

Chapitre 2 : Morphologie et ultrastructure des bactéries**I- Morphologie des bactéries****I-1- La forme****I-2- La taille****I-3- Les associations****II- Les constituants de la cellule bactérienne****II-1- Schéma général simplifié d'une bactérie****II-2- Eléments constants et inconstants de la structure bactérienne****III- Les éléments constants de la cellule bactérienne****III-1- La paroi bactérienne**

- a) Méthodes d'étude
- b) Aspect en microscopie électronique
- c) Structure chimique de la paroi
- d) Les rôles de la paroi
- e) Quelques parois bactériennes particulières

III-2- Le cytoplasme**III-3- L'appareil nucléaire**

- a) Techniques d'étude
- b) Structure du chromosome bactérien
- c) Rôles du chromosome bactérien

III-4- La membrane cytoplasmique

- a) Techniques d'étude
- b) Structure et composition chimique
- c) Rôles de la membrane cytoplasmique

IV- Les éléments facultatifs de la cellule bactérienne**IV-1- La capsule**

- a) Mise en évidence
- b) Morphologie et structure chimique
- c) Rôles et propriétés

IV-2- Les flagelles

- a) Mise en évidence
- b) Morphologie et mode d'insertion
- c) Architecture moléculaire
- d) Synthèse du flagelle
- e) Fonctionnement du flagelle
- f) Rôle des flagelles

IV-3- Les pili ou fimbriae**IV-4- Les plasmides****IV-5- Les spores**

- a) Mise en évidence
- b) Morphologie et structure
- c) Composition chimique
- d) Le cycle sporal
- e) Les étapes de la sporulation
- f) Propriétés de la spore

Chapitre 2 : Morphologie et ultrastructure des bactéries**I- Morphologie des bactéries (Document 1)**

❶ Formes des cellules bactériennes : les bactéries sont des organismes unicellulaires de formes variées

- bactéries de forme arrondies ou cocci, isolées, en chaînette, en amas (nombre variable de cellules) : Staphylocoques, Streptocoques ...
- bactéries de forme allongée ou bacilles isolés, en chaînette ou amas, de longueur et diamètre variables : *E.coli*, *Salmonella*, *Bacillus* etc...
- bactéries de forme spiralée spirilles, spirochètes comme *Treponema*
- un groupe particulier de bactéries de forme filamenteuse se rapprochant des moisissures : les Actinomycètes

❷ Taille : les bactéries les plus petites ont une taille d'environ 0,2 µm (Chlamydia) et les plus longues certains Spirochètes peuvent atteindre 250µm de long. En moyenne la taille se situe entre 1 et 10 µm

❸ Associations cellulaires : une espèce bactérienne peut apparaître sous forme de cellules isolées séparées ou en groupements caractéristiques variables selon les espèces : association par paires, en amas réguliers, en chaînette, par quatre (tétrades) etc... Cependant il faut savoir que les groupements ne sont caractéristiques qu'au sortir de l'habitat naturel de la bactérie; exemples :

- Les Staphylocoques isolés d'un pus présentent des groupements caractéristiques en « grappe de raisin »
- Les Streptocoques isolés d'un lait forment des chaînettes

Ensuite lorsque ces bactéries sont cultivées sur milieux synthétiques les groupements caractéristiques sont généralement perdus.

Dans la nature certaines bactéries vivent en groupes de cellules peu différenciées : Cyanobactéries qui forment des trichomes

Les coques

Forme	Mode de groupement	Schéma	Exemples
Forme sphérique De 0.5 à 2 µm	Isolés mais le plus souvent Diplocoques en grain de café		Genre <i>Neisseria</i> (<i>N. meningitidis</i> : méningite cérébrospinale)
	Chaînette		Genre <i>Streptococcus</i> (<i>S. pyogenes</i> : lésions cutanées, otites, conjonctivites ; <i>S. pneumoniae</i> : pneumonies, otites, sinusites)
	Amas réguliers, grappe de raisin		Genre <i>Staphylococcus</i>
	tétrades		Genre <i>Sarcina</i> (flore intestinale), Genre <i>Deinococcus</i> (non pathogène)

Les bacilles

Forme	Mode de groupement	Schéma	Exemples
Droits 0 à 6 µm de long 0.5 à 2 µm de large extrémités plates, arrondies ou carrées	Isolés le plus souvent, en paires (diplobacilles), en chaînes		Famille des entérobactéries (commensales intestins), Genre <i>Bacillus</i> (sol, eaux, plantes ; pathogènes = anthracis (charbon), cereus et subtilis (intoxa alimentaire))
Incurvés			Genre <i>Vibrio</i> (<i>V. Cholerae</i> : choléra)
Coccobacilles Courts et larges, ressemblant à des coques			Genre <i>Acinetobacter</i> (infections nosocomiales), <i>Haemophilus influenza</i> (infections respiratoires, méningite de l'enfant, grippe espagnole)
Autres formes : Extrémités renflées Extrémités fuselées Extrémités en forme de crosse	Palissades ou lettres		Genre <i>Corynebacterium</i> (diphthérie) Genre <i>Fusobacterium</i> (infections bronchopulmonaires) Genre <i>Bifidobacterium</i> (flore intestinale : probiotique = protège contre bact patho)

Les bactéries spiralées

Forme	Mode de groupement	Schéma	Exemples
Distinction sur le nombre et l'amplitude des spirales	Isolés		Les spirochètes : <i>Treponema pallidum</i> (syphilis)

1TSBioT – cours microbio - Chapitre 2 : Morphologie et ultra structure des bactéries

Taille 5 à 500 μm			
------------------------------	--	--	--

Autres formes de bactéries

Forme	Schéma	Exemples
Bactéries pédonculées		Genre <i>Caulobacter</i> (<i>non patho</i>)
Bactéries filamenteuses		Genres <i>Actinomyces</i> (<i>svt associé à des inflammations sans être patho</i>) Genre <i>Streptomyces</i> (<i>tellurique = sol</i>)

II- Les constituants de la cellule bactérienneII-1- Schéma général simplifié d'une bactérie

Compléter le schéma général d'une bactérie (Document 2) en précisant les éléments constants et facultatifs

II-2- Éléments constants et inconstants de la structure bactérienne

Certaines structure sont présentes chez toutes les bactéries, ce sont les éléments « constants » ; d'autres sont retrouvés seulement chez certaines bactéries : ce sont les éléments « inconstants » ou « facultatifs ».

Construire avec eux et à partir du schéma précédent un tableau récapitulant les éléments constants et facultatifs :

Éléments CONSTANTS	Éléments FACULTATIFS
Paroi (Gram ⁺ : PG ; Gram ⁻ : mbr ext + PG) Membrane plasmique cytoplasme Périplasme (espace périplasmique) Ribosomes Polysomes Appareil nucléaire : chromosome unique	Capsule Mésosome (rôle incertain) Plasmide Vacuole à gaz (bactéries aquatiques) Inclusions de réserves Pili = fimbriae Flagelles Chromatophore (bactéries photosynthétiques) Endospore (bactéries sporulant)

Remplacer l'élément de la structure bactérienne qui correspond à chaque définition inscrite dans le tableau du Document 3.

III- Les éléments constants de la cellule bactérienneIII-1- La paroi bactériennea) Méthodes d'étude

- expériences de **plasmolyse** (cellule plongée dans un milieu hypertonique, la paroi se « décolle »)
- **broyage** des bactéries et **lyse par ultrasons**
- **congélation / décongélation**

On sépare ensuite les différents constituants par **centrifugation, lavages**.

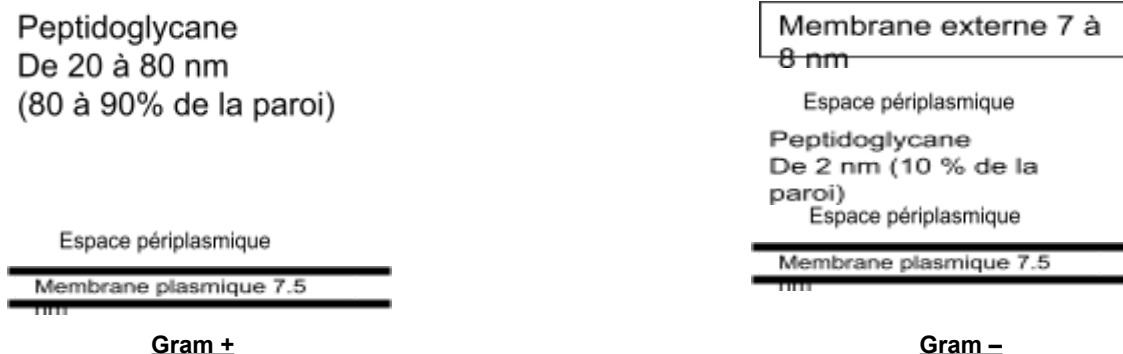
On passe ensuite à l'étude en **microscopie électronique** ou à l'étude chimique.

b) Aspect en microscopie électronique

On distingue 2 types de parois au microscope électronique : les Gram (+) et les Gram (-).

Voir Document 4.

À partir des 2 photographies présentées sur le Document 4, faire un dessin simplifié de la paroi des bactéries Gram⁺ et Gram⁻.



c) Structure chimique de la paroi

C.) Principaux constituants chimiques présents dans la paroi des bactéries Gram positif et Gram négatif :

Paroi des bactéries Gram (+)	Paroi des bactéries Gram (-)
Osamines : N-acétyl glucosamine (NAG) et Acide N-acétyl muramique (ANAM)	
Acides teïchoïques et lipoteïchoïques (polymères de polyribitol phosphate ou polyglycérol phosphate)	Pas d'acides teïchoïques ni lipoteïchoïques
Acides aminés dont 4 majeurs : Ala (D et L) D-Glu, L-Lys, acide diaminopomélrique (DAP)	Mêmes acides aminés (moins de L-Lys et de DAP)
Peu de lipides (1 à 2 %)	Lipides en grande quantité (10 à 20 % dans la membrane externe)

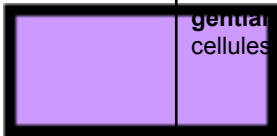
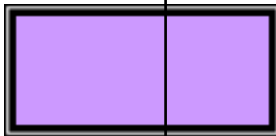
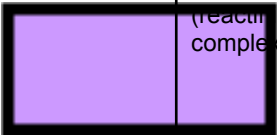
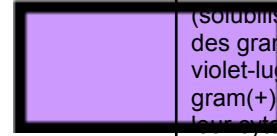
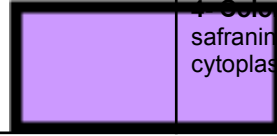
Légender les schémas des parois Gram (+) et (-) sur le Document 5.

C.) La membrane externe de la paroi des bactéries Gram (-) : elle est liée à la couche de peptidoglycane par la **lipoprotéine de Braun**. Elle est formée d'une bicouche dont seule la partie inférieure est phospholipidique. La partie supérieure est constituée de **LPS (lipopolysaccharide)**. Voir **Document 6**. Celui-ci comprend :

- une partie lipidique (**lipide A**) qui comporte une activité toxique
- liée à un polysaccharide central (le « **core** »)
- qui porte des chaînes de 3 à 6 sucres tournées vers l'extérieur (appelées « **l'antigène O** » car très antigénique)

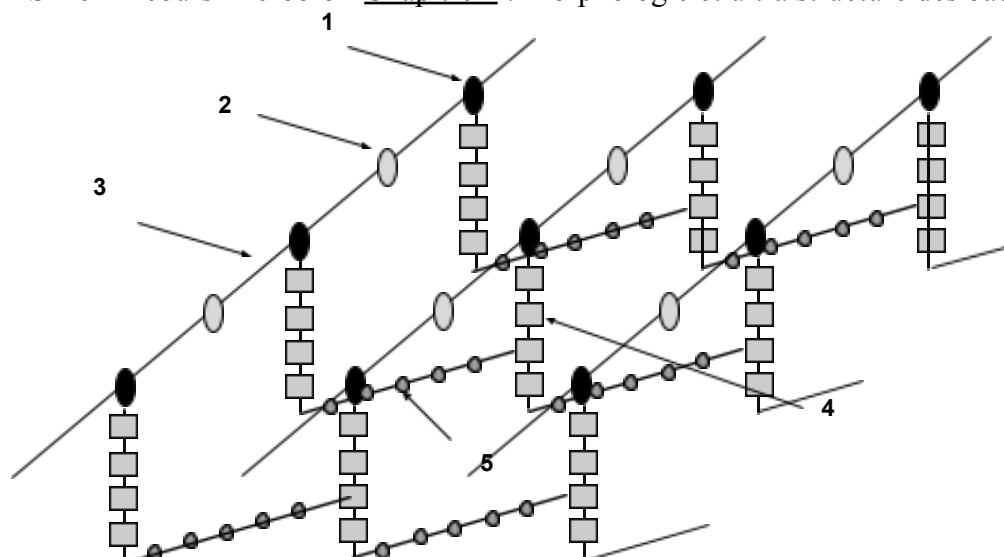
A cause du pouvoir toxique du lipide A, le LPS est appelé une « endotoxine ».

C.) La coloration de Gram : Les différences de constitution et de structure chimique des parois Gram (+) et Gram (-) permettent d'établir le principe de la **coloration élaborée par Christian GRAM** (1884) :

Bactérie Gram positif	étapes	Bactérie Gram négatif
	1- coloration par le violet de gentiane du cytoplasme des cellules	
	2- fixation du violet par le lugol (réactif iodo-ioduré) = formation de complexes violet-lugol	
	3- Décoloration par l'alcool (solubilise les lipides de la mbr ext des gram (-) et décolore le cpxe violet-lugol ; pas d'effet sur les gram(+)) car ne pénètre pas dans le cytoplasme	
	4- Coloration par la fuschine (ou safranine) qui recolore le cytoplasme des gram(-) en rose	

C.) Le peptidoglycane : On retrouve un composé commun dans les parois des bactéries Gram (+) et (-) : le **peptidoglycane** = muréine = mucopeptide. Il est composé de motifs glucidiques et peptidiques.

A partir des renseignements fournis par les Documents 6 et 7, faire un schéma simplifié du peptidoglycane en utilisant les représentations suivantes :



1: ANAM

2: NAG

3: liaison glucosidique β 1-4

4: tétrapeptide

5: pont interpeptidique

- Commencer par représenter un enchaînement de ANAM et NAG liés par liaison β 1-4
- Ajouter les tétrapeptides sur les ANAM
- Représenter une autre chaîne identique à proximité
- Établir les liaisons entre les chaînes grâce aux ponts interpeptidiques correctement positionnés.

C₅) L'espace périplasmique : il contient des enzymes qui participent à la nutrition (hydrolases) et des protéines qui sont impliquées dans le transport de molécules à l'intérieur de la cellule.
Les Gram (+) excrètent plutôt les enzymes hors de la cellule. Ce sont alors des « **exoenzymes** ».

g) Les rôles de la paroi

Afin d'étudier les rôles de la paroi, on utilise un enzyme lytique, le **lysozyme**.

Le lysozyme clive les liaisons β 1-4 glycosidiques entre le NAG et le ANAM. Il en résulte une destruction totale du peptidoglycane chez les bactéries Gram(+), et une fragmentation de celui-ci chez les Gram(-) car le peptidoglycane est moins accessible à cause de la membrane externe.

Expérience :

- 1- On place une souche de *Bacillus subtilis* (bacille Gram+) en **milieu hypotonique** : la bactérie se comporte normalement.
- 2- Si on ajoute du **lysozyme** à cette suspension, les bactéries gonflent et éclatent.
- 3- On fait la même expérience en **milieu isotonique**, les bactéries n'éclatent pas en présence de lysozyme, mais elles prennent une forme sphérique appelée : **PROTOPLASTE**. Les protoplastes ne possèdent plus les propriétés antigéniques de la bactérie, ne se divisent plus, ne fixent plus les bactériophages et sont incapables de mobilité.
- 4- On fait la même expérience avec *Escherichia coli* (bacille Gram-) : en **milieu isotonique + lysozyme**, les bactéries prennent une forme sphérique appelée : **SPHEROPLASTE**. Les sphéroplastes conservent toutes les propriétés initiales de la bactérie.

Voir Document 8

Rôle 1 de la paroi : assurer le maintien de la forme de la bactérie

Rôle 2 de la paroi : assurer une protection contre la pression osmotique intracellulaire (car forte concentration en métabolites à l'intérieur de la cellule >> l'eau rentre)

1TSBioT – cours microbio - Chapitre 2 : Morphologie et ultra structure des bactéries

Un protoplaste ne possède plus les propriétés antigéniques de la bactérie d'origine. En effet, on trouve comme antigènes pariétaux (= de la paroi) :

- chez les Gram(+): **peptidoglycane + acides téichoïques et lipoteïchoïques + polyside C** chez les streptocoques (voir TP sur le sérogroupage des streptocoques)
- chez les Gram(-): les **antigènes O du LPS** (voir Document 6) (voir TP sur le sérotypage des salmonelles)

Rôle 3 de la paroi : propriétés antigéniques

L'étude des protoplastes met également en évidence d'autres rôles :

Rôle 4 de la paroi : permettre la fixation des bactériophages. Ils reconnaissent des récepteurs localisés sur le peptidoglycane des Gram(+) ou la membrane externe des Gram(-). Cette propriété est utilisée pour l'identification de certaines bactéries : c'est la **lysotypie**.

Rôle 5 de la paroi: participer à la mobilité. En effet, les flagelles sont implantés dans la membrane cytoplasmique mais ne peuvent pas fonctionner en absence de peptidoglycane (d'où immobilité des protoplastes)

Rôle 6 de la paroi : toxicité. Chez les Gram(-), le LPS est une endotoxine (effet toxique porté par le lipide A) qui peut donner fièvres et lésions.

Rôle 7 de la paroi : perméabilité. La paroi laisse passer de petites molécules comme l'eau, les sels minéraux ou des métabolites simples. Par contre elle est plus ou moins perméable à certains solvants (exemple l'alcool. cf coloration de Gram)

e) Quelques parois bactériennes particulières

Certains groupes bactériens possèdent des parois très différentes de celles des Gram (+) et (-). C'est le cas notamment des **Archeobactéries** et des **Mycobactéries**.

Chez LES ARCHAEABACTERIES, la paroi a une structure et une composition très différentes des Eubactéries. Mais elles peuvent être colorées par la méthode de Gram et apparaissent soit Gram+, soit Gram- en fonction de la structure de leur paroi :

Les Gram + ont une paroi avec une couche épaisse et homogène de peptidoglycane mais différent de celui des Eubactéries, on parle de pseudomuréine.

Les Gram- n'ont pas de mb externe ni de peptidoglycane, mais elles possèdent une couche superficielle de sous-unités protéiques ou lipoprotéiques.

Chez les Gram +, la pseudomuréine contient seulement des AA L dans les ponts, de l'acide N-acétylalosaminuronique et pas de nam et des liaisons osidiques β 1-3 à la place de β 1-4.

Les mycobactéries sont des bacilles légèrement incurvés, se multipliant très lentement.

Leur paroi est très riche en lipides et contient des cires : acides gras en C60 (acides mycoliques), qui empêchent de « prendre » la coloration de Gram.

Ces bactéries sont dites : BAAR : bacilles acido-alcool-résistants. On les appelle aussi « bactéries sans paroi ».

Ex : *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium leprea*

Voir Document 9

III-2- Le cytoplasme

Délimité par la **membrane cytoplasmique**.

Sorte de gel contenant de l'eau et :

- **Des ribosomes**: interviennent dans la **synthèse des protéines**. Sont associés en chapelets sur l'ARNm sous forme de **polysomes**. Sont composés de **2 sous-unités** de taille différente (diamètre de 10 à 30 nm ; constante de sédimentation de 70S). Sont composés de **protéines et d'ARNr** (particules ribo-nucléiques). On peut les colorer par du **bleu de méthylène**.
- **Des substances de réserve = inclusions cytoplasmiques** : en général, chaque groupe de bactéries synthétise une seule catégorie de substances de réserve qui forment des agrégats, parfois de grande taille. Cela peut être des **glucides** (amidon et surtout glycogène), des **lipides** (poly-hydroxy-butyrate) et parfois des **minéraux** (fer, soufre).

1TSBioT – cours microbio - Chapitre 2 : Morphologie et ultra structure des bactéries

- réserves polysaccharidiques : amidon ou glycogène qui se forment en réponse à un excès de source de C alors que la source d'azote ou de S ou de P est limitante. Inclusions trouvées notamment chez les bactéries des genres *Bacillus*, *Micrococcus*, *Neisseria*.....
 - granules de PHB (= poly-béta-hydroxybutyrate) réservoirs de C et d'énergie qui s'accumulent quand les éléments nutritifs autres que la source de C deviennent limitants. Elles sont trouvées notamment chez les *Vibrio* et les *Pseudomonas*.
 - Granules de polyphosphates inorganiques ou volutine chez la plupart des bactéries ; ce sont des réserves de phosphate.
 - Des lipides et des esters d'acides gras à longues chaînes sont stockés dans des vacuoles chez les Mycobactéries notamment.
- **Des organites spécialisés** : différents de ceux trouvés dans les cellules eucaryotes. On trouve des **chromatophores** (organites spécialisés dans la photosynthèse), des **vacuoles à gaz** (permettant aux bactéries aquatiques de flotter à la surface de l'eau).
 - **Des pigments** : (= molécules colorées). On trouve des **bactériochlorophylles** (couleur verte) ou des **caroténoïdes** (couleur jaune de l'espèce *Staphylococcus aureus*).

Le pH du cytoplasme se situe autour de **7 – 7.2**.

III-3- L'appareil nucléaire

a) Techniques d'étude

Elles nécessitent de distinguer l'ADN des ARN, très nombreux dans le cytoplasme, qui masquent le chromosome bactérien.

- **Coloration de FEULGEN** : traitement à l'**acide chlorhydrique** (HCl) dilué qui libère le désoxyribose et ses fonctions aldéhyde. En présence de réactif de Schiff (colorant basique), les résidus aldéhydiques se colorent en rouge foncé.
- **Technique de BOIVIN** : destruction de l'ARN par une **ribonucléase**, puis coloration classique de l'ADN par un colorant basique (réactif de Schiff, bleu de méthylène...)
- **Autoradiographie** : on fait incorporer aux bactéries de la **thymidine tritiée** (base T spécifique de l'ADN) pendant leur croissance. La radioactivité résultante impressionne un film photographique.

b) Structure du chromosome bactérien

Le chromosome bactérien est une unique molécule d'ADN circulaire fermée et très longue (environ 1000 fois plus longue que la bactérie : 1360 µm chez *E.coli*) libre et pelotonnée dans le cytoplasme. L'absence de membrane nucléaire conduit à parler d'appareil nucléaire ou de nucléoïde plutôt que de noyau. Cet ADN est associé à des protéines notamment des topoisomérases qui interviennent dans le repliement de la molécule d'ADN, par contre on ne trouve pas d'histones comme chez les eucaryotes.

Une bactérie peut renfermer plus d'une copie de son chromosome , ceci dépend notamment des conditions de croissance ; les cellules en croissance rapide ont plus d'une copie car la réplication de l'ADN se met en route avant que la division cellulaire ne s'amorce et la séparation effective des deux cellules filles peut intervenir avec retard sur la réplication.

Voir Document 10

c) Rôles du chromosome bactérien

Il est le **support des caractères héréditaires**, de l'**information génétique**.

Il va **se répliquer à l'identique** pour que une cellule fille hérite du même potentiel génétique que la cellule mère (voir cours de BIOCHIMIE sur la REPLICATION)

III-4- La membrane cytoplasmique

a) Techniques d'étude

- Expériences de plasmolyse en milieu hypertonique.
- Microscopie électronique

b) Structure et composition chimique

1TSBioT – cours microbio - Chapitre 2 : Morphologie et ultra structure des bactéries

Elle possède le même type de structure que celle d'une cellule eucaryote (bicouche phospholipidique) mais avec **beaucoup moins de glucides et jamais de stérols** (sauf les mycoplasmes).

Elle est composée de **60 à 70 % de protéines** et **30 à 40 % de lipides**.

Voir Document 10

c) Rôles de la membrane cytoplasmique

C₁) Rôle de barrière semi-perméable (ou semi sélective): elle permet le passage de molécules lipophiles et empêche le passage des molécules hydrophiles.

On distingue 2 grands types de transport :

- ❖ **Le transport passif** : il se fait dans le **sens du gradient de concentration** et **ne nécessite pas d'énergie**.
- ❖ **Le transport actif** : il se fait en **sens inverse du gradient de concentration** des molécules, ce qui nécessite l'**utilisation d'énergie** (généralement fournie sous forme d'ATP)

Voir Document 10 bis

C₂) Site de fixation des flagelles (voir « les flagelles » plus loin)

C₃) Possède des protéines membranaires ayant pour rôles :

- ❖ **Enzymes** responsables de la **biosynthèse et de l'excrétion** dans l'espace périplasmique de **molécules nécessaires à la synthèse de la paroi**
- ❖ **Enzymes de la chaîne respiratoire** permettant la synthèse d'ATP
- ❖ **Transporteurs** de diverses molécules (ions, sucres, ...) dans les 2 sens.

Pour plus de détails sur les mécanismes de transport au travers de la membrane plasmique se reporter aux livres suivants : « Physiologie de la cellule bactérienne » de Neidhart et « Bactéries et environnement » de Pelmont

De plus la membrane joue un rôle important dans la détection de composés présents dans le milieu environnant grâce à la présence de protéines transmembranaires du chimiotactisme. Ceci permet aux bactéries dotées de flagelles de « nager » vers les endroits qui leur sont les plus favorables, les plus riches en nutriments par exemple et de s'éloigner des endroits défavorables comme ceux qui contiennent des substances toxiques. Ces protéines interviennent dans le sens de rotation des flagelles.

IV- Les éléments facultatifs de la cellule bactérienne

IV-1- La capsule

Pour qu'elle existe il faut que :

- la bactérie possède **les gènes codant pour sa fabrication**
- que la bactérie ait à sa disposition dans le milieu de culture **les éléments nécessaires à sa fabrication** (principalement des glucides).

a) Mise en évidence

- **Etat frais à l'encre de chine** : les bactéries apparaissent sur fond sombre avec un halo clair autour du corps bactérien qui correspond à la capsule.

Voir Document 11

- **Microscopie électronique**
- **Techniques immunochimiques** : des Ac anti-capsulaires se fixent sur les Ag capsulaires. Le complexe Ag-Ac précipite et augmente l'épaisseur de la capsule qui devient visible au microscope. Cette réaction est appelée : **Réaction de gonflement de la capsule de NEUFELD**.

b) Morphologie et structure chimique

1TSBioT – cours microbio - Chapitre 2 : Morphologie et ultra structure des bactéries

De nombreuses bactéries sont capables de synthétiser des polysides de surface. Parmi ces polysides de surface, on distingue de façon quelque peu arbitraire, la capsule et les couches muqueuses ou slime.

- soit une **couche gélatino-muqueuse**, bien définie, entourant un ou plusieurs corps bactériens (ex : Pneumocoques (*Streptococcus pneumoniae*) encapsulés en diplocoques ; *Klebsiella pneumoniae* encapsulée seule)
- soit une **couche diffuse et visqueuse**

Sur milieu solide, les colonies donnent un aspect caractéristique : **type M** (exemple : *Klebsiella pneumoniae*)

- **La capsule** est en général de nature **polysaccharidique**, et quelquefois **polypeptidique** (*Bacillus anthracis* ou *megatherium*).
- **Couche muqueuse ou slime** : couche diffuse, facilement séparable du corps bactérien. La production de slime est fréquente chez les bactéries aquatiques et particulièrement importante chez les bactéries du genre *Zooglea* qui produisent des masses gluantes. Certains polysides produits par des bactéries ont un intérêt industriel et sont produits comme gélifiant notamment en industries alimentaires : *Leuconostoc mesenteroides* produit des dextrans, *Xanthomonas* des xanthanes ...
- **Couche S** : couche de surface cristalline de découverte relativement récente car elle ne peut être mise en évidence que par microscopie électronique. Elle est constituée de sous unités protéiques organisées de façon cristalline selon un système géométrique carré, hexagonal ou oblique (ressemble à la cote de maille des armures). Elle a été trouvée chez des Archeobactéries (*Methanococcus* par ex) et chez des Bactéria (*Chlamydia*, *Treponema*, *Helicobacter*, *Bacillus Clostridium* ...). 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.

c) Rôles et propriétés

La capsule n'a pas un rôle vital pour la bactérie (sans elle, elle peut vivre et se multiplier), mais elle peut être utile à la bactérie grâce à ses rôles :

- **De protection** : contre les UV, la dessiccation, les agents physiques et chimiques
- **Dans le pouvoir pathogène** :
 - Elle s'oppose à la phagocytose en diminuant l'adhésion de bactéries aux macrophages
 - Elle exerce un chimiotactisme négatif sur les leucocytes
 - Elle empêche la pénétration des antibiotiques

Ainsi pour certains germes (ex : pneumocoques), une perte de la capsule correspond à une perte de la virulence.

- **Antigénique** : les Ag capsulaires sont responsables de la spécificité sérologique (Ag K). A partir de cette propriété, une classification peut être établie (ex : 70 types sérologiques différents chez *Streptococcus pneumoniae*).

IV-2- Les flagelles

Ce sont des organes locomoteurs spécialisés. Ils sont très rares chez les coques.

a) Mise en évidence

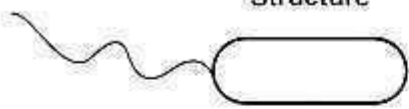
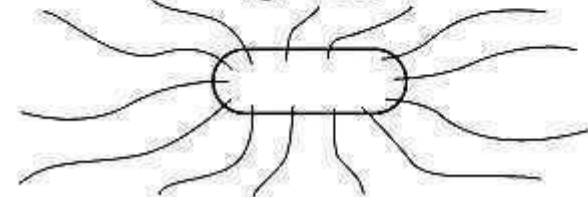
- **Indirecte** : état frais (bactéries en mouvement) ou en milieu semi-gélosé (MM)
- **Directe** : en **microscopie optique** après avoir épaissi les flagelles par des colorations spéciales (Rhodes, Leifson : fuschine basique) ; ou en **microscopie électronique**.

Voir Document 11

b) Morphologie et mode d'insertion

Ils mesurent en moyenne 16 à 20 µm (beaucoup plus que la bactérie) et sont très fins (300 Å d'épaisseur).

Il existe différents modes d'insertion des flagelles, selon le nombre et la position de ceux-ci :

Structure	Flagella Type	Example	
	Monotrichous	<i>Vibrio cholerae</i>	Insertions olaires
	Lophotrichous	<i>Bartonella bacilliformis</i>	
	Amphitrichous	<i>Spirillum serpens</i>	ertion ritriche
	Peritrichous	<i>Escherichia coli</i>	

Ils sont fixés à la bactérie par insertion **dans la membrane cytoplasmique**.

Ils sont mobiles par rotation, comme une hélice, grâce à un mécanisme similaire à un « rotor » fonctionnant grâce à l'énergie fournie par un gradient de protons.

Le mécanisme de rotation s'effectue grâce à un complexe situé dans la paroi.

c) Architecture moléculaire

Le flagelle bactérien est constitué de **3 parties** :

- le **filament hélicoïdal**
- le **crochet**
- le **corpuscule basal**

c₁) Le filament

C'est un **cylindre creux** constitué d'une seule protéine multimérique : la **flagelline** (PM : 30.000 à 60.000 g/mol). La flagelline, **protéine fibreuse**, se positionne en hélice rigide qui tourne à la manière de l'hélice d'un bateau.

c₂) Le crochet

Il lie le filament au corpuscule basal.

Il a la **même composition que le filament**, mais à cet endroit, la flagelline ne possède **pas le même pas d'hélice**, ce qui permet la **formation d'un coude**.

Le crochet est **plus court** que le filament, mais **plus large**. **Très flexible**, il permet d'induire le mouvement de la bactérie.

La **jonction crochet-filament** est assurée par des « **protéines associées au crochet** » = protéines **HAP** (Hook Associated Proteins).

c₃) Le corpuscule basal

Enfoui dans la cellule, il insère le flagelle dans le corps cellulaire.

Son architecture, assez complexe, peut être simplifiée en **3 parties** :

- une partie mobile = **le rotor**
- une partie fixe = **le stator**
- **un inverseur** qui déclenche le mouvement soit dans le sens des aiguilles d'une montre (CW) soit dans le sens inverse (CCW)

Sa **composition est différente** chez les bactéries Gram (+) et Gram (-).

Voir Document 12

d) Synthèse du flagelle

1TSBioT – cours microbio - Chapitre 2 : Morphologie et ultra structure des bactéries
20 à 30 gènes sont impliqués dans la synthèse des flagelles.

La synthèse du flagelle se fait par un **assemblage séquentiel** des différents composants : disques, du corps basal, puis du crochet et enfin du filament.

Voir Document 12

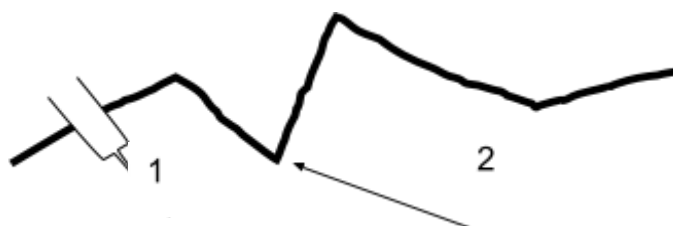
e) Fonctionnement du flagelle

- C'est une **force « proton motrice »** qui est responsable de la rotation (mécanisme pas totalement élucidé).

C'est-à-dire qu'un **gradient de protons** se dispersant au travers des 2 anneaux fournit l'énergie nécessaire à la rotation.

L'ATP ne semble pas être impliqué dans la rotation du flagelle.

- Selon le sens de rotation du flagelle, la bactérie ne se comporte pas de la même manière :



1 : Dans le **sens inverse des aiguilles d'une montre** (CCW), la bactérie **avance** en tournant légèrement sur elle-même

2 : Dans le **sens des aiguilles d'une montre** (CW), la bactérie **culbute** et change alors de direction pour repartir en avant avec les flagelles tournant CCW.

Remarque : pour les ciliatures péritriches :

1 : tous les flagelles sont regroupés à l'arrière du corps bactérien (comme les tentacules d'un poulpe)

2 : les flagelles se dispersent autour du corps bactérien et la bactérie culbute.

f) Rôles des flagelles

f₁) La locomotion

Mises en évidence sur des **milieux semi-gélosés** (diffusion dans la gélose) ou sur **milieu solide** (envahissement de la surface de la boîte. Ex : *Proteus*).

f₂) Rôle antigénique

Les **antigènes flagellaires (Ag H)** déterminent différents sérotypes (exemple : sérotypage des *Salmonella*. Voir TP). En présence de l'anticorps correspondant à leur Ag H, les bactéries agglutinent et les bactéries s'immobilisent.

La **spécificité antigénique** repose sur le **nombre et la séquence des acides aminés** de la flagelline.

f₃) Fixation des bactériophages

Les flagelles sont le **lieu de fixation de certains bactériophages**.

f₄) Le chimiotactisme

Certaines substances attirent les bactéries mobiles, d'autres les repoussent.

1TSBioT – cours microbio - Chapitre 2 : Morphologie et ultra structure des bactéries

Selon la composition du milieu de culture, on distingue **2 types de trajectoires** :



Les mouvements se font **au hasard**, les **courses sont courtes**, les **culbutes sont fréquentes**, et il ne se dégage pas une direction privilégiée.

Le milieu de culture est donc **neutre**.

Voir Document 13



Les **courses sont plus longues**, les **culbutes moins fréquentes**, et une **direction privilégiée** apparaît en fonction d'un **gradient de substances attractives ou répulsives**.

IV-3- Les pili ou fimbriae

(*Fimbriae* = « **filament** » ou « **fibre** » en latin ; *pili* = « **cheveu** » ou « **structure chevelue** » en latin)

Ce sont des **structures filiformes**, différentes des flagelles, qui sont quasi systématiques chez les Gram (-) et rares chez les Gram (+).

Ils sont de **nature protéique**.

On distingue 2 sortes de pili :

- **Les pili communs ou de type I** : ils sont **nombreux** autour de la bactérie, **courts** (de l'ordre de 1µm) et **rigides** (*on les appelle également des cils*). Ils sont impliqués dans les **propriétés d'adhésion** des bactéries aux tissus. Ils constituent donc un **facteur de virulence** pour les bactéries pathogènes.
- **Les pili sexuels ou de type II** : ils sont **plus longs** (10 µm environ) et se terminent par un renflement. Leur nombre varie **entre 1 et 4**. Ils ont un rôle dans la **conjugaison bactérienne** (un des 3 modes de transfert de matériel génétique d'une bactérie à une autre).

Les pili de la bactérie donatrice vont permettre de **reconnaître une bactérie réceptrice** (de l'amarrer) et entraîner la création d'un **pont cytoplasmique** entre les 2 bactéries, permettant ainsi le passage d'une molécule d'ADN.

Voir document 14 (pili communs)

IV-4- Les plasmides

Ce sont des molécules d'**ADN bicaténaire, extra-chromosomiques**, plus petites que le chromosome bactérien (environ 1.000 à 3.000 pb soit **1/100 du chromosome**), capables d'**autoréplication**.

Certains plasmides peuvent **s'intégrer au chromosome bactérien** : on les appelle des **épisomes**.

Les plasmides apportent du **matériel génétique supplémentaire** à la bactérie, qui code pour des **caractères additionnels**, mais **non indispensables** au métabolisme normal de la cellule bactérienne.

Non indispensables à la survie de l'espèce, ces plasmides confèrent aux bactéries qui les hébergent des avantages sélectifs importants : ils portent des gènes codant des résistances aux antibiotiques, à des métaux lourds, des gènes codant des voies métaboliques nouvelles comme la possibilité d'utiliser des hydrocarbures et des dérivés organiques complexes (très fréquents chez les bactéries du genre *Pseudomonas*). Certaines bactéries portent aussi des gènes codant la synthèse de substances comme des antibiotiques, des toxines et des facteurs de virulence.

Remarque : importance des plasmides portant des gènes de résistance aux antibiotiques dans l'augmentation des cas d'infections nosocomiales.

Ces plasmides peuvent se **transférer d'une bactérie à une autre** par différents mécanismes (voir cours de génétique bactérienne).

1TSBioT – cours microbio - Chapitre 2 : Morphologie et ultra structure des bactéries

Les plasmides sont des outils très utiles en **génie génétique** : on introduit dans une bactérie des **gènes non bactériens** portés par des plasmides, afin de lui faire acquérir de **nouveaux caractères** (exemples : synthèse d'insuline, d'hormone de croissance, vaccin HBV...).

IV-5- Les spores

Ce sont des **structures de résistance** formées par certaines bactéries lorsque les **conditions deviennent défavorables** (carence en éléments nutritifs ...).

Trois genres bactériens sont caractérisés par des **endospores** : *Bacillus*, *Clostridium* et *Sporosarcina*. Ce sont toutes des bactéries Gram (+).

a) Mise en évidence

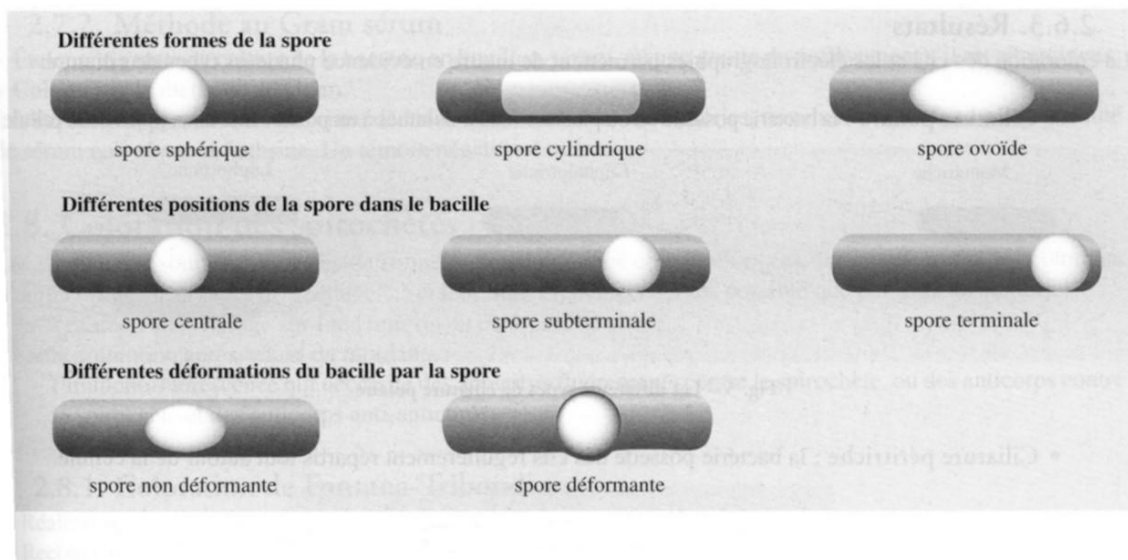
- Les spores sont visibles à la **coloration de Gram** où elles apparaissent comme des espaces vides à l'intérieur des bactéries : seul le contour de la spore apparaît coloré.
- A l'**état frais**, elles apparaissent comme de petites masses réfringentes au sein de la bactérie, ou libres dans le milieu.
- Il existe des colorations spéciales basées sur le **caractère acido-alcool-résistant** des spores. Exemple : **coloration au vert de malachite = coloration de Benito-Trujillo**. Après une contre coloration par la fushine, les spores apparaissent verte dans la bactérie rose.

Voir Document 14

b) Morphologie et structure

Les spores sont de petites unités **ovales ou sphériques**.

Elles peuvent **déformer ou non** le corps bactérien. Leur **position** dans la cellule est variable : centrale, terminale, subterminale.



La spore peut-être **libre ou non** (**voir spores de *B. anthracis* sur Document 14**)

La recherche de tous ces caractères se fait dans un **but taxonomique**.

c) Composition chimique

La spore possède de nombreuses enveloppes. **Voir Document 14**

La spore se différencie de la cellule végétative par :

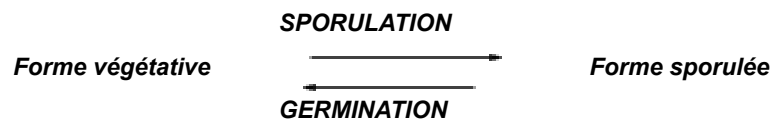
- une faible teneur en eau (**d'où résistance à la dessiccation**)

1TSBioT – cours microbio - Chapitre 2 : Morphologie et ultra structure des bactéries

- une faible teneur en enzymes (activité métabolique réduite)
- la présence de **dipicholinate de calcium** dans une enveloppe particulière : le **cortex**
- une diminution du nombre de liaisons entre NAM et NAG
- la présence de protéines de type kératine dans les tuniques

d) Le cycle sporal

Il représente le passage de la forme végétative à la forme sporulée et inversement :



Afin que la spore **germe**, elle doit se trouver dans des **conditions favorables** : eau, nutriments, pH, force ionique, température convenable, pas d'agents antimicrobiens.

Inversement, des conditions défavorables de croissance entraînent la sporulation ou l'absence de germination de la spore.

e) Les étapes de la sporulation

La sporulation dure environ **7 heures**.

Voir « Les différentes étapes de la sporulation » : Documents 15 à compléter par des schémas

La sporulation :

Elle est provoquée par l'épuisement du milieu en substrat nutritif et elle peut nécessiter des conditions particulières : absence d'oxygène pour les *Clostridium*, présence d'oxygène au contraire pour *Bacillus anthracis*. Le processus de sporulation débute à la fin de la phase exponentielle et se déroule en 6 étapes :

- stade 1 formation du filament axial : la division nucléaire n'étant pas suivie d'une division cellulaire, les deux génomes fusionnent donnant un filament chromatique axial
- stade 2 : 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.
- Stade 3 : Ce septum va envelopper le cytoplasme de la plus petite partie pour former une préspore caractéristique
- Stade 4 : entre les deux membranes limitant la préspore se forme la paroi sporale puis apparaît rapidement le cortex
- Stades 5 et 6 : apparition des tuniques et après maturation, la cellule végétative se lyse et libère la spore.

f) Propriétés de la spore

La spore possède de nouvelles propriétés par rapport à la cellule végétative :

▪ Thermo résistance :

La spore résiste en général à des températures de **70-80°C pendant 10 minutes**, parfois plus. Cette propriété est due à la présence de l'**acide dipicholinique** et à la **déshydratation de la spore**. (Les protéines et les acides nucléiques à l'état déshydratés sont très résistants à la dénaturation thermique).

Cette propriété entraîne des problèmes importants dans les hôpitaux, les salles de chirurgie et les industries alimentaires (*Clostridium tetani* >> tétanos ; *C. botulinum* >> botulisme)

▪ Résistance aux agents physiques et chimiques :

La spore résiste aux rayons UV, X, ultrasons, antiseptiques, désinfectants, ATB (un ATB bactéricide pour une bactérie peut s'avérer simplement sporostatique pour les spores de la même bactérie). Cela pose également des problèmes dans les hôpitaux.

▪ Résistance à la dessiccation et au vieillissement :

1TSBioT – cours microbio - Chapitre 2 : Morphologie et ultra structure des bactéries

Ces phénomènes semblent dus à la **faible teneur en eau** et au **métabolisme ralenti** : on parle **d'état de dormance**.

- **Synthèse d'antibiotiques** :

Certaines bactéries synthétisent des ATB au début de la phase de sporulation. **Exemple** : *Bacillus licheniformis* synthétise ainsi la **Bacitracine** ; *Bacillus polymyxa* le **polymyxine**

Mais aussi des toxines (entérotoxine de *Clostridium perfringens*) ou des substances à activité biopesticide (toxines létales pour des insectes) comme le corps parasporal de *Bacillus thuringiensis* et de *Bacillus sphaericus* .

g) **La germination :**

Placée dans des conditions favorables (eau glucose acides aminés) la spore redonne naissance à une cellule végétative. On distingue 3 stades dans le processus de germination :

- a. **L'activation** : correspondant à une lésion des enveloppes sporales par des agents physiques (choc thermique) ou chimiques (acides, lysozyme ...) ou mécaniques (abrasion, choc). **Remarque : l'activation thermique est mise à profit au cours de la tyndallisation qui consiste à chauffer 3 fois le produit à stériliser : 30 min à 60°C (destruction des formes végétatives et induction de la germination d'éventuelles spores), le deuxième chauffage à 60°C 30 minutes tue les spores issues de la germination et induit la germination des spores résiduelles et le troisième chauffage dans les mêmes conditions détruit les dernières formes végétatives.**
- b. **L'initiation** débute en présence de conditions favorables d'hydratation et de métabolites effecteurs (alanine, magnésium adénosine ...) qui pénètrent à travers les enveloppes endommagées. Des enzymes hydrolytiques dégradent les constituants de la spore ; il y a libération du dipicolinate de calcium. Le cortex détruit la spore s'imbibe d'eau et gonfle.
- c. **L'émergence** de la nouvelle cellule végétative : grâce à l'altération des enveloppes