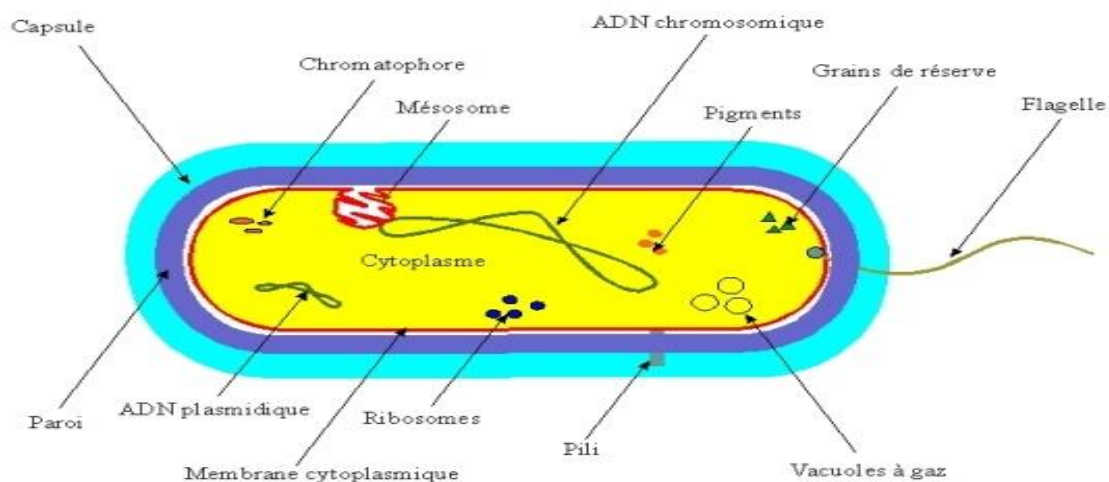


II. 3. Structure de la cellule bactérienne

Les coupes ultrafines ont permis de découvrir la structure fine des bactéries. La cellule apparaît entourée d'une enveloppe rigide, la paroi qui lui donne sa forme, sa résistance et qui entoure une seconde enveloppe beaucoup plus mince, la membrane cytoplasmique, le cytoplasme sous-jacent, en général très homogène contient essentiellement des granulations d'acide ribonucléique, les ribosomes.

Dans le cytoplasme, l'appareil nucléaire se distingue par son aspect fibrillaire, finement réticulé. Il n'est pas entouré d'une membrane. La capsule, enveloppe externe, les flagelles de nature protéique, qui confèrent à la bactérie sa mobilité, en fin les pilis ou fimbriae plus fins que les flagelles, rigides et cassants, certains appelés pilis sexuels joueraient un rôle au cours de la conjugaison bactérienne.

cellule bactérienne



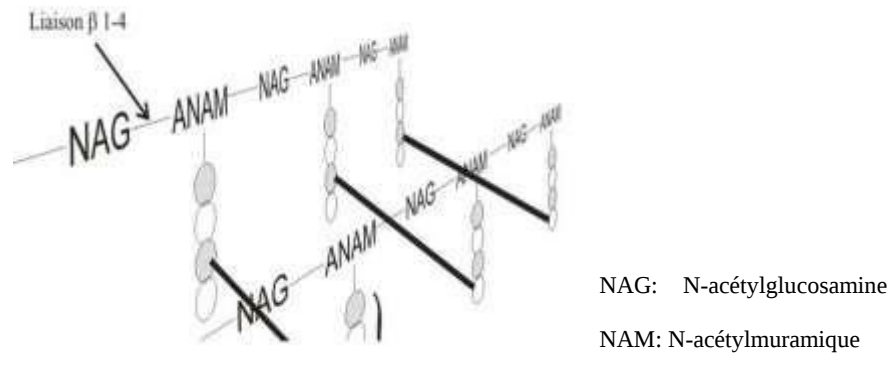
Structure de la cellule bactérienne

3.1. La paroi

La paroi représente 15 à 30% du poids sec bactérien. Elle a un rôle protecteur et donne la forme à la bactérie. La résistance de la paroi permet à la bactérie d'avoir à l'intérieur une pression osmotique supérieure à celle du milieu extérieur. La solidité de paroi est due à sa structure chimique.

3.1.1. Composition chimique de la paroi

- **Constituant de base:** l'élément de base de la paroi est une substance appelée muco-complexe ou muréine peptidoglycane. Cette substance est constituée par des chaînes de sucres aminés: le N-acetylglucosamine et l'acide N-acetylmuramique. Ce dernier composé est parfois associé à de courtes chaînes peptidiques (oligopeptides) constituées de 4 acides aminés: 2 alanines (L et D), l'acide glutamique et soit la lysine, soit l'acide diaminopimélique (DAP). Ces constituants de base sont présents chez toutes les bactéries mais la paroi peut contenir d'autres composants variables suivant les espèces (glucose, galactose, rhamnose, arabinose, xylose, autres acides aminés, quelques peptides, quelques lipides)



Structure de la muréine dans la paroi bactérienne.

3.1.2 - Structure des bactéries à Gram⁺ et à Gram⁻

Bien avant que la structure du mucocomplexe ne soit mise en évidence, un médecin Danois, Gram, mis au point en 1884 une méthode de coloration des bactéries. Il a réussi à constater que les bactéries pouvaient être divisées en 2 grands groupes:

- Les bactéries à Gram⁺ qui prennent cette coloration.
- Les bactéries à Gram⁻ qui ne prennent pas cette coloration.

- Coloration Gram

Cette coloration consiste à réaliser d'abord un frottis bactérien sur lame. Les bactéries sont ensuite fixées à la chaleur puis colorées. Le cytoplasme est le siège de cette coloration qui se fait en 4 temps:

1^{er} temps: coloration au violet de gentiane: c'est le colorant primaire. Toutes les cellules qu'elles soient à Gram⁺ ou à Gram⁻ seront colorées en violet;

2^{ème} temps: action du lugol qui est une solution iodo-iodurée. Il pénètre à l'intérieur de toutes les cellules et au contact du violet de gentiane, il y aura formation d'un complexe stable;

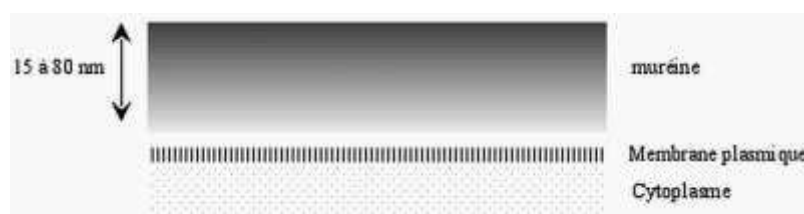
3^{ème} temps: l'alcool éthylique à 96% qui est nommé agent décolorant. La paroi de bactéries à Gram⁺ est imperméable à l'alcool éthylique;

4^{ème} temps: colorant de contraste qui est la fuschine phéniquée de Ziehl ou la safranine.

La coloration de Gram se traduit donc par une différence de structure partielle entre la bactérie dite à Gram⁺ et la bactérie dite à Gram⁻.

- Structure de la paroi de la bactérie Gram⁺

La paroi est épaisse (épaisseur allant de 15 à 80 nm) et imperméable à l'éthanol. Elle offre un aspect homogène au microscope électronique. Elle est composée de mureine et d'acides teichoïques qui sont des polysaccharides phosphatés. La mureine et les acides teichoïques sont intimement liés et forment une structure dense et homogène.

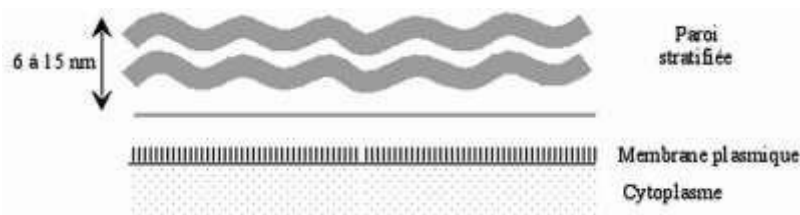


Paroi des bactéries à Gram positif.

- Structure de la paroi des bactéries à Gram-

La paroi est plus fine, (10 à 15 nm d'épaisseur) et elle présente une structure stratifiée plus ou moins complexe. Elle est caractérisée par une enveloppe externe souple, constituée de l'extérieur vers l'intérieur d'une couche de lipoprotéines et d'une couche de lipopolysaccharides. En dessous, il se trouve une fine couche rigide constituée de mureine (même composition que les bactéries à Gram+, sauf les acides teichoïques qui sont absents).

L'association de ces couches varie suivant les groupes bactériens. Chez la plupart des bactéries à Gram-, il y a association intime entre l'enveloppe externe et la couche de mureine. Dans certains groupes, la couche externe peut être ondulée et présente peu ou pas de contact avec la mureine. Cette dernière peut être collée avec la membrane cytoplasmique ou séparée par un espace périplasmique (Fig. 03).



Paroi des bactéries à Gram négatif.

3.1.3. Rôle de la paroi

Elle se caractérise par sa rigidité et confère à la bactérie sa forme caractéristique. Elle a un rôle protecteur. De plus, sa résistance permet à la cellule d'avoir une pression osmotique largement supérieure à celle du milieu extérieur. Elle a également un rôle dans la détermination de la structure antigénique. Chez les bactéries à Gram+, ce sont les structures polysidiques de la mureine et les acides teichoïques qui sont responsables de la spécificité antigénique. Chez les bactéries à Gram-, la paroi contient les antigènes somatiques (AgO) qui sont les polysaccharides de l'enveloppe externe. Une même espèce bactérienne peut avoir plusieurs AgO différents suivants les souches.

3.2. La membrane cytoplasmique

La membrane cytoplasmique a une épaisseur d'environ 8 nm. Au microscope électronique, elle présente un feuillet interne transparent aux électrons, de nature lipidique, compris entre 2 feuillets denses, opaques aux électrons et de nature protéique. La membrane cytoplasmique est constituée de 60 à 70% de protéines et de 30 à 40% de phospholipides additionnés parfois de composants mineurs tel que le glucose ou glucosamine. Il n'y a aucune trace de stérols: composé qui doit être exclusivement présent au niveau du système membranaire des cellules eucaryotes.

Dans certains cas, la membrane cytoplasmique peut s'invaginer du côté du cytoplasme et donner des structures particulières: les mésosomes.

Les mésosomes sont des structures membranaires, intra-cytoplasmiques observés surtout chez les bactéries à Gram+. Chez les bactéries à Gram-, ils sont peu développés. Ils se situent souvent au voisinage du noyau ou près de l'étranglement de la bactérie au moment de la division cellulaire.

- Rôle de la membrane cytoplasmique

La membrane cytoplasmique a un rôle dans:

- **Transfert des substances:** elle joue le rôle de barrière en empêchant la fuite des substances ou composés intra-cytoplasmiques d'une part, et la pénétration anarchique de constituants extracellulaires d'autre part. Elle est dite semi-perméable ou sélective.
- **La respiration:** la membrane cytoplasmique représente l'équivalent structural et fonctionnel des mitochondries des cellules eucaryotes. Elle est le siège des enzymes respiratoires et de la production d'énergie stockée sous forme d'ATP.

3.3. Le cytoplasme

C'est un hydrogel colloïdal de pH compris entre 7 et 7,2. Il contient une phase dispersante constituée par une solution de sels minéraux et de composés solubles de nature protéique, et d'une phase dispersée formée de nucléoprotéines et de lipides. Les principaux éléments constitutifs sont les ribosomes, les acides ribonucléiques et les substances de réserves.

3.3.1. ARN et ribosomes

L'ARN est présent sous ses trois formes (ARN messenger, ARN de transfert, ARN ribosomal). Les ribosomes sont très nombreux dans le cytoplasme. Ils sont sphériques de 10 à 30 nm de diamètre et ils sont caractérisés par leur constante de sédimentation qui est dans le cas des cellules procaryotes de 70S (Svedberg). Les ribosomes contiennent 63% d'ARN et 27% de protéines. L'ARN ribosomal représente 80% à 90% de l'ARN total contenu dans la cellule bactérienne. Le reste est représenté par l'ARN messenger et l'ARN de transfert.

4 - Les éléments facultatifs des bactéries

4.1. La capsule

La capsule ne joue pas un rôle vital, une bactérie dépourvue de capsule peut croître et se multiplier. L'élaboration des substances capsulaires peut être favorisée par le milieu, parfois exige des précurseurs biochimiques (exemple : saccharose). Elle joue un rôle dans le pouvoir pathogène. De nombreuses bactéries élaborent des substances organiques visqueuses qui entourent leur paroi d'une couche plus ou moins compacte. Lorsque cette couche présente une surface externe libre nettement définie, elle est appelée capsule.

Rôle protecteur: la capsule protège les bactéries contre de nombreux prédateurs tels que les protozoaires. Dans l'organisme, la capsule des bactéries pathogènes empêche les globules blancs de les phagocyter. De plus, les bactériophages sont incapables de se fixer et de pénétrer chez les bactéries encapsulées. Les bactéries encapsulées résistent à l'attaque de certains agents physico-chimiques nocifs. La capsule protège la bactérie contre la dessiccation.

5 - Les flagelles

Les flagelles sont des organites locomoteurs responsables de la mobilité des bactéries.

- Mise en évidence de la mobilité

On distingue deux méthodes pour mettre en évidence la mobilité bactérienne.

- **1^{ère} méthode:** observation au microscope optique des bactéries à l'état frais, entre lame et lamelle, dans une goutte d'eau. Les mouvements des bactéries doivent être distingués des mouvements browniens. C'est la méthode directe.
- **2^{ème} Méthode:** méthode indirecte. Elle consiste à ensemencer la bactérie sur milieu semi-solide (milieu mannitol-mobilité par exemple) et lecture des résultats après la croissance.

- Mise en évidence des flagelles

Les flagelles ne se colorent pas par les méthodes habituelles. On utilise une solution d'AgNO₃ ammoniacal qui se dépose autour des flagelles et les rend visible au microscope optique. Mais la meilleure méthode c'est l'étude au microscope électronique.

- Disposition des flagelles

On distingue 2 types de disposition:

• Type polaire:

- Un flagelle à un pôle de la bactérie, bactérie monotriche,
- Un flagelle au niveau de chaque pôle, bactérie amphitriche,
- Une touffe à 1 ou 2 pôles, bactérie lophotriche.



Ciliature polaire monotriche
Ex: *Pseudomonas aeruginosa*



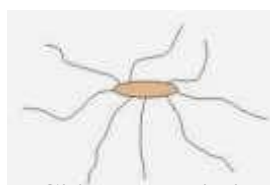
Ciliature polaire multitriche
Ex: *Pseudomonas fluorescens*



Ciliature lophotriche
Ex: *Plesiomonas, Helicobacter*

Ciliatures de type polaire.

- **Type péritriche:** La bactérie est dite péritriche lorsqu'elle porte de nombreux flagelles insérés sur tout le pourtour de la bactérie.



Ciliature péritriche
Ex: *Entérobactérie mobile*

Ciliature de type apolaire.

- Structure et composition chimique

Les flagelles apparaissent sous formes d'organites simples, filamenteux, sinueux, généralement plus long que la bactérie elle-même (longueur de 6 à 20 microns et diamètre: 0,01 à 0,03 microns). Ils sont caractérisés par leur forme, c'est-à-dire leur longueur d'onde et leur amplitude qui peuvent varier d'une espèce à une autre.

L'analyse chimique montre que les flagelles sont constitués par une protéine: flageline (PM = 30 à 40 000), de nature fibreuse.

Le flagelle se forme par la partie distale grâce à certains éléments du milieu extérieur (plus particulièrement des acides aminés).

- Rôle des flagelles

Ils ont essentiellement deux rôles:

- **Rôle dans la mobilité:** le mécanisme du mouvement bactérien est encore mal connu jusqu'à l'heure actuelle. Certaines expériences ont montré l'intervention de l'ATP chez certains groupes bactériens.
- **Rôle antigène:** la spécificité des antigènes flagellaires (AgH) repose sur le nombre et la séquence des acides aminés dans la molécule protéique.

6. Les pili (ou fimbriae)

Les pili sont des appendices filiformes, rigides, creux à l'intérieur (canal central). Ils peuvent servir à la conjugaison bactérienne et non pas à la locomotion. On distingue 2 types de pili:

- Pili communs (I)

Le nombre varie entre 100 et 200 par cellule. Leur longueur varie entre 0,2 et 5 microns et le diamètre entre 30 et 250 Å. Ils ont des propriétés hémagglutinantes (précipitent les hématies). Dans l'organisme, ces pili servent à l'adhésion des bactéries sur certaines muqueuses comme les cellules de la muqueuse intestinale.

- Pili sexuels (F)

Ils sont moins nombreux (de 1 à 4 par cellule). Ils sont beaucoup plus long que les pili communs (jusqu'à 25 microns de long) et leurs extrémités se terminent par un renflement. Ces pili F n'existent que chez les bactéries mâles (donatrices d'ADN). Ils ont un rôle dans la conjugaison bactérienne et ils permettent le transfert (d'une copie) des chromosomes et les plasmides d'une bactérie à une autre grâce au canal central dont le diamètre est légèrement supérieur à celui du filament d'ADN. A l'extrémité renflée de ces pili sexuels peuvent se fixer spécifiquement certains bactériophages qui injectent leur matériel génétique par le canal central des pili.

- Composition chimique

Les pili sont constitués par une protéine appelée piline qui leur confère des propriétés antigéniques.

7. Les spores: elles ne sont pas présentes chez toutes les bactéries. Elles caractérisent surtout 3 genres (*Bacillus*, *Clostridium*, *Sporosarcina*). Elles sont présentes également chez les genres *Sporolactobacillus* (Gram +) et *Desulfatovaculum* (Gram -).

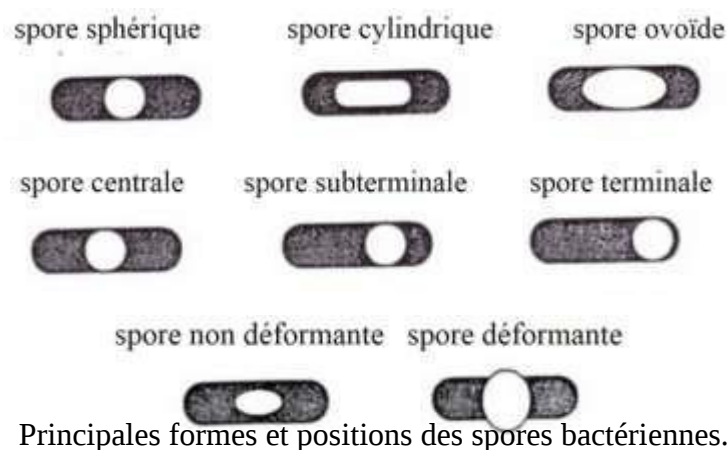
On croyait que chez *Metabacterium* (bactéries considérées comme "géante", pouvant atteindre 5 micron de long), il pouvait exister jusqu'à 8 spores différentes au niveau de la même cellule. En fait, il s'agissait de granules métachromatiques.

7.1 - Morphologie des spores: les spores se forment à l'intérieur de la bactérie (endospores). Elles sont de forme généralement sphérique, ovoïde ou encore allongée. Elles peuvent être déformantes ou non. La position de la spore dans la cellule bactérienne peut être:

Spore centrale: déformantes ou non,

Spore subterminale: déformantes ou non,

Spore terminale: déformante ou non.



Principales formes et positions des spores bactériennes.

La position caractérise les genres ou les espèces. De plus, il est important de préciser que les spores ne se colorent pas avec les colorants habituels.

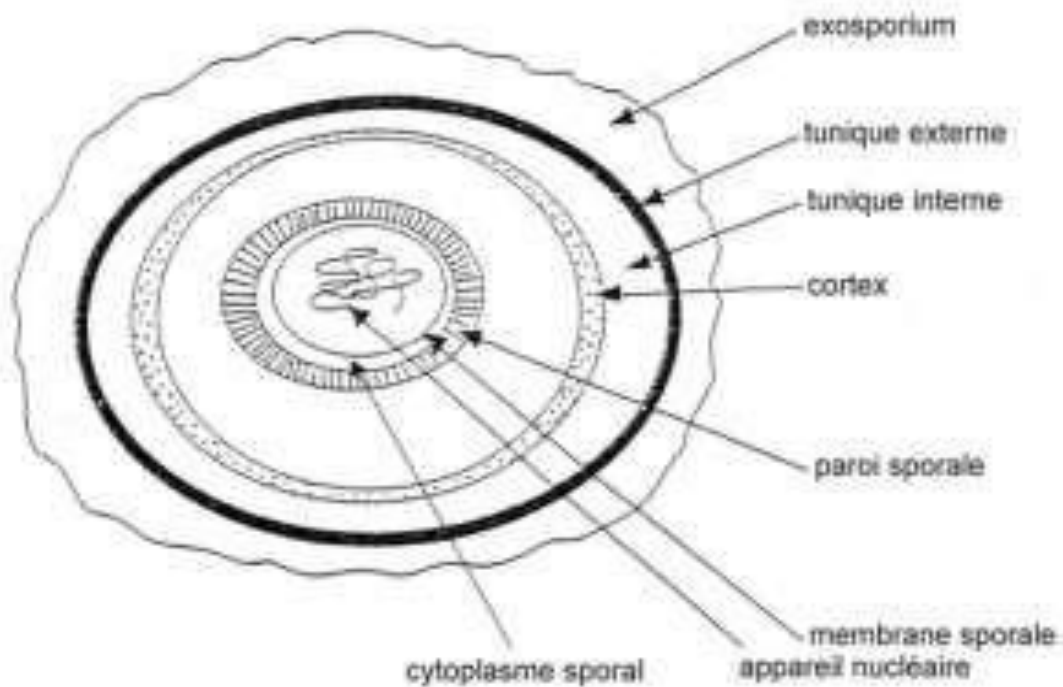
7.2 Structure des spores: une coupe d'une spore observée au microscope électronique montre de l'intérieur vers l'extérieur:

- Une masse cytoplasmique très réduite limitée par une paroi mince (la paroi sporale).
- Un cortex transparent aux électrons.
- Une enveloppe sporale ou tunique sporale divisée en plusieurs couches.
- Parfois une enveloppe externe très mince, exosporium.

7.3. Composition chimique de la spore: les spores se distinguent par leur faible teneur en eau (15 à 20%) alors que les formes végétatives des bactéries contiennent jusqu'à 80 %.

L'exosporium est de nature protéique. L'enveloppe sporale est constituée d'acide N-acétylmuramique plus un hexapeptide combiné à des molécules d'acide téichoïque. Ces constituants sont associés également à des protéines riches en cystéine.

Au niveau du cortex se localise une substance spécifique aux spores: l'acide dipicolinique (acide pyridine 2,6-dicarboxylique ou DAP) qui constitue 10% du poids sec de la spore. Cet acide se présente sous forme de chaînes reliées par des ions calcium (Ca^{2+}) pour donner le dipicolinate de calcium.



Structure d'une spore bactérienne.

De nombreuses expériences ont montré que c'est le DPA- Ca^{2+} qui confère aux spores leur résistance à la chaleur (thermorésistance). En effet, lorsque le calcium est remplacé par le strontium, les spores formées sont thermosensibles bien que leur teneur en DPA et leurs formes soient normales. Si on incube ces spores défectives dans une solution de calcium, celui-ci se substitue partiellement au strontium et on constate un accroissement parallèle de la résistance à la chaleur.

- La paroi sporale, très fine, est de nature mucopéptidique au même titre que la couche muréique des bactéries à Gram⁺, mais sans acides teichoïques.
- La région cytoplasmique a une texture homogène et présente une faible densité aux électrons. Le matériel nucléaire n'est pas très visible même au microscope électronique.

7.4. Mécanismes de la sporulation: la formation des spores est induite dans des conditions défavorables de culture dues à l'épuisement des substances nutritives du milieu dans lequel vivent ces bactéries. Cette sporogénèse nécessite l'accumulation de quelques ions (Mn^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , K^{+}) qui catalysent un certain nombre de synthèses enzymatiques nécessaires à la formation de la spore. Du point de vue génétique, cette sporulation est commandée par des dizaines de gènes répartis au hasard le long du chromosome. Ces gènes, non exprimés dans la période végétative des bactéries, interviennent au cours de la sporulation.

Il existe des mutants sporogènes qui sont bloqués dans la biosynthèse d'un métabolite essentiel constituant la spore. Comme exemple, un mutant-DPA incapable de synthétiser l'acide dipicolinique ne peut pas sporuler à cause du gène responsable qui est devenue non fonctionnel. Par contre, si le DAP est fourni à la bactérie, elle sporule.

- **Etapes de formation de la spore:** La sporulation a lieu après arrêt des divisions cellulaires. Elle se fait en plusieurs étapes:

Etape 1: le matériel nucléaire se dépose en un filament axial tout le long de la bactérie;

Etape 2: le matériel nucléaire se divise en deux parties et apparition d'un fin septum transversal à partir de la membrane cytoplasmique qui partage la cellule en deux parties inégales. La plus petite donnera naissance à la spore;

Etape 3: la synthèse de septum se poursuit et délimite une zone autonome comprenant un noyau, un cytoplasme et une double membrane, l'une cytoplasmique, et l'autre préfigurant la future paroi. C'est la prés-spore.

Etape 4: formation du cortex. A partir de ce stade, la sporulation est irréversible. La formation du DPA débute, ainsi que l'accumulation des ions Ca^{2+} ;

Etape 5: formation des enveloppes sporales. Le cortex devient de plus en plus mûr. C'est à ce stade qu'apparaît la thermorésistance;

Etape 6: la spore, entièrement formée et mûre, est libérée de la cellule bactérienne par des enzymes lytiques.

Ces différentes étapes se succèdent à intervalles d'environ 1 heure. La sporulation dure en moyenne de 6 à 7 heures.

- **Propriétés de la spore:** les spores sont douées de propriétés remarquables de résistance. Ces spores ne sont pas détruites que par un traitement thermique d'au moins 10 min à 120°C en chaleur humide (autoclave). Cette résistance est due surtout au complexe DPA- Ca^{2+} et aussi à l'état déshydraté de la spore. Cet état déshydraté est conservé grâce à l'imperméabilité des enveloppes et plus particulièrement du cortex.

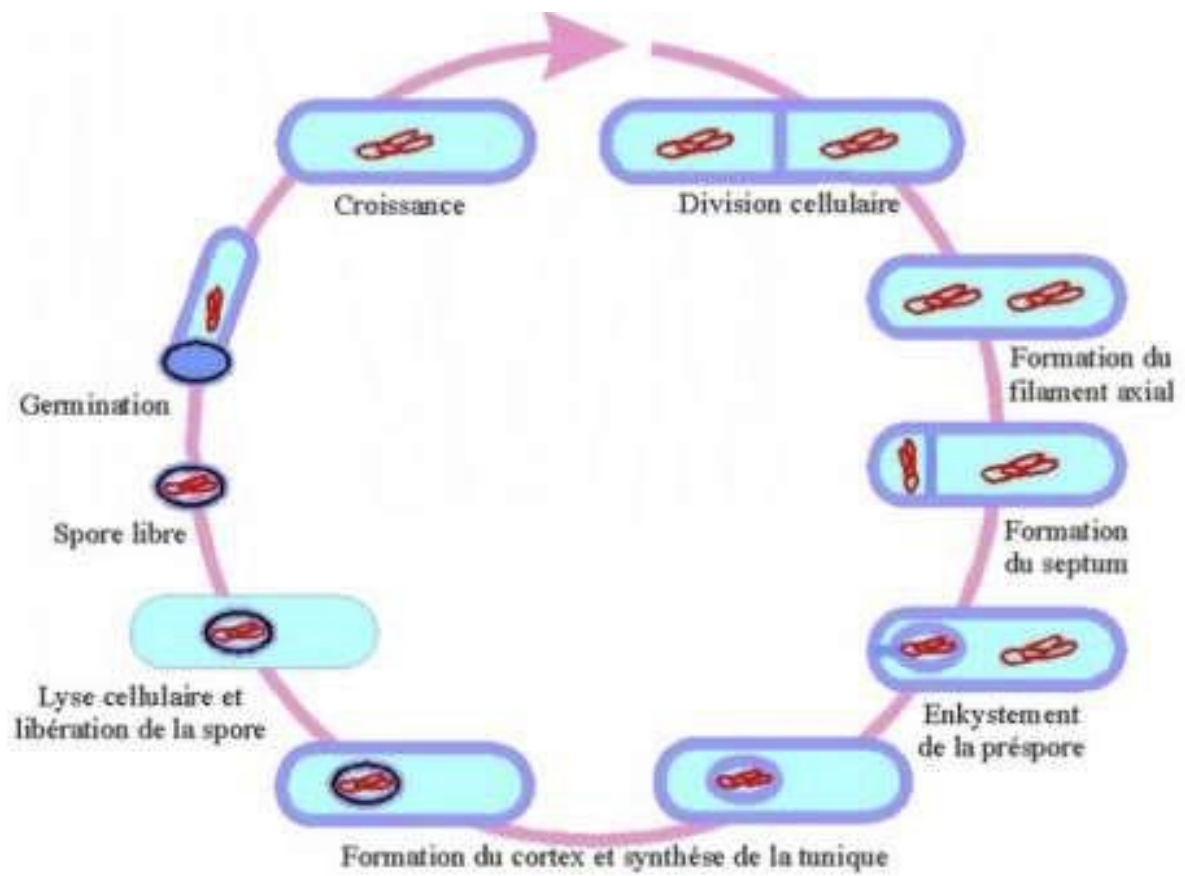
Les spores sont également résistantes à d'autres agents physiques comme les rayons UV, les rayons X et les hautes pressions. Elles sont également moins sensibles aux agents désinfectants que les formes végétatives. Les antibiotiques bactéricides peuvent n'avoir aucune action sur les spores. Ces propriétés de résistances posent des problèmes dans les hôpitaux et les industries agro-alimentaires.

- **Germination des spores:** La germination des spores peut être déclenchée par plusieurs facteurs tels que l'apport des éléments nutritifs, l'âge de la spore et la température. Les spores soumises à des températures comprises entre 58°C et 60°C voient leurs temps de germination se raccourcir. Ce phénomène est mis à profit au cours de la Tyndallisation.

Dans tous les cas, la germination se déroule en 2 phases:

1^{ère} Phase: elle est rapide (quelques minutes) et est caractérisée par des changements physico-chimiques conduisant à la dissolution du complexe DPA- Ca^{2+} et disparition du cortex. La spore perd son imperméabilité et sa thermorésistance. Elle gonfle en absorbant de l'eau.

2^{ème} Phase: elle est plus lente (environ 1 heure). Toutes les enveloppes se déchirent. Cette phase est caractérisée par la synthèse de tout ce qui est nécessaire à la nouvelle cellule végétative. Dès l'apparition des cellules végétatives, les processus de division et de croissance vont réapparaître.



Etapes de formation de la spore bactérienne