

Chapitre II: La Cellule bactérienne

I. Techniques d'observation de la cellule

La microbiologie n'a accédé au statut de discipline scientifique qu'à partir du moment où des instruments et des techniques adaptés à l'observation et à l'étude de ces petits organismes sont mises au point. L'amélioration de la qualité des **microscopes** était d'une importance cruciale, d'autant plus que l'œil humain a une capacité limitée de grossissement des objets. De ce fait, les **microscopes** sont développés afin d'augmenter la capacité de grossissement de l'œil.

Le **microscope** est un **dispositif optique** permettant d'obtenir une vue agrandie d'un objet. Cependant, l'observation à travers des lentilles grossissantes d'images est connue depuis l'antiquité. Mais, c'est Antony Van LEEUWENHOEK qui a mis au point un montage optique rudimentaire. Depuis, et principalement à partir de la fin du XIX^{ème} siècle, la microscopie a connu un développement spectaculaire, considérablement accentué par l'introduction de l'électronique et de l'informatique.

Deux types de microscopes sont connus: **microscope optique** et **microscope électronique**.

1. Microscope optique ou photonique

Le **microscope optique** est un instrument d'optique muni d'un système objectif et d'un système habituellement binoculaire qui permet de grossir l'image d'un objet de petites dimensions (ce qui caractérise son grossissement), de séparer les détails de cette image (son pouvoir de résolution: sa capacité à séparer ces détails), afin qu'il soit observable par l'œil humain. Il comprend des **parties mécaniques** d'une très grande précision et des **optiques** tout aussi fragiles. Les **lentilles** du microscope optique sont utilisées pour obtenir une image agrandie de l'échantillon à observer. Un système microscopique est constitué d'un **objectif** et d'un **oculaire**, permettant de résoudre le problème des conjugaisons pupillaires (suppression du vignettage par la pupille de l'œil qui peut ici être placée sur la pupille de sortie du microscope) et celui de la correction des aberrations de champ (système global "épais" constitué de plusieurs lentilles ou multiplets). La technique d'illumination la plus utilisée en microscopie à champ large classique est l'illumination de Köhler, qui garantit une qualité d'image optimale.

*Description du microscope optique

Le microscope optique est constitué de:

- ✓ **Pied** : Partie (lourd, robuste et stable) sur lequel repose le microscope. Il comporte la potence et la platine.
- ✓ **Platine** : Surface plane sur laquelle est posé l'objet à observer. Elle est évidée en son centre pour permettre le passage des rayons lumineux et porte deux valets métalliques qui servent à tenir la lame porte objet à observer. Ronde ou le plus souvent carrée, la platine est équipée d'un chariot mobile qui permet les déplacements horizontaux de la préparation en tous sens et le repérage de sa position.
- ✓ **Potence** : Ou bras du microscope qui est la partie rigide qui relie la platine au tube.
- ✓ **Statif** : Ensemble formé du **pied**, **platine** et **potence** portant le tube.
- ✓ **Porte-oculaires ou tête**: Peut être simple dans le cas des microscopes monoculaires, ou équipé d'un système de prismes pour permettre la vision binoculaire. Dans ce cas, les deux oculaires sont réglables l'un par rapport à l'autre, permettant la modification de l'écartement de deux yeux.
- ✓ **Oculaire**: Joue le rôle d'une loupe qui grossit l'image.
- ✓ **Porte-objectifs ou revolver** : Permet d'amener dans l'axe du tube l'objectif choisi et de le maintenir en place grâce à un cran d'arrêt.

- ✓ **Objectifs** : Soit chromatiques pour une utilisation en lumière UV soit achromatiques pour utilisation d'une source lumineuse blanche. On les utilise soit à sec (état frais), soit à immersion (la lentille frontale trempe dans de l'huile synthétique dite: **huile à immersion**).
- ✓ **Condenseur ou condensateur** : qui permet d'éclairer l'objet de façon uniforme et de moduler, grâce à un diaphragme, la quantité de lumière qui arrive sur l'objet. Il peut être réglé pour une utilisation en **lumière directe**, en **contraste de phase**, en **fond noir**. Les microscopes actuels ont un condenseur préréglé, pour une efficacité maximale, en position haute.
- ✓ **Diaphragme** : présent sur de nombreux modèles de microscopes, il permet de régler la quantité de lumière traversant la préparation microscopique (Figure 16).

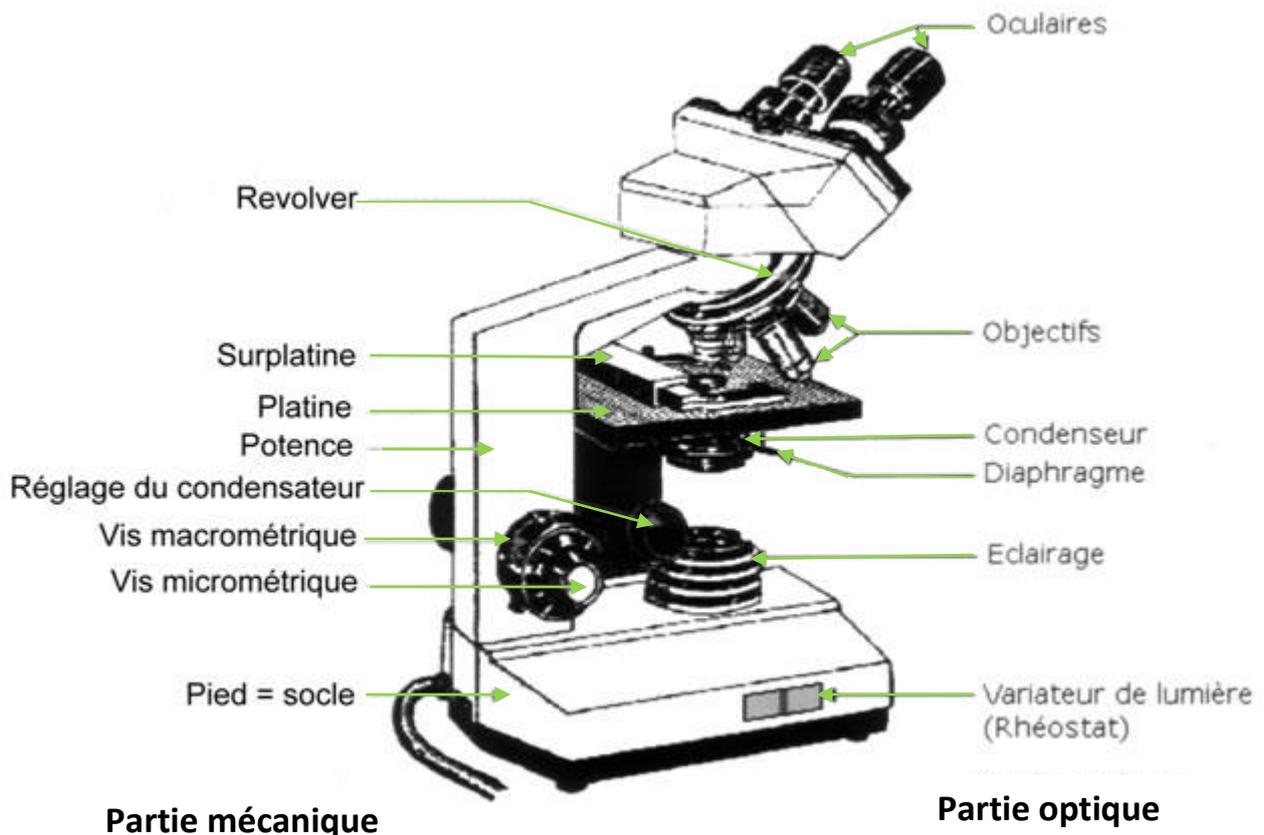


Figure 16 : Microscope optique binoculaire.

*Plusieurs types de microscopie optique sont distingués:

- La microscopie optique à **Fond clair**.
- La microscopie optique à **Fond noir**.
- La microscopie optique à **contraste de phase**.
- La microscopie optique à **fluorescence**.

2. Microscope électronique

Le **microscope électronique** utilise un **faisceau d'électrons accélérés** sous une différence de potentiel donnée pour produire une image agrandie de la matière. Ce microscope n'a pas été conçu et construit d'un seul coup. Le mouvement, initié en Allemagne, passant à travers l'Europe et l'Atlantique. Au cours de la décennie qui précède la guerre, des **microscopes électroniques** sont aussi construits en Hollande, en Belgique, en Angleterre et à Toronto. Et en 1939 des images prouvent qu'une résolution ponctuelle de 10 nm est atteinte.

Le principal intérêt du microscope électronique par rapport au microscope optique est d'**augmenter le grandissement**. Au lieu d'être éclairé, l'objet est **bombardé par un faisceau d'électrons**. L'image mettra en évidence les structures plus ou moins opaques aux électrons. L'échantillon doit être préalablement coupé en tranches ultrafines puis imprégné de sels de métaux lourds qui vont se fixer différenciellement sur les différentes structures intracellulaires et les rendre plus ou moins opaques aux électrons.



Figure 17 : Microscope électronique.

*Types de microscope électronique

Les microscopes électroniques sont classés en quatre catégories suivant les critères choisis.

- Le premier critère concerne la **géométrie de l'échantillon**. S'il s'agit d'un **échantillon massif**, on s'intéresse à des signaux issus de sa surface dans une géométrie en **réflexion (MER)**. L'autre solution consiste à étudier des échantillons préparés sous forme de **lames minces** et il s'agit alors d'une microscopie en **transmission (MET)**.
- La seconde classification est de type instrumental. On y distingue, selon les types d'images:

*Les **microscopes conventionnels (MEB)**, dont la conception dérive naturellement de celle des microscopes photoniques. Un éclairage avec une famille de lentilles condenseurs une zone relativement étendue de l'échantillon et avec un système optique composé de plusieurs lentilles après l'échantillon (lentilles objectif, intermédiaire, projectif). Ce qui donne une image agrandie ou un cliché de diffraction.

*Les **microscopes à balayage (MEBT)** dont l'origine s'inspire des systèmes de télévision. Un système d'éclairage focalise une sonde primaire en une sonde incidente sur l'échantillon et il n'existe pas d'optique après l'échantillon. C'est un jeu approprié de détecteurs et de spectromètres (pour l'analyse) qui recueille les différents signaux consécutifs à l'interaction. L'image est obtenue au moyen d'un dispositif de balayage séquentiel de la sonde et d'une visualisation synchronisée des divers signaux recueillis. On a donc:

- **MET** (Microscopie conventionnelle à transmission), ou CEM ou CTEM.
- **MER** (Microscopie conventionnelle à réflexion) ou REM.
- **MEB** (Microscopie à balayage en réflexion) ou SEM.
- **MEBT** (Microscopie à balayage en transmission) ou STEM.

II. Préparations microscopiques

L'observation au microscope optique constitue, généralement, la première phase de l'analyse d'un échantillon bactériologique. Elle permet la caractérisation de la morphologie et de certaines structures cellulaires. L'observation microscopique peut se faire à l'**état frais**, sans aucune préparation de l'échantillon, par l'observation entre **lame** et **lamelle** d'une goutte d'une suspension bactérienne. Ce mode d'examen permet déjà d'observer la **forme**, la **mobilité** éventuelle et le **type de regroupement cellulaire** des bactéries. Mais, souvent, l'échantillon subit avant son observation une préparation qui comprend en générale, une **fixation**, un **séchage** et une **coloration**.

1. Fixation et séchage

Pour fixer un échantillon, une mince goutte du prélèvement contenant les microorganismes est étendue sur lame. Cette préparation séchée à l'air, est appelée **frottis**. Le frottis est fixé aussi, en l'orientant vers le haut, par un chauffage rapide au-dessus de la flamme d'un **bec Bunsen**. Cette étape est répétée plusieurs fois, jusqu'à séchage complet. C'est le séchage à l'air ambiante et la chaleur douce qui **fixent** les microorganismes sur la lame. Un autre procédé de fixation consiste à recouvrir le frottis de méthanol pendant une minute.

2. Colorations

Les microorganismes sont généralement examinés au moyen de **préparations colorées**. La **coloration** est le procédé par lequel un colorant est utilisé pour mettre en évidence certaines structures bactériennes. Cependant, toute coloration nécessite au préalable la **fixation** du microorganisme sur une lame.

Les colorants acides et basiques sont les colorants les plus utilisés. Cependant, ils sont utilisés selon trois méthodes de coloration: **coloration simple**, **colorations différentielles** et **les colorations spéciales** de structures spécifiques.

2.1 Coloration simple

Elle est obtenue par l'utilisation d'un seul colorant, acide ou basique. Les colorants basiques sont composés de l'association d'un cation coloré et d'un anion incolore, par exemple: le chlorure de bleu de méthylène et c'est l'inverse pour les colorants acides : eosinate de sodium.

Ce type de coloration est utilisé pour déterminer la forme, la taille et le type de regroupement des cellules bactériennes. Les colorants utilisés se fixent aux structures cellulaires par interactions ioniques. C'est en particulier le cas des colorants basiques dont la charge positive se combine aux groupements phosphates des acides nucléiques cellulaires, chargés négativement.

2.2 Colorations différentielles

Les colorations différentielles permettent de séparer les bactéries en groupe distincts. Au contraire des colorants simples, les colorants différentiels réagissent différemment avec les bactéries selon leur affinité tinctoriale (pour le colorant). C'est cette différence de réaction qui permet de les distinguer. Les colorations différentielles les plus fréquemment utilisées sont: la **coloration de GRAM** et la **coloration acido-alcool-résistante**.

2.2.1 Coloration de GRAM

La **coloration de GRAM** a été mise au point en 1884 par le bactériologiste danois Hans Christian GRAM. Cette technique est l'une des méthodes de coloration les plus utiles, car elle permet de diviser les bactéries en deux grands groupes : les **bactéries à Gram positif** et les **bactéries à Gram négatif**.

➤ Protocole expérimental de la coloration de GRAM

1. **Coloration** par le **violet de gentiane** ou **cristal violet**. Laisser agir de 30 secondes à 1 minute, puis rinçage à l'eau
2. **Mordantage** au **lugol** (solution d'iode iodo-iodurée) : étalement du **lugol** et le laisser agir le même temps que le violet de gentiane puis rinçage à l'eau déminéralisée.
3. **Décoloration** (rapide) à l'**alcool (acétone)** : versement de l'alcool, goutte à goutte (l'alcool ou un mélange alcool-acétone) sur la lame inclinée obliquement, et surveiller la décoloration qui doit être rapide. Le filet doit être clair à la fin de la décoloration. Rinçage abondamment avec de l'eau déminéralisée pour stopper la décoloration. L'utilisation abusive de l'alcool aura pour conséquence de rendre toutes les bactéries Gram négatif.
4. **Contre coloration** à la **safranine** ou à la **fuchsine** : Mettre de l'eau distillée sur la lame et quelques gouttes de safranine ou de fuchsine. Laisser agir de 30 secondes à 1 minute puis lavage à l'eau déminéralisée. Séchage de la lame sur une platine chauffante à 50°C.

5. Observation avec une goutte d'huile à immersion objectif 100 (grossissement $\times 1000$).

Les étapes 1 et 2 colorent en violet le contenu de la bactérie. Le violet de gentiane se fixe sur les composants cytoplasmiques de toutes les bactéries. Le lugol permet de fixer cette coloration interne.

2.2.2 Coloration acido-alcool-résistante

C'est une coloration différentielle importantes, utilisée pour l'identification directe et spécifique des **bactéries acido-alcool-résistante (BAAR)** du genre *Mycobacterium*, y compris deux agents pathogènes: *Mycobacterium tuberculosis* et *Mycobacterium leprae* responsables, respectivement de la tuberculose et de la lèpre. En effet, leur paroi contient des cires (lipides) qui se lient fortement aux colorants. Ainsi, cette coloration est employée pour identifier les espèces pathogènes du genre *Nocardia* qui causent des infections respiratoires.

Le procédé de coloration consiste à colorer un frottis bactérien à la **fuchsine (colorant rouge)**. L'échantillon est alors soumis à une **décoloration par une solution mixte d'acide-alcool**. Les **BAAR** demeurent colorées en rouge car leur paroi résiste au traitement et la fuchsine a une plus grande affinité de solubilisation dans les lipides de leur paroi. Par contre, chez les autres bactéries, la coloration rouge est rapidement éliminée par l'action de la solution acide-alcool et elles deviennent incolores.

▪ Colorations spécifiques

Il existe diverses colorations spécifiques pour l'observation au microscope optique de structures cellulaires définies, dont principalement:

Coloration au bleu de BORREL pour l'observation de la **capsule**.

Coloration de LEIFSON pour l'observation des **flagelles**.

Coloration de NEISSER pour l'observation des **granules de réserves**.

Coloration de MOELLER pour l'observation des **endospores**.

Coloration de MAY-GRUNWALD-GIEMSA pour l'observation du **noyau**.

III. Morphologie cellulaire bactérienne

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 μm . Elle contient environ 70% d'eau. Rapporté au poids sec, une bactérie est constituée de protéines (environ 55%), de lipides (environ 10%), de lipopolysaccharides (environ 3%), de peptidoglycane (environ 3%), de ribosomes (environ 40%), d'ARN (environ 20%) et d'ADN (environ 3%).

La forme des bactéries est très variable. On distingue généralement des formes sphériques (coques ou cocci), cylindriques (bacilles) et spiralées (Figure 8). Certains bacilles peuvent être incurvés (*Vibrio cholerae*).

Les bactéries sont en général groupées entre elles selon des modes de groupement spécifiques. Chez les coques, on peut distinguer les **diplocoques** (paires), les streptocoques (chaînes), les staphylocoques (amas en forme de grappes de raisin) ou les **tétrades (sarcines)**. Les bacilles se présentent soit en paires soit en chaînes (streptobacilles). Le **mode de groupement** peut aider dans l'orientation de l'identification des bactéries.

L'observation au microscope optique et électronique a permis de caractériser les différentes structures cellulaires bactériennes (Figure 18).

La cellule bactérienne

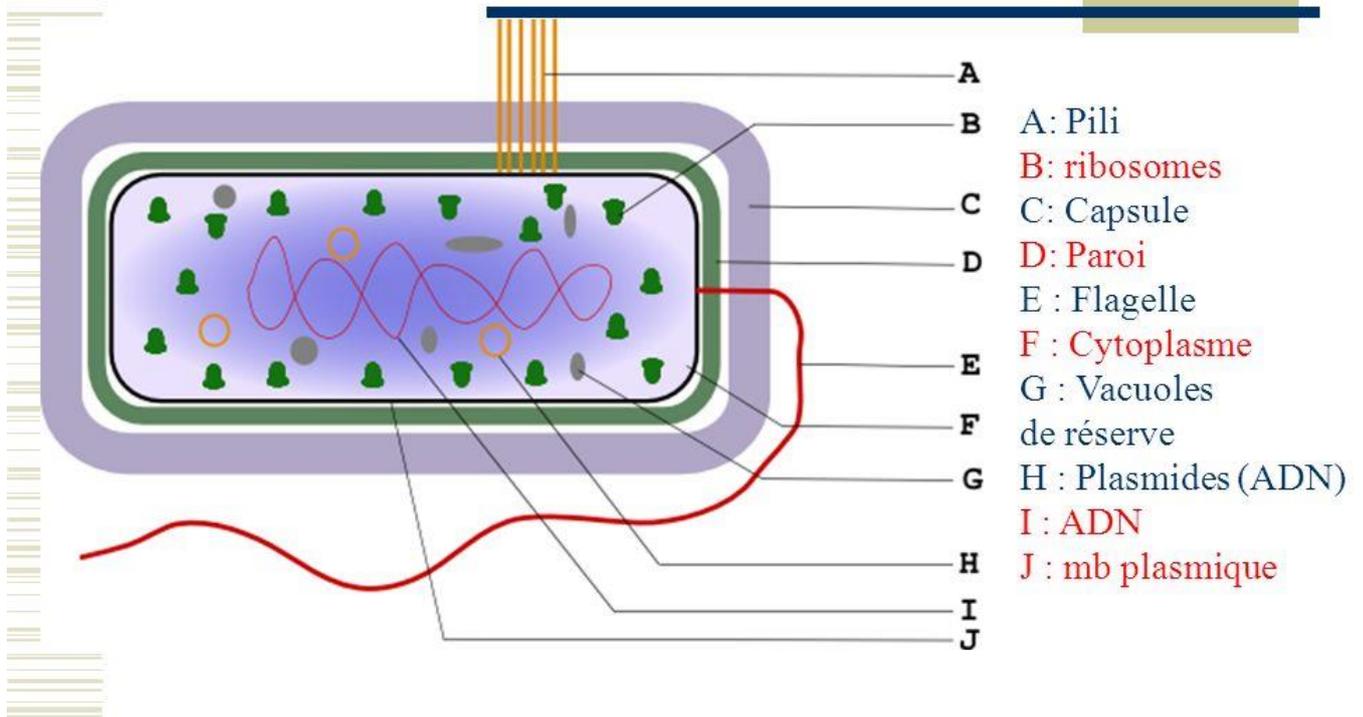


Figure 18 : Représentation schématique de la structure d'une cellule bactérienne.

1. Paroi

La paroi cellulaire des bactéries a une composition diversifiée selon les espèces. Elle remplit de nombreuses fonctions cellulaires essentielles.

1.1 Structure et composition

▪ Peptidoglycane

La **paroi cellulaire** bactérienne est une enveloppe rigide de structure complexe. Elle est caractérisée par sa composition d'un réseau macromoléculaire de structure régulière et répétitive, appelé **peptidoglycane** (appelé aussi **mureine**), présent seul ou en association avec d'autres substances. Le **peptidoglycane** est constitué de la répétition d'un disaccharide formant des chaînes reliées entre elles par des polypeptides. Le disaccharide est composé de monosaccharides appelés **N-acétylglucosamine (NAG)** et l'**acide N-acétyl-muramique (NAM)** (composé spécifiquement bactérien), liés en β (1-4) par des ponts glycosidiques (Figure 18). Les molécules de NAG et NAM se suivent en alternance pour former la partie **glycane** du peptidoglycane (squelette glucidique). Les rangées adjacentes sont reliées par des **polypeptides** (partie peptidique du peptidoglycane). Les

✓ Paroi des bactéries à Gram positif

La paroi cellulaire des bactéries à Gram positif est composée de plusieurs couches de peptidoglycane qui est le constituant majeur (90% des constituants de la paroi). De plus, la paroi bactérienne est caractérisée par la présence d'**acides teichoïques** qui sont des polymères d'alcool (de **glycérol** et de **ribitol**) reliés à des groupements phosphates. Cependant, deux types d'**acides teichoïques** existent dans la paroi des bactéries à Gram positif: l'acide lipoteichoïque, qui traverse la couche de peptidoglycane et s'enchaînent dans la membrane cytoplasmique en se liant aux lipides membranaires, et l'acide teichoïque de paroi qui se fixe seulement à la couche du peptidoglycane.

Les acides teichoïques sont chargés négativement. Leur fonction est inconnue mais ils maintiennent la structure de la paroi. Ainsi, c'est ces acides qui retiennent le violet de gentiane lors de la coloration de Gram. Cependant, la paroi des bactéries à Gram positif contient peu de protéines (Figure 21).

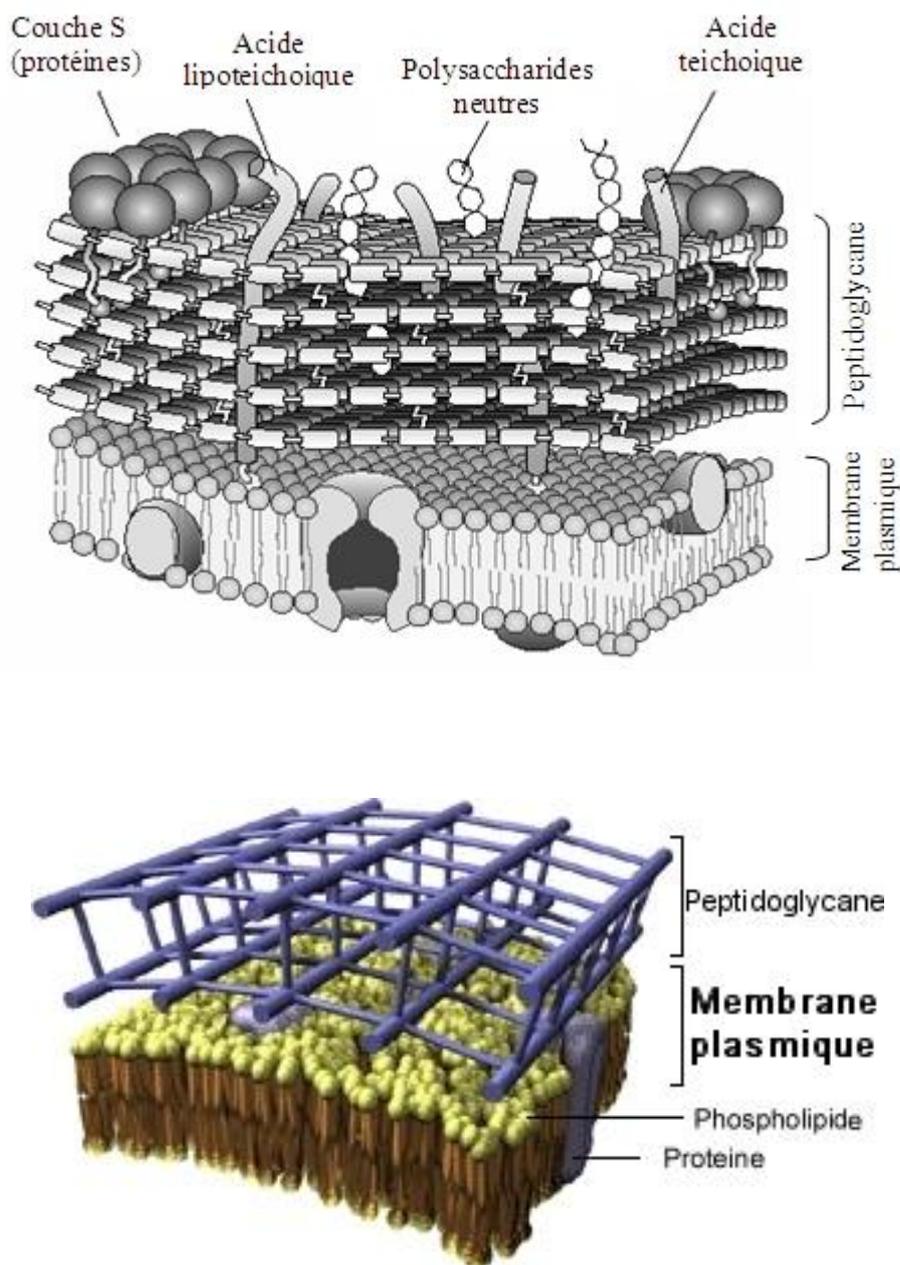


Figure 21 : Représentation schématique de la structure de la paroi des bactéries à Gram positif.

✓ **Paroi des bactéries à Gram négatif**

La paroi cellulaire des bactéries à Gram négatif est constituée d'une **couche mince** (une seule couche ou quelques-unes seulement, environ 15% du poids sec) de peptidoglycane surmontée par une **membrane externe** (Figure 22). La **membrane externe** contient des lipoprotéines (lipides reliés à des protéines) qui sont liées au peptidoglycane sous-jacent. En plus des lipoprotéines, la membrane externe des bactéries à Gram négatif est composée de **lipopolysaccharides (LPS)** et de phospholipides. Le LPS est aussi appelé **endotoxine**. Il est le principal responsable de la spécificité antigénique de surface des bactéries à Gram négatif et sa diversité de composition est à la base des classifications antigéniques. Le LPS est constitué du **lipide A**, du **polysaccharide central** et de la **chaîne latérale O** ou **partie périphérique** ou encore **antigène O**. Cependant, le **lipide A** est enfoui dans la membrane externe, le reste est projeté à l'extérieur (Figure 23).

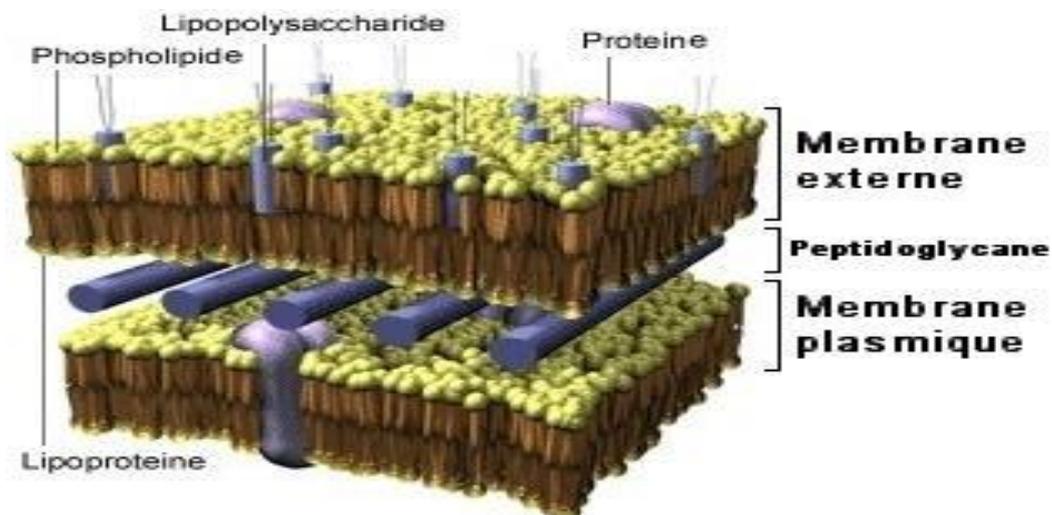


Figure 22 : Représentation schématique de la structure de la paroi des bactéries à Gram négatif.

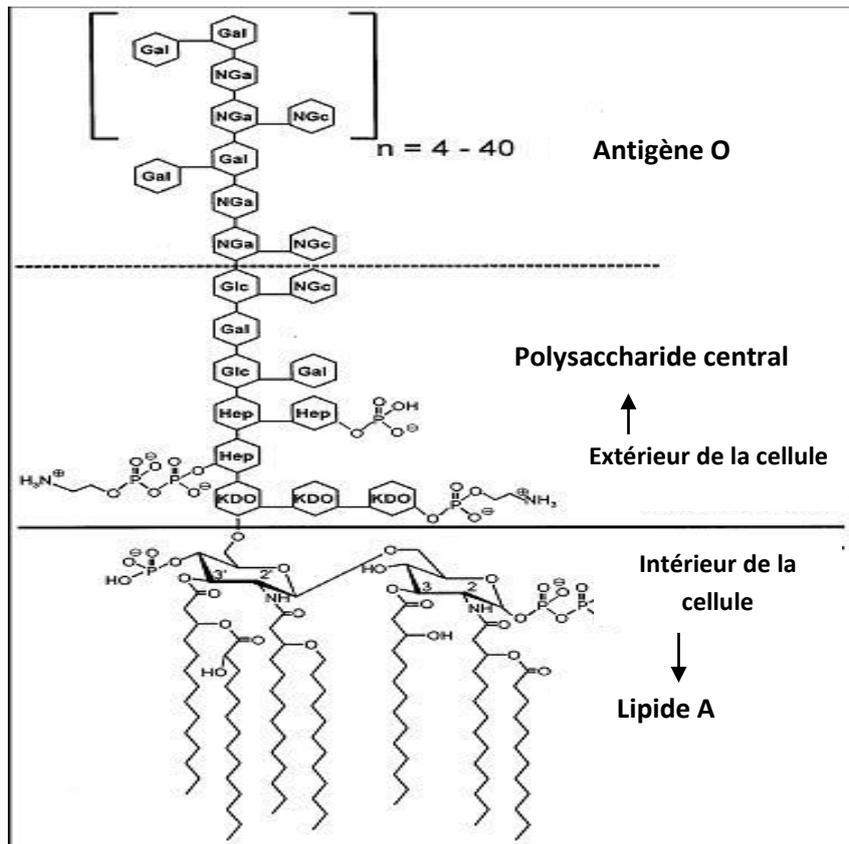


Figure 23 : Structure schématique du LPS.

La membrane externe des bactéries à Gram négatif est caractérisée par la présence de protéines membranaires appelées **porines**. Ces dernières forment des canaux qui ne laissent passer que quelques molécules telles que: les nucléotides, les disaccharides, les peptides, les acides aminés, la vitamine B₁₂ et le fer. Ce sont les nutriments indispensables au métabolisme bactérien.

Entre la membrane externe et la membrane cytoplasmique, se trouve l'**espace périplasmique** qui est une région remplie d'un liquide appelé **périplasma**. Il contient une concentration élevée d'enzymes de dégradation et de transporteurs protéiques et abrite la couche de peptidoglycane. La membrane externe empêche ou diminue l'entrée des sels biliaires, des antibiotiques, etc. Elle a de nombreux sites de contact avec la membrane plasmique.

✓ **Paroi des Archaeobactéries**

Les archaeobactéries sont soit dépourvues de paroi, soit ils possèdent une paroi différente à celle des **eubactéries** (bactéries). Leurs parois contiennent une substance semblable au peptidoglycane appelé **pseudopeptidoglycane** ou **pseudomureine**. Ce dernier comprend de l'acide N-acétylosaminuronique à la place de NAM et ne contient pas les acides D-aminés spécifiques des parois cellulaires bactériennes. D'autres types de paroi cellulaires sont observés chez les archaeobactéries, se présentent comme des structures composées de plusieurs couches de polysaccharides, de protéines ou de glycopeptides.

➤ Paroi cellulaire et mécanisme de la coloration de GRAM

Le mécanisme de la coloration de GRAM est **fondé sur les différences structurales** entre les parois cellulaires des bactéries et sur les effets que produisent les divers réactifs utilisés dans cette coloration. Le **violet de gentiane** ou le **crystal violet** qui est le colorant primaire, confère une couleur violette aux deux types de bactéries (à Gram positif et à Gram négatif) car il pénètre dans le cytoplasme des deux types de cellules. Lorsque le **mordant**(Iode) est ajouté, il forme avec le colorant primaire des **cristaux** (complexe violet-iode) qui sont trop gros pour s'échapper en traversant la paroi cellulaire (cette étape est appelée le **mordantage** qui est la fixation du colorant). Ensuite, l'alcool (acétone et isopropanol ou éthanol) rajouté **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. De ce fait, ces bactéries conservent alors la couleur violette initiale et elles sont dites: bactéries à Gram positif. Cependant, l'effet de l'alcool sur les bactéries dites à Gram négatif est très différent: l'alcool **dissout** la membrane externe des bactéries et laisse même de petits trous dans la mince couche de peptidoglycane, par lesquels les cristaux du complexe violet-iode diffusent et sortent du cytoplasme des bactéries. De ce fait, la couleur violette est perdue, et les bactéries dites à Gram négatif sont incolores à cette étape. Après le traitement par l'alcool, la **safranine** ou la **fuchsine** sont les colorants (colorant secondaire) utilisés dans cette étape de contre coloration, où les bactéries à Gram négatif se colorent (grâce à la paroi qui est devenue poreuse) et apparaissent en rose.

1.2 Fonction

C'est une **enveloppe rigide** assurant l'intégrité de la bactérie, donc **responsable de la forme cellulaire** qui est un élément essentiel de leur identification. La principale fonction de la paroi bactérienne est de **protéger la bactérie** et son milieu intérieur des variations défavorables de l'environnement. Elle empêche que les cellules bactériennes s'éclatent, quand la pression de l'eau à l'intérieur est supérieure à celle de l'environnement (**protection des variations de la pression osmotique**). Ainsi, la **perméabilité** de la paroi aux sels et aux composés hydrophiles de faibles poids moléculaire, 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. De plus, la composition chimique de la paroi des bactéries à Gram positif et à Gram négatif, est hydrophile, empêchant ainsi, le passage des composés hydrophobes nocifs.

La paroi est le **site d'action d'enzymes exogènes (lysozyme)** ou **endogènes (autolysines)** ou d'**antibiotiques** qui inhibent la synthèse du peptidoglycane. Le lysozyme est une enzyme anti bactérienne qui provoque la destruction des cellules bactérienne par la dissolution complète de leurs parois et entraîne la clarification du milieu. Les bactéries perdent alors leur rigidité et se lysent sous l'effet de leur pression osmotique interne qui rompt leur membrane cytoplasmique.

La paroi bactérienne a aussi, un **rôle immunologique** grâce au LPS et au peptidoglycane. Ces derniers ont un **rôle non spécifique contre l'infection** en activant le complément par la voie alterne libérant les fractions C3a et C5a (effet chimiotactique) et C3b (effet opsonisant).

2. Membrane cytoplasmique

La **membrane cytoplasmique (membrane plasmique, membrane interne)** est une structure mince et résistante qui enveloppe et retient le cytoplasme de la cellule. Elle constitue 8à18% du poids sec de la cellule. Chez les procaryotes et à l'exception des mycoplasmes qui ont des membranes qui contiennent des stérols, la membrane cytoplasmique des bactéries est composée principalement de phospholipide et de protéines (Figure 24).

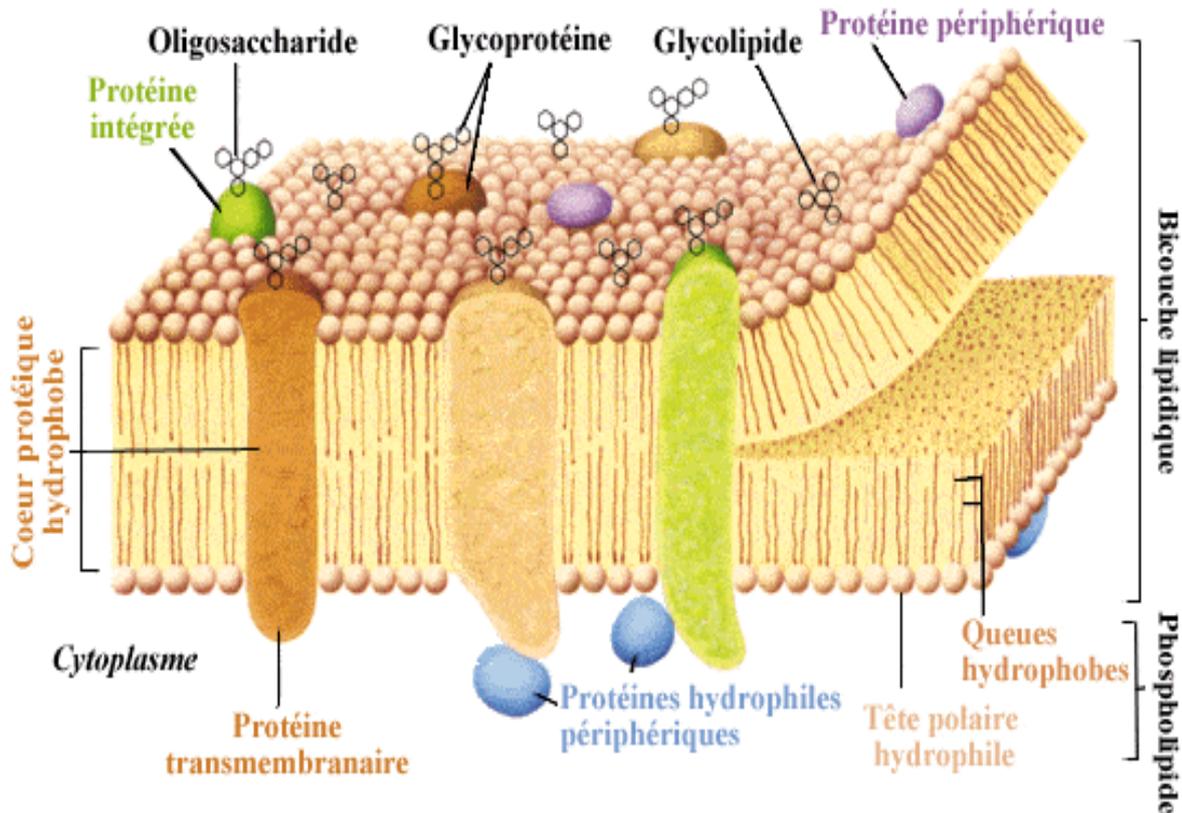


Figure 24 : Structure schématique de la membrane cytoplasmique des procaryotes.

2.1 Structure et composition

Au microscope électronique, la membrane cytoplasmique est formée d'une **bicouche de phospholipide**. Chaque molécule de phospholipide comprend une **tête polaire** composée d'un groupement phosphate et de glycérol qui est **hydrophile** (soluble dans l'eau) et **une queue non polaire** composée de chaînes d'acides gras **hydrophobes** (insolubles dans l'eau). Cependant, les têtes polaires occupent les deux surfaces exposées de la bicouche de phospholipides et les queues non polaires sont tournées vers l'intérieur de la bicouche. Les molécules de **protéines** sont situées à la surface interne ou à la surface externe de la membrane. Ce sont les **protéines dites périphériques** qui peuvent agir comme des **enzymes** qui catalysent des réactions chimiques ou des molécules structurales, ou encore des **médiateurs** qui modifient la forme de la membrane lors des mouvements de la cellule.

L'autre type de protéines est appelées **protéines intrinsèques** s'enfoncent dans la bicouche de phospholipides. Ces protéines peuvent traverser complètement la membrane cytoplasmique appelée ainsi **protéines transmembranaires**. Certaines de ces protéines forment des canaux par lesquels des substances pénètrent dans la cellule ou en sortent.

La membrane cytoplasmique a un **caractère dynamique**, rendu possible par son état **semi-fluide** en condition normale. L'arrangement dynamique de phospholipides et de protéines est appelé **modèle de la mosaïque fluide**. Ce modèle propose une compréhension de la structure dynamique de la membrane cytoplasmique comme une mer composée de lipides contenant une mosaïque de protéine en mouvement (Figure 24).

2.2 Fonctions

La **membrane cytoplasmique** est le siège de nombreuses fonctions fondamentales. Par comparaison aux cellules eucaryotes, les fonctions établies par la membrane cytoplasmique des cellules procaryotes sont assurées par des organites intracellulaires chez les cellules eucaryotes.

2.2.1 Perméabilité sélective

La plus importante fonction de la membrane plasmique est de dresser une **barrière sélective** par laquelle les substances doivent passer pour entrer ou sortir de la cellule. Elle est dite **semi perméable** (dotée **d'une perméabilité sélective**), qui signifie que certaines molécules et ions traversent la membrane alors que d'autres ne sont pas autorisées à le faire. Les échanges de substances dépendent de différents facteurs du milieu: la nature et la taille des molécules, la concentration intra et extra cellulaire, le pH et la force ionique.

2.2.2 Transport des substances

Pour absorber et surtout pour maintenir une concentration intracellulaire en substrats essentiels, compatibles avec leurs besoins physiologiques, les bactéries disposent de **plusieurs systèmes de transport membranaire**, impliquant pour la plupart des protéines spécifiques de transport appelées **perméases**. Ces protéines jouent parfois le rôle de canaux de transfert plus au moins **passifs**. Mais, elles sont souvent intégrées dans des systèmes enzymatiques complexes de **transports actifs** et spécifiques.

Les molécules traversent la membrane cytoplasmique des cellules bactériennes grâce à deux types de **processus**: **passif** et **actif**. Dans le **processus passif**, les substances franchissent la membrane plasmique suivant un **gradient de concentration** où elles se dirigent de la zone la plus concentrée en substances vers la zone où leurs concentrations est basse, **sans dépense d'énergie (ATP)**. Par contre, dans le **processus actif**, la cellule **doit utiliser de l'énergie (ATP)** pour déplacer les molécules d'une zone de faible concentration à une autre de concentration élevée en remontant le gradient de concentration.

▪ **Processus passifs**

Il comprend: la **diffusion simple**, la **diffusion facilitée** et l'**osmose**.

a. **Diffusion simple, diffusion passive**

C'est le déplacement de molécules ou d'ions d'une région de concentration élevée (**hypertonique**) vers une région de faible concentration (**hypotonique**) jusqu'à l'équilibre (**isotonique**). Ce dernier est la distribution uniforme (**homogène**) des molécules et des ions.

b. **Diffusion facilitée**

La **diffusion facilitée** est semblable à la diffusion simple où la substance passe d'un milieu hypertonique à un milieu hypotonique. Mais elles se différencient par la présence de **transporteur membranaire protéique** qui sont les **perméases spécifiques** qui assurent le passage de molécules.

c. **Osmose**

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 de 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.

- **Processus actifs**

Lorsque la cellule bactérienne se trouve dans un milieu où la concentration des nutriments est faible, elle doit utiliser des processus actifs qui sont: le **transport actif** et la **translocation de groupe**.

- a. **Transport actif**

C'est le déplacement des substances de **l'extérieur** de la cellule **vers l'intérieur** de la cellule **contre** le gradient de concentration et en **utilisant de l'énergie (ATP)**. Le **transport actif** dépend de **transporteurs protéiques** situés dans la membrane cytoplasmique. Ces transporteurs sont spécifiques pour chaque molécule à transporter.

- b. **Translocation de groupe**

C'est un système de transport qui fonctionne aussi **contre le gradient de concentration**, mais la substance à transporter subit une **modification chimique** en passant dans la membrane cytoplasmique. Ce mécanisme important permet à la bactérie d'accumuler diverse substances nutritifs et nécessite une **dépense d'énergie** qui fait intervenir des composés phosphatés tel que PEP (phosphoénolpyruvate).

2.2.3 Fonction respiratoire

La **membrane cytoplasmique** des bactéries joue un rôle important dans la dégradation des nutriments et la production de l'énergie. Elle contient des **enzymes** qui catalysent la dégradation des nutriments produisant ainsi de l'ATP. C'est le **site de localisation des enzymes respiratoires** de la chaîne d'oxydoréduction phosphorylante et de ses **coenzymes (cytochromes)**, ainsi que des enzymes du cycle tricarboxylique (Krebs). C'est aussi le siège de la synthèse des lipides et renferme les enzymes responsables des étapes terminales de la synthèse de plusieurs constituants macromoléculaires de la paroi: peptidoglycane, par exemple.

- **Mésosome**

Au microscope électronique, la membrane cytoplasmique bactérienne présente souvent un ou plusieurs grands replis irréguliers appelés **mésosomes**. Ce sont en fait des **artéfacts** engendrés par la technique spécifique de fixation et de coloration des échantillons bactériens avant leur observation au microscope électronique. Ce ne sont pas donc de véritables structures cellulaires.

- **Périplasme**

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. Le périplasme est le siège de nombreux enzymes aux activités essentielles. Chez les bactéries à Gram négatif plusieurs enzymes hydrolytiques se concentrent dans le périplasme telles que: les protéases, les phosphatases et les nucléases. Ces enzymes sont, dans leur ensemble impliquées dans la dégradation extra-cytoplasmique des nutriments absorbés à travers la paroi, puis décomposés en leurs constituants élémentaires de taille et de poids moléculaire compatibles avec leur transport à travers la membrane cytoplasmique bactérienne. Le périplasme contient également d'autres enzymes et des protéines de transport de substrats et de métabolites, des enzymes de détoxification telles que les β -lactamases, qui jouent le rôle de protecteur de cellule bactériennes contre les substances toxiques.

3. Capsule, Glycocalyx

Le **glycocalyx** est le terme générique employé pour désigner les substances qui enveloppent les cellules. C'est un polymère **gélatineux** et **visqueux**, situé à l'extérieur de la paroi cellulaire est composé de polysaccharides, de polypeptides ou des deux. Sa composition chimique diffère d'une espèce à une autre. Généralement, le **glycocalyx** est produit à l'intérieur de la cellule et excrété à sa surface. Cependant, si la substance est organisée et solidement fixée à la paroi, le glycocalyx porte le nom de **capsule**. La présence de la capsule est révélée par la coloration négative (le colorant est l'encre de Chine ou la Nigrosine est repoussé par la capsule qui apparaît en clair sur fond noir).

3.1 Morphologie

La capsule peut se présenter sous la forme d'une **couche gélatino-muqueuse**, bien définie, entourant un ou plusieurs corps bactériens telle que celle d'espèces *Streptococcus pneumoniae* qui apparaissent **encapsulés en diplocoques** et *Klebsiella pneumoniae* qui est encapsulée seule. Ainsi, la capsule peut se présenter en une **couche diffuse** et **visqueuse**.

3.2 Composition

La capsule est en général de nature **polysaccharidique (glycocalyx)** et quelquefois **polypeptidique** (*Bacillus*). Chez certaines bactéries (*Chlamydia*, *Treponema*, *Helicobacter*, *Bacillus Clostridium...*) et archaebactéries (*Methanococcus*), une couche de surface cristalline est découverte récemment. Elle est constituée de **sous unités protéiques** et de **glycoprotéines** organisées de façon cristalline selon un système géométrique carré, hexagonal ou oblique appelée **couche S**. La **couche S** joue un rôle en tant que squelette mais elle pourrait aussi être impliquée dans l'**adhésion**, dans la **résistance** aux protéases des macrophages et dans la **protection** vis à vis des bactériophages.

3.3 Fonctions

La capsule n'a pas un rôle vital pour la bactérie, qu'elle peut vivre et se multiplier sans sa présence. Mais elle peut être utile à la bactérie grâce à ses rôles.

3.3.1 Pathogénicité

La capsule joue un rôle important dans la **virulence de la bactérie** (capacité à causer la maladie), où la capsule protège souvent les bactéries pathogènes contre la phagocytose par la cellule hôte. C'est le cas par exemple de *Bacillus anthracis* qui produit une capsule composée d'acide D-glutamique. Les cellules phagocytaires ne peuvent digérer que des molécules de forme L. Ce qui explique la résistance de ces bactéries à la phagocytose.

3.3.2 Adhésion

C'est une **fixation (adsorption)** plus ou moins spécifique à toutes sortes de supports, vivants ou inertes, grâce à un glycocalyx constitué de sucres appelé **polysaccharide extracellulaire (PSE)**. Le **PSE** offre à la bactérie la capacité de se fixer à diverses surfaces dans son environnement naturel, afin d'assurer sa survie. Les bactéries peuvent alors croître sur diverses surfaces telles que: les pierres dans les cours d'eau rapides, les racines des plantes, les dents humains, les implants chirurgicaux, les conduites d'eau et autres. *Streptococcus mutans* qui cause souvent des caries dentaires, se fixe à la surface des dents par un glycocalyx, de plus cette bactérie peut même utiliser sa capsule comme source de nourriture, lorsque les réserves d'énergie sont basses, où la bactérie tire les sucres de sa dégradation. Ainsi, la capsule de *Klebsiella* permet à la bactérie d'adhérer aux voies respiratoires et de les coloniser.

3.3.3 Protection

La capsule constitue un élément significatif de protection des bactéries vis-à-vis de certains facteurs physico-chimiques antagonistes de l'environnement comme la dessiccation (déshydratation) et les rayonnements UV. La capsule empêche aussi la fixation des bactériophages et protège la bactérie de la prédation des protozoaires du milieu.

4. Cytoplasme

Le **cytoplasme** est l'hydrogel contenu à l'intérieur de la membrane cytoplasmique. Il est constitué d'environ 80% d'eau et il contient des protéines (enzymes), des glucides, des lipides, des ions inorganiques et un grand nombre de composés de faible masse moléculaire. C'est le **siège de la plupart des réactions métaboliques cellulaires** notamment: la glycolyse, l'anabolisme et le catabolisme de macromolécules. Le **cytoplasme** bactérien contient le matériel génétique (**chromosomes** et **plasmides**), de très nombreux **ribosomes** et plusieurs types de dépôts de réserves appelés **inclusions**. Cependant le cytoplasme des cellules procaryote est dépourvu de certains organites observés chez les cellules eucaryotes tels que: le réticulum endoplasmique, l'appareil de golgi et autres.

4.1 Ribosomes

Ce sont les principales structures intracellulaires bactériennes. La cellule bactérienne renferme des dizaines de milliers de ces très petites structures, qui sont le siège de la **synthèse des protéines**. Ils sont dispersés dans le cytoplasme et communs à toutes les bactéries. Les ribosomes sont composés de deux sous unités comprenant chacune des protéines et un type d'ARN appelé **ARN ribosomal (ARNr)**. Les ribosomes des cellules procaryotes se distinguent des ribosomes des cellules eucaryotes par le nombre de protéines et de molécules d'ARNr qu'ils contiennent. Ils peuvent être séparés par ultra centrifugation et se caractérisent par un **coefficient de sédimentation (unité SVEDBERG(S))** de **70S**. Alors que les ribosomes des cellules eucaryotes sont plus grands et plus denses avec un coefficient de sédimentation de **80S**. Les sous-unités des ribosomes 70S sont formées d'une petite sous-unité de **30S** contenant une molécule d'ARNr et une grosse molécule de **50S** contenant deux molécules d'ARNr. Deux sites fondamentaux de synthèse des protéines: le site **aminoacyl** qui fixe l'**acyl-tRNA** et le site **peptidyl** qui accueille la **chaîne d'acides aminés** en cours de biosynthèse (Figure 25). Dans les cellules bactériennes en phase de croissance, les ribosomes forment une chaîne de plusieurs unités enfilées les unes à la suite des autres sur un brin d'ARNm appelés **polysomes**.

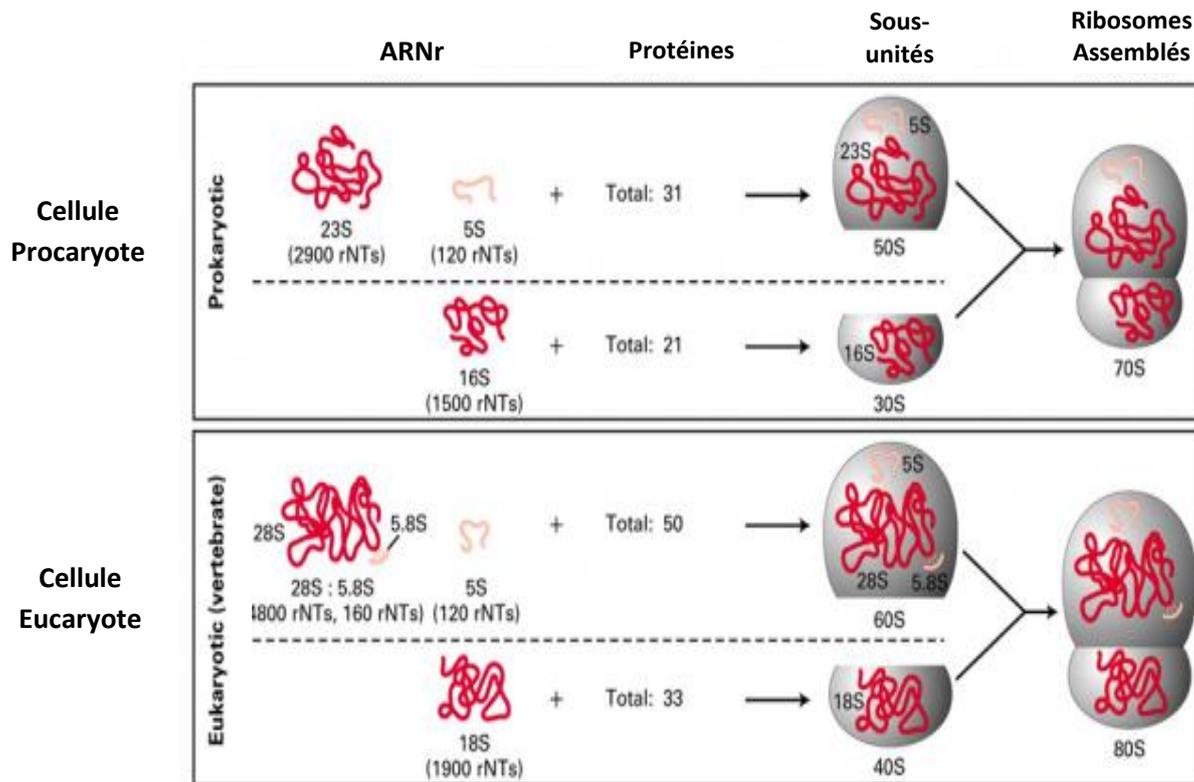


Figure 25 : Structure schématique des ribosomes des procaryotes et des eucaryotes.

4.2 Inclusions cytoplasmiques

La cellule bactérienne accumule certains nutriments lorsqu'ils sont en abondance sous forme de **granules de réserves** et/ou des **vacuoles à gaz**. Elle les utilise quand le milieu s'appauvrit. Certaines inclusions sont communes à un large éventail de bactéries, alors que d'autres sont limitées à un petit nombre d'espèce bactérienne.

4.2.1 Granules de réserves

Ce sont des **réserves de substrats nutritifs** qui se présentent sous la forme de granules limités par une mince enveloppe lipidique (non pas une membrane). Elles constituent un stock disponible de carbone, d'azote et de divers composés minéraux.

a. Réserve carbonées

Les réserves carbonées sont appelées **granules de polysaccharides**. Elles peuvent servir de source d'énergie et de carbone. Elles sont généralement constituées de **glycogène** et d'**amidon** qui sont de **nature glucidique** et de l'**acide poly- β -hydroxybutyrique** qui est un **polymère lipidique** spécifique de bactéries, rencontré en particulier chez les bactéries du genre *Micrococcus*, *Azotobacter* et autres.

b. Réserves azotées

Ce type de réserves est observé chez les Cyanobactéries qui accumulent la **cyanophicine** (un polymère d'arginine et d'aspartate). Ces acides aminés sont des précurseurs de la biosynthèse d'autres acides aminés et d'acides organiques du cycle tricarboxylique.

c. Réserves phosphatés

Elles sont appelées **granules métachromatiques** qui sont de grandes inclusions qui se colorent en rouge sous l'action de certains colorants basiques. Elles sont aussi appelées **volutine**. En effet, ce sont des réserves de phosphates inorganiques (polyphosphates) qui peuvent servir à la synthèse d'ATP, de la composition des acides nucléiques, des phospholipides, des acides teichoïques, etc. Ce type de granules non seulement présent chez les bactéries, mais aussi chez les algues, les mycètes et les protozoaires.

d. Réserves en Soufre et en Fer

Trois groupes de bactéries d'importance majeure pour les activités dans l'environnement: oxydent le sulfure d'hydrogène (H_2S) et déposent le soufre élémentaire dans leur cytoplasme sous forme de granules de 100 à 1000 nm de diamètre. Ce sont les bactéries **photosynthétiques pourpres** (*Chromatium*), des bactéries **filamenteuses mobiles par glissement** (*Beggiatoa*) et des bactéries **incolors du soufre** (*Thiobacterium*). D'autres bactéries oxydent le fer. Elles sont dites **bactéries ferro-oxydantes**, contiennent des inclusions cytoplasmiques d'hydroxyde ferrique.

4.2.2 Vacuoles à gaz

Les **vacuoles à gaz** ou encore appelée **vacuoles gazeuses** sont des cavités présentes chez de nombreuses **bactéries aquatiques** dont les Cyanobactéries, les bactéries photosynthétiques anoxygéniques et les bactéries halophiles. Chaque vacuole est constituée de plusieurs **vésicules à gaz** alignés qui sont des cylindres creux recouverts de protéines. Les vacuoles à gaz permettent aux bactéries de modifier leur densité volumique et d'adapter ainsi, en milieu aqueux leur niveau d'immersion à la profondeur la plus favorable à leur croissance. Ce sont des **organes de flottaison** qui permettent à la cellule de se maintenir dans l'eau à une profondeur appropriée où elles reçoivent suffisamment d'oxygène, de lumière et de nutriments.

* Autres inclusions cytoplasmiques

▪ Carboxysomes

Ce sont des organites formés d'une coque protéique polyédrique de 80 à 140 nm de diamètre. Un **carboxysome** est un micro compartiment bactérien contenant des enzymes impliquées dans la fixation du carbone. C'est le cas de la **ribulosediphosphate carboxylase (Carboxydismutase)** est une enzyme clé du cycle de Calvin, dont elle catalyse la première étape. Les carboxysomes sont présents chez toutes les Cyanobactéries et chez de nombreuses bactéries chimiotrophes qui fixent le CO_2 (*Thiobacillus*).

▪ Chromatophores

Les bactéries **photosynthétiques (phototrophes)** possèdent des **chromatophores**. Ces organites jouent chez ces bactéries le rôle que jouent les chloroplastes chez les plantes vertes. Toutefois, l'ultrastructure et la nature des pigments de ces organites en sont différents: bactériochlorophylle, bactériorodopsine, phycocyanine, xanthophylle....

▪ Magnétosomes

Plusieurs espèces bactériennes à Gram négatif telle que *Aquaspirillum magnetotacticum* sont dites **magnétotactiques**, car elles possèdent des organites cytoplasmiques, appelés **magnétosomes**, au sein desquels précipitent de la magnétite (Fe_3O_4) ou de la greigite (Fe_3S_4). Ces organites s'organisent en chaînes au sein de la cellule permettant à la bactérie de s'aligner sur les lignes de champ magnétique terrestre. Ce caractère constitue probablement un avantage évolutif afin de trouver le milieu de vie optimal. Ces bactéries contribuent au signal **paléomagnétique**

dans certains systèmes géologiques. D'autres **nanoparticules de magnétite** issues de processus abiotiques ou de synthèses biologiques extracellulaires sont également observées.

4.3 Chromosome

L'information **génétique (héréditaire)** de la cellule est appelé **génome**. Le support de l'information génétique est composé d'**ADN (60%)**, d'**ARN (30%)** et de **protéines (10%)**. Le génome de la cellule est organisé en **chromosomes**.

4.3.1 Composition

Les **chromosomes** sont des structures contenant l'**ADN**, qui constitue le **support physique de l'information héréditaire**. L'**ADN** est une macromolécule constituée d'une suite de sous-unités appelées **nucléotides**. Chaque nucléotide est composé d'une **base azotée** (adénine (**A**), thymine (**T**), cytosine (**C**) ou guanine (**G**)), d'un **désoxyribose** (sucre des groupes des pentoses) et d'un **groupement phosphate**. Le modèle de la **double hélice** représente la molécule d'**ADN** comme une échelle spiralée dans la cellule (Figure 26). Les montants de cette échelle sont constitués de deux longs brins de nucléotides. Chaque brin est une chaîne de sucre alternant avec des groupements phosphates (**squelette sucre-phosphate**). Les barreaux de l'échelle sont constitués de bases azotées dont chacune est liée à un sucre du squelette. Les deux brins sont retenus ensemble par des liaisons hydrogènes entre les bases azotées. Les **paires de bases** sont toujours formées suivant une règle précise ou l'adénine et toujours liée à la thymine (**A-T**) et la cytosine à la guanine (**C-G**). Grâce à cette règle très spécifique, la séquence des bases d'un brin d'**ADN** détermine celle d'un autre brin. Les deux brins d'**ADN** sont alors **complémentaires**. 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 de produits fonctionnels: les **protéines**.

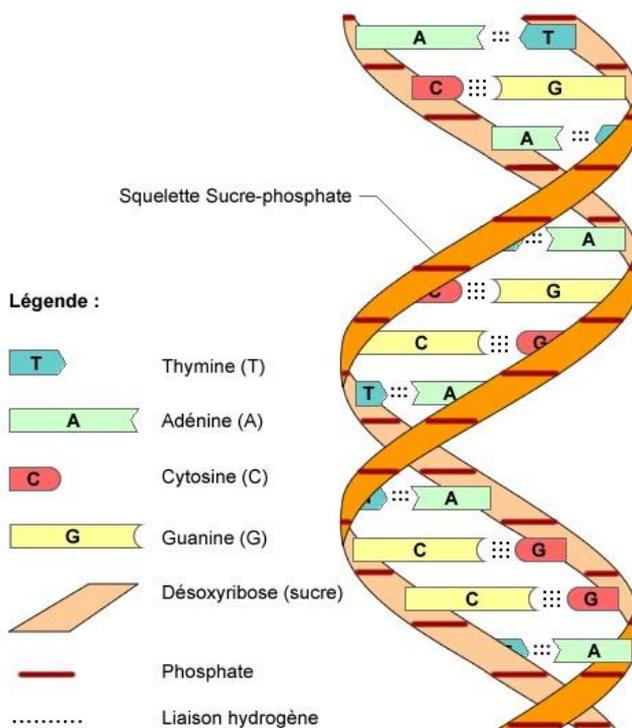


Figure 26 : Représentation schématique de la double hélice d'**ADN**.

4.3.2 Morphologie

Les bactéries possèdent un seul chromosome circulaire qui consiste à une molécule unique d'ADN associés à des protéines basiques appelées **protéines P** (polyamine). Ces dernières ont des propriétés voisines aux **histones** (protéines de stabilisation d'ADN des eucaryotes) et elles sont responsables de la stabilité chimique de l'ADN bactérien. Le chromosome forme des boucles et des replis et il est relié par un ou plusieurs points d'attache à la membrane cytoplasmique. L'ADN est très mince et bien tassé dans la cellule où il occupe seulement 10% du volume cellulaire. Chez *E.coli*, le déroulement du chromosome donne une mesure de 1,2 mm de long avec environ 4 millions de paires de bases (pdb), ce qui correspond à 1000 fois la longueur de la cellule entière. Cependant, les caractéristiques de taille du génome sont variables entre les espèces bactériennes. Par exemple, les Mycoplasmes ont le plus petit génome bactérien avec un chromosome de longueur d'environ 260µm avec un poids moléculaire de $4,5 \cdot 10^8$ Daltons. Cette petite taille, implique la présence d'informations génétiques très réduites et explique leur état de parasites obligatoires.

4.3.3 Structure

Le chromosome bactérien est constitué d'**ADN bicaténaire** (constitué de l'association complémentaire des deux brins monocaténaires appariés en une **double hélice**) et **circulaire**. Cependant, à la différence des eucaryotes, le matériel génétique principal des bactéries est **haploïde** et il est en suspension libre dans le cytoplasme cellulaire enroulé en anneau compact, fermé par des liaisons covalentes avec un poids moléculaire de $1 \cdot 10^9$ à $8 \cdot 10^9$ Daltons, selon les espèces bactériennes. Dans une cellule bactérienne, la molécule d'ADN se présente en une structure pelotonnée, compacte, associée à de l'ARN et à de nombreuses protéines de régulation et de synthèses: **ADN-polymérase** par exemple nécessaire pour la réplication d'ADN. L'espace cytoplasmique du chromosome est appelé **région nucléaire** ou **nucléotide**.

4.3.4 Réplication

La division bactérienne est réalisée par un processus asexué par lequel la cellule se divise en deux cellules filles (fission binaire). Cependant, la réplication de l'ADN se fait avant la division cellulaire où chaque cellule fille reçoit un chromosome identique à celui de la cellule mère.

➤ Processus de la réplication

Lors de la réplication de l'ADN, une molécule parentale d'ADN bicaténaire est convertie en **deux molécules** filles identiques. La structure complémentaire de la séquence des bases azotées sur les brins de la double hélice d'ADN est le principe de la réplication, où chaque brin sert de **matrice** de production d'un autre brin opposé.

La réplication commence par le **déroulement et la séparation** des deux brins de la molécule d'ADN. Ensuite, des **nucléotides** libres présents dans le cytoplasme de la cellule se lient aux bases exposées des brins simples d'ADN, suivant les règles d'appariement (A-T et C-G). Une fois les nouveaux nucléotides sont en place, ils sont liés au brin d'ADN en cour de naissance (nouveau brin) par une enzyme appelée **ADN-polymérase**. Puis, l'ADN d'origine s'ouvre un peu plus pour permettre l'ajout des nucléotides suivants. L'endroit où la réplication s'effectue s'appelle **fourche de réplication**, qui est une région en forme d'Y où les nouveaux brins d'ADN subissent une élongation. Au fur et à mesure que la fourche de réplication se déplace le long de l'ADN d'origine, chacun des deux brins simples exposés se combine à de nouveaux nucléotides et ainsi de suite. Le simple brin original et le nouveau simple brin synthétisé s'enroulent alors en double hélice (Figure 27). Puisque chacune des deux nouvelles molécules d'ADN bicaténaire contient un brin conservé de la molécule originale et un nouveau brin, le processus de la réplication est appelé **réplication semi-conservatrice**.

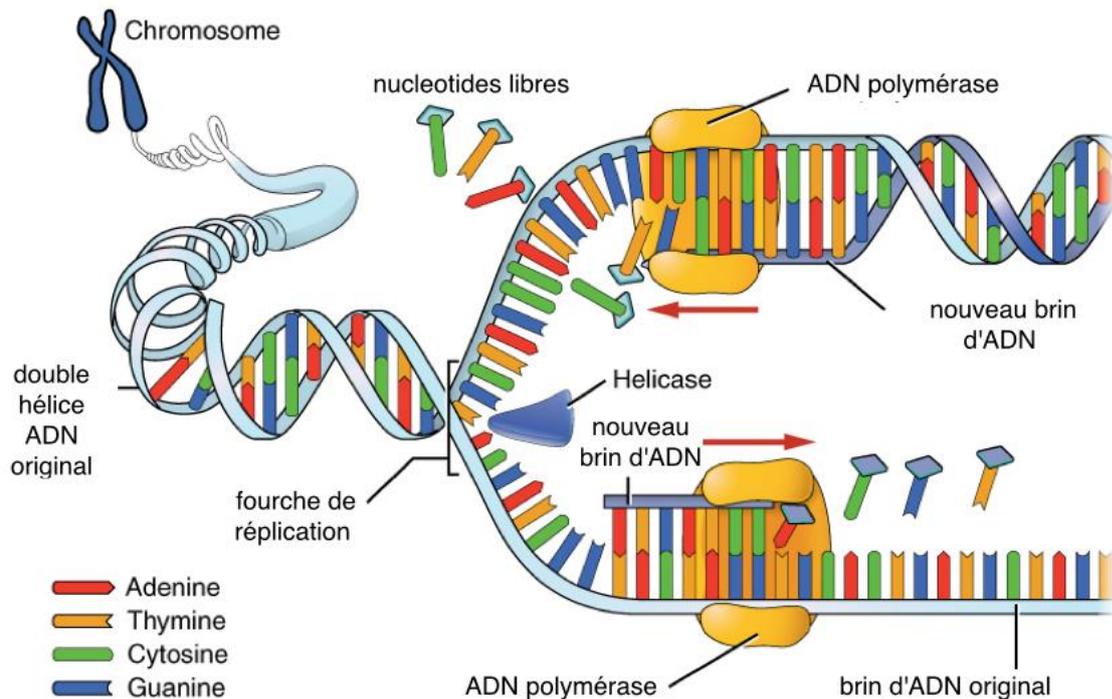


Figure 27 : Représentation schématique de la réplication de l'ADN.

- **Transferts génétiques**

La réplication de l'ADN rend possible la **transmission de l'information génétique** d'une génération à la suivante. Au sein de la cellule bactérienne dont le métabolisme est actif, l'information génétique contenue dans l'ADN est **transcrite en ARNm (messager)** puis **traduite** en protéines. Grâce au phénomène de **recombinaison**, l'information génétique est transférée entre les cellules d'une même génération.

- **Recombinaison génétique**

C'est l'échange de gènes entre deux molécules d'ADN qui donne lieu à la formation de nouvelles **combinaisons de gènes** sur un chromosome. Les chromosomes d'origine seront **recombinés** de telle sorte que chacun d'entre eux possède une partie des gènes de l'autre.

- **Transformation**

Dans le processus de **transformation**, des gènes sont transférés d'une bactérie à une autre, **sans contact**, sous forme d'ADN en solution (**ADN dissous**). L'ADN absorbé provient de la lyse du matériel génétique de bactéries mortes. La **transformation** entraîne la modification du matériel génétique d'une bactérie qui a absorbé des fragments d'ADN présents dans le milieu extracellulaire.

- **Transduction**

C'est un autre mécanisme de transfert génétique entre les bactéries **sans contact cellulaire**. Lors de ce processus, l'ADN bactérien est transféré d'une cellule **donneuse** à une cellule **receveuse** après avoir été transporté à l'intérieur d'un **bactériophage** (virus qui infecte les bactéries), qui joue le rôle de **vecteur**.

4.4 Plasmides

La cellule bactérienne peut contenir, en plus du chromosome, des éléments génétiques (ADN) de petites taille (de 0,5 à 5% du chromosome bactérien), **extra-chromosomique**. Ces éléments sont appelés **plasmides**. Les plasmides sont des petites molécules d'ADN bicaténaire circulaire qui contiennent des gènes et sont capables de réplication autonome. Ils sont présents chez les bactéries et les archaebactéries ainsi que chez certaines levures telles que *Saccharomyces cerevisiae*. Les plasmides se répliquent indépendamment et plus rapidement que le chromosome bactérien. Ils sont détectés lorsque la bactérie acquiert de nouvelles propriétés grâce aux gènes transportés par ces plasmides. Parfois, ils sont intégrés au chromosome bactérien, ils sont alors appelés **épisomes**. Les plus connus des plasmides sont:

4.4.1 Différents types de plasmides

a. Facteur sexuel ou facteur F ou facteur de fertilité

Le facteur F est un **plasmide conjugatif** assure le transfert de fragment de chromosome bactérien par **conjugaison** (appariement de deux bactéries). Il porte des gènes codant pour les **pilis sexuels (pili F)** qui assurent le transfert d'une copie du plasmide à une autre bactérie. Ces pilis facilitent le contact intercellulaire par la formation d'un **pont de conjugaison**.

b. Plasmides de résistance aux antibiotiques ou facteur R

Le facteur R porte des gènes qui confèrent aux bactéries la **résistance à divers antibiotiques**. Il est formé des **gènes de résistance** qui dirigent la production d'enzyme capables d'**inactiver** certains antibiotiques ou substances toxiques. Au contraire à la résistance conférée par une mutation chromosomique, la résistance conférée par un plasmide peut concerner des antibiotiques appartenant à plusieurs familles si le plasmide porte plusieurs gènes de résistance. La résistance codée par les gènes plasmidiques est souvent liée à la production d'enzymes qui inactivent les antibiotiques par exemple des plasmides de résistance fréquent chez les staphylocoques portent un gène qui code pour la pénicillinase, inactive la pénicilline G et les pénicillines du groupe A ce qui rend la bactérie résistante à ces pénicillines.

c. Autres plasmides

Bien que les plasmides ne soient pas indispensables, les gènes qui les portent peuvent jouer un rôle crucial dans la survie et la croissance bactérienne dans certaines conditions. C'est le cas des **plasmides métaboliques** qui portent des gènes qui codent pour des enzymes qui déclenchent le catabolisme de substance spécifiques telles que des sucres et des hydrocarbures inhabituels (toluène, camphre hydrocarbure pétrolier.... Ainsi, d'autres plasmides dirigent la synthèse de protéines qui augmentent le pouvoir pathogène des bactéries, ce sont **des facteurs de pathogénicité**. D'autres plasmides contiennent des gènes pour la synthèse de **bactériocines**, qui sont des protéines toxiques synthétisée par des bactéries et qui tuent d'autres bactéries. D'autres plasmides sont responsables de la **virulence** bactérienne (production de toxines).

4.4.2 Réplication

La réplication plasmidique est similaire à celle de l'ADN génomique de la cellule hôte. Elle est réalisée par la même machinerie enzymatique (ADN-polymérase...) de la cellule bactérienne de façon bidirectionnelle à partir d'un site appelé site d'origine. La réplication des plasmides de grandes tailles est synchrone de celle du chromosome. Alors que la réplication des petits plasmides est sans synchronisation avec la multiplication de l'ADN génomique.

4.4.3 Propriétés

✓ Transfert des plasmides

Les **transferts des plasmides** sont l'élément principal de leur **dissémination**. Les transferts des plasmides ne se font pas au hasard:

Les plasmides sont **transmis verticalement** aux cellules filles au nombre égal durant la division cellulaire. Ils sont également **transmis horizontalement** d'une cellule à une autre cellule présente dans le même milieu et appartiennent ou non à la même espèce. Ce type de transfert se fait selon deux mécanismes: la **conjugaison** ou la **mobilisation**.

▪ Conjugaison

Dans le phénomène de la **conjugaison**, deux cellules bactériennes de **sexes opposés** sont en contact direct. Le sexe est défini par une **cellule donneuse(+)** qui possède le plasmide et une **cellule receveuse (-)** qui en est dépourvu. Au cours de la conjugaison, le plasmide se réplique en même temps qu'une copie monocaténaire de son ADN est transférée à la cellule receveuse, où le brin complémentaire est synthétisé. Le processus de conjugaison est décrit tel qu'il se déroule chez *E.coli*, où le plus simple et le mieux connu des **plasmides conjuguant** est le **facteur F**. En effet, les bactéries **donatrices** ayant des facteurs F (**Cellules F⁺**) transfèrent les plasmides à des cellules **receveuses** (**Cellule F⁻**) qui deviennent alors F⁺. Le transfert de plasmides est assuré par la présence des **pilis sexuels** qui sont des prolongements de la surface de la cellule donneuse, qui établissent un **pont de conjugaison** avec la cellule receveuse et contribuent à mettre les deux bactéries en contact direct (Figure 28).

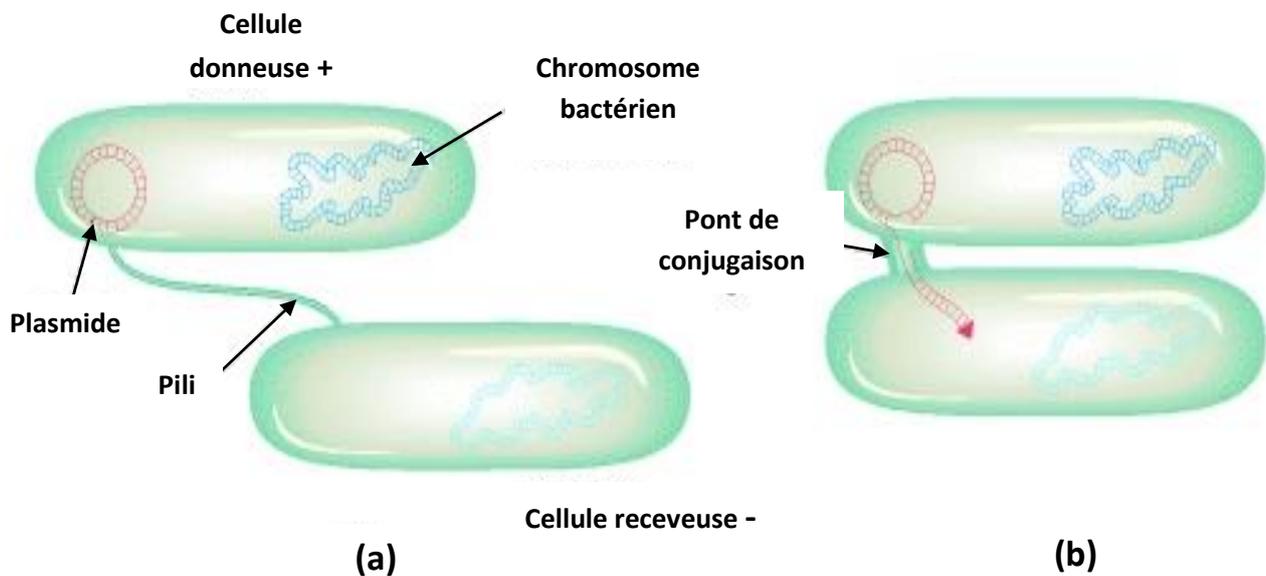


Figure 28 : Représentation schématique du transfert de plasmides par conjugaison.

▪ Mobilisation

D'autres types de plasmides **sont non conjuguants**. Ils sont incapables d'assurer seuls leurs transferts qui ne peuvent se faire que par la **mobilisation** d'un plasmide conjuguant, cohabitant dans la même cellule. La mobilisation implique l'**intégration**. Cette dernière est une insertion par liaison covalent du plasmide non conjuguant au plasmide conjuguant, donnant ainsi un **ADN plasmidique hybride** capable de conjugaison. Certains cas de mobilisation se font sans intégration où la liaison entre les deux types de plasmides est alors transitoire.

✓ Groupe d'incompatibilité

Des classifications de plasmides par classes d'**incompatibilité** sont établies. L'incompatibilité signifie que deux plasmides s'excluent mutuellement, c'est à dire ne peuvent **coexister** dans la même bactérie. Chaque plasmide appartient alors à un **groupe d'incompatibilité**.

5. Flagelles

Les **flagelles** (fouet), sont de minces longs appendices filamenteux qui permettent aux bactéries de se déplacer (**locomotion**). Les **flagelles** sont longs d'une dizaine de μm et ont un diamètre qui varie entre 12 à 30 nm. Ils sont composés de protéines appelées **flagellines**. Leur nombre varie de 1 à 50 selon les espèces bactériennes. Ils sont souvent rencontrés chez les bacilles et rarement chez les coques. Chez les entérobactéries ils permettent une vitesse de déplacement de 10 à 20 micromètres par seconde, à l'échelle humaine, cette vitesse correspond à environ une soixantaine (60) de km/h. La mise en évidence des flagelles est faite directement à l'état frais (bactéries mobiles) ou par coloration spécifiques (LEIFSON, RHODES).

5.1 Structure

Les flagelles sont attachés dans le cytoplasme bactérien par une structure complexe. Ils sont constitués de trois parties: un **filament** hélicoïdal, un **crochet** (hook) et un **corpuscule (corps ou granule) basal** avec deux ou quatre disques (anneaux) (Figure 29).

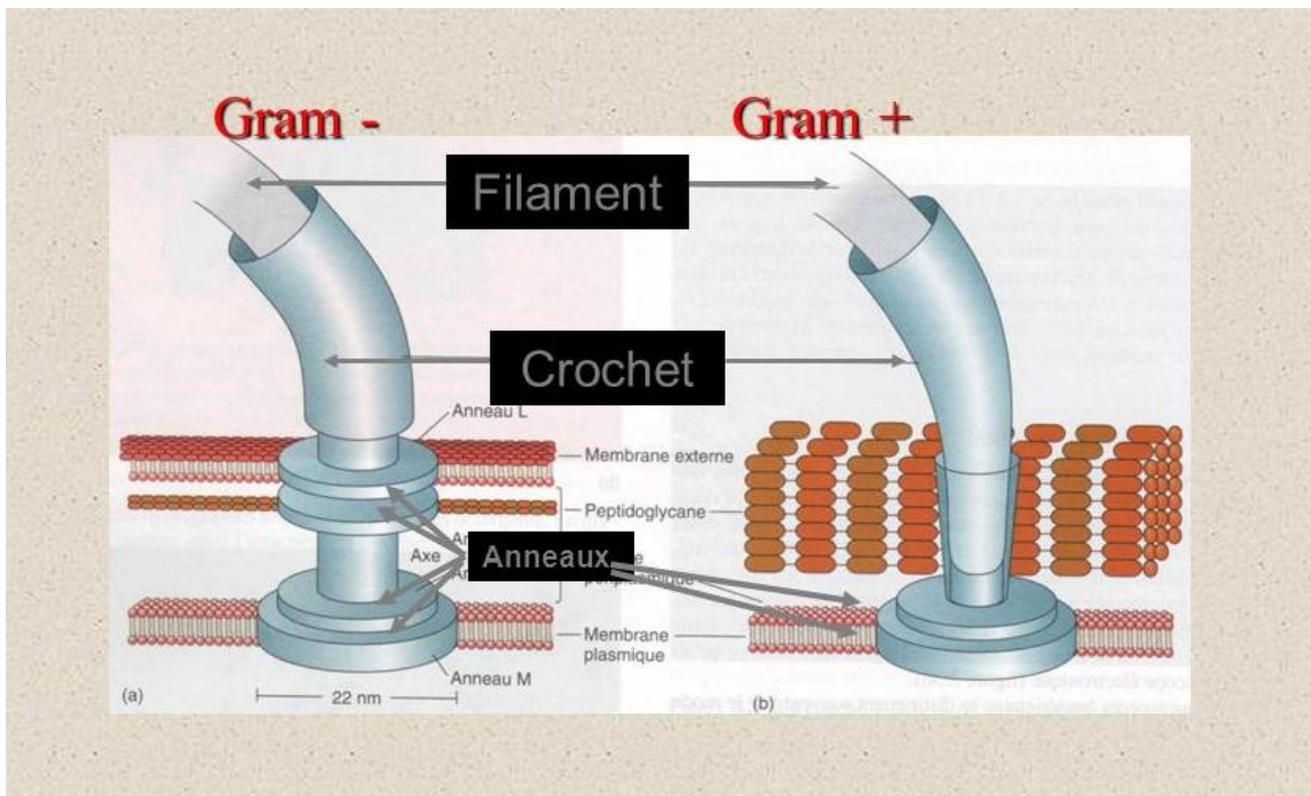


Figure 29 : Structure et insertion des flagelles chez les bactéries à Gram négatif et les bactéries à Gram positif.

5.1.1 Filament

C'est la **partie visible** du flagelle, qui s'étend à partir de la surface bactérienne. Le filament est un long segment de diamètre constant en forme de cylindre creux. Il est composé de **flagelline** (protéine globulaire plus ou moins sphérique). Cette protéine est assemblée en plusieurs chaînes forment une hélice autour d'un centre vide d'où la forme d'un cylindre creux **hélicoïdal**.

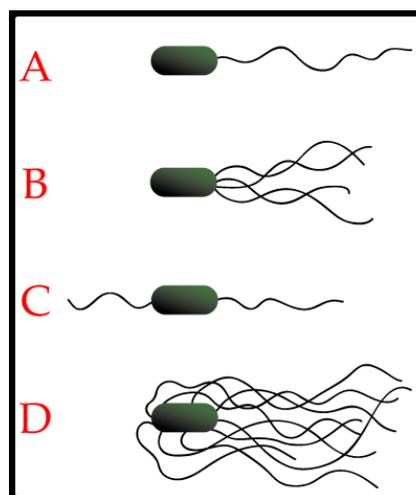
5.1.2 Crochet

C'est la deuxième partie du flagelle sur laquelle est fixé le **filament hélicoïdal**. Le crochet est en structure un peu plus large que le filament, il est constitué d'une autre protéine.

5.1.3 Corpuscule basal

C'est la partie qui **ancrer** (fixe) la structure dans la paroi cellulaire et la membrane cytoplasmique. C'est un système de fixation du flagelle composé d'une petite tige centrale insérée dans une **série d'anneaux**. Chez les bactéries à Gram négatif, le flagelle contient **deux paires** d'anneaux: la **paire externe** est ancrée à différentes parties de la paroi cellulaire et la **paire interne** est ancrée à la membrane cytoplasmique. Tandis que chez les bactéries à Gram positif, une **seule paire interne** qui fixe l'anneau à la membrane cytoplasmique.

Il y a quatre types d'arrangement des flagelles bactériens (Figure 30). Selon la disposition des flagelles, on distingue les bactéries **monotriches** (un seul flagelle polaire), les bactéries **amphitriche** (un ou plusieurs flagelles aux deux extrémités de la cellule), **lophotriches** (une touffe de flagelles à une extrémité de la cellule) ou **péritriches** (flagelles répartis sur toute la surface de la bactérie). Les **spirochètes** (*Treponema pallidum*, *Borrelia burgdorferi* : bactéries pathogènes) possèdent un **flagelle interne** appelé **filament axial (filaments axiaux)** ou **endoflagelles**. Ces derniers sont des faisceaux de fibrilles qui prennent naissance aux extrémités des bactéries sous une gaine externe et qui forment une spirale autour du corps de la cellule. Le type de mouvement de ce type de flagelle est semblable à celui de tire-bouchon dans le liège. Ce sont des **contractions** qui déforment alternativement la cellule qui est **flexible**. Ces déformations cellulaires alternées engendrent la **mobilité bactérienne par glissement**, qui permet à ce type de bactéries de se déplacer efficacement dans le milieu, ce qui contribue à la virulence du microbe.



A: Monotriche B: Lophotriche C: Amphitriche D: Péritriche

Figure 30 : Représentation schématique des différents types de répartitions des flagelles.

5.2 Fonctions

Les cellules bactériennes munies de flagelles sont **mobiles**, elles sont alors en mesure de se déplacer seules. 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. Sa **rotation** s'effectue autour de son grand axe dans le sens des aiguilles d'une montre ou dans le sens inverse. En tournant, les flagelles s'assemblent en un faisceau qui **pousse contre le liquide environnant et propulse** la bactérie. Les principes mécaniques et chimiques dont dépend le fonctionnement de ce petit moteur biologique reposent sur la production continue d'énergie. Les flagelles jouent aussi un rôle **antigénique**, utilisé pour l'identification de certaines espèces bactériennes pathogènes (sérodiagnostic).

➤ Contrôle de mobilité

L'avantage de la mobilité est de permettre à la bactérie de se diriger vers un environnement favorable ou de fuir de mauvaises conditions. Cependant divers facteurs physiques ou chimiques du milieu sont capables de stimuler ou d'inhiber la mobilité bactérienne. Les facteurs les plus connus sont le **chimiotactisme** et le **phototactisme**. Le **tactisme** est la réaction de la bactérie qui la pousse à se rapprocher ou à s'éloigner d'un **stimulus** particulier. Ainsi, les bactéries mobiles possèdent des **récepteurs** (dans la paroi) qui captent les stimuli chimiques et lumineux. L'information communiquée par ces récepteurs est transmise aux flagelles.

✓ 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

Ce phénomène permet à certaines bactéries **phototrophes (photosynthétiques)** de se positionner sélectivement dans les régions les plus illuminées pour optimiser leur photosynthèse.

6. PILI

Chez les bactéries à **Gram négatif** (exceptionnellement à Gram positif) peuvent exister des structures fibrillaire et rigide situées à la surface, plus fines que les flagelles appelés **pili**. Les **pili** (singulier: **pilus, poil**) sont des structures de surface composés de protéines assemblées en filaments connue sous le nom de **pilines**. Il s'agit de la polymérisation d'une sous-unité polypeptidique (**piline**) assemblée à des polypeptides mineurs comme l'**adhésine**. Il existe deux types de pili :

6.1 Pili communs ou fimbriaes

Ils sont courts et servent à l'**adhésion** et l'**attachement** des bactéries aux surfaces des cellules eucaryotes qu'elles colonisent accomplissant ainsi la première étape de l'infection. Ainsi, ils servent aux **déplacements** (mobilité) en milieux semi-solide. Les pili communs recouvrent toute la surface de la bactérie.

6.2 Pili sexuels

Les **pili sexuels** sont beaucoup plus longs, bien que composés aussi de **pilines**, il n'y en a généralement qu'un par cellule. Ils sont codés par des gènes présents sur certains plasmides, les **plasmides conjugatifs** (mécanisme de **conjugaison**). Les **pili sexuels** sont produits par les bactéries

porteuses de ces plasmides (**bactérie donneuse**) et servent à entrer en contact avec d'autres bactéries (**bactérie receveuse**), deux bactéries reliées par le pili. Lorsque le contact est établi, les pili sexuels servent de **pont** pour le transfert d'une copie du plasmide conjugatif vers la bactérie receveuse. Il s'agit de **transfert horizontal** de gènes.

6.3 Pili de transformation

Ils sont encore mal connus, ils servent à capter de l'ADN libre à l'extérieur de la cellule, afin de réparer le chromosome bactérien ou d'acquérir de nouveaux gènes selon le mécanisme **transformation naturelle**.

7. Spores

Dans un milieu aux conditions nutritionnelles et physico-chimiques **optimales**, les bactéries se multiplient en un cycle de **reproduction exponentielle**. Lorsque les nutriments essentiels viennent à manquer, la croissance des bactéries est **arrêtée** et elles peuvent survivre dans un tel milieu pendant un temps plus ou moins long, selon les espèces, puis meurent et seront lysées. Mais, certaines **bactéries à Gram positif** dont principalement les deux genres *Bacillus* et *Clostridium*, ne meurent pas et constituent des cellules en **état de dormance** appelés **spores (endospore)**.

La **spore** est une **forme de résistance** capable de se maintenir en **état de dormance** dans un milieu **hostile** (chaleur extrême, absence d'eau, agents chimiques, rayonnement...), jusqu'au retour des conditions favorable du milieu. Au retour de ces conditions favorables, les bactéries subissent un nouveau cycle de différenciation qui leur permette de revenir à leur état initial **végétatif**.

La plus remarquable des formes de résistance bactérienne est l'**endospore**, qui est une **spore intracellulaire**.

7.1 Morphologie

Les **endospores** sont des cellules spécifiques aux bactéries, de forme **ovale** ou **ronde**. Elles se positionnent soit au centre, soit à l'un des deux pôles de la cellule. Elles ont une structure cellulaire déshydratée, très dure, munie d'une paroi épaisse et de couches externes supplémentaires. Elles se forment à l'intérieur de la membrane cytoplasmique. L'endospore occupe environ le tiers du volume cellulaire mais concentre la presque totalité de son extrait sec (Figure 31).

Forme	Position	Déformation
 <p>Ovale</p>	 <p>Centrale</p>	 <p>Non déformante</p>
 <p>Sphérique</p>	 <p>Subterminale</p>	 <p>Déformante</p>
	 <p>Terminale</p>	

Figure 31 : Différentes formes et positions de l'endospore.

7.2 Structure

La spore est constituée d'un cytoplasme de texture homogène, pauvre en ARN, en enzymes et en eau, mais contenant une quantité d'ADN proche de celle de la **cellule végétative**. La membrane cytoplasmique, analogue à celle de la cellule végétative, est entourée de la paroi sporale et du **cortex**. Le **cortex** contient la quasi-totalité d'un constituant spécifique des spores appelé : acide **dipicolinique** sous forme de **dipicolinate de calcium**. Appliqué contre le cortex, on trouve la ou les **tuniques** (appelées alors **intine** ou tunique **interne** et **exine** ou tunique **externe**) formées de protéines riches en ponts disulfures puis, éventuellement, l'**exosporium** (Figure 32).

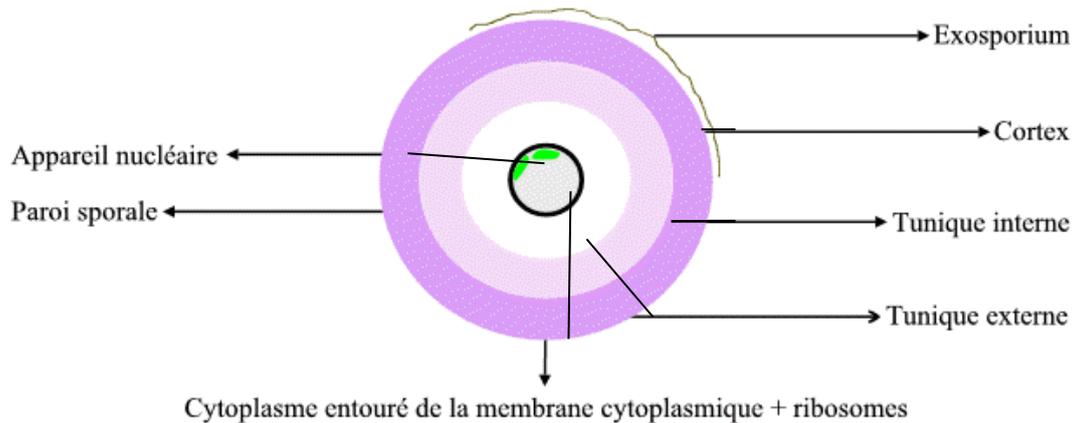


Figure 32 : Représentation schématique de la structure de l'endospore.

7.3 Propriétés

7.3.1 Sporulation

La formation de l'endospore dans une cellule **végétative** (état initial normal dont les fonctions métaboliques sont actives), s'effectue sur plusieurs heures (7h à 10 h). Ce phénomène s'appelle **sporulation** ou **sporogénèse**. La **sporulation** intervient lorsque les conditions deviennent défavorables à la croissance (carence en nutriments, en sels minéraux, manque d'eau...). Cependant, elle se déroule selon les différentes phases suivantes :

- **Stade 1** où l'ADN est répliqué et se condense en formant un **filament axial**.
- **Stade 2** qui se caractérise par la formation d'un **septum transversal** qui individualise deux compartiments de tailles inégales. Le filament axial de l'ADN se fragmente pour donner deux molécules.
- **Stade 3** où la membrane de la grosse cellule englobe la petite cellule qui est finalement endocytée. La petite cellule est appelée alors **présore**, elle est entourée d'une double membrane. L'ensemble est appelé **sporange**.

A ce niveau, le processus de sporulation est devenu irréversible. Les stades 4, 5 et 6 correspondent à la **maturation** de la spore :

-**Stade 4** au cours duquel la cellule mère produit des composants proches du peptidoglycane qui s'accumulent entre les deux membranes pour former le **cortex**. Chez certaines espèces, une autre couche protéique plus externe est synthétisée, c'est l'**exosporium** (structure facultative).

-**Stade 5** durant lequel la formation du cortex et de l'exosporium se poursuit. Ainsi, une accumulation d'acide **dipicolinique** (DPA) et de calcium dans le cytoplasme est également observée. Cette accumulation s'accompagne d'une déshydratation de la spore, et de la production de **SASPs** (Small Acide Soluble spore Proteins).

- **Stade 6** qui est caractérisé par la **maturation** de la spore, qui s'achève par la synthèse de nouvelles enveloppes protéiques: les **tuniques (interne et externe)** et qui s'insèrent entre le cortex et l'exosporium. Les **tuniques** sont composées de protéines riches en cystéines.

- **Stade 7** où la cellule mère (ou sporange) est **lysée** sous l'effet des enzymes lytiques et la **spore mûre** est libérée (Figure 33).

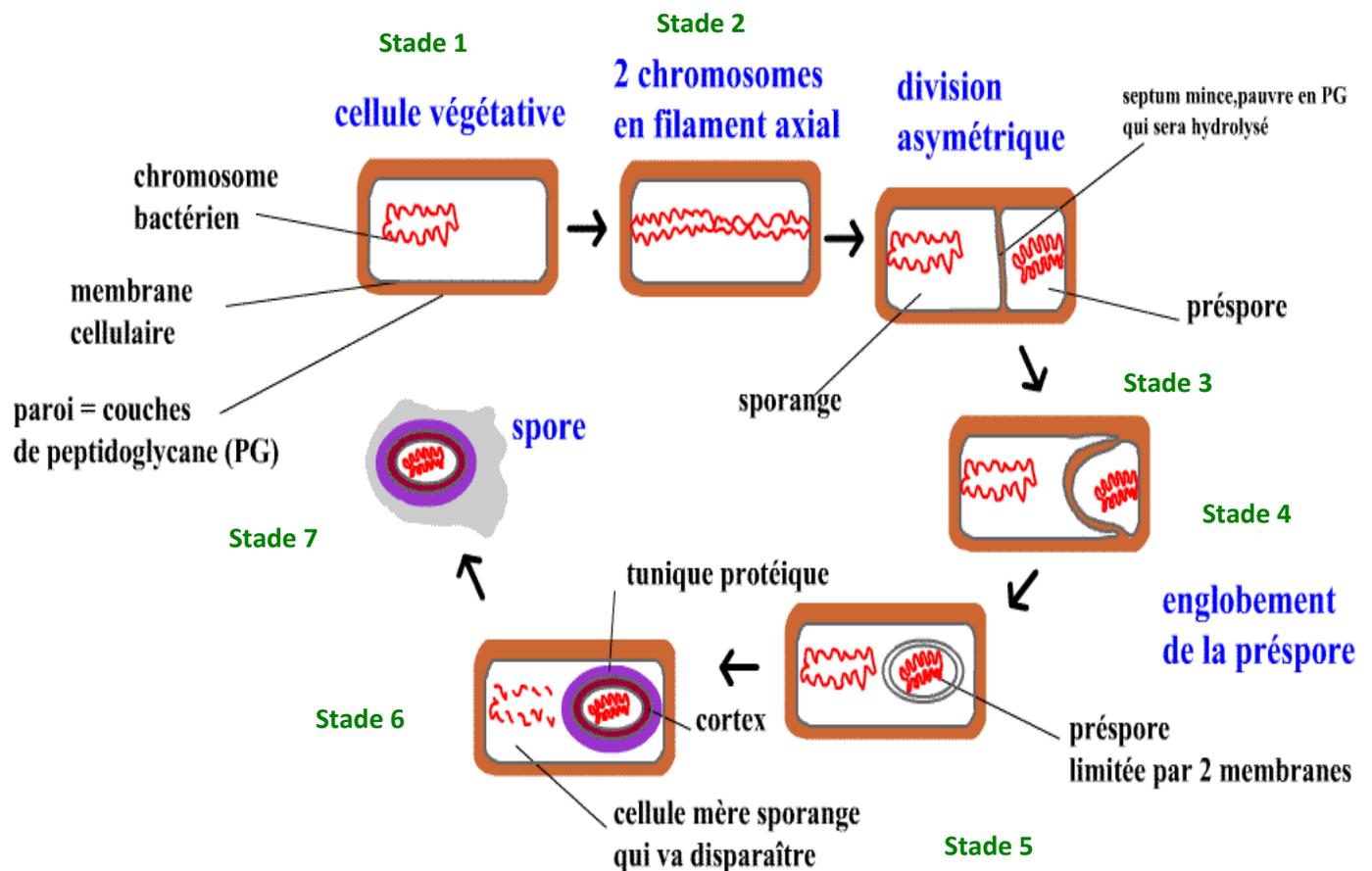


Figure 33 : Les différentes étapes de la sporulation.

7.3.2 Germination

Les endospores peuvent rester en dormance pendant des millénaires. Elles retournent à l'**état végétatif** grâce au processus de la **germination**, qui est déclenché par le retour des conditions environnementales favorables. La **germination** est réalisée selon trois étapes:

a. Activation

L'**activation** est un stade indispensable qui correspond à une **lésion** des enveloppes sporales par des agents **physiques** ou **chimiques**. En l'absence de cette activation, même placée dans un environnement favorable, les spores sont incapables de germer. L'activation peut être provoquée par des **agents mécaniques** (choc, abrasion), des **agents physiques** (choc thermique) ou **chimiques** (lysozyme, acides...).

b. Initiation

L'**initiation** débute en présence de conditions favorables d'hydratation et en présence de **métabolites effecteurs** (alanine, adénosine, magnésium, ...) qui pénètrent à travers les enveloppes endommagées et déclenchent un processus **autolytique**. Des **enzymes hydrolytiques** de l'endospore, qui se mettent à dégrader les couches protectrices qui l'enveloppent. Ainsi, ils dégradent de nombreux constituants de la spore, notamment le cortex qui libère le dipicolinate de calcium. Après l'élimination de la barrière corticale, l'eau y pénètre, la spore se gonfle et perd ses propriétés de résistance.

c. Excroissance

La cellule végétative bactérienne, avec ses caractéristiques morphologique et physiologique initiale, émerge des enveloppes sporales : c'est l'**excroissance**. Dans cette phase, la cellule bactérienne est dotée de toutes ses aptitudes originales et peut alors s'engager dans un processus de croissance (Figure 34).

La germination peut être inhibée par divers agents physiques ou chimiques. Ainsi, la germination des spores de *Clostridium botulinum* est inhibée par le froid, les pH inférieurs à 4,5, des concentrations supérieures en nitrites et en chlorure de sodium.

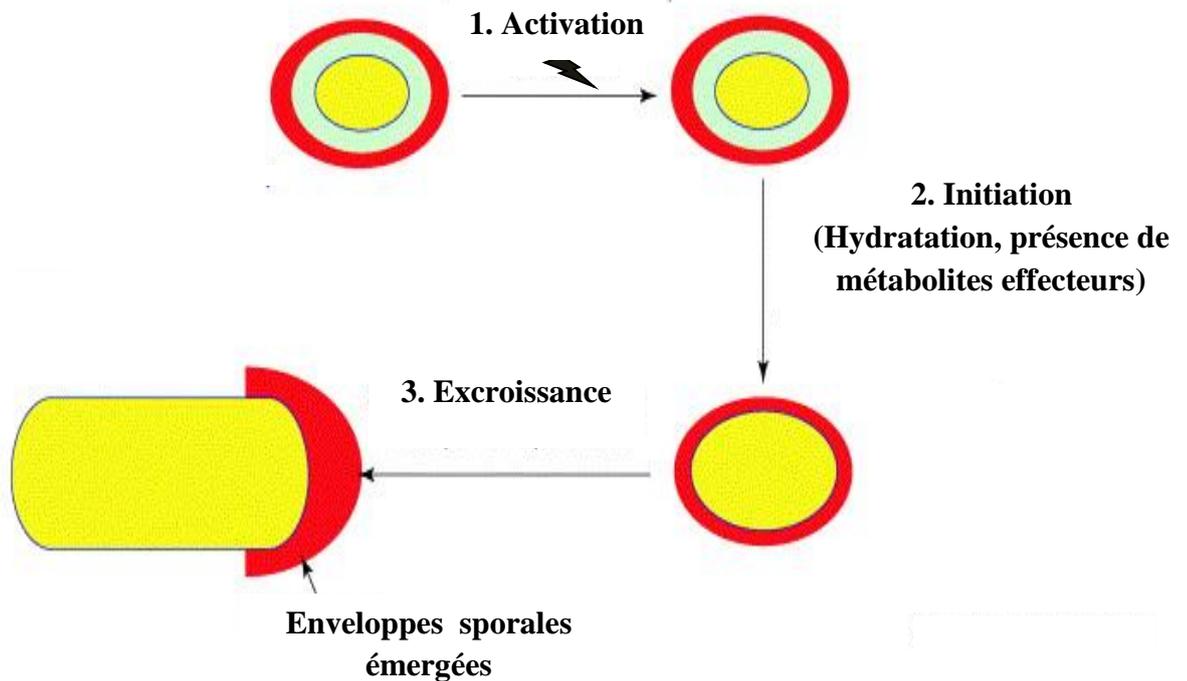


Figure 34 : Les différentes étapes de germination de la spore.

✓ Autres propriétés

Les spores ne manifestent aucune activité métabolique décelable et présentent une **résistance** très élevée à la **chaleur**. Elles sont **thermo résistantes** et peuvent résister plus de 10 minutes à 80°C, alors que les cellules végétatives sont détruites. Cependant, plusieurs paramètres semblent importants pour la **thermorésistance** des spores, comme la déshydratation où les spores ne contiennent que 10 à 15 % d'eau, contre 80% pour les cellules végétatives. Ainsi, l'épaisseur des enveloppes, qui empêche la réhydratation et l'accumulation d'acide dipicolinique (DPA) stabilisé par le calcium.

Les spores sont également résistantes à divers **agents physiques** (radiations, pressions) et **chimiques** (antiseptiques et désinfectants) et elles sont totalement résistantes aux antibiotiques.

Les spores sont aussi, douées d'une **longévité**. La longévité est difficile à apprécier mais elle pourrait atteindre plusieurs milliers d'années pour certaines espèces de *Bacillus*.