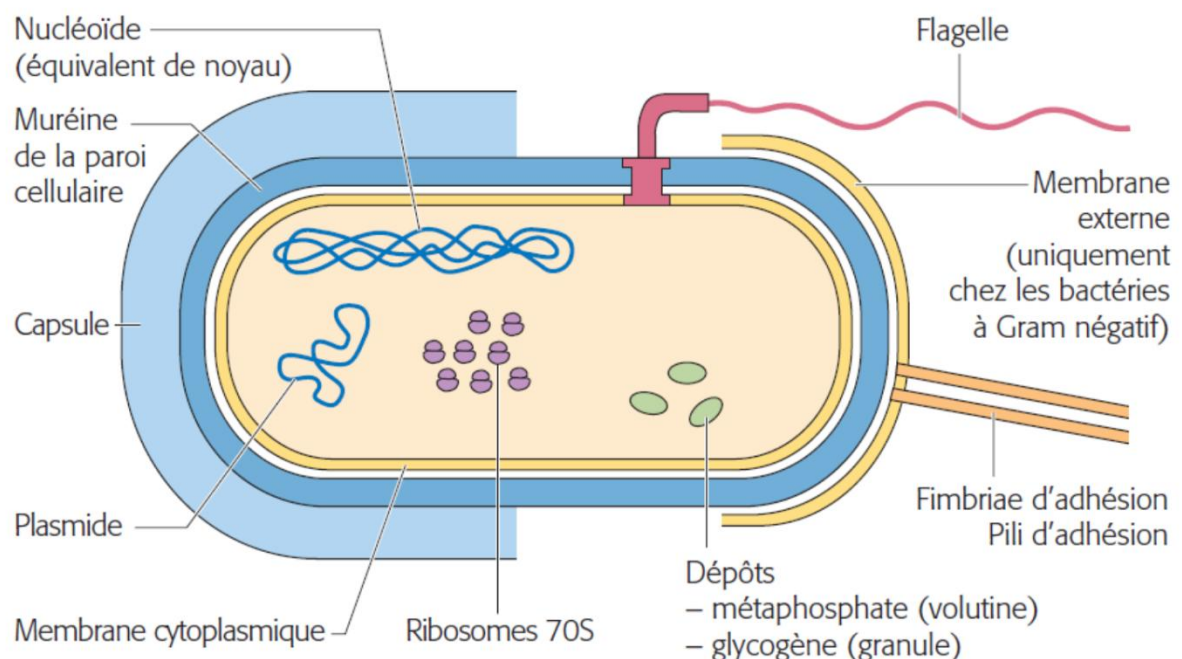


CHAPITRE 2 ANATOMIE BACTERIENNE

Les composants obligatoires sont constitués par le cytoplasme qui a généralement une structure homogène et renferme essentiellement des ribosomes et parfois des éléments supplémentaires comme les substances de réserve. Dans le cytoplasme, l'appareil nucléaire ("chromosome") a un aspect fibrillaire, il occupe une place importante et n'est pas entouré par une membrane. La membrane cytoplasmique entoure le cytoplasme. À l'extérieur de la membrane cytoplasmique, on trouve très généralement la paroi qui forme une enveloppe rigide.

Les composants facultatifs sont des polymères de surface comme la capsule, des structures protéiques externes comme la couche S, des appendices comme les flagelles et les pili ou des structures génétiques comme les molécules d'ADN extrachromosomiques appelées plasmides.

On peut également considérer comme une structure facultative les endospores qui caractérisent quelques genres bactériens et qui ne sont élaborées que lorsque les conditions de vie sont défavorables.



1. CYTOPLASME

Le cytoplasme est aqueux et contient des acides nucléiques (ARN), des protéines, des ribosomes, des vacuoles contenant des substances organiques, des sels minéraux (fer, soufre, MG, inclusion de silice, carbonate du calcium), des pigments. Cependant, il est dépourvu d'organites.

Le cytoplasme ne contient pas en effet de mitochondries : les enzymes transporteurs d'électrons sont localisés dans la membrane cytoplasmique. En revanche, il est particulièrement riche en ARN solubles (ARN messenger et ARN de transfert) et surtout en ARN particulaire ou ribosomal.

Le Cytoplasme peut être divisé en :

☐ Une région cytoplasmique d'apparence granulaire et riche en ARN ; il s'agit des ribosomes, sites de biosynthèse des protéines ;

Les ribosomes représentent 40 % du poids sec de la bactérie et 90 % de l'ensemble de l'ARN. Les ribosomes sont la cible d'action de nombreux antibiotiques (aminosides, phénicol, cyclines, macrolides). Ils sont constitués de protéines ribosomales et d'ARN. Les ribosomes ont un coefficient de sédimentation de 70 S (Svedberg) (Ribosomes Eucaryotes 80 S).

☐ Une région liquide renfermant des granulations et substances de réserve. Différentes substances chimiques peuvent s'accumuler dans le cytoplasme pour former des granules appelés inclusions. C'est généralement du glycogène, de l'amidon, des lipides parfois chez certaines bactéries du soufre, du fer ou des phosphates, etc.

☐ Chromatophores : chez les bactéries photosynthétiques, au niveau desquels s'effectue la photosynthèse.

☐ Vacuoles à gaz. Rencontrées chez les cyanobactéries et les bactéries photosynthétiques. Elles leur servent de flotteurs à la surface de l'eau ;

☐ Matériel "nucléaire". La cellule bactérienne ne possède ni chromosomes denses, ni appareil mitotique pour la division cellulaire, ni nucléole, ni membrane nucléaire.

Le matériel génétique de la bactérie est constitué d'un chromosome unique formé d'une boucle d'ADN en suspension dans le cytoplasme. En plus du chromosome, on trouve souvent chez les bactéries des éléments génétiques extrachromosomiques : les plasmides.

2. APPAREIL NUCLEAIRE

Il n'existe pas un noyau délimité par une membrane nucléaire, mais un chromosome bactérien (et est donc haploïde) constitué par un enchevêtrement d'ADN bicaténaire, à disposition circulaire, pelotonné sur lui-même (l'absence de membrane nucléaire conduit à parler d'appareil nucléaire ou de nucléoïde ou de "chromosome" plutôt que de noyau).

De nombreuses bactéries contiennent des plasmides en plus de leurs chromosomes. Ces plasmides sont de petites molécules circulaires d'ADN qui peuvent exister indépendamment des chromosomes.

Plasmides

Ce sont des fragments d'ADN bicaténaires (1000 à 3000 bases), extra chromosomiques, circulaires, doués de réplication autonome et qui sont transmis de façon stable au cours des générations. Les plasmides ne sont pas indispensables à la vie de la bactérie hôte.

Les plasmides sont transférables d'une bactérie à une autre par le phénomène de conjugaison mais également par transduction.

Les plasmides apportant une information génétique supplémentaire et permettant aux bactéries une meilleure adaptation au milieu environnant. On dit que les plasmides donnent un avantage sélectif aux bactéries qui les hébergent.

De nombreuses activités biologiques sont sous la dépendance de plasmides. Les plus importantes sont la propriété de résistance aux antibiotiques, l'acquisition de facteurs de pathogénicité et l'acquisition de nouvelles propriétés métaboliques.

Certains plasmides sont responsables de la virulence (ex. : production de toxines), de la résistance aux antiseptiques, du métabolisme de certains composés (lactose, lysine, etc...), et de la dégradation de substances toxiques.

3. MEMBRANE PLASMIQUE

La membrane plasmique est conforme au modèle unitaire (double couche lipidique dans laquelle sont enfouies les protéines intrinsèques). Elle contient principalement des phospholipides (30 à 40 %) et des protéines (60 à 70 %). Les stérols sont absents sauf chez les mycoplasmes et il n'y a jamais de lécithine.

La membrane plasmique renferme des protéines de structure (PS) et des enzymes membranaires dont celles qui sont impliquées dans la synthèse du peptidoglycane (PG).

Chez certaines espèces, on observe des mésosomes qui sont des invaginations (structures membranaires intracytoplasmiques) de la membrane plasmique en forme de vésicules, de tubes ou de lamelles. On les trouve le plus souvent chez les bactéries Gram-positives.

On pense qu'ils jouent un rôle dans sa division et la naissance du septum séparant les deux cellules filles. On pense également que le mésosome joue un rôle dans la synthèse de la paroi.

Rôles:

- Régler les échanges entre le milieu extra et intracellulaire
- Régler le gradient de concentration osmotique pour permettre à la bactérie de conserver ses ions essentiels

- Régler le métabolisme grâce à une perméabilité sélective.

Certaines molécules diffusent passivement à l'intérieur de la bactérie d'autres nécessitent un transport actif utilisant des enzymes appelées perméases.

Son rôle essentiel est celui d'une barrière hydrophobe et osmotique. L'eau et les petites molécules hydrophiles diffusent librement, tandis que les plus grosses molécules hydrophiles la franchissent par l'intermédiaire de transporteurs protéiques (ou perméases).

- les bactéries synthétisent des exo-enzymes et exotoxines qui augmentent le pouvoir pathogène des bactéries
- la membrane est le siège des enzymes respiratoires, apparaissent comme l'équivalent fonctionnel des mitochondries des cellules eucaryotes.

Outre son rôle de barrière, la membrane exerce de nombreuses fonctions grâce à de nombreuses enzymes qui lui sont associées : enzymes des chaînes respiratoires, perméases, ATPases, phosphotransférases, enzymes impliquées dans la synthèse de la paroi et des pili, ...

- Sert de point d'ancrage (fixation) pour les flagelles.

4. PAROI BACTERIENNE

La paroi bactérienne existe chez toutes les espèces du domaine des "Bacteria" à l'exception des bactéries Mycoplasmes.

En revanche, chez les "Archaea", la présence d'une paroi est inconstante et lorsqu'elle existe, elle ne présente pas de peptidoglycane.

La paroi cellulaire, localisée à l'extérieur de la membrane cytoplasmique, est relativement perméable et permet de maintenir la structure de la cellule et de la protéger de la lyse osmotique.

a) Structure

Le composé commun à toutes les bactéries est le peptidoglycane (ou muréine) qui est un énorme polymère composé de plusieurs sous-unités liées entre elles. Il contient :

- Deux dérivés de sucre :
 - N-acetylglucosamine (ou NAG)
 - Acide N-acétylmuramique (ou NAM)
- Un térapeptide fait d'acides aminés L alternant avec des acides aminés D

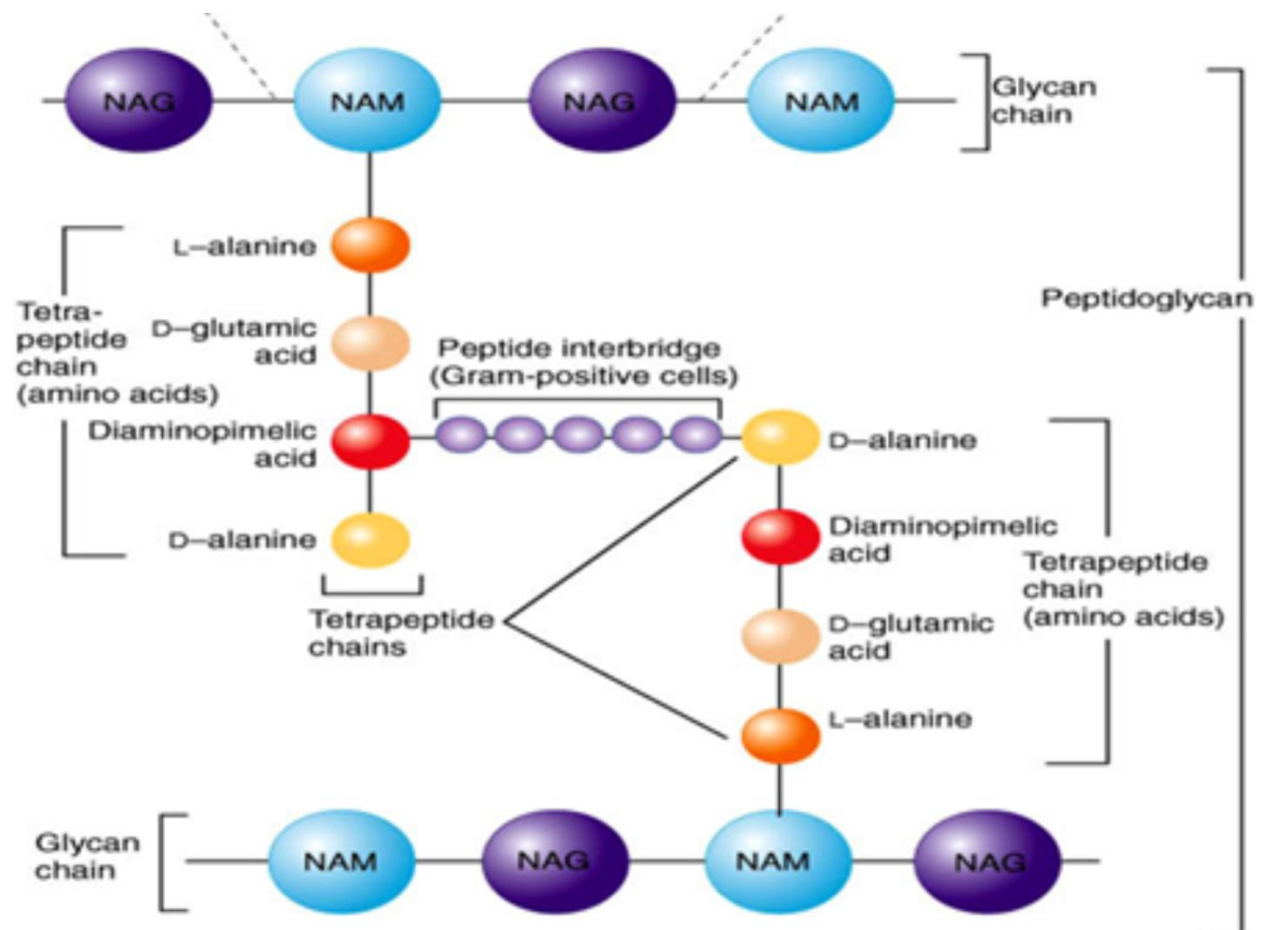
Le peptidoglycane forme autour de la cellule un réseau composé de chaînes de glycanes reliées entre elles par des chaînons peptidiques (acides aminés non retrouvés dans les protéines (forme D), acide diaminopimélique, ...).

La partie glycanne est constituée de chaînes linéaires où alternent les NAG (acide N acétylglucosamine) et les NAM (acide N-acétylmuramique). Ces résidus sont liés par des liaisons bêta-1,4 glucosidique. La longueur des chaînes est variable (20 à 100 résidus de N acétylglucosamine).

Les chaînons peptidiques sont constitués d'unités tétrapeptidiques et de ponts interpeptidiques. Les unités tétrapeptidiques s'attachent à l'acide N-acétylmuramique (NAM).

Les ponts interpeptidiques unissent entre elles les unités tétrapeptidiques. Ils s'établissent généralement entre le dernier acide aminé d'un tétrapeptide et le troisième acide aminé d'un tétrapeptide de la chaîne voisine mais ils peuvent parfois s'étendre entre le dernier acide aminé d'un tétrapeptide et le deuxième acide aminé d'un autre tétrapeptide.

Schleifer et Kandler ont proposé un système de classification des peptidoglycane reposant sur la position des ponts interpeptidiques, sur la nature des ponts interpeptidiques et sur la nature du troisième acide aminé des unités tétrapeptidiques.



La distinction entre bactéries Gram positives et bactéries Gram négatives repose sur une différence de composition chimique pariétale.

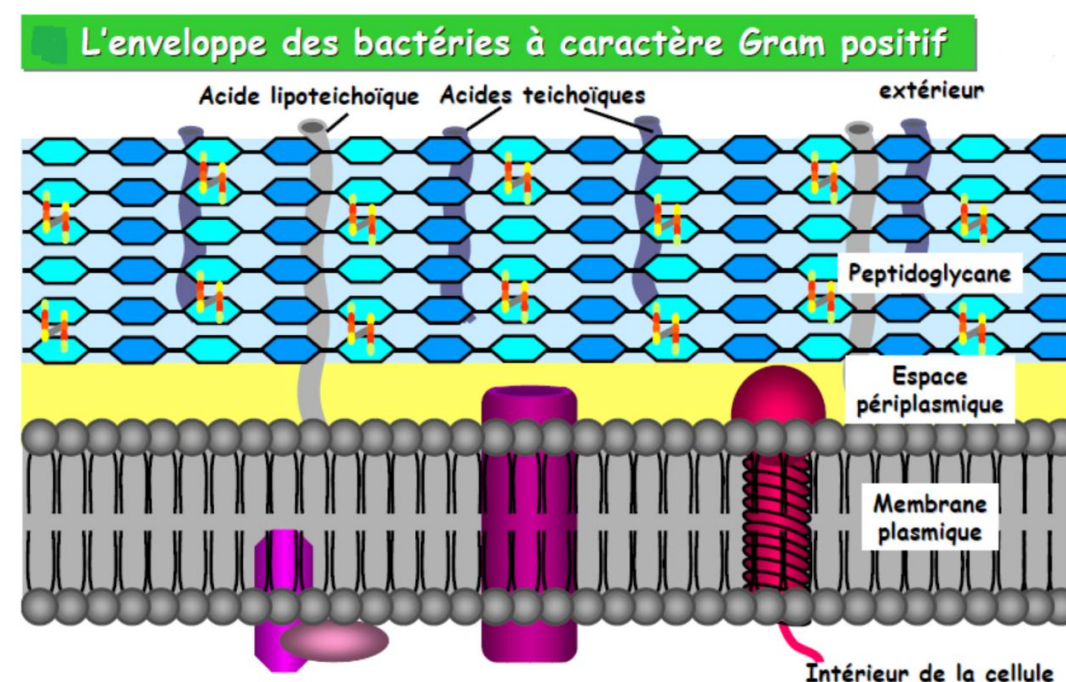
. Chez les bactéries à Gram positif, à l'exception des mycobactéries, la structure du peptidoglycane apparaît homogène, son épaisseur varie de 10 à 80 nm, elle est riche en osamines mais pauvre en lipides (1 à 2 p. cent).

. Chez les bactéries à Gram négatif, sa structure est plus complexe, son épaisseur est de l'ordre de 10 nm, elle est riche en lipides (10 à 20 p. cent) et contient moins d'osamines.

	Bactéries à Gram positif	Bactéries à Gram négatif
Aspect en microscopie électronique	Une couche épaisse et amorphe.	Deux couches séparées par un espace clair.
Présence d'une membrane externe	Non	Oui
Présence d'un espace périplasmique	Non	Oui
Peptidoglycane	Épais (10 à 80 nm), représente 40 p. cent du poids sec, détermine la morphologie bactérienne.	Mince (2 à 6 nm), représente moins de 10 p. cent du poids sec, détermine la morphologie bactérienne.
Acides teichoïques	Présents	Absents
Présence de protéines	Possible : liaisons covalentes avec le peptidoglycane, rôle éventuel dans le pouvoir pathogène, rôle éventuel dans l'antigénicité spécifique.	Fréquente
Présence de polysaccharides	Possible : antigènes spécifiques de groupe pour certaines espèces	Possible
Lipopolysaccharides	Absents	Présents

Le peptidoglycane est la cible d'un enzyme présent dans tout le règne vivant, le lysozyme, qui découpe les chaînes glucidiques quand elles sont accessibles (germes à Gram positif). Les antibiotiques, tels que bêta lactamines agissent sur les processus de synthèse du peptidoglycane...

b) Paroi des Gram +



La paroi des bactéries Gram-positives est formée d'une seule couche homogène de peptidoglycane de 20 à 80 nm d'épaisseur qui se trouve à l'extérieur de la membrane plasmique.

La paroi des bactéries Gram-positives contient aussi une grande quantité d'acides teichoïques (polymères de glycérol ou de ribitol reliés par des groupes phosphates), des acides lipoteichoïques (directement reliés à la membrane plasmique), des acides aminés (comme la D alanine) ou des sucres (comme le glucose).

Le peptidoglycane est très solide, les liaisons croisées entre chaînes glucidiques sont nombreuses.

* les acides teichoïques, polymères de glycérol ou de ribitol et de phosphore fixés sur la N-Acétyl-Glucosamine, jouent un rôle dans les transferts d'ions et dans la fixation de certaines protéines par l'intermédiaire d'un ion Ca^{2+} ;

* les acides lipoteichoïques, polymères de glycérol et de phosphore fixés par leur partie lipidique dans la membrane cytoplasmique, s'étendent dans la paroi et au delà ; ils jouent le même rôle que les acides teichoïques mais interviennent aussi dans l'adhérence aux cellules et ont un faible effet toxique ;

Les Acides teichoïques et lipoteichoïques sont des structures antigéniques de la paroi

*Paroi des mycobactéries

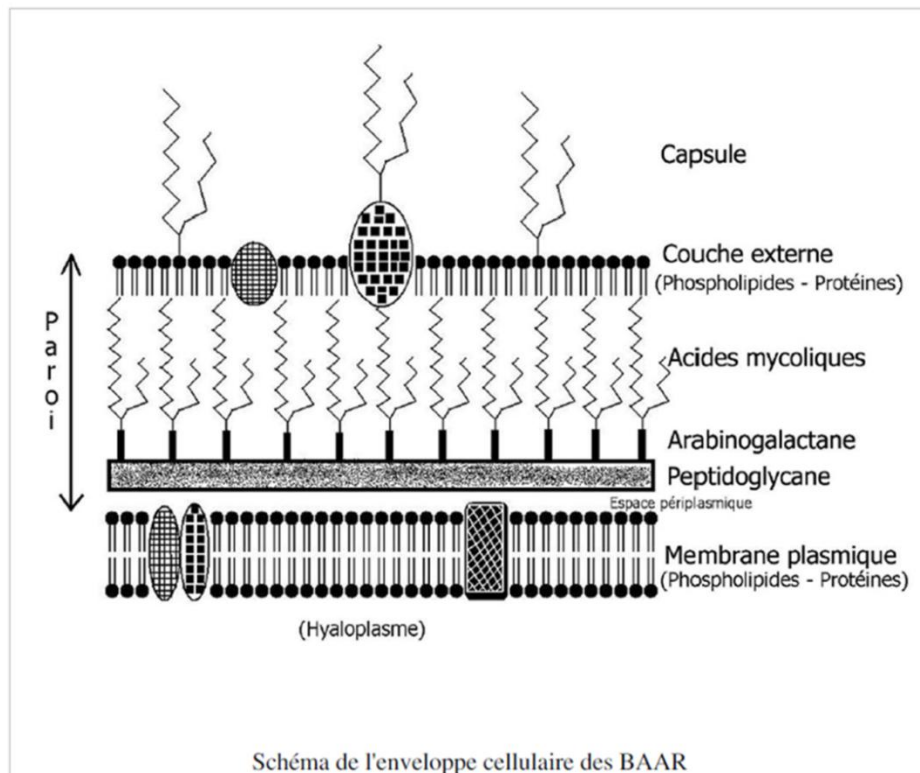
Les mycobactéries sont considérées comme des bactéries à Gram positif mais leur paroi a une structure très spéciale.

La couche basale est composée de peptidoglycane dans lequel l'acide N-glycosylmuramique remplace l'acide N-acétylmuramique.

Au peptidoglycane est associé un polymère formé de l'alternance d'arabinose et de galactose, l'arabino-galactane lui-même estérifié par les acides mycoliques.

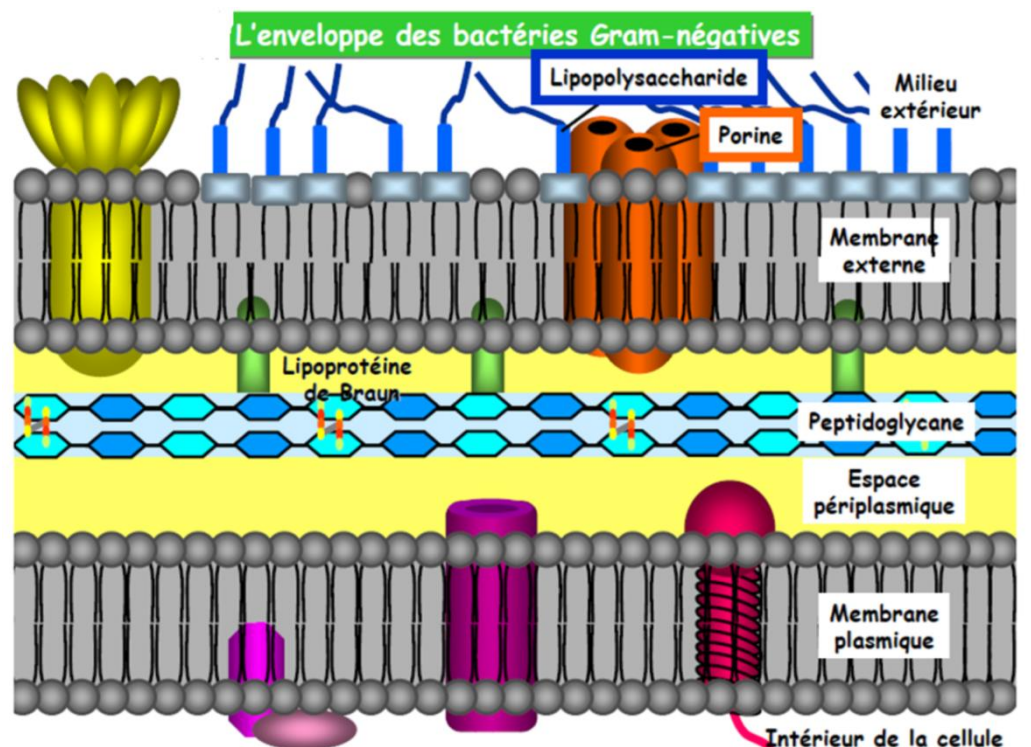
La structure particulière de la paroi des mycobactéries, très riche en lipide, explique, en grande partie, la résistance des mycobactéries à de nombreux antibiotiques (antibiotiques hydrophobes) qui ne peuvent atteindre leurs sites d'action.

Les acides mycoliques constituent une barrière hydrophobe autour de la cellule s'opposant à l'action d'agents chimiques. Cette propriété est mise à profit dans la coloration de Ziehl-Neelsen qui permet de caractériser l'acido-alcool-résistance des mycobactéries. (dites BAAR : Bacilles Acido-Alcool Résistants).



c) La paroi des Gram –

La paroi des bactéries Gram-négatives est complexe, elle est formée d'une couche de peptidoglycane de 1 à 3 nm d'épaisseur entouré d'une membrane externe épaisse de 7 à 8 nm.



Au microscope électronique la paroi des bactéries à Gram négatif apparaît hétérogène et on distingue une couche interne et une couche externe ou membrane externe, séparées par un espace périplasmique.

c1) Espace périplasmique

L'espace périplasmique est la zone se trouvant immédiatement après la membrane plasmique.

Il contient des lipoprotéines ou lipoprotéines de Braun qui relient la membrane externe au peptidoglycane et qui participent à la cohésion de la paroi.

La partie lipidique est enchâssée dans la membrane externe par des liaisons hydrophobes et la partie polypeptidique est associée au peptidoglycane par des liaisons covalentes qui se forment avec les acides diaminopiméliques.

L'espace périplasmique renferme des protéines qui fixent de nombreuses molécules (galactose, maltose, glutamine, ...) avant qu'elles ne puissent franchir la membrane plasmique et il séquestre de nombreuses protéines qui ne peuvent être excrétées (phosphatases, ribonucléases, bêta-lactamases, ...) ou qui ne seront libérées que de manière partielle.

c2) Membrane externe

La membrane externe est constituée d'une double couche de phospholipides dans laquelle tout ou partie des phospholipides de la couche la plus externe sont remplacés par des molécules de lipopolysaccharide.

Au sein de cette « membrane externe » se trouvent associés des protéines dites de structure car elles consolident la membrane externe (exemple : OMP-A) ; d'autres, appelées « porines » sont organisées en trimères et délimitent des pores qui traversent la membrane externe de part en part. Elles permettent ainsi le passage de petites molécules hydrophiles (jusqu'à 600 Da) (perméabilité) et en particulier, sur le plan médical, des antibiotiques (β -lactamines, tétracyclines, quinolones...).

(Protéines de la membrane externe (Outer Membrane Protein = OMP) :

Enfin d'autres protéines servent à la captation d'ions (par exemple du Fer), ou de vitamines et d'autres protéines sont des enzymes.

La membrane externe agit donc comme une barrière de perméabilité sélective, qui empêche l'entrée de substances au-delà d'une certaine taille.

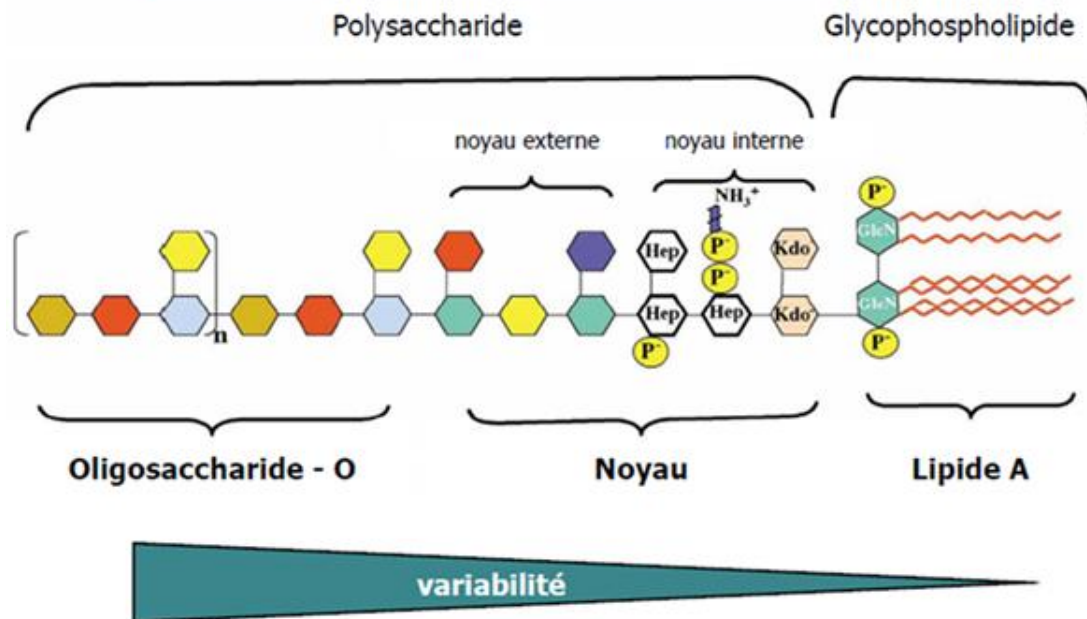
Du point de vue physiologique, la membrane externe permet à la bactérie de résister aux facteurs de défense de l'hôte tels que le lysozyme ou des protéines leucocytaires très toxiques pour les bactéries à Gram positif.

. Lipopolysaccharides

Les lipopolysaccharides sont des complexes macromoléculaires toxiques présents de manière constitutive dans la membrane externe de toutes les bactéries à Gram négatif.

Sur le plan structural, les lipopolysaccharides (LPS) sont constitués d'un lipide A et d'une partie polysaccharidique débordant la membrane externe.

Variabilité de la structure du LPS



Le lipide A est constitué de deux sucres aminés liés par une liaison bêta 1-6, phosphorylés et liés à des acides gras. La nature des sucres aminés (glucosamines ou parfois 3-aminoglucosamine) ainsi que la nature et le nombre des acides gras sont variables selon les espèces bactériennes.

Le lipide A est doué de propriétés toxiques et il correspond à l'endotoxine des bactéries à Gram négatif qui n'est libérée, de manière massive, qu'après lyse de la bactérie.

À faible dose, le lipide A a des effets bénéfiques car il provoque une fièvre modérée et il stimule la résistance aux infections. À fortes doses, il est à l'origine du choc endotoxinique caractérisé par une fièvre élevée et une coagulation intra-vasculaire disséminée.

La fraction polysaccharidique est constituée d'un noyau ou core et d'une chaîne polysaccharidique terminale appelée aussi chaîne O spécifique.

La structure du core est semblable pour les souches d'une même espèce mais variable selon les espèces. Le core comprend deux parties, le core interne lié au lipide A et le core externe lié à la chaîne O. Le noyau interne contient deux sucres inhabituels, l'heptose et le kétodesoxyoctonate = KDO.

La chaîne O spécifique est la partie la plus variable du LPS et elle peut différer selon les souches appartenant à une même espèce ce qui permet de caractériser des sérovars (sérotypes). La chaîne O est constituée de chaînons répétitifs comprenant chacun 3 à 8 sucres. Le nombre de chaînons est compris entre 20 à 40 chez les salmonelles.

Les sucres constituant ces chaînons sont des hexoses "classiques" (glucose, galactose, mannose...) mais aussi des sucres plus particuliers comme le tyvélose, le paratose, l'abéquose, le colitose...

Les différences antigéniques des chaînes O spécifiques sont liées soit à la nature des sucres qui composent le chaînon répété soit à leur mode de liaison.

Les colonies formées par des bactéries dont les antigènes O sont incomplets sont plates, à bords irréguliers et d'aspect rugueux (colonies R ou rugueuse ou rough). Cet aspect contraste avec les colonies bombées, rondes et lisses (colonies S ou smooth) obtenues avec les bactéries normales. Les mutants rugueux ont un aspect variable selon la modification engendrée dans la structure polysaccharidique et ils perdent leur pouvoir pathogène car ils sont aisément phagocytés.

Ainsi, la classification de KAUFFMAN-WHITE permet de distinguer les salmonelles en fonction de la nature de leurs antigènes O et H.

Rôles

- La paroi confère à la bactérie sa morphologie véritable. Elle constitue le squelette externe de la bactérie.
- La paroi contient la pression osmotique interne.
- Elle joue un rôle déterminant dans la coloration de Gram. Chez les bactéries à Gram positif, la paroi bloque l'extraction du violet de gentiane et de l'iodure par l'alcool alors qu'elle ne bloque pas cette extraction chez les bactéries à Gram négatif.

Dans un premier temps, on réalise une coloration au violet de gentiane en présence du lugol (agent mordant) : les bactéries sont violettes

Ensuite on réalise une décoloration par l'alcool-acétone.

Les Gram + ayant une paroi épaisse (beaucoup de peptidoglycane) l'alcool-acétone ne rentre pas dans la bactérie (elle reste violette).

Les Gram – ayant une paroi qui contient moins de peptidoglycane, la bactérie est perméable (l'alcool prend alors la place du violet) : la bactérie est décolorée.

On réalise une contre coloration (bactéries roses).

C'est le cytoplasme qui capte le colorant.

- Elle joue un rôle déterminant dans la spécificité antigénique des bactéries. Une substance est antigénique lorsqu'elle provoque chez un individu une réaction immunitaire et la synthèse d'anticorps.

Ce sont les substances les plus complètes dans la paroi qui sont antigéniques.

Les Gram + ont un polyside (acide teichoïque) qui permet l'indentification. (Ex : le sérogroupage des Streptocoques (polyoside), Streptocoque pyogenes (groupe A). Les Gram – ont un antigène O sur le lipopolysaccharide (Ex : sérotypage des Salmonelles).

- Elle est le support de l'action de certains enzymes exogènes (lysozyme) ou endogènes (autolysines) et de certains antibiotiques, notamment les bêtalactamines (pénicillines) qui inhibent la synthèse du peptidoglycane.
- Le lipopolysaccharide (LPS) et le peptidoglycane sont capables d'activer le complément.
- Perméabilité : La paroi constitue une surface d'échange avec l'extérieur.

Le peptidoglycane est poreux et laisse passer de nombreuses substances ce qui n'est pas le cas de la membrane externe des bactéries à Gram négatif qui s'oppose, notamment, à la pénétration des antibiotiques hydrophobes.

- Fixation des bactériophages : Le LPS et les acides teichoïques servent de récepteurs pour certains bactériophages.

Remarque

Une bactérie dont on a détruit le peptidoglycane, se gonfle puis éclate lorsqu'elle est placée dans de l'eau distillée. En revanche, une bactérie privée de peptidoglycane et placée dans un milieu dont la pression osmotique est supérieure ou égale à la pression du milieu intracellulaire ne se lyse pas mais elle prend une forme sphérique.

Les bactéries à Gram positif dépourvues de peptidoglycane forment des sphères limitées par la seule membrane cytoplasmique et elles deviennent des protoplastes. Les bactéries à Gram négatif limitées par la membrane cytoplasmique et la membrane externe, deviennent des sphéroplastes.

Les antibiotiques inhibant la biosynthèse du peptidoglycane (comme les bêta-lactamines) conduisent à la formation de protoplastes et de sphéroplastes. On connaît également des mutants dépourvus de paroi que l'on appelle des formes L. Les protoplastes, les sphéroplastes survivent mais ne peuvent pas se multiplier, par contre les formes L peuvent se diviser et sont capables de reverser vers des formes bactériennes normales.

Gram positifs		Gram négatifs	Mycobactéries
Réaction coloration de Gram	Cellules pourpres foncé le colorant basique est retenu	Cellules roses/rouges le violet cristal est éliminé par l'alcool et remplacé par la safranine	granulations violettes
Réaction coloration de Ziehl avec fuschine	Cellules bleues le colorant basique est éliminé par l'acide-alcool et remplacé par le bleu de méthylène	Cellules bleues le colorant basique est éliminé par l'acide-alcool et remplacé par le bleu de méthylène	Rouge : le colorant reste dans les cellules malgré le lavage
Peptidoglycane	épais	mince	épais
Acides lipoteichoïques	oui	non	non
Acide teichoïque	oui	non	non
Espace péripasmique	non	oui	non
Membrane externe	non	oui	non
Lipides complexes de paroi	non	non	oui
Quantité de lipides	faible	élevée	très élevée
Résistance agents physiques	forte	faible	très forte
Effet lysozyme	important	nulle sans décapage	nul

Effet de la pénicilline G	oui	non	non
Sensibilité aux détergents	non	oui	non
Effet de la dessiccation	faible	mortalité	faible

5. Polysaccharides de surface

Les bactéries peuvent s'entourer d'enveloppes supplémentaires plus ou moins structurées ou diffuses. Ces polysaccharides sont élaborés de manière optimale lorsque les bactéries sont dans un milieu hostile car ils apportent une protection ou un moyen de coloniser l'environnement.

Le terme de glycocalyx désigne donc à la fois les polysaccharides de surface et les protéines ou glycoprotéines formant la couche S. D'autres auteurs préfèrent utiliser le terme de substances polymérisées extracellulaires (EPS : Extracellular Polymeric Substances).

Parmi les polysaccharides de surface, on peut distinguer de manière un peu arbitraire, la capsule et les couches muqueuses ou slime. La capsule correspond à une structure bien organisée, bien définie, facilement mise en évidence par des techniques simples alors que le slime correspond à des constituants polysaccharidiques plus ou moins libérés dans le milieu et ne constituant plus une véritable entité morphologique.

Le glycocalyx est responsable de l'attachement des bactéries (biofilm) aux cellules (cellules buccales, respiratoires, plaque dentaire) ou à des supports inertes (cathéters, instruments, prothèses).

a) Capsule

Constituant le plus superficiel de la bactérie mais il n'est pas constant.

La capsule bactérienne est généralement constituée de polysaccharides acides (les sucres sont sous forme d'acides uroniques comme l'acide galacturonique, l'acide glucuronique, l'acide hyaluronique mais aussi sous forme de sucres phosphorés comme le ribitol-phosphate) ce composant est très lié à certains pouvoirs pathogènes car empêche la phagocytose.

Sa mise en évidence s'effectue par coloration négative (le colorant, encre de Chine ou Nigrosine est repoussé par la capsule et celle-ci apparaît en clair sur fond noir).

Pour une même espèce, la nature des sucres et leur mode de liaison peuvent être différents ce qui confère aux bactéries des spécificités antigéniques différentes.

Les antigènes capsulaires sont souvent désignés sous le nom d'antigène K chez les bactéries à Gram négatif.

Chez certaines espèces de *Bacillus* (notamment *Bacillus anthracis*), la capsule est constituée de polypeptides formés d'un seul acide aminé (acide D-glutamique pour *Bacillus anthracis*).

La capsule ne joue pas un rôle vital pour la bactérie et en l'absence de sa synthèse, la bactérie est capable de se multiplier. En revanche, la capsule joue un rôle important dans le pouvoir pathogène car elle s'oppose à la phagocytose et à l'activation de la voie alterne du système complémentaire.

La capsule joue un rôle important dans le pouvoir pathogène de certaines espèces bactériennes (*Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella*, *Escherichia coli* K1) par son rôle protecteur contre la phagocytose.

C'est un élément facultatif : toujours présent chez certaines espèces (pneumocoques), parfois présent pour d'autres et enfin pour beaucoup d'espèces jamais présent.

Les polymères capsulaires purifiés sont la base de certains vaccins (pneumocoque, pyocyanique, *Haemophilus influenzae*).

Elles sont le support des propriétés physiopathologiques et immunologiques (ex : les pneumocoques capsulés sont pathogènes. Injectés à la souris, ils provoquent sa mort après 24 heures. Les mêmes cellules acapsulées perdent en même temps leur agressivité). Les capsules empêchent les défenses de l'organisme hôte de se manifester, en protégeant les bactéries de la phagocytose.

Chez les espèces bactériennes capsulées, des mutations peuvent affecter la production de capsule : les bactéries sauvages capsulées donnent des colonies lisses (S pour smooth) ou muqueuses, tandis que les bactéries mutantes non capsulées donnent des colonies rugueuses (R pour rough).

Les substances capsulaires sont aussi le support de l'antigénicité. Injectées à un animal, elles l'obligent à synthétiser des anticorps protecteurs.

D'un point de vue général, la capsule protège la bactérie dans l'environnement contre de nombreux prédateurs (cas des protozoaires), contre les bactériophages (virus qui attaquent les bactéries). Enfin elle protège les bactéries contre les agents physiques et chimiques comme la dessiccation.

b) Couche de surface cristalline ou couche S (S layer)

Mises en évidence par microscopie électronique, elles sont constituées de protéines ou de glycoprotéines généralement d'un poids moléculaire élevé (40 à 200 kDa), disposées régulièrement sous forme d'un assemblage paracristallin organisé selon un système géométrique carré, hexagonal ou oblique.

Outre son rôle en tant que squelette, la couche S pourrait être impliquée dans l'adhésion, dans la résistance au système complémentaire (inhibition de la fixation du C3b) et dans la résistance aux protéases des macrophages.

Elle protège la bactérie contre les fluctuations ioniques, les variations de pH, le stress ionique, les enzymes ou des bactéries prédatrices. Elle contribue à la virulence de certains agents pathogènes.

6. Flagelles

La plupart des bactéries sont mobiles, grâce à des d'organites de locomotion appelés flagelles.

Les flagelles sont des appendices locomoteurs qui s'étendent à l'extérieur de la membrane plasmique et de la paroi cellulaire. Ils ont une structure mince, d'environ 20 nm de diamètre et 15 à 20 µm de long. Le point d'insertion du flagelle est cytoplasmique

Etant invisibles au microscope optique, leur mise en évidence doit utiliser des techniques de coloration.

Le flagelle bactérien se compose de trois parties :

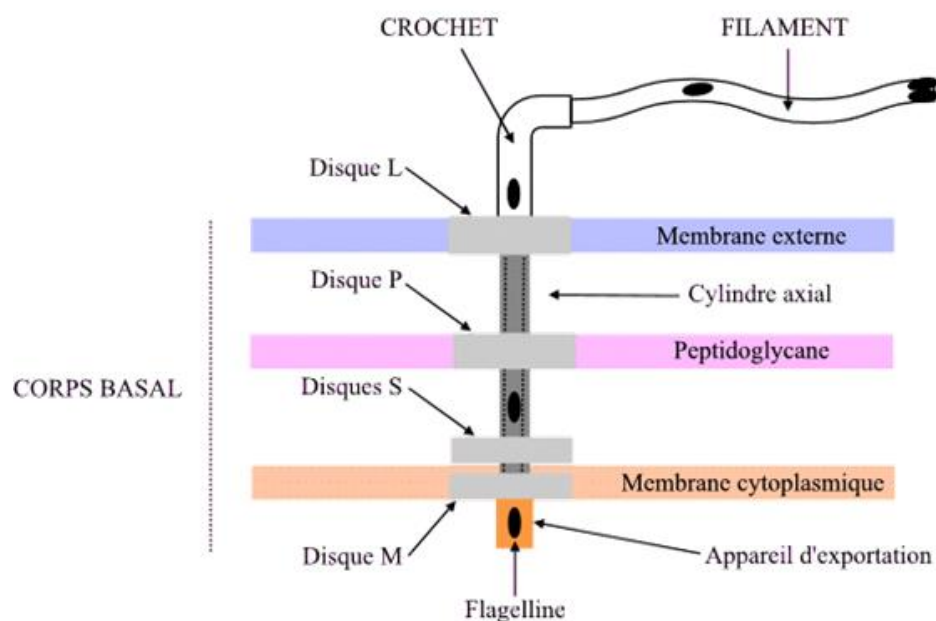
□ Le filament : c'est la partie la plus longue et la plus évidente, il s'étend depuis la surface cellulaire. C'est un cylindre creux constitué d'une seule protéine appelée la flagelline qui est immunogène et constitue l'Ag H.

Le filament est hélicoïdal et se compose de onze fibrilles disposés comme les torons d'une corde et parcouru par un fin canal axial.

□ Le crochet : segment court, incurvé et flexible, il lie le filament au corps basal. Il est plus large que le filament et présente une structure protéique.

□ Le corpuscule ou corps basal correspond au lieu d'insertion du flagelle dans la cellule. Son architecture est complexe et comprend une partie mobile et une partie fixe. Le filament et le crochet se prolongent par un cylindre axial qui constitue l'arbre de transmission. Autour du cylindre axial on trouve des anneaux ou disques.

Chez toutes les bactéries deux disques internes sont localisés dans la membrane cytoplasmique, le disque M (membrane) et le disque S (supramembrane). Chez les bactéries à Gram négatif, se surajoute un disque P (périplasmique) localisé dans le peptidoglycane et un disque L (lipopolysaccharide). Plusieurs protéines membranaires interviennent pour la rotation et le sens de rotation du moteur.

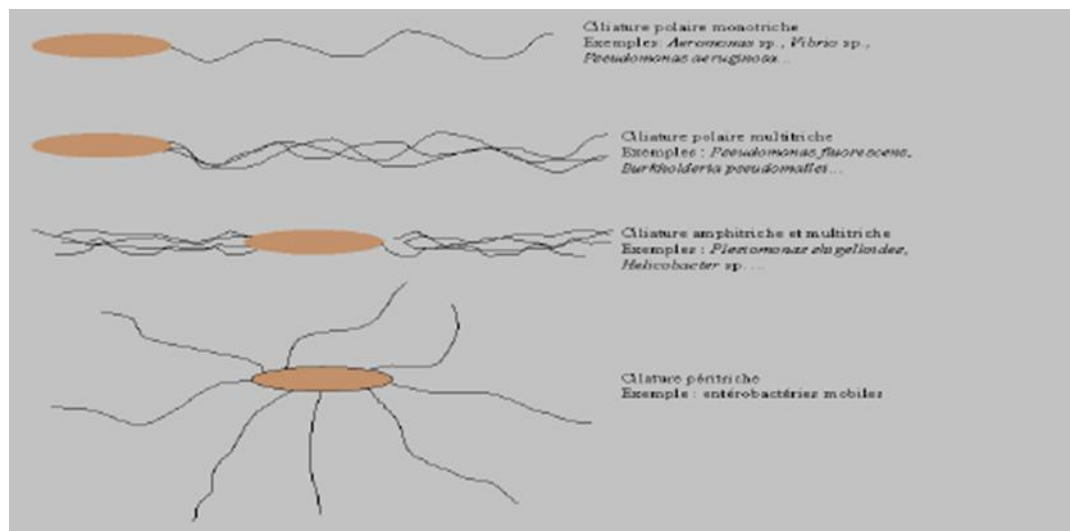


On distingue chez les bactéries deux types principaux d'insertion des flagelles :

□ Insertion polaire : le ou les cils sont insérés à une ou aux deux extrémités de la cellule. La bactérie est Monotriche si l'on ne rencontre qu'un seul flagelle à une de ses extrémités. Amphitriche lorsqu'une touffe de flagelles émerge à chaque pôle. Lophotriche lorsqu'une touffe émerge à un pôle.

□ Insertion péritriche : la bactérie porte de nombreux flagelles insérés sur tout le pourtour de la cellule.

La connaissance du mode d'insertion peut être utilisée dans un but taxonomique.



Les bactéries sont douées de chimiotaxie : elles sont attirées par des éléments nutritifs comme les sucres, les acides aminés et sont repoussées par des substances nuisibles comme les phénols et les déchets bactériens. Un tel mouvement est appelé chimiotactisme

La synthèse du flagelle se fait par polymérisation de la flagelline = auto - assemblage.

D'une manière générale, la mobilité s'observe chez les bacilles et rares sont les coques mobiles.

Chez les spirochètes, les flagelles sont insérés à chacune des extrémités de la cellule, ils sont entourés autour de la cellule et viennent éventuellement se chevaucher dans la partie médiane de la cellule. Grâce à la rotation de ces flagelles (dont le sens de rotation peut s'inverser), les spirochètes sont doués de mouvement de translation, de rotation autour de l'axe longitudinal ou de flexion.

7. FIMBRIAE ET PILI

Les pili (de pilus= poil) ou fimbriae (frange) sont de courts appendices filiformes différents des flagelles. Ils sont fréquents chez les bacilles Gram négatifs.

On en distingue deux catégories de morphologie et de fonction distincts :

□ Pili dits communs sont distribués en grand nombre autour de la bactérie (plusieurs centaines). Ils sont fins, courts et rigides, de structure protéique (piline). Leur présence est en rapport avec les propriétés antigéniques de la bactérie. Ils permettent aux bactéries d'adhérer à des surfaces, ce qui conditionne leur pouvoir pathogène (ex.

fixation de *Escherichia coli* sur la muqueuse vésicale, du gonocoque sur la muqueuse de l'urètre, du vibron du choléra sur les entérocytes...).

□ Pilis sexuels sont plus longs et plus épais. Atteignant 20 µm et se terminent par un renflement. Leur nombre est faible (1 à 4). Ils paraissent jouer un rôle indispensable au cours de la conjugaison bactérienne (accolement des bactéries entre elles).

8. SPORES

Certaines espèces bactériennes sont capables de produire des spores, soit à l'extérieur de la cellule végétative (exospores), soit à l'intérieur de la cellule végétative (endospore). Ce sont des corps en sommeil métabolique produits à un stade avancé de la croissance.

L'endospore ou spore est un organite facultatif qui se forme au sein du cytoplasme de certaines bactéries et qui diffère de la cellule végétative par sa forme, sa structure, son équipement enzymatique et par sa résistance aux agents physiques et chimiques ce qui lui permet de survivre dans des conditions très défavorables.

Les endospores sont produites par les espèces du genre *Bacillus*, *Clostridium* et *Sporosarcina*. Ces bactéries peuvent croître et se multiplier pendant de nombreuses générations comme toute cellule végétative normale. Cependant à un moment donné de la croissance d'une bactérie sporulante a lieu à l'intérieur du cytoplasme végétatif la synthèse d'un nouveau protoplasme destiné à devenir une spore.

La sporulation est le phénomène de différenciation qui conduit de la forme végétative à la spore. La transformation inverse est appelée la germination.

Les endospores sont des structures résistantes aux conditions sévères de l'environnement comme la chaleur, les radiations ultraviolettes, les désinfectants chimiques et la dessiccation.

Au microscope en contraste de phase, la spore apparaît comme un espace clair très réfringent et limité par un contour net et régulier.

La situation des endospores dans les cellules ainsi que leur grosseur ne sont pas les mêmes pour toutes les espèces. Certaines sont centrales : formées au milieu de la cellule. D'autres sont terminales : formées à l'extrémité de la cellule et d'autres sont subterminales : formées près de l'extrémité de la cellule. Le diamètre de la spore peut être plus grand ou plus petit que celui de la cellule végétative (spores déformantes et non déformantes). Les spores peuvent avoir des formes différentes : sphériques, elliptiques ou ovoïdes. La présence d'une endospore, sa situation dans la cellule et sa grosseur et sa forme sont utiles pour identifier et caractériser les bactéries.

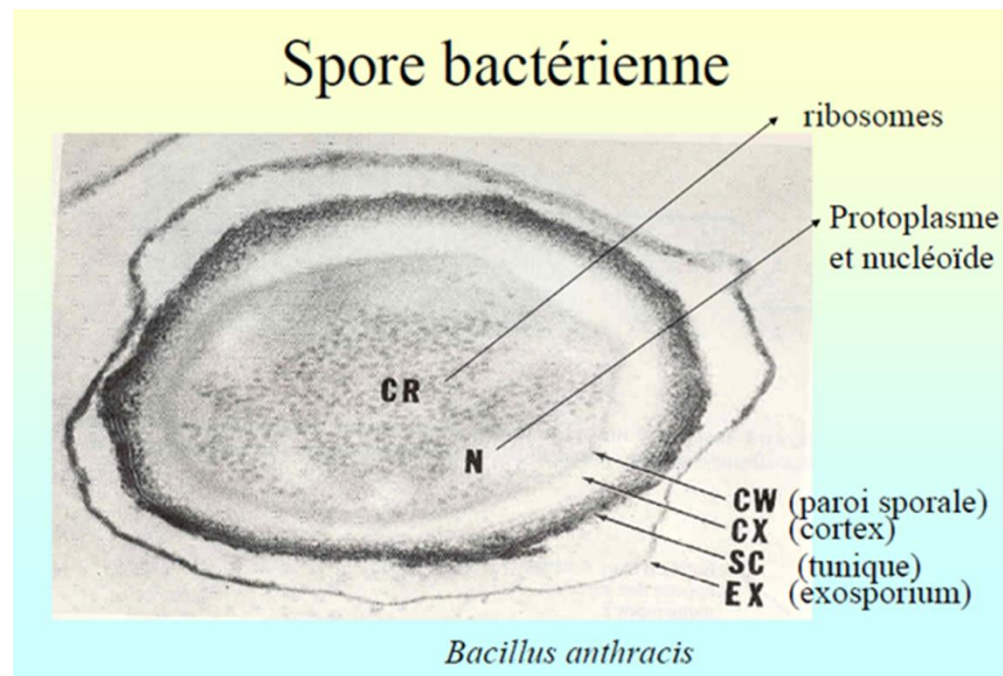
Sauf exception (par exemple *Clostridium disporicum*), on ne trouve qu'une seule spore par bactérie.

La spore est constituée par 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 plasmique, analogue à celle de la cellule végétative, est entourée de la paroi sporale et du cortex. Le cortex, très transparent aux électrons, contient la quasi totalité d'un constituant spécifique des spores, l'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.

L'examen au microscope électronique montre que la spore est formée :

- Exosporium : enveloppe mince et délicate
- Tunique : située sous l'exosporium. Elle est composée de quelques couches protéiques et peut être assez épaisse, elle est imperméable et responsable de la résistance des spores aux produits chimiques.
- Cortex : occupe plus de la moitié du volume de la spore, il est localisé sous la tunique et constitué de peptidoglycane.
- Paroi de la spore : se trouve dans le cortex et entoure le protoplasme qui possède toutes les structures cellulaires telles que les ribosomes et le nucléoïde



Propriétés des spores :

Les spores peuvent résister à certains agents physiques et chimiques. Cas de la thermorésistance : les spores peuvent survivre après chauffage de 70 à 80° C durant 10 mn. Certaines résistent 8 h à 100° C. (problèmes lors des opérations de stérilisation dans les hôpitaux et les industries alimentaires).

Résistance aux U.V, aux rayons X, aux désinfectants et aux antibiotiques supérieure à celle des cellules végétatives. Résistance à la dessiccation.

L'état de déshydratation, la présence de dipicolinate de calcium et la richesse en ponts disulfures des tuniques expliqueraient les propriétés de résistance des spores. Les spores sont en effet douées d'une longévité et d'une résistance importante. La longévité est difficile à apprécier mais elle pourrait atteindre plusieurs milliers d'années pour certaines espèces de *Bacillus*..

Sporulation

La sporulation est provoquée par l'épuisement du milieu en substrat nutritif et elle peut nécessiter des conditions particulières : absence d'oxygène pour les clostridies, présence d'oxygène pour *Bacillus anthracis* (d'où l'interdiction d'autopsier en plein champ des animaux dont la mort semble être due au charbon bactérien).

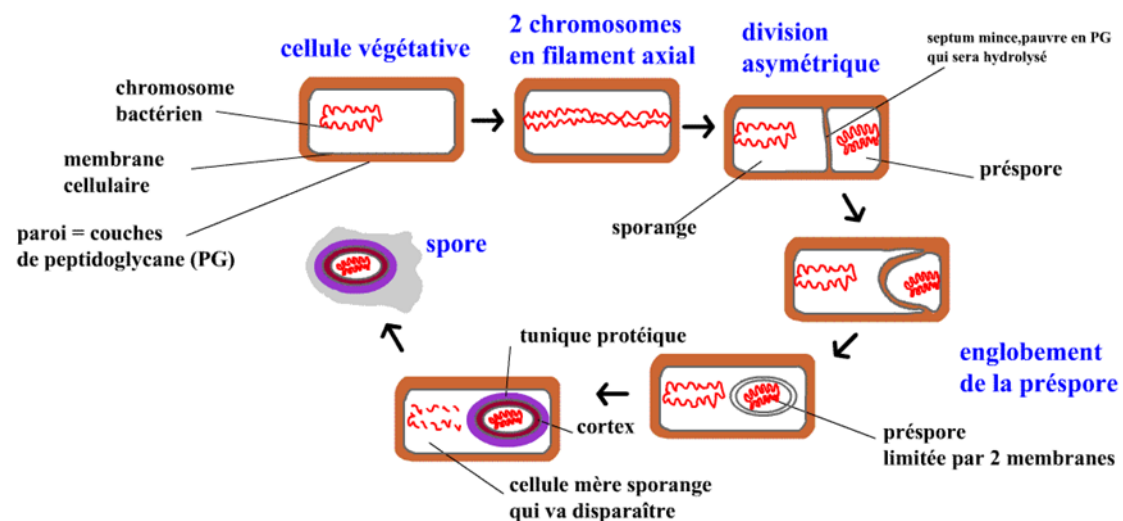
Le processus de sporulation débute à la fin de la phase de croissance exponentielle et se déroule en 6 étapes :

. Le stade I ou stade du filament axial se caractérise par la présence d'un matériel nucléaire qui s'étend sur toute la longueur de la cellule et qui correspond à 2 génomes. Au stade II, les deux génomes se séparent et en même temps la membrane cytoplasmique s'invagine près d'un pôle de la cellule pour former un septum de sporulation qui partage la cellule en deux parties inégales.

Ce septum de sporulation va envelopper le cytoplasme de la plus petite partie pour former une préspore caractéristique du stade III.

Entre les deux membranes limitant la préspore se forme la paroi sporale puis apparaît rapidement le cortex dont la présence est caractéristique du stade IV.

Aux stades V et VI, les tuniques sont élaborées et, après maturation, la cellule mère se lyse et libère la spore mature.



Germination

Placée dans des conditions favorables (eau, glucose, acides aminés) la spore va donner naissance à une nouvelle cellule végétative et on distingue trois stades dans ce processus de germination.

L'activation est un stade souvent indispensable correspondant à une lésion des enveloppes sporales par des agents physiques ou chimiques. L'activation peut être provoquée par des agents mécaniques (choc, abrasion), des agents physiques (choc thermique) ou chimiques (lysozyme, acides...).

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 dégradent de nombreux constituants de la spore et notamment le cortex qui libère le dipicolinate de calcium. Après l'élimination de la barrière corticale, la spore s'imbibe d'eau, se gonfle et perd ses propriétés de résistance.

L'émergence d'une nouvelle cellule végétative comprenant le cytoplasme sporal entouré de la membrane et de la paroi est possible grâce à l'altération des enveloppes. La nouvelle cellule entre dans une phase active de biosynthèse et la croissance reprend graduellement.

La germination peut être inhibée par divers agents physiques ou chimiques. Ainsi, la germination des spores de *Clostridium botulinum* est entravée par le froid, les pH inférieurs à 4,5, des concentrations en nitrites supérieures à 150 ppm et des concentrations en NaCl supérieures à 10 %.