

Matière Physiologie et Génétique Bactérienne (PGB)

Chapitre I : La cellule procaryote (structure et fonction)

● La cellule :

La cellule est une unité fondamentale, structurale et fonctionnelle des organismes vivants. Elle peut remplir toutes les fonctions de l'organisme, à savoir le métabolisme, le mouvement, la croissance, la reproduction ou encore la transmission de gènes. C'est une entité vivante qui fonctionne de manière autonome, tout en restant coordonnée avec les autres. On en distingue deux types :

- 1- Les cellules eucaryotes : elles possèdent un noyau contenant le matériel génétique (exemple : l'homme, la levure).
- 2- Les cellules procaryotes : elles sont dépourvues de noyau, leur matériel génétique est donc libre dans la cellule (exemple : les bactéries).

Attention les virus, ou acaryotes, sont des éléments (et non des cellules) qui ne possèdent ni de noyaux ni de cytoplasme et ne peuvent se reproduire qu'en parasitant une cellule hôte en détournant la machinerie cellulaire.

❖ **Les caractères distinctifs entre procaryote et eucaryote :**

A- Les procaryotes :

- ✚ Ne possèdent pas de noyaux
- ✚ Possèdent un ADN circulaire ou linéaire, situé dans le cytoplasme
- ✚ La réplication, la transcription et la traduction de l'ADN se fait directement dans le cytoplasme.
- ✚ Les procaryotes n'ont pas de cloisonnement cytoplasmique
- ✚ La membrane est doublée d'une couche de peptidoglycane formant la paroi cellulaire
- ✚ La substance fondamentale du cytoplasme est appelé le **cytosol** qui est rigide chez les procaryotes, avec une absence de flux (ni exocytose, ni endocytose)
- ✚ Ne possèdent ni organites ni cytosquelette.

B- Les eucaryotes :

- ✚ Possèdent un noyau qui est l'organite le plus volumineux
- ✚ Noyau est délimité par une double membrane appelée enveloppe nucléaire.
- ✚ Dans le noyau se réalise la réplication et la transcription de l'ADN

- ✚ la traduction se fait dans le cytoplasme de la cellule.
- ✚ Présence d'organites (noyau réticulum endoplasmique, appareil de golgi, lysosomes)
- ✚ Ces organites nagent dans le cytosol (fluide)
- ✚ Les membranes plasmiques ne sont pas doublées d'une paroi pour les animaux, mais doublées pour les végétaux (**paroi pecto-cellulosique**) et pour les champignons (**paroi polysaccharidique**)

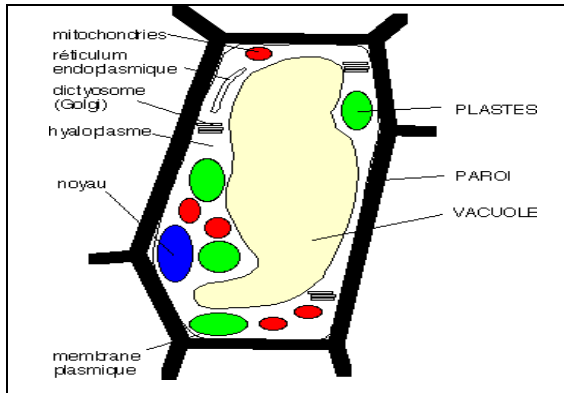


Fig. 01 : Schéma général d'une cellule végétale.

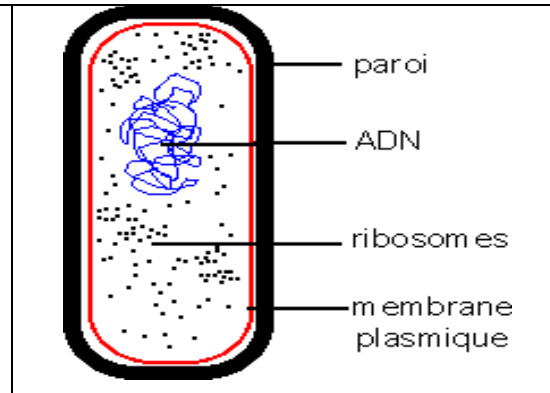


Fig. 02 : Bactérie (cellule procaryote), pas d'organite différencié et en particulier pas de noyau.

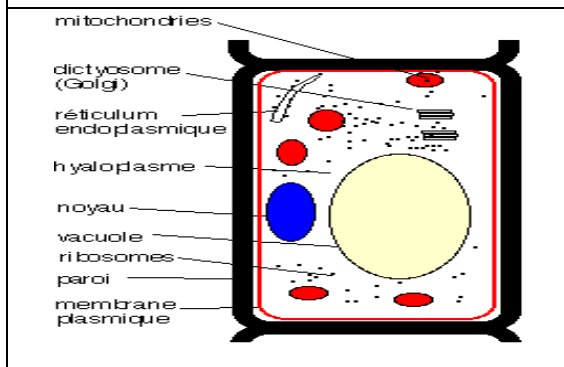


Fig. 03 : Schéma général d'une cellule végétale.

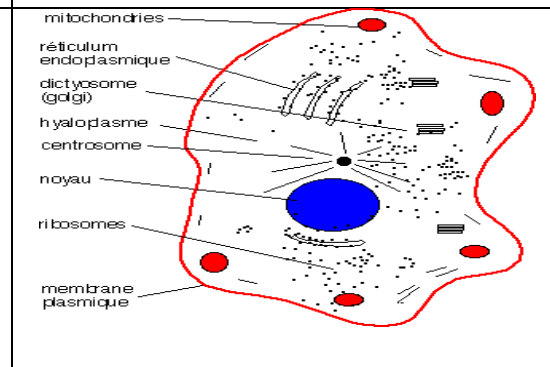


Fig. 04 : Bactérie (cellule procaryote), pas d'organite différencié et en particulier pas de noyau.

● La cellule procaryote :

Les procaryotes (**Prokaryota**) sont des bactéries et des archées dont la taille est de l'ordre de 0,01 mm, comme les coques, les bacilles ou les spirilles. Ils possèdent une paroi cellulaire (**polypeptides, polysaccharides**) et un ADN circulaire généralement unique (de nombreux procaryotes ont plusieurs chromosomes comme **Rhodobacter** qui en possède deux ou **Deinococcus** qui en a quatre). Les procaryotes possèdent également parfois des

plasmides. À l'inverse du noyau chez les cellules eucaryotes, la cellule procaryote possède un filament d'ADN qui contient l'information génétique qui n'est protégée que par une membrane plasmique.

❖ Les cellules procaryotes sont divisées en deux types cellulaires :

- ✚ Les **archéobactéries** qui prennent en compte les cellules méthanogènes, les cellules halophiles et les cellules thermoacidophiles. Les archéobactéries sont les premières à coloniser les roches nues car elles survivent avec le minimum de ressources.
- ✚ Les **eubactéries** (ou « **vraie-bactérie** ») sont les plus proches des bactéries actuelles. Elles prennent en compte les bactéries **contemporaines**, les **mycoplasmes** et les **cyanobactéries**.

Le procaryote classique est *Escherichia.coli* (ou *E-coli*), qui est une bactérie habitant dans la flore intestinale humaine grâce à une paroi cellulaire rigide.

Les bactéries se distinguent de part leurs parois cellulaires mise en évidence par la coloration de Gram. On trouve des bactéries « gram + » et des bactéries « gram – » :

- ✚ Les **bactéries gram +** retiennent le colorant, coloration violette. Leurs parois possèdent une couche unique de peptidoglycane qui repose sur la membrane plasmique, les deux constituent la paroi cellulaire. On pourra prendre comme exemple les staphylocoques.
- ✚ Les **bactéries gram –** sont beaucoup plus perméables au colorant, coloration rose. Leurs parois sont constituées d'une couche fine de peptidoglycane qui repose sur la membrane plasmique entourée par une membrane externe : il y a donc trois couches. L'exemple le plus pertinent sera *Escherichia.coli*.

Les cellules procaryotes contiennent un compartiment unique, le cytoplasme, contenant un chromosome ou une molécule d'ADN unique qui est le plus souvent circulaire et que l'on appelle le **nucléoïde**. Les bactéries se répliquent rapidement par division cellulaire ou scissiparité. Elles peuvent être pathogènes ou non pathogènes.

Une cellule bactérienne est composée d'éléments **constants (essentiels)**, présents chez quasiment toutes les bactéries, et éléments **facultatifs**, observés ou non en fonction des espèces (Tableau 1 et figure 5).

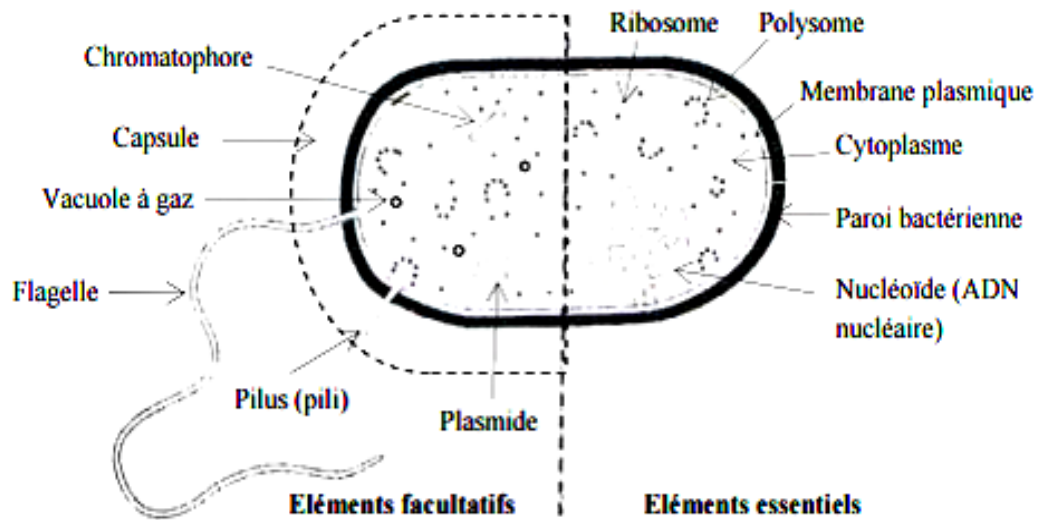


Figure 5 : Organisation de la cellule procaryote.

Tableau 1 : les éléments constants et facultatifs d'une bactérie.

Les éléments constants	Les éléments facultatifs
La paroi (enveloppe rigide protégeant la cellule)	Les fimbriae (rôle d'adhésion aux cellules de l'hôte)
La membrane plasmique (délimitant la cellule)	Les pili sexuels (intervenant dans la conjugaison)
Les ribosomes (présents dans le cytoplasme)	Les flagelles (permettant aux bactéries de se déplacer)
Le cytoplasme (le -liquide cellulaire-)	La capsule (couche entourant la paroi)
Le chromosome bactérien (constitué d'ADN)	La spore (forme de résistance)

Les éléments constants

○ Les enveloppes:

Ensemble de structures qui délimite et protège l'extérieur des bactéries. Ces enveloppes peuvent donc présenter des structures variées et ceci en fonction des milieux de vie.

- ✚ Structure minimale: membrane cytoplasmique.
- ✚ Seconde structure: paroi G(+) et G(-) (Figure 6).
- ✚ Troisième structure: couche externe, notamment capsule, couche protéique et exopolymère.

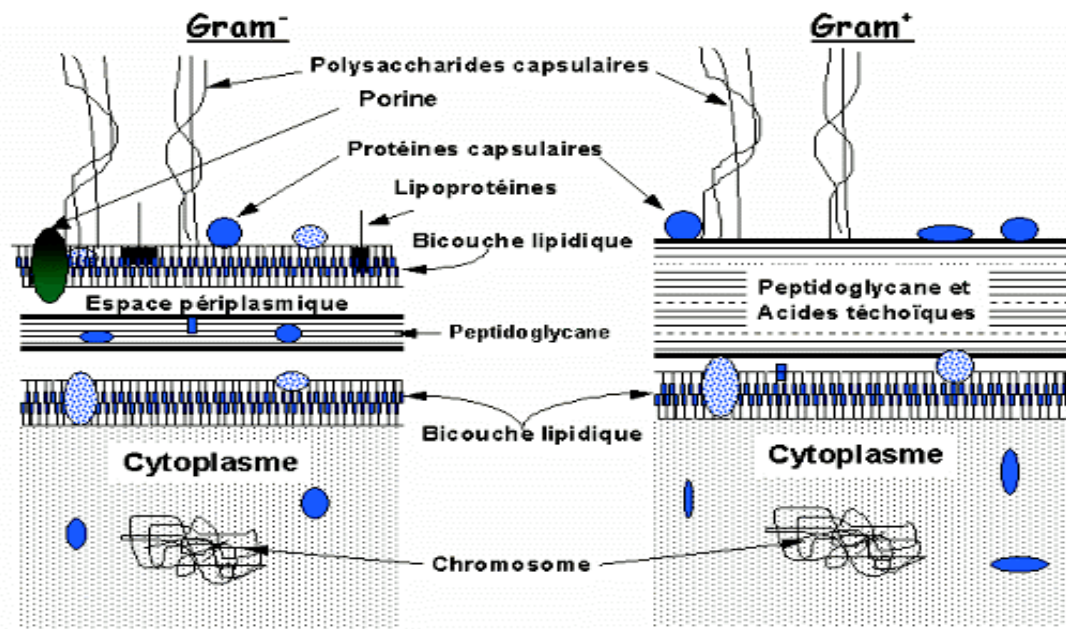


Figure 6 : Structures de la membrane et de la paroi de peptidoglycane chez les bactéries Gram+/Gram-

● La paroi bactérienne :

C'est une enveloppe rigide assurant l'intégrité de la bactérie, donc responsable de la forme des cellules. Elle protège des variations de pression osmotique (5-20 atmosphères). Elle est absente chez les **Mollicutes** (Mycoplasma). En dehors des bactéries halophiles et thermophiles, la partie commune à toutes les parois bactériennes est le peptidoglycane (ou muréine), enveloppe la plus interne.

Mollicutes : les Mollicutes sont une classe de bactéries de très petite taille, dépourvues de paroi cellulaire rigide et caractérisées par un génome inhabituellement petit. Le mot Mollicutes vient du latin mollis, et cutis. Ce sont des parasites de divers animaux et plantes, vivant sur ou dans les cellules de l'hôte.

La composition de la paroi n'est pas la même d'un groupe de bactéries à l'autre. Il ne faut pas confondre paroi et enveloppe bactérienne. La paroi n'est qu'un élément de l'enveloppe

cellulaire bactérienne. On trouve deux grands types d'enveloppe bactérienne, originellement basés sur un résultat différent à la coloration de Gram :

- ✚ Les bactéries à **Gram négatif** possèdent une enveloppe cellulaire constituée d'une membrane cytoplasmique (ou membrane interne), d'un périplasme contenant une paroi fine, et d'une membrane externe.
- ✚ Les bactéries à **Gram positif** possèdent une enveloppe cellulaire constituée d'une membrane cytoplasmique et d'une épaisse paroi ; puisqu'elles n'ont qu'une membrane biologique.

Toutes les parois sont composées de **peptidoglycanes** (Figure 6) de très grande taille qui entoure toute la bactérie, constituée de plusieurs chaînes de sucres liés par des ponts peptidiques. Les sucres peuvent être de l'acide N acétyl muramique ou du N-acétyl glucosamine.

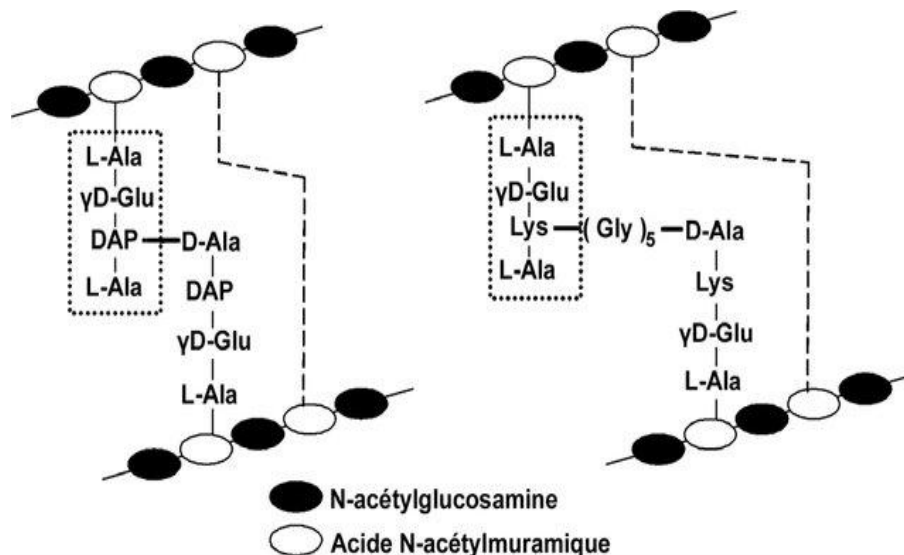


Figure 6 : Peptidoglycane.

- ✚ Dans la paroi bactérienne **GRAM +** on constate la présence d'un **peptidoglycane** épais (15 à 30nm) plus riche en liaison inter peptidique. Ce peptidoglycane est séparé par un espace périplasmique. Il renferme un autre composant : les acides téichoïques au contact de la paroi. Ce sont des lipides toujours fixés sur les N acetylglucosamines qui jouent le rôle de récepteur (= rôle antigénique). D'autres lipides complexes se fixent sur la membrane plasmique : les acides lipotéichoïques (rôle secondaire).

✚ Dans la paroi bactérienne GRAM - le peptidoglycane se présente sous la forme d'une couche mince (3 à 5nm) surmontée d'une membrane complexe supplémentaire : la membrane externe. Elle est séparée de la membrane plasmique par l'espace périplasmique (donc le peptidoglycane est au milieu de l'espace). La membrane externe est formée d'une couche phospholipidique intérieure surmontée de macromolécules LPS (lipopolysaccharides). Le LPS renferme un lipide A toxique, la partie polysaccharide est souvent composée d'une longue chaîne de sucres distincts en fonction des espèces (exemple : chaînes latérales O). Le LPS joue un rôle antigénique (immunogène) et pathogène (entraîne de nombreux symptômes différents en fonction des espèces) On trouve également des protéines intégrées dans la membrane externe : les protéines de transport (porines) et des lipoprotéines entre le peptidoglycane et la membrane externe (lipoprotéines de Braun) consolidant la paroi bactérienne. La paroi assure donc un passage sélectif des substances, elle a un rôle antigénique, et protecteur contre les chocs osmotiques. Enfin, la paroi joue également le rôle de point d'impact pour les agents antibactériens (Figure 7).

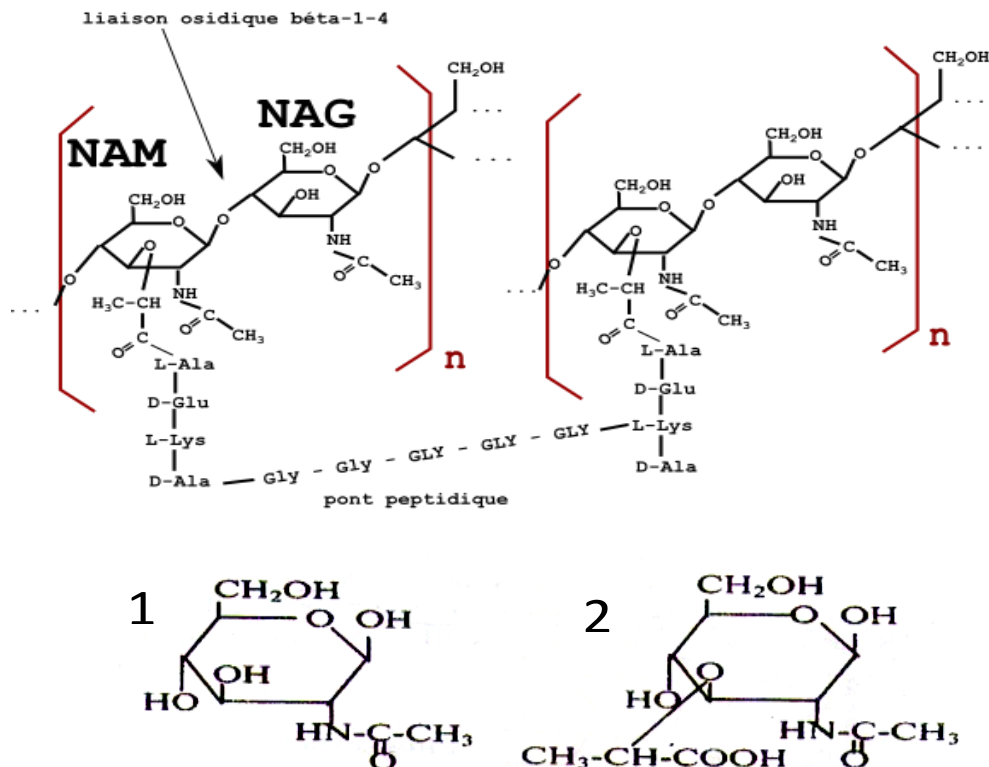


Figure 7 : Figure plus chimique montrant la structure exacte de la N-acetyl glucosamine (NAG)(1) et de l'acide N-acetyl-muramique (NAM)(2) et leur liaison en β-1-4.

❖ **Coloration de Gram :**

Les bactéries peuvent être groupées en 2 catégories selon la méthode de coloration de Gram. Cette technique a été mise au point en 1884 par Hans Christian Gram, un bactériologiste danois. Après coloration, les bactéries Gram+ deviennent violettes alors que les bactéries Gram- apparaissent en rose. La répartition des bactéries en Gram+ ou Gram- est un critère systématique important pour la classification des bactéries. En outre, la coloration de Gram reste une étape essentielle dans l'analyse médicale pour la détermination des pathogènes. Elle permet de visualiser facilement les bactéries et de donner des indications sur leurs formes et leurs tailles (Figure 8).

➤ **Réalisation du frottis :**

Elle nécessite d'avoir un frottis fixé, soit

- 1- par l'alcool durant 5 minutes (et rinçage à l'eau),
- 2- plus classiquement en effectuant une fixation simple à l'eau et à la flamme selon les indications suivantes : sur une lame, déposer une goutte d'eau stérile. Ajouter à l'anse de platine stérilisée une goutte de la colonie isolée. Étaler et fixer à la chaleur à environ 40°C pendant 10 à 15 minutes. Poser la lame séchée sur le portoir reposant sur un bac de coloration.

➤ **Réalisation de la coloration :**

Voici succinctement les différentes étapes de cette coloration :

- 1) Coloration par le violet de gentiane ou cristal violet. Laisser agir de 30 secondes à 1 minute. Rincer à l'eau déminéralisée.
- 2) Mordançage au lugol (solution d'iode iodo-iodurée): étaler le lugol et laisser agir 20 secondes ; Rincer à l'eau déminéralisée. On peut réaliser une deuxième fois l'opération identiquement pour plus de sécurité.
- 3) Décoloration (rapide) à l'alcool (+acétone): verser goutte à goutte l'alcool ou un mélange alcool-acétone sur la lame inclinée obliquement, et surveiller la décoloration (5 à 10 secondes). Le filet doit être clair à la fin de la décoloration. Rincer sous un filet d'eau déminéralisée;
- 4) Recoloration à la safranine ou à la fuschine. Laisser agir de 30 secondes à 1 minute. Laver doucement à l'eau déminéralisée. Sécher la lame sur une platine chauffante à 40°C, 10 à 15 minutes.
- 5) Observer avec une goutte d'huile à immersion objectif 100 (grossissement x1000).

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

L'étape 3 (alcool) sert à décolorer le cytoplasme des bactéries qui seront dites " Gram négatives ". En effet, celles ci ont une paroi riche en lipides (phospholipides, LPS) qui va laisser passer l'alcool (molécule lipophile) ou le mélange alcool-acétone, et qui décolorera le cytoplasme en éliminant le violet de gentiane. Au contraire, pour les bactéries dites " Gram positif " la paroi constitue une barrière imperméable à l'alcool car trop épaisse et gluco-protéique. Elles resteront alors violettes.

L'étape 4 est une contre-coloration ayant pour but de redonner aux bactéries Gram négatives précédemment décolorées une teinte rose permettant de les visualiser au microscope. Les bactéries à Gram positif restées violettes seront évidemment insensibles à cette contre-coloration plus pâle que le violet imprégnant leur cytoplasme.

Ces différences de coloration et les différences de formes (bacille ou cocci) sont à l'origine de la classification des bactéries.

Certains germes restent insensibles à cette coloration, c'est le cas, entre autre, des mycobactéries (famille à laquelle appartiennent les agents de la tuberculose et de la lèpre).

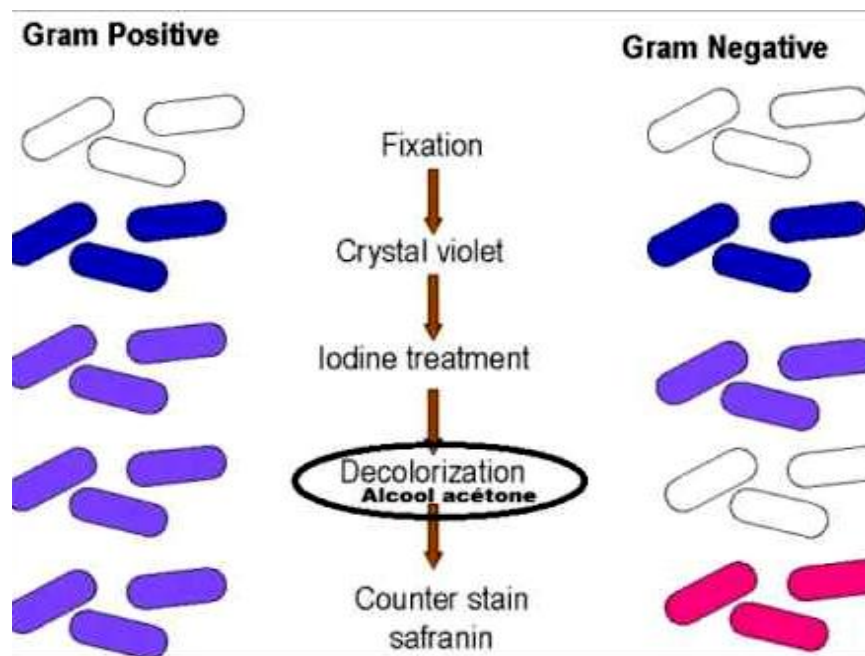


Figure 8 : Protocole de la coloration de Gram.

Remarque : le lysozyme est une enzyme qui clive les liaisons β (1-4) glycosidiques entre la N-acétylglucosamine et l'acide N-acétylmuramique provoquant ainsi un affaiblissement de la paroi. L'eau pénètre alors dans la bactérie, qui gonfle et éventuellement éclate, ce processus s'appelle la lyse. Cependant si le traitement est réalisé dans un milieu de pression osmotique égale ou légèrement supérieur à la pression osmotique intracellulaire, les bactéries perdent leurs formes et deviennent sphériques mais elles ne se lysent pas. Les bactéries à Gram positif apparaissent en sphères limitées par leur seule membrane cytoplasmique, elles sont appelées protoplastes. Les bactéries à Gram négatif constituent des sphères bordées par leur membrane externe qui surmonte la membrane cytoplasmique, elles sont qualifiées de sphéroplastes (une partie de leur paroi est toujours présente).

❖ Fonction de la paroi bactérienne :

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 l'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.

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).

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 teïchoïques** et **lipoteïchoïques** + **polyoside C** chez les streptocoques.
- chez les Gram(-) : les **antigènes O du LPS**

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. Coloration de Gram)

La paroi est l'enveloppe caractéristique de la cellule procaryote. Elle est un véritable exosquelette qui lui confère sa forme et lui permet de résister à la forte pression osmotique interne comprise entre 5 et 20 atmosphères. Elle peut présenter une carte d'identité appelée :

- ✚ **Lisotype** : les acides teïchoïques permettent la fixation des bactériophages sur la paroi Gram positive, puis la lyse de la bactérie. Cette propriété permet la différenciation entre les espèces bactériennes.
- ✚ **Sérotype** : les différents constituants de la paroi tels que les lipopolysaccharides chez les Gram négatives sont à l'origine de nombreuses propriétés antigéniques lesquelles permettent la distinction sérologique des espèces bactériennes proches.
- ✚ **Elle est le site d'action d'enzymes** exogènes (lysozyme) ou endogènes (autolysines) ou d'antibiotiques qui inhibent la synthèse du peptidoglycane(9).
- ✚ **Elle joue un rôle non spécifique contre l'infection** en activant le complément par la voie alterne libérant les fractions C3a et C5a (effet chimiotactique) et C3b (effet opsonisant) et ce grâce au LPS et au peptidoglycane.

● La membrane cytoplasmique :

C'est une structure fine qui entoure la cellule en séparant son intérieur de l'environnement. Elle est douée d'une haute perméabilité sélective, permettant à la cellule de concentrer certains métabolites spécifiques et d'excréter ces déchets métaboliques.

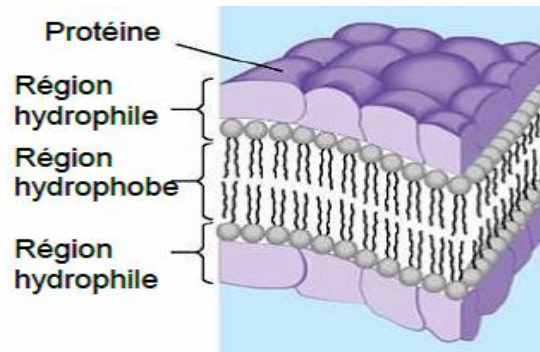


Figure 9 : Structure d'une double couche phospholipidique (Modèle membranaire de Davson et Danielli).

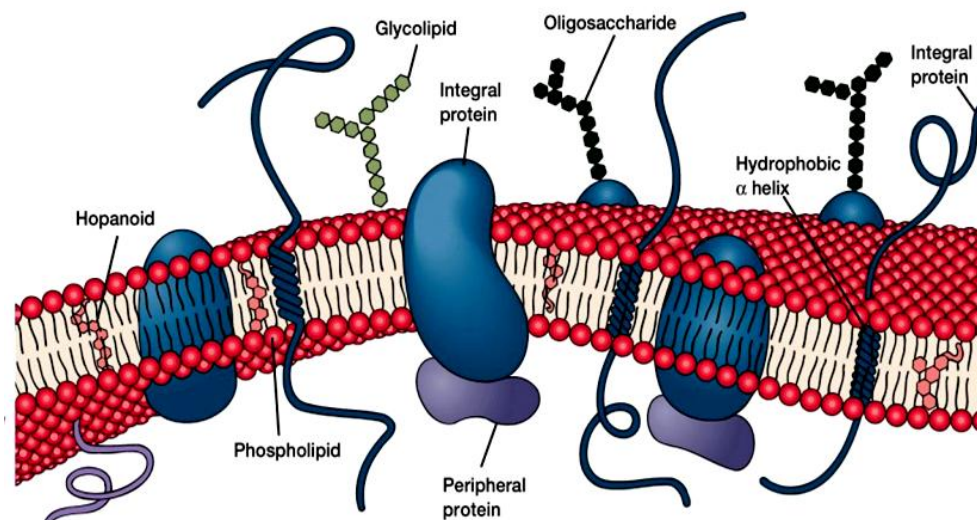


Figure 10 : Représentation de la membrane plasmique (Modèle de la mosaïque fluide), montrant l'arrangement complexe des protéines, des glucides et des lipides. Les protéines semblent "flotter" dans une mer de lipides. Certaines protéines traversent la membrane, alors que d'autres y sont rattachées par seulement l'un ou l'autre des côtés. D'autres protéines sont complètement enfouies dans la MP. L'eau peut passer librement à travers la MP, mais la plupart des autres molécules n'ont pas cette capacité. Une caractéristique importante de la MP est que les PROTONS (H⁺) ne peuvent la traverser.

❖ Composition chimique :

La structure générale des membranes biologiques est une bicouche phospholipidique dans laquelle sont enchâssées des protéines. Les phospholipides contiennent à la fois des composants hydrophobes (acides gras) et hydrophiles (phosphate de glycérol). La majorité des protéines des membranes cytoplasmiques ont typiquement leurs surfaces externes hydrophobes au niveau des régions qui traversent la membrane et leurs surfaces hydrophiles qui sont en contact avec l'environnement extérieur et le cytoplasme.

De nombreuses protéines sont enchâssées dans la membrane et sont appelées des protéines **intramembranaires**. D'autre, fermement attachées à l'une des surfaces membranaires, sont appelées des protéines périphériques (**extramembranaires**). Ces protéines interagissent directement avec les protéines transmembranaires et participent à des processus cellulaires tels que le métabolisme énergétique.

Une différence majeure dans la composition chimique des membranes entre les cellules eucaryotes et les cellules procaryotes est que les eucaryotes contiennent des stérols dans leurs membranes. Les stérols sont absents des membranes de presque tous les procaryotes (à l'exception des **mycoplasmes** et des **méthanotrophes**). Les stérols et les molécules dérivées sont rigides et plans, alors que les acides gras sont flexibles.

Mycoplasma : mycoplasma est un genre de bactérie caractérisé par l'absence de paroi cellulaire. Les espèces de ce genre sont donc insensibles aux familles d'antibiotiques ciblant les parois cellulaires. Ce genre contient plus de 100 espèces qui sont parasites ou saprotrophes appartenant à la famille des Mycoplasmataceae.

Méthanotrophes : organisme méthanotrophe est un procaryote capable de se développer en n'utilisant que le méthane comme source de carbone et d'énergie, ce qui en fait des organismes chimioautotrophes.

Stérol : Un stérol est un lipide possédant un noyau de stérane dont le carbone 3 est porteur d'un groupe hydroxyle. Les stérols sont considérés comme une sous-classe des stéroïdes.

❖ Fonction de la membrane bactérienne :

La membrane cytoplasmique sépare l'intérieur de la cellule du milieu extracellulaire tout en maintenant des communications et des échanges avec celui-ci. Elle assure la reconnaissance de signaux et molécules provenant du milieu extracellulaire, grâce aux récepteurs moléculaires spécifiques qu'elle contient. Elle permet ou non le passage des ions et des molécules et en contrôle les flux entrants et/ou sortants. Ces passages à travers

la membrane cytoplasmique se font, en fonction des produits, par diffusions ou par des transports actifs nécessitant de l'énergie.

✚ **Transport membranaire et perméabilité sélective** : Il existe quatre systèmes principaux de transport de substances (Figure 11) :

- **La diffusion passive (diffusion simple)** : concerne l'échange de petites molécules électriquement neutre du milieu le plus concentré vers le milieu le moins concentré jusqu'à l'équilibre des concentrations.
- **La diffusion facilité** : basée sur le même principe mais elle est accélérée par l'intervention de perméase spécifique.
- **Le transport actif** : il fait intervenir des protéines spécifiques de transport et permet l'accumulation intracellulaire de substrats contre le gradient de concentration du milieu.
- **La translocation de groupe** : elle est aussi un système accumulatif, fonctionnant contre le
- gradient de concentration mais le substrat est chimiquement modifié durant son transfert.

✚ **Respiration** : la membrane cytoplasmique est le site de localisation des enzymes respiratoires de la chaîne d'oxydoréduction phosphorylante, des cytochromes et des enzymes du cycle tricarboxylique.

✚ **Biosynthèses et exportation des macromolécules** : elle est aussi le siège de la synthèse des lipides et renferme également les enzymes responsables des étapes terminales de la synthèse de divers constituants macromoléculaire de la paroi (acides teichoïques, peptidoglycane, LPS).

✚ **Réaction aux conditions du milieu** : la membrane cytoplasmique est une véritable antenne qui capte des signaux chimiques, lumineux et autres du milieu et les intègre de manière à adapter les activités bactériennes aux conditions du milieu.

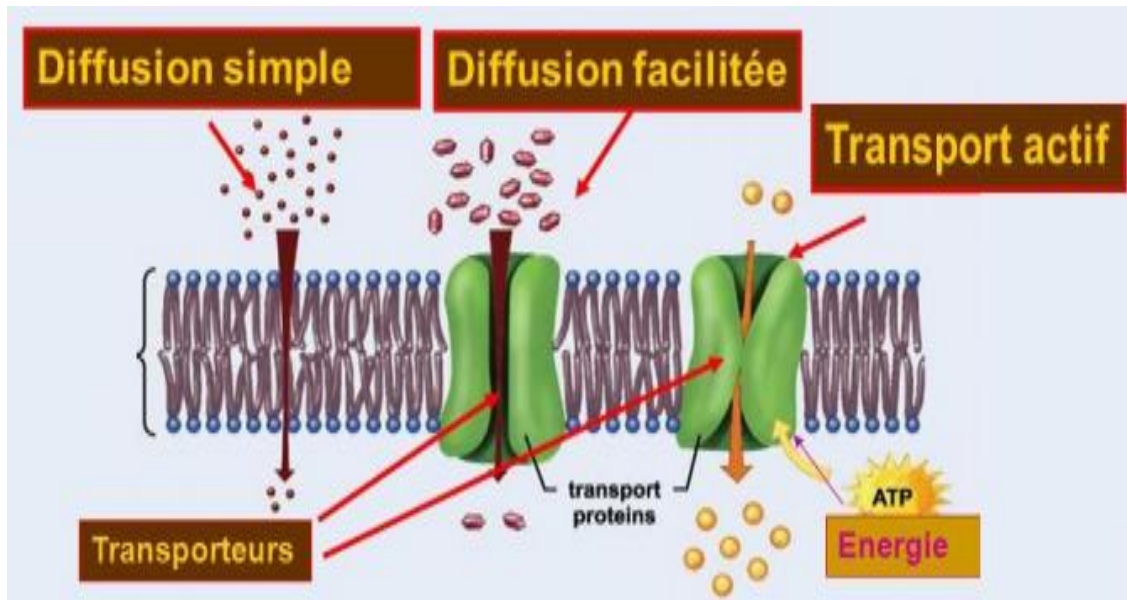


Figure 11 : Schéma des principaux systèmes du transport membranaire.

● 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 ribonucléiques). 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).
 - **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**.

● L'appareil nucléaire :

✚ 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.

✚ 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.

✚ 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.

Les éléments facultatifs

● Flagelle (cils) :

Les flagelles sont des appendices filamenteux de 6-15 μm sur 10-30 nm. Ils sont constitués exclusivement de flagelline (protéine composante) et sont fixés à la cellule au niveau du cytoplasme, leur rôle principal est la locomotion, mais ils ont un rôle antigénique spécifique. Selon leurs dispositions sur la cellule bactérienne, on peut distinguer différentes organisations des flagelles bactériens: A-**Monotriche**; B-**Lophotriche**; C-**Amphitriche**; D-**Péritriche** (Figure 12).

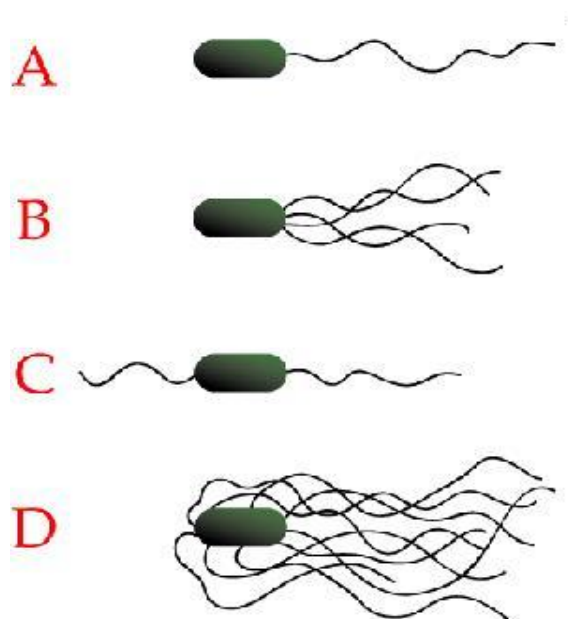


Figure 12 : Différentes organisations des flagelles bactériens: A-**Monotriche**; B-**Lophotriche**; C-**Amphitriche**; D-**Péritriche**.

● Capsule :

Certaines cellules bactériennes s'entourent d'une capsule de nature polysaccharidique, mais peut être de nature polypeptidique (acide D Glutamique) comme dans le cas de *Bacillus anthracis*. La présence de la capsule chez une espèce bactérienne est synonyme de virulence puisque les bactéries de la même espèce n'ayant pas de capsule sont moins virulentes par rapport aux bactéries encapsulées, exemple *Klebsiella pneumoniae* (Figure 13).

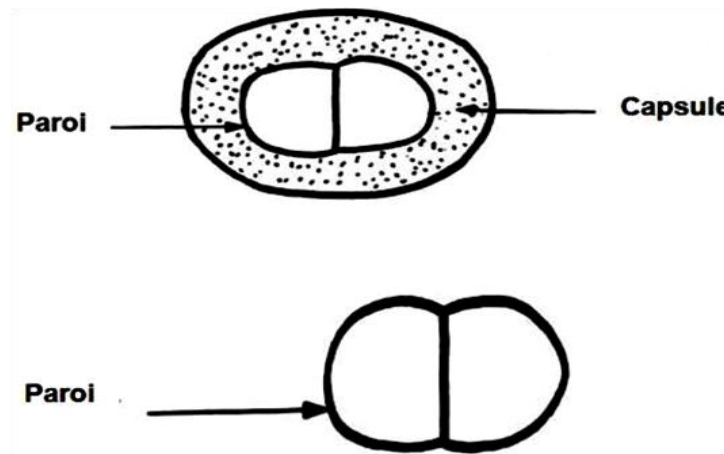


Figure 13 : La capsule bactérienne.

● Les pili ou fimbries :

Ce sont des structures protéiniques filamenteuses présentes chez certaines bactéries. Ils sont considérablement plus courts que les flagelles. On distingue les pili communs intervenant dans des phénomènes d'adhésion et les pili sexuels qui sont indispensables dans les processus de conjugaison bactérienne.

● L'ADN extrachromosomique :

✚ Les plasmides :

Les plasmides sont des petites molécules d'ADN circulaire (103 à 105 paires de bases). Leur répllication est indépendante de celle du chromosome bactérien, car ils possèdent leur propre origine de répllication (ORI-R). Ils portent un nombre réduit de gènes, qui ne sont pas essentiels à la survie de la cellule, mais qui lui confèrent des capacités d'adaptation plus importantes. Les plasmides conjugatifs sont transférables d'une bactérie

à une autre par conjugaison : ils portent les gènes nécessaires à la synthèse des pili sexuels et les gènes de conjugaison, ainsi qu'une origine de transfert (ORI-T).

Les transposons :

Les transposons sont des fragments d'ADN capables de se « déplacer » dans le chromosome bactérien ou d'être transféré dans un autre réplicon (un plasmide par exemple). Contrairement aux plasmides, leur réplication n'est pas autonome, elle est liée à celle du réplicon qui les héberge. Les transposons les plus simples sont des fragments d'ADN de 750 à 1600 pb, contenant le gène de la transposase (enzyme permettant l'insertion du transposon dans l'ADN cible), encadré par des séquences répétées inversées. Les transposons composites contiennent d'autres gènes que celui de la transposase, des gènes de résistance aux antibiotiques par exemple.

Les prophages :

Ce sont des séquences d'ADN provenant de virus bactériens appelés « bactériophages ». Lors du cycle lysogénique, le matériel génétique viral s'insère dans le génome cellulaire. Le prophage est donc transmis verticalement lors de la division bactérienne. Une bactérie lysogène peut acquérir un caractère supplémentaire : la toxine érythrogyène produite par certaines souches de *Streptococcus pyogenes* est codée par un prophage.