmonella* dans la muqueuse intestinale, *Corynebacterium diphtheriae* au niveau de la gorge. Les bactéries à pili communs sont capables de se développer à la surface de l'eau en formant une pellicule ou film bactérien.



**Figure 18 :** Pili communs chez *E. coli* (a), bactéries en conjugaison, liées par un pilus sexuel (b).

- **Les pili sexuels :** plus longs que les pili communs (jusqu'à 20  $\mu\text{m}$ ) mais en nombre plus restreint (1 à 4). Ils sont codés par des gènes plasmidiques (le facteur F). Ils existent uniquement chez les bactéries mâles (donatrices  $F^+$ ). Ils jouent un rôle essentiel dans l'attachement des bactéries entre elles au cours de la conjugaison pour le transfert d'une copie du plasmide conjugatif ou un fragment d'ADN chromosomique vers la bactérie réceptrice ( $F^-$ ) à travers le

pili F qui joue le rôle d'intermédiaire et sert comme un canal (figure 18 b). Ils peuvent aussi servir de support de fixation pour certains bactériophages.

**3.9. Les endospores :** les bactéries appartenant à certains genres, notamment les genres à GRAM positif *Bacillus* (aérobie) et *Clostridium* (anaérobie), placées dans des conditions défavorables de survie (épuisement du milieu, par exemple), forment des endospores (spores intracellulaire) ; on parle alors de sporulation. La spore est donc une forme de résistance aux conditions défavorables de vie, avec conservation de toutes les aptitudes génétiquement déterminées. Replacée dans des conditions favorables, la spore germe et redonne une cellule végétative identique à celle qui lui a donné naissance.

**3.9.1. Morphologie :** la forme et la situation de la spore dans la cellule sont caractéristiques de l'espèce. Elle permet l'orientation de l'identification des bactéries sporulantes. Elle peut être sphérique ou ovale, centrale, terminale ou subterminale, déformante (diamètre > diamètre de la bactérie) ou non déformante (figure 19). La spore contient, sous forme condensée, le génome et une partie du cytoplasme déshydraté autour d'une enveloppe très résistante. La spore intracellulaire est libérée dans le milieu extérieur et y survit des années. Elle peut résister pendant longtemps voire des milliers d'années (certaines espèces de *Bacillus*).

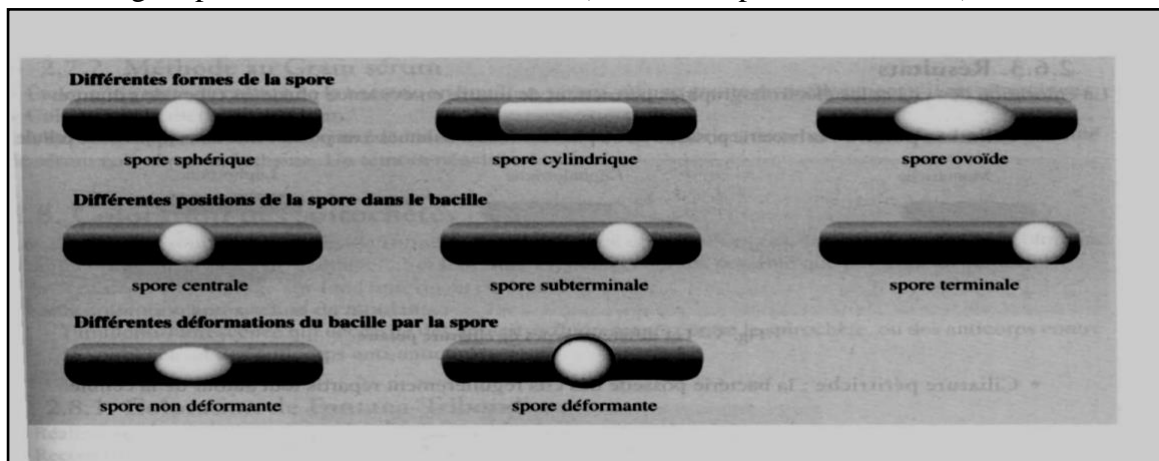


Figure 19 : Formes et positions d'endospores bactériennes.

**3.9.2. Structure :** durant la sporulation, la cellule végétative subit une déshydratation progressive du cytoplasme, par l'apparition de certains composés (dipicolinate de calcium), une densification des structures nucléaires et enfin la synthèse d'une paroi sporale épaisse, imperméable, et donc hautement résistante (figure 20). Elle est douée d'une résistance à la chaleur, à la dessiccation et aux radiations et est imperméable à plusieurs agents chimiques. La spore possède une paroi et une membrane plasmique identiques à celle de la cellule végétative. L'enveloppe la plus externe est mince, appelée exosporium. Sous l'exosporium on trouve le manteau ou la tunique, composée de plusieurs feuillettes protéiques. Le cortex est localisé juste sous la tunique. Enfin le protoplaste (cytoplasme) ou cœur de la spore, contient les ribosomes, le nucleoïde et des enzymes inactives.

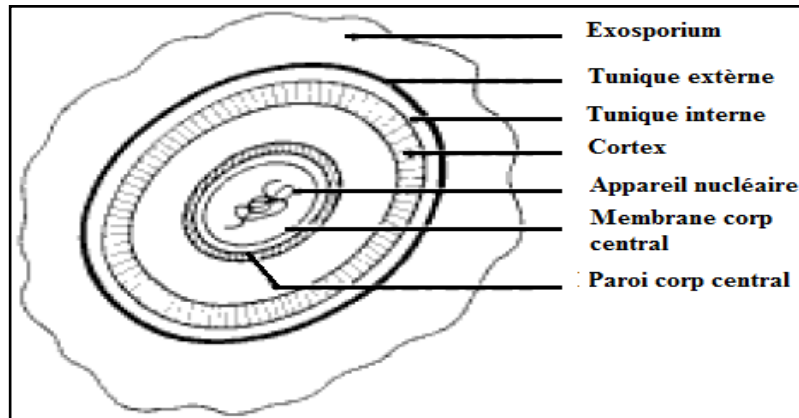


Figure 20 : Structure de l'endospore bactérienne.

**3.9.3. Phénomène de sporulation :** le processus de sporulation débute à la fin de la phase de croissance exponentielle ou en début de la phase stationnaire. La sporulation dure 7 à 10 heures, où la cellule subit de profondes modifications métaboliques et morphologiques aboutissant à la spore (figure 21):

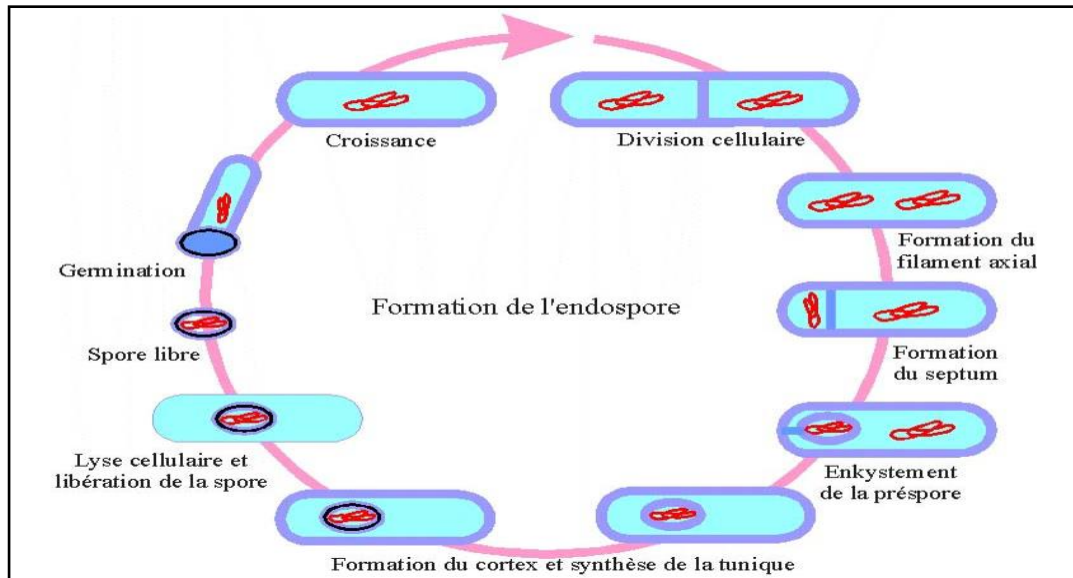


Figure 20 : Représentation schématique de la formation de la spore.

**Stade I :** formation du filament chromatique axial caractérisé par la présence d'un matériel nucléaire qui s'étend sur toute la longueur de la cellule et qui correspond à 2 génomes.

**Stade II :** les deux génomes se séparent et en même temps l'apparition d'une invagination de la membrane cytoplasmique près d'un pôle de la cellule pour former un septum subpolaire de sporulation qui cloisonne la cellule en deux compartiments asymétriques (inégaux).

**Stade III :** le septum de sporulation va envelopper le cytoplasme de la plus petite partie, et se détache de la membrane cytoplasmique pour donner une présore ovoïde entourée d'une double membrane : la membrane cytoplasmique et la membrane sporale.

**Stade IV :** Entre ces deux membranes apparaît la paroi sporale, puis le cortex, composés de plusieurs couches de peptidoglycane, différent par sa composition en acides aminés du peptidoglycane de la cellule végétative.

**Stades V et VI :** Il se forme alors, des enveloppes de nature protéique : les tuniques sporales. D'abord une tunique interne puis une tunique externe.

**Stade VII :** La maturation progressive de la spore. La cellule mère se lyse et libère la spore mure. Elle possède son propre cytoplasme et son ADN sporale. A ce stade, la spore est dépourvue de toute activité métabolique, mais elle est douée de toutes ses propriétés de résistance.

**Modifications métaboliques :** se sont caractérisées par l'accumulation de matériels protéiques et de substances de réserve, et par l'apparition d'un nouveau composé absent de la cellule végétative : l'acide dipicolinique. En même temps que s'accumule dans la cellule sporulente les ions  $\text{Ca}^{2+}$  dont la majeure partie se combine avec l'acide dipicolinique pour former le dipicolinate de calcium.

#### 3.9.4. Propriétés :

1/La résistance des spores s'exprime vis-à-vis la chaleur (thermorésistance) et des agents physico chimiques (agents chimiques antibactériens, radiations). Cette résistance est due à la composition chimique de la spore et à la multiplication des enveloppes sporales.

La thermorésistance résulte de plusieurs facteurs :

Faible teneur en eau des spores (20% de la teneur initiale de la cellule végétative), les acides nucléiques et les protéines étant très difficiles à dénaturer à l'état déshydraté. Cette déshydratation inactive les enzymes intrasporales par la limitation de la solubilisation des composés actifs solubles.

La présence du dipicolinate de calcium joue aussi un rôle, puisque son remplacement par d'autres composés, rend la spore thermosensible.

Le cortex est impliqué dans la thermorésistance, les spores dépourvues de cortex sont thermosensibles.

2/Les spores sont aussi résistantes aux agents physiques (rayonnements X et UV, ultra-sons), et aux agents chimiques (désinfectants, antiseptiques et antibiotiques). Cette résistance est due à la multiplicité et à la nature des tuniques sporales, particulièrement résistantes aux rayonnements.

**3.9.5. Germination :** l'endospore peut retourner rapidement à son état initial de cellule végétative. La germination des spores implique 3 étapes : activation, initiation et excroissance. Sa durée est de quelques minutes.

**1/Activation :** survient dans des conditions favorables du milieu et à la suite d'une activation, soit par des chocs physiques (abrasion ou lésion des enveloppes), soit par des chocs mécaniques ou chimiques (présence de métabolites spécifiques : L-alanine, le pyruvate, divers glucides). L'activation résulte d'une lésion des tuniques sporales, ou chauffage de quelques minutes à température élevée ou d'un stockage de plusieurs semaines à température ambiante.

**2/Initiation :** les spores déjà activées peuvent germer en présence de nutriments spécifiques et dans des conditions d'hydratation favorable. Cette phase implique pour la spore la perte de sa résistance, la libération du dipicolinate de calcium et l'autolyse du cortex et des tuniques sporales.

**3/Excroissance :** c'est un gonflement visible qui résulte de la réhydratation, par osmose, de la spore et de la synthèse de nouvelles molécules de protéines, d'ADN, d'ARN et autres. La cellule végétative peut s'engager dans un processus de croissance, si les conditions nutritionnelles et physico chimiques du milieu sont favorables.