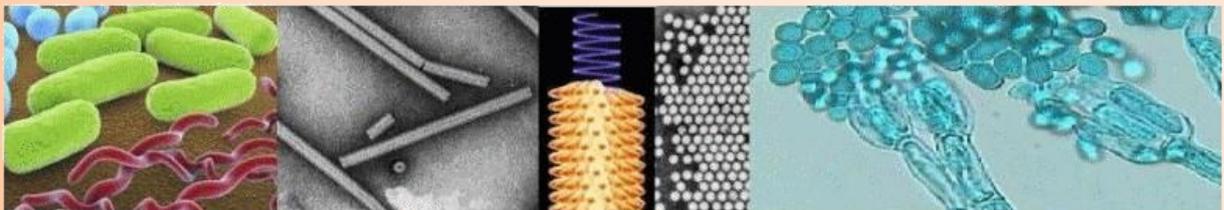
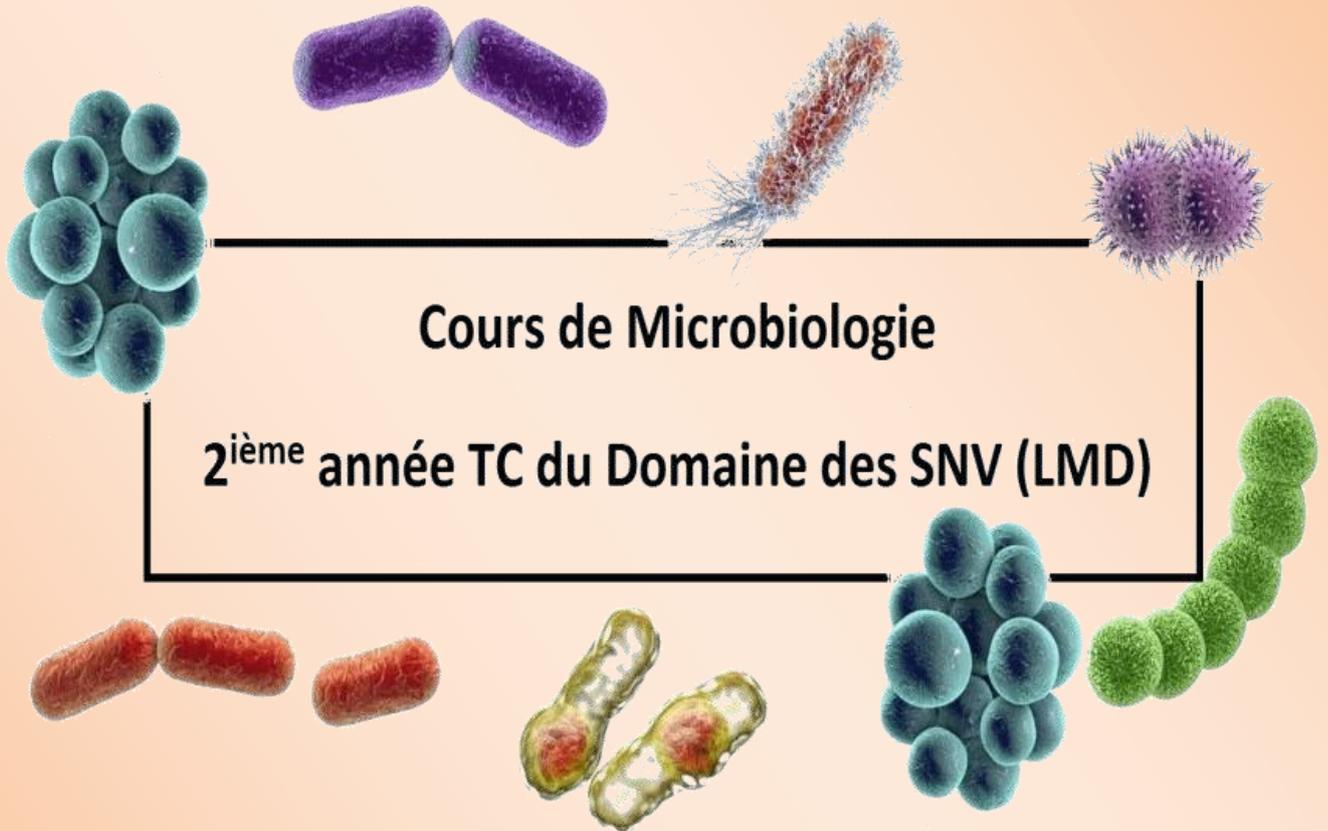


République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Mohamed BOUDIAF – M'sila  
Faculté des Sciences



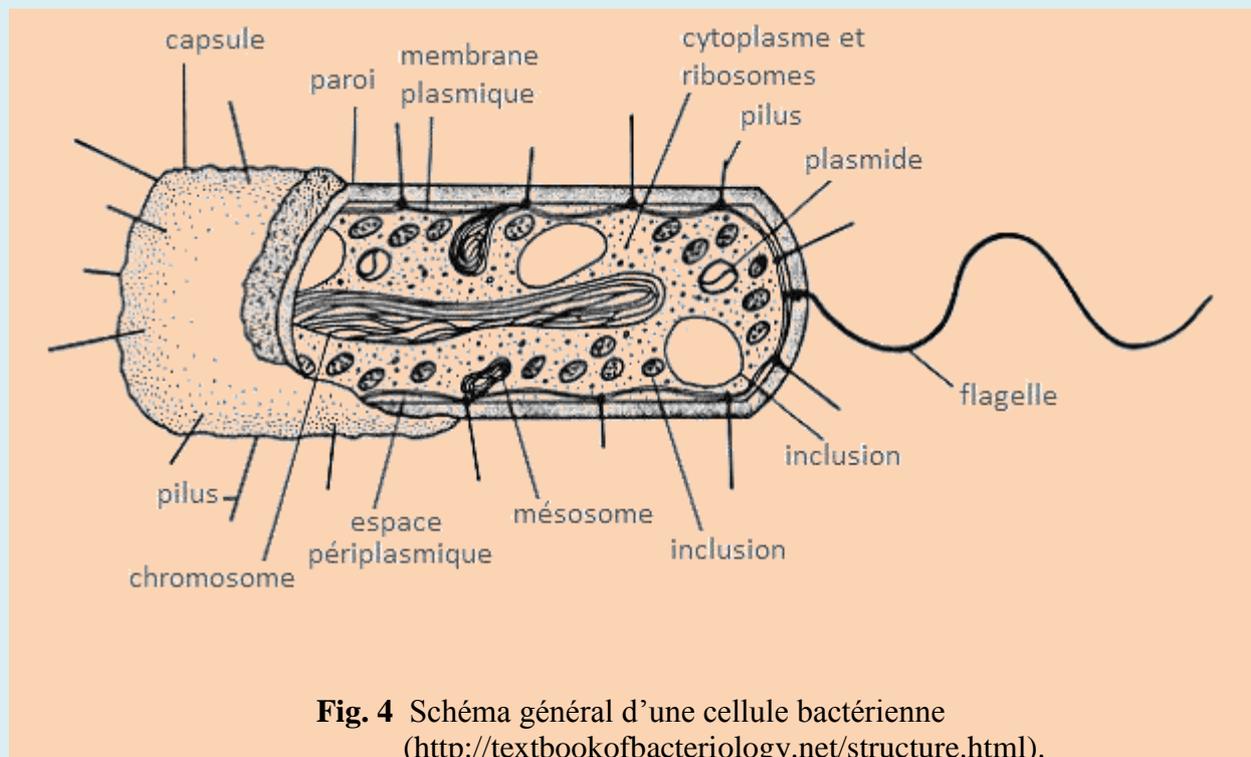
**Dr HENDEL Noui**

## 2. CHAPITRE II: LA CELLULE BACTÉRIENNE

Les bactéries sont les plus petits organismes connus doués de métabolisme et capables de se croître et de se diviser aux dépens de substances nutritives. Leur diamètre est d'environ 1µm. c'est la microscopie électronique qui a mis en lumière l'architecture de la bactérie. La cellule apparaît entourée d'une paroi rigide qui lui donne sa forme, sa résistance et qui entoure la membrane cytoplasmique mince. Le cytoplasme sous-jacent, homogène, contient les ribosomes et parfois des substances de réserve. L'appareil nucléaire, d'un aspect fibrillaire, réticulé, n'est pas entouré d'une membrane (Fig. 4).

D'autres structures dont la présence est facultative chez les bactéries sont:

- La capsule: enveloppe externe.
- Les flagelles: confèrent à la bactérie sa mobilité.
- Les pili (fimbriae): plus fins que les flagelles, rigides et cassants, dont certains sont appelés pili sexuels.
- Les spores: n'existent que chez certaines espèces bactériennes et sont des formes de résistance.



**Fig. 4** Schéma général d'une cellule bactérienne  
(<http://textbookofbacteriology.net/structure.html>).

## 2.1. Observation de la cellule

Le microscope permet, avec des grossissements pouvant aller jusqu'à 2500 (1000 étant l'utilisation courante), d'observer les structures dont la taille est de l'ordre de 1µm.

Divers procédés peuvent être utilisés :

- Observation entre lame et lamelle, dite " à l'état frais", de bactéries en milieu liquide. La coloration à l'encre de Chine assure la mise en évidence de la capsule.
- Observation de frottis séchés, fixés et colorés. Leur examen à l'immersion, en plaçant une goutte d'huile entre la lentille de l'objectif et la préparation, permet d'obtenir une image plus nette.
- D'autres procédés nécessitant un système optique particulier sont quelquefois nécessaires. L'examen sur fond noir est indispensable pour observer les tréponèmes (Syphilis). L'observation en contraste de phase révèle les détails morphologiques des bactéries vivantes non colorées.

Tout cela concerne la microscopie photonique. Pour révéler les éléments d'une taille de 5 à 10 nm, on fait appel à la microscopie électronique.

## 2.2. Morphologie cellulaire

Lorsqu'on observe les bactéries en microscope optique, on reconnaît rapidement la forme des cellules, leurs dimensions et les arrangements qu'elles constituent entre elles. Ces informations constituent le critère essentiel de reconnaissance et d'identification.

### 2.2.1. Taille

Les bactéries se situent entre les virus et les algues unicellulaires ou les protozoaires.

#### Exemples

- Les mycoplasmes comme *Mycoplasma pneumoniae* de l'ordre de 0.1µm.
- Les entérobactéries comme *Escherichia coli*: 1x2 à 3µm.
- Les tréponèmes comme *Treponema pallidum* 0.1 à 0.2 x 5 à 20µm.
- Les spirochètes: 0.2 à 0.7 x 5 à 500µm.

## 2.2.2. Forme

Les formes des bactéries sont extrêmement diverses dont trois principales : la forme sphérique ou coccoïde, la forme cylindrique ou en bâtonnet et la forme spiralée ou hélicoïdale.

### 2.2.2.1. Forme sphérique

Elle caractérise les cocci. Leur mode de division donne naissance à des groupements typiques (fig. 5). Chez les diplocoques, la cellule se divise dans un seul plan et donne naissance à deux nouvelles cellules étroitement associées: d'un aspect effilé "en flamme de bougie" chez les pneumocoques, et d'un aspect réniforme ou en " grain de café "chez les méningocoques.

La poursuite régulière de ce mode de division engendre des chaînettes, caractéristique des streptocoques.

La division des cocci sur deux plans forme des groupements de quatre cellules, les tétrades.

En se multipliant dans les trois dimensions, les cocci composent des cubes réguliers de cellules comme chez les sarcines ou des amas asymétriques "en grappe" comme chez les streptocoques.

### 2.2.2.2. Forme cylindrique

On distingue deux principales formes : le bâtonnet droit ou bacille et le bâtonnet incurvé ou vibrion (Fig. 5).

Le bacille caractérise de nombreuses bactéries (Fig. 5): les entérobactéries aux extrémités arrondies (1), les gros *Bacillus* nettement rectangulaires (2) les bacilles fusiformes aux extrémités effilées (3), les corynébactéries renflées à l'un de leurs pôles(4).

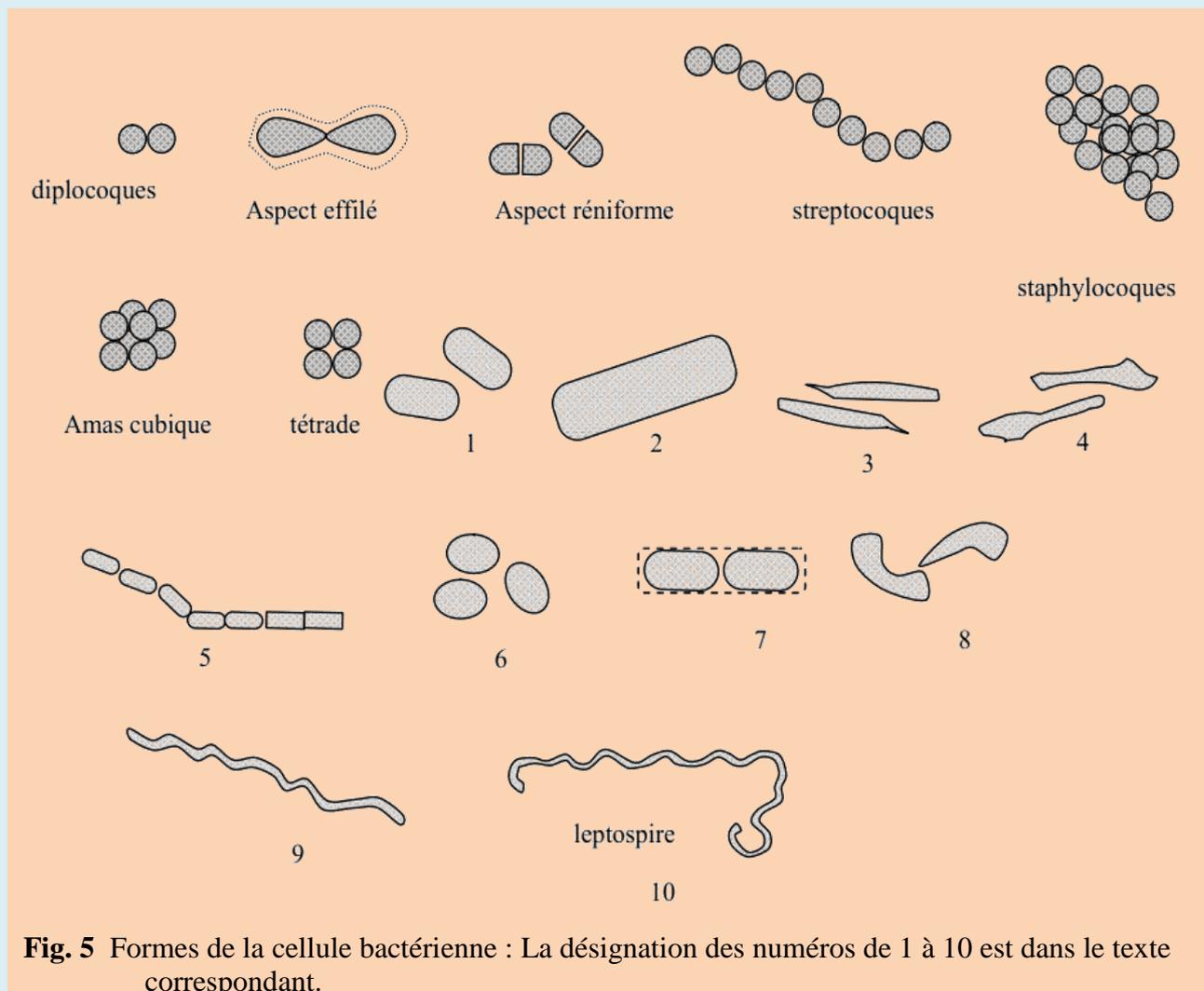
Comme les cocci, les bacilles peuvent être associés en diplobacilles (7) ou en chaînettes (5). Parfois les bacilles sporulés peuvent être de très petite taille et se confondre avec les cocci; ils sont dits alors coccobacilles (6).

Le vibrion (8), bacille incurvé en "virgule", réunit de nombreuses espèces aquatiques et quelques espèces pathogènes pour l'homme (*Vibrio cholerae*).

### 2.2.2.3. Forme spiralée

Cette forme est caractéristique d'un petit groupe de micro-organismes possédant un corps hélicoïdal et extrêmement allongé (Fig. 5, 9).

Les leptospires de 5 à 10  $\mu\text{m}$  de long ont des extrémités en crochets (Fig. 5, 10), la taille des tréponèmes peut atteindre 15  $\mu\text{m}$  et celle des *Spirochaeta* se situe entre 30 et 500  $\mu\text{m}$ .



**Fig. 5** Formes de la cellule bactérienne : La désignation des numéros de 1 à 10 est dans le texte correspondant.

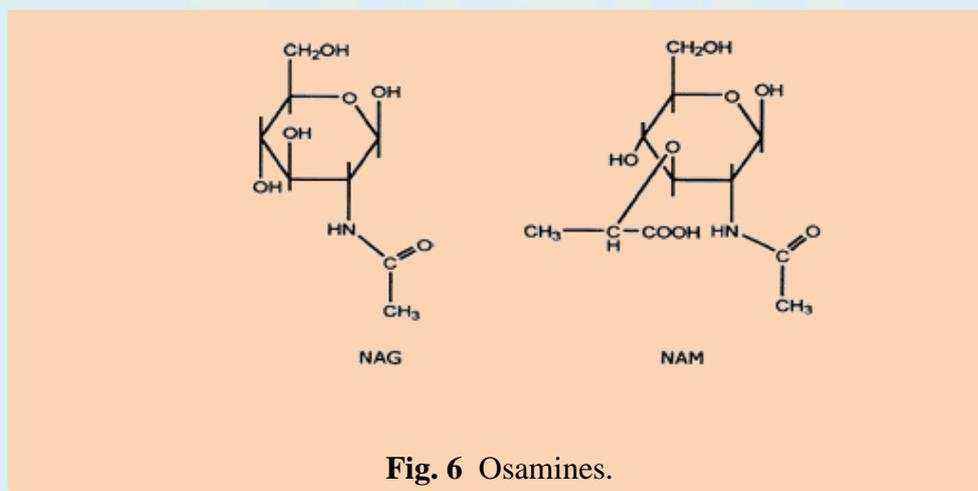
## 2.3. La paroi

La paroi constitue l'enveloppe externe des bactéries. A l'exception des mycoplasmes, elle est présente chez toutes les bactéries; elle assure la forme et la rigidité. Elle est aussi responsable de la protection physique de la membrane plasmique sous-jacente (pression osmotique interne de 5 à 20at). Le composant principal de la paroi est un complexe moléculaire appelé **peptidoglycane** (ou encore muco-complexe, mucopeptide ou muréine). D'autres constituants sont présents mais varient selon les espèces, tel que le lipopolysaccharide.

### 2.3.1. Composition chimique

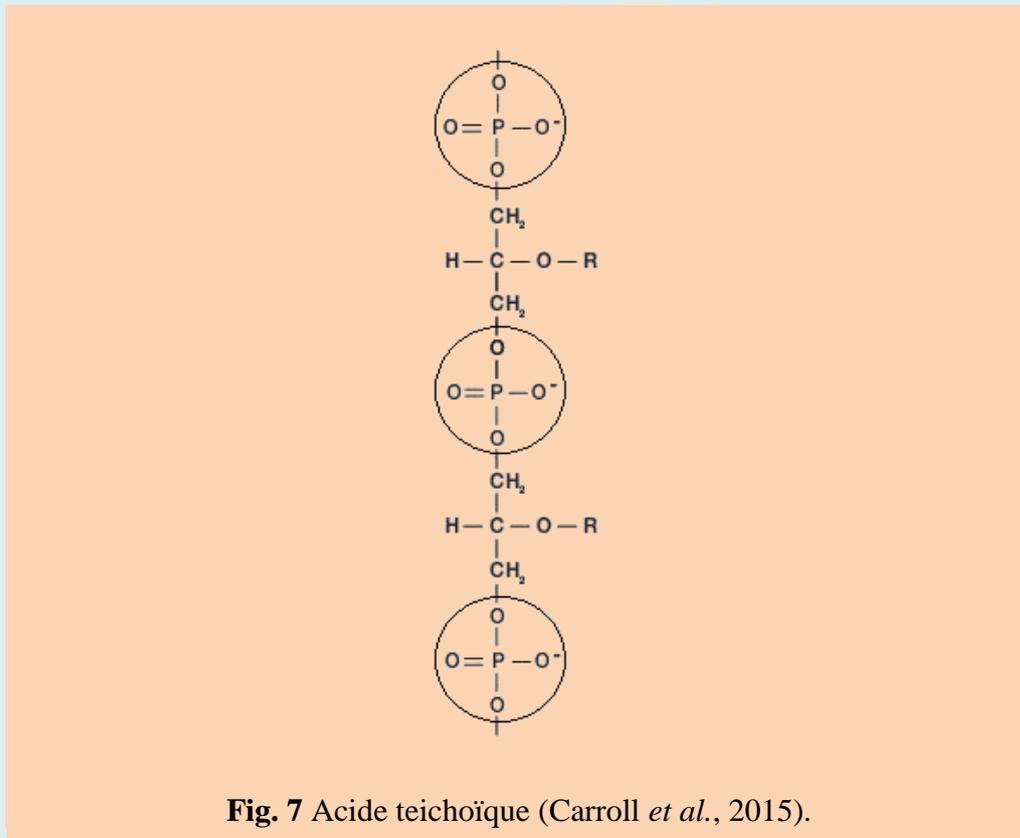
La paroi représente 20% du poids sec de la bactérie. Divers éléments peuvent être représentés selon les espèces:

- **Osamines (sucres aminés):** On distingue généralement la **N-acétylglucosamine (NAG)** et **L'acide N-acétylmuramique (NAM)** (Fig. 6).



- **Acides aminés:** Trois acides aminés sont isolés régulièrement chez toutes les bactéries: La **D** et la **L-alanine**, l'**acide D-glutamique** et la **L-lysine** ou l'**acide di-aminopimélique**. De nombreux acides aminés rencontrés habituellement dans les protéines sont absents.
- **Acides teichoïques :** Ils sont uniquement présents chez les **bactéries** à Gram positif. Deux types ont été isolés : le **polyribitol-phosphate** et le **polyglycérol-phosphate**. Le segment

de l'acide téchoïque est formé de phosphate, glycérol, et une chaîne latérale, R. : R peut représenter D-alanine, glucose, ou autres molécules (fig.7).



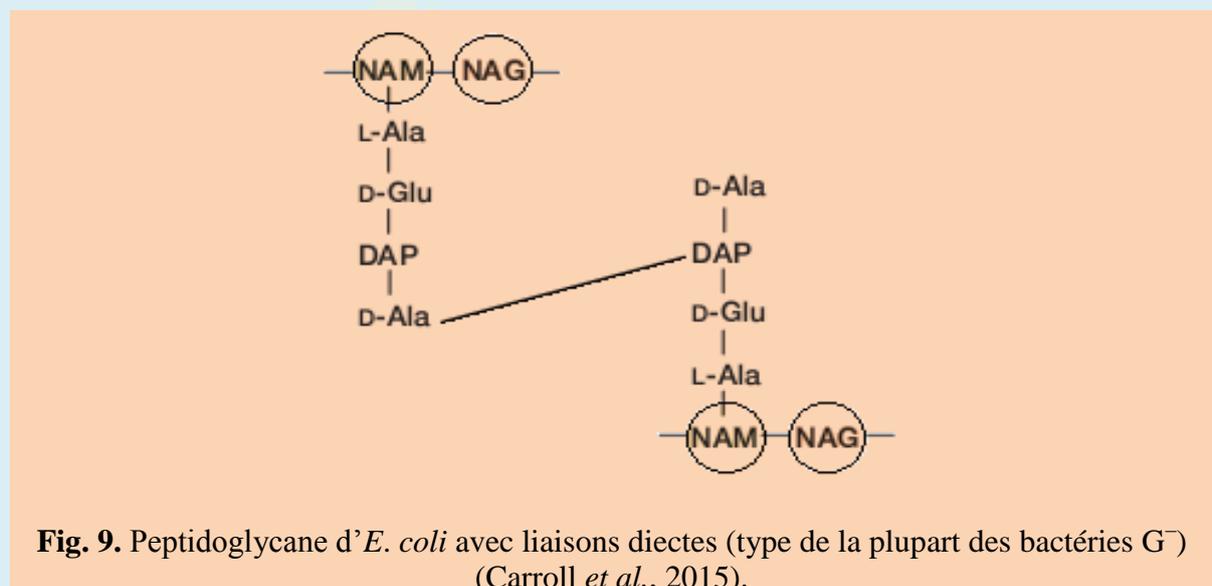
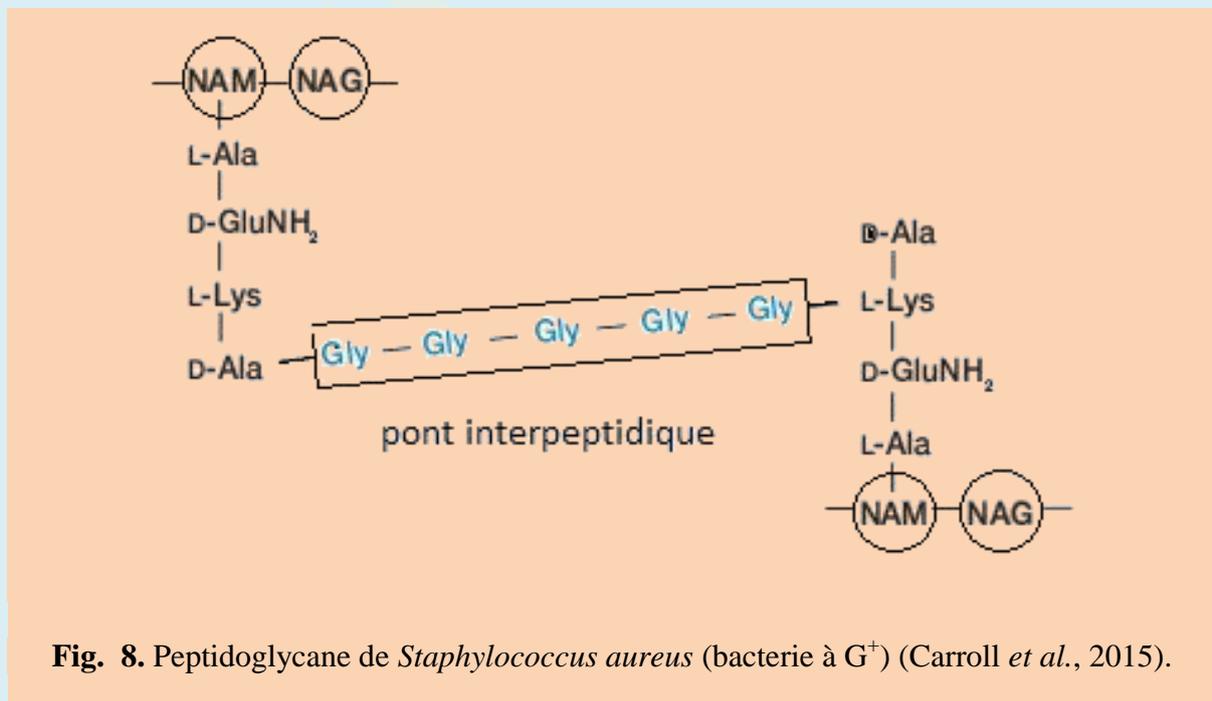
- **Oses simples:** Ils sont nombreux: **glucose**, **galactose**, **mannose**. Certains sont spécifiques (rhamnose chez certains streptocoques).
- **Lipides:** Ils sont présents en faibles proportions ou absents chez les bactéries à Gram positif. Ce sont des lipides simples liés aux polysaccharides des bactéries à Gram négatif.
- **Acides mycoliques:** Ce sont des acides gras à très longue chaîne (C=60) ramifiée. Ils caractérisent particulièrement les bactéries acido-alcool-résistantes telles les mycobactéries.

### 2.3.2. Structure moléculaire

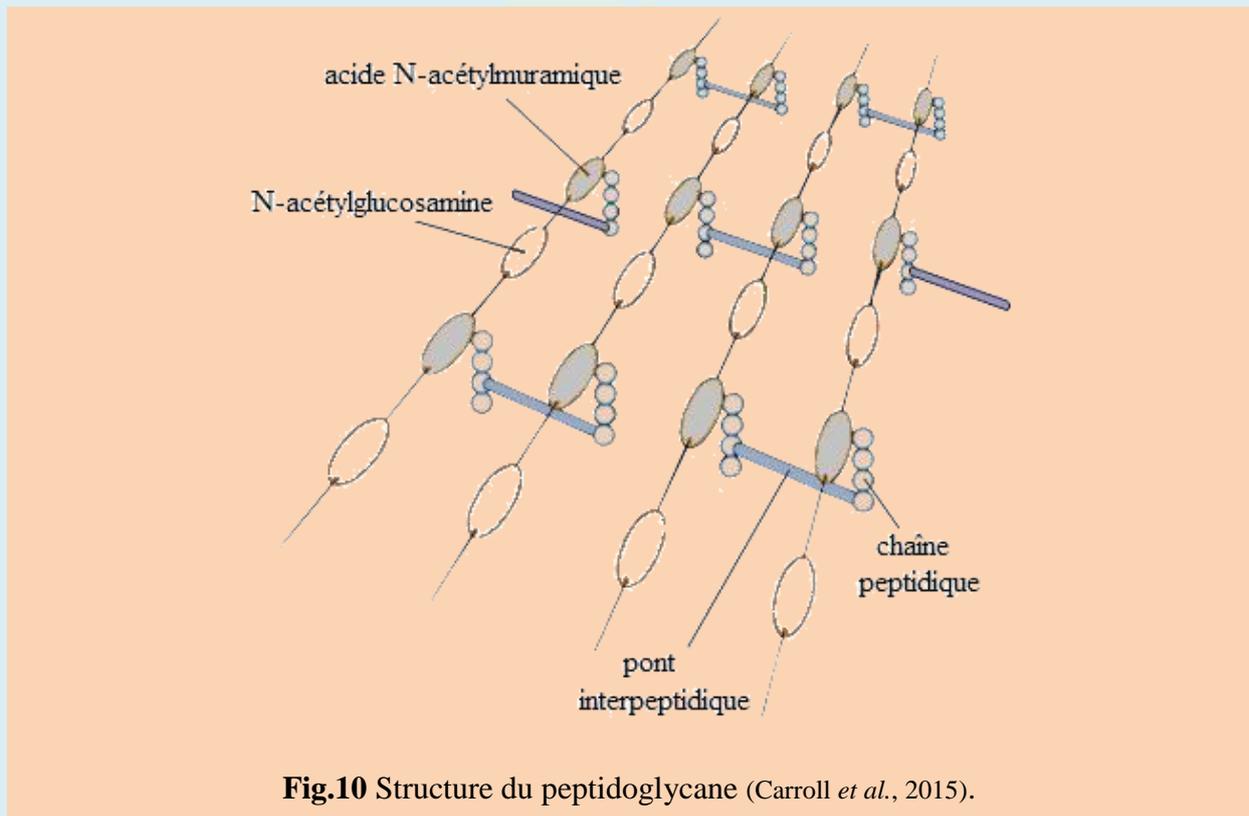
Il existe une différence de structure entre la paroi des bactéries à Gram positif, qui est plus épaisse (15 à 80nm) et d'aspect plus homogène, et celle des bactéries à Gram négatif qui

est plus fine (6 à 15nm) et plus hétérogène.

L'élément structural de base de toutes les parois bactériennes est le **peptidoglycane**. Il s'agit d'un polymère de poids moléculaire élevé qui représente jusque 90% du matériel de cette paroi. Il est constitué d'unités de glucosaminopeptides comportant une molécule de N-acétylglucosamine reliée à une molécule d'acide N-acétylmuramique par une liaison  $\beta$ -glucosidique (ces osamines sont alternés dans des chaînes linéaires). L'acide muramique est associé à une chaîne de quatre acides aminés appelée térapeptide (Fig. 8, 9).



Ces unités mucopeptidiques sont polymérisées grâce à deux principaux types de liaison; les liaisons  $\beta$ -glucosidiques réunissant l'acide N-acétylmuramique et le N-acétyl-glucosamine ou l'acide teichoïque, l'association avec les chaînes peptidiques, d'une part, et le pontage entre la D-alanine d'un tetrapeptide et la L-lysine d'un autre tetrapeptide (liaison inter-peptidique), d'autre part. Cette structure en réseau donne à la cellule sa rigidité (Fig. 10).



### 2.3.3. Fonction

L'action du lysozyme destructeur du peptidoglycane (rompt les liaisons  $\beta$ , (1-4) glucosidiques) permet de comprendre le rôle de la paroi chez les bactéries (Fig. 11).

- Avec une bactérie  $G^+$  (*Bacillus megaterium*), l'action engendre la destruction de la paroi, la cellule gonfle et éclate. Pour éviter la lyse, la pression interne est équilibrée par une forte concentration de saccharose (milieu isotonique). Dans ces conditions, la paroi est détruite mais la cellule n'éclate pas; elle prend une forme sphérique appelée **protoplaste** qui a perdu ses propriétés initiales antigéniques, ne fixe plus le bactériophage et ne se divise pas.
- Avec une bactérie  $G^-$  (*Escherichia coli*) et en milieu hypertonique, la paroi est détruite

mais la cellule n'éclate pas; elle prend une forme globuleuse appelée **sphéroplaste** qui conserve toutes ses propriétés initiales.

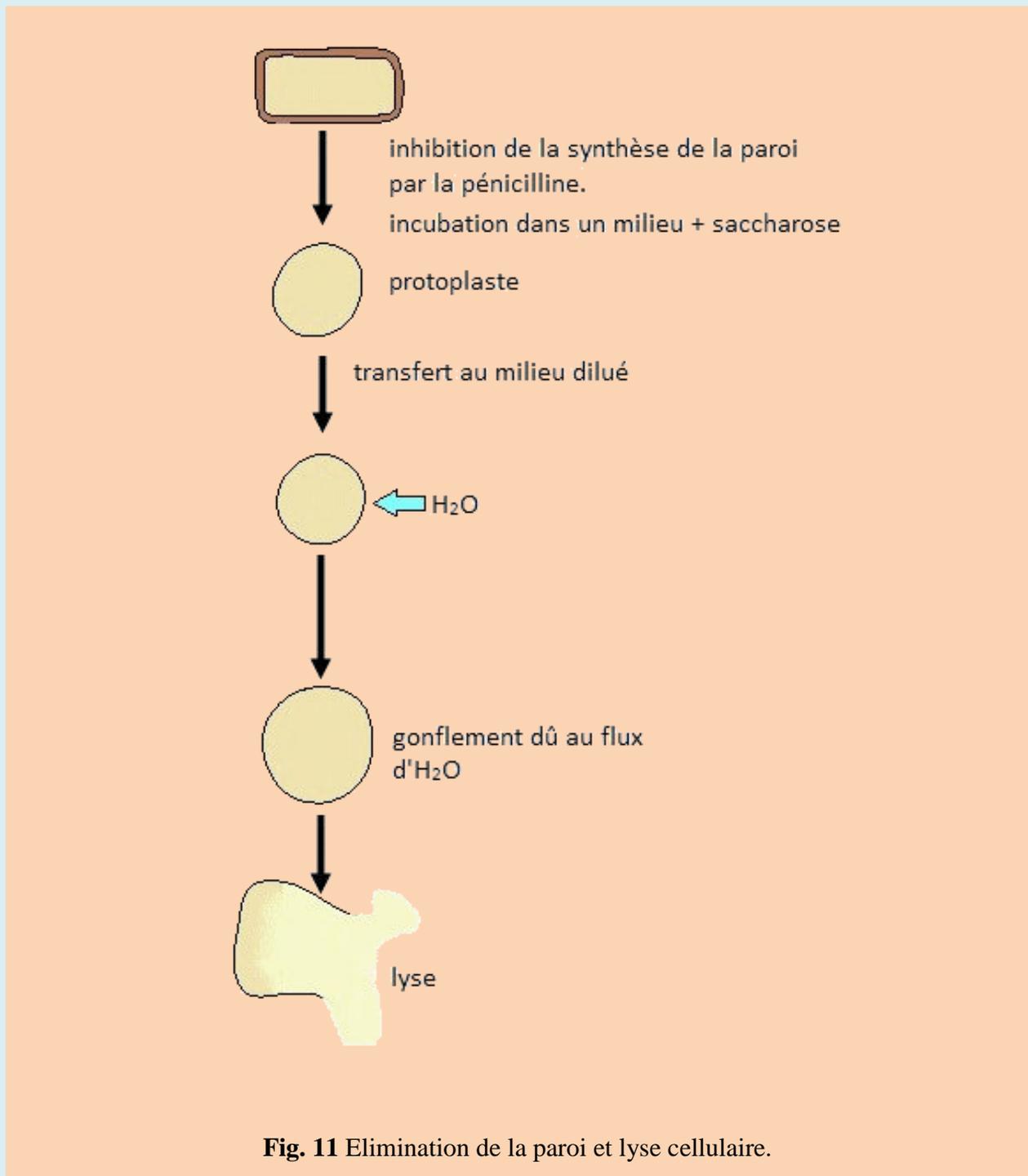
La différence est logique puisque les bactéries  $G^-$  possèdent, en plus du peptidoglycane, d'autres couches qui restent intactes.

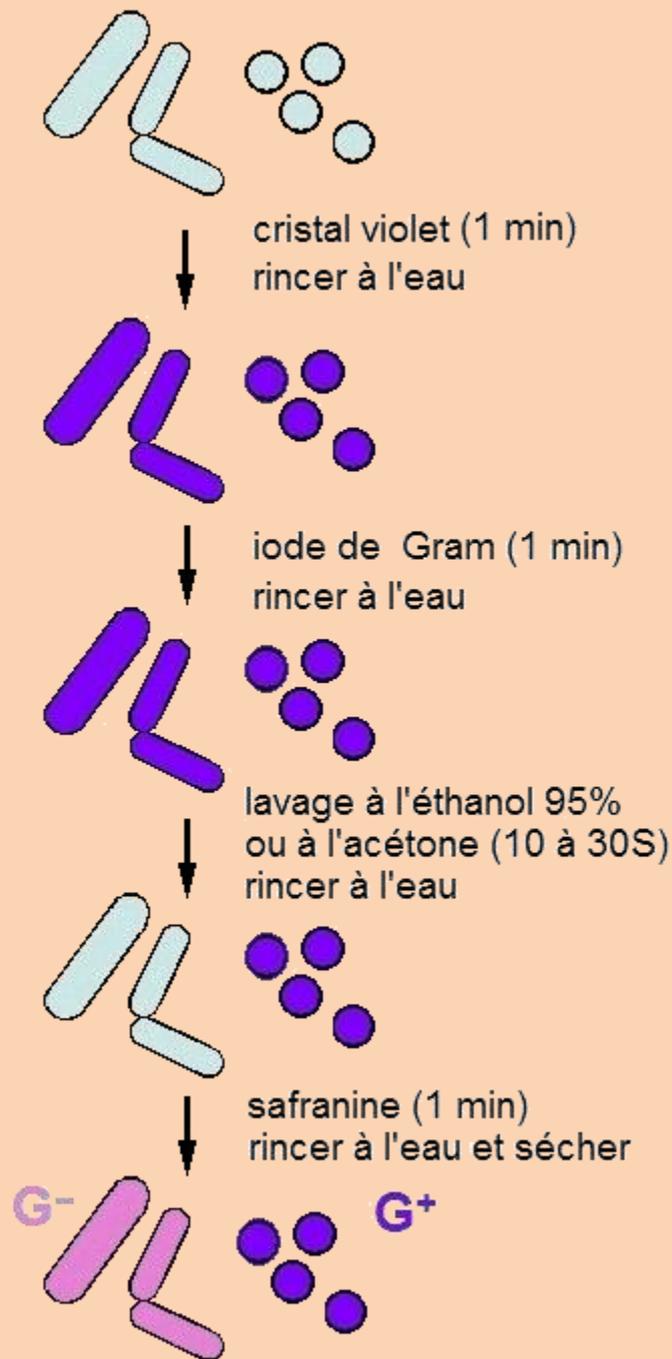
On peut conclure que : La paroi joue un rôle dans la forme de la cellule. Elle joue un rôle dans la résistance à la pression interne de la cellule.

#### **2.3.4. Coloration de GRAM**

La coloration de Gram consiste à traiter un frottis ou un étalement bactérien séché, fixé à la chaleur, par une solution de violé de gentiane (cristal violet), puis par une solution iodo-iodurée (Lugol). En soumettant la préparation à l'action de l'éthanol, les cellules bactériennes réagissent de deux façons et forment deux groupes : les unes dites Gram négatif se décolorent rapidement sous l'action du solvant ; les autres au contraire conservent leur coloration violette et sont dites Gram positif. Pour accentuer le contraste, la préparation est finalement traitée par de la fuchsine ou de la safranine: les bactéries  $G^-$  se colorent en rose, tandis que les bactéries  $G^+$  restent colorées en violet (Fig. 12).

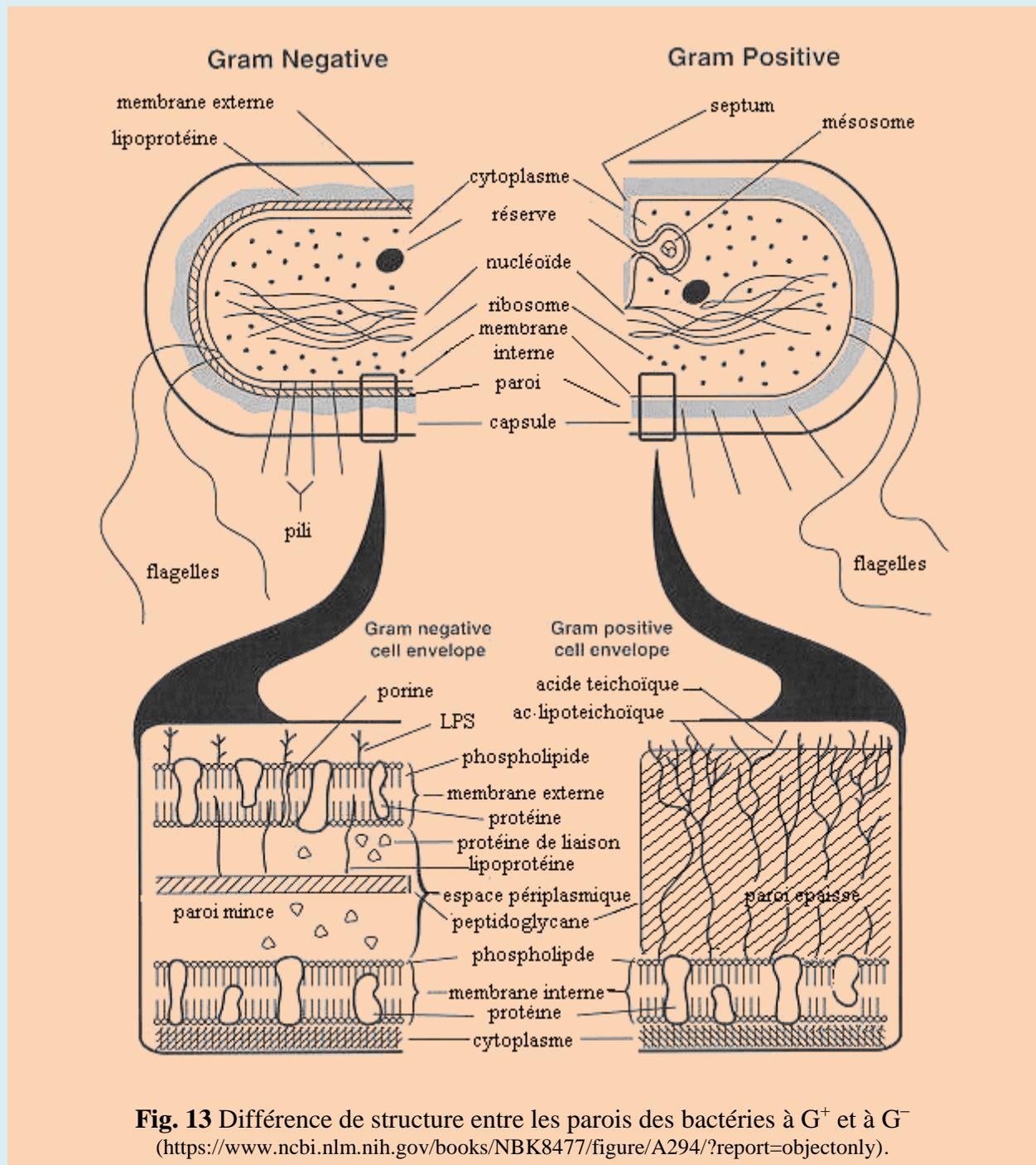
Lorsque les bactéries  $G^+$  sont colorées par la méthode de Gram puis soumises à l'action du lysozyme, les protoplastes obtenus sont également colorés en violet. Le siège de la coloration se situe donc au niveau du cytoplasme. Les protoplastes traités par l'alcool se décolorent instantanément. La paroi des  $G^+$  constitue une barrière interdisant le passage de l'éthanol ; celle des  $G^-$  l'autorise, et le cytoplasme coloré en violet se décolore. La coloration de Gram traduit bien une différence de structure pariétale chez les bactéries en même temps qu'une différence fonctionnelle (Fig. 13).





**Fig. 12** Procédure de la coloration de Gram.

La décoloration par l'éthanol ou l'acétone enlève le cristal violet des cellules gram-négatives mais non des cellules gram-positives. Les cellules gram-négatives se transforment en rose quand sont contre colorées avec la safranine.



## 2.4. La membrane plasmique

Entourant le cytoplasme de la cellule bactérienne, la membrane cytoplasmique et constitue le point principal de contact avec l'environnement cellulaire. Elle contient à la fois des protéines et des lipides en proportions variables.

Le phénomène de plasmolyse, au cours duquel le cytoplasme d'une bactérie placée en

milieu hypertonique se rétracte, ne peut s'expliquer que par l'existence d'une membrane. Des membranes peuvent être isolées par centrifugation différentielle à partir de protoplastes lavés puis lysés en milieu isotonique.

La membrane cytoplasmique a une épaisseur de 7.5nm environ et comporte un feuillet interne transparent de nature lipidique pris entre deux feuillets denses de nature protéique (fig.14).

#### **2.4.1. Composition chimique**

L'analyse chimique des membranes révèle trois types de substances: des lipides, des protéines et des glucides. En poids, les protéines dépassent les lipides qui paraissent abondants; les proportions sont environ de 60% à 70% de protéines et de 30 à 40% de lipides. Les glucides (glucose, glucosamines...) sont quantitativement des constituants mineurs. Les protéines existent sous de très nombreuses formes.

Dans une membrane donnée, il n'existe que quelques espèces de lipides. A part les mycolasmes, le cholestérol n'est jamais rencontré chez les bactéries. Leurs membranes contiennent des phospholipides (le phosphatidylglycérol et/ou la phosphatidyléthanolamine).

Les membranes des bactéries G<sup>+</sup> contiennent l'un de ces composants ou les deux avec plusieurs autres substances telles que l'acide phosphatidique et le diphosphatidylglycérol, tandis que les membranes des bactéries G<sup>-</sup> ne renferment qu'un seul ou deux types de molécules lipidiques.

La membrane plasmique contient surtout les enzymes de la chaîne respiratoire; les déshydrogénases et les coenzymes qui leur sont fonctionnellement associés: NAD, FAD, cytochromes, cytochromes oxydases.

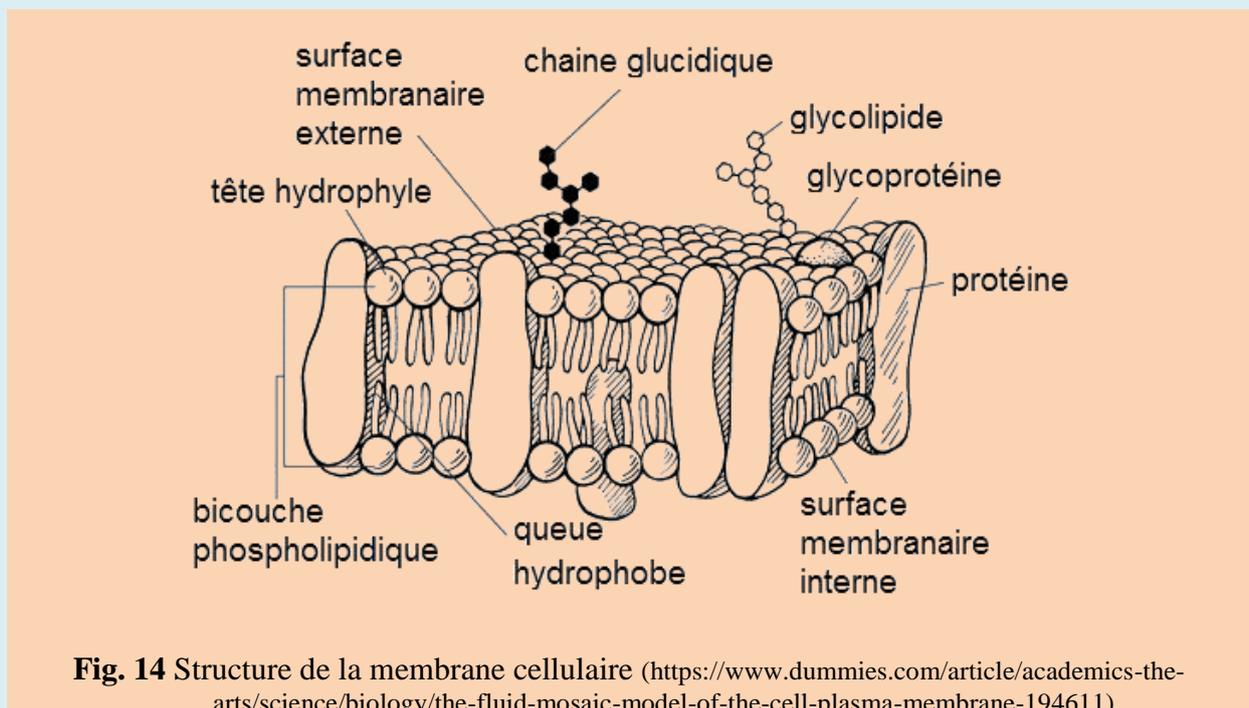
D'autres enzymes impliqués dans la synthèse des lipides complexes, dans les constituants de la paroi et dans la réplication de l'ADN y sont localisés.

#### **2.4.2. Structure**

Les lipides sont à la base de la structure de la membrane. Chaque molécule est amphipatique (ou amphiphile); elle est caractérisée par une partie hydrophobe soluble dans

l'huile, insoluble dans l'eau, et une partie hydrophile ayant les propriétés opposées et porteuse d'un groupement phosphate chargé négativement ( $\text{PO}_4^-$ ). Les molécules s'organisent en deux couches moléculaires, le double feuillet. Les molécules hydrophobes se font face et sont protégées du milieu aqueux tandis que les têtes hydrophiles externes y sont immergées. Cette organisation empêche le passage des molécules hydrophiles et constitue ainsi une véritable barrière imperméable à ces substances.

Comme dans toutes les membranes, on distingue dans la membrane deux catégories de protéines: les protéines extrinsèques et les protéines intrinsèques. Les protéines extrinsèques ou protéines périphériques sont liées faiblement à la membrane; elles apparaissent sur l'une des deux faces du double feuillet et n'ont aucun groupe inséré dans la zone hydrophobe. Les protéines intrinsèques ou internes traversent plus ou moins profondément ou complètement le double feuillet membranaire pour apparaître sur les deux faces, interne et externe de la membrane (Fig.14).



**Fig. 14** Structure de la membrane cellulaire (<https://www.dummies.com/article/academics-the-arts/science/biology/the-fluid-mosaic-model-of-the-cell-plasma-membrane-194611>).

### 2.4.3. Fonctions

Outre son rôle dans le processus de biosynthèse, la membrane joue un rôle essentiel dans la respiration et dans les transferts de substances.

La membrane est le support des enzymes impliquées dans la respiration cellulaire, elle représente l'équivalent structural et fonctionnel des mitochondries des cellules eucaryotes. Au niveau de cette membrane, les réactions d'oxydoréduction amenant la dégradation des substrats assurent la libération d'une certaine quantité d'énergie qui est récupérée sous forme d'ATP.

La membrane cytoplasmique joue le rôle de barrière en empêchant la fuite des composés intracytoplasmiques et les pénétrations libres (anarchiques) des constituants extracellulaires. Elle assure les échéances en absorbant les éléments utiles au métabolisme, en excréant d'autres molécules et en éliminant les déchets. Elle régit donc l'entrée et la sortie des métabolites. Perméable à l'eau et à de nombreuses molécules, elle sélectionne le passage de certaines petites molécules organiques et empêche celui des composés macromoléculaires.

On parle de transport passif lorsque la diffusion des substances s'effectue conformément aux lois de l'osmose, dans le sens du gradient de concentration, c'est-à-dire du milieu le plus concentré vers le milieu le moins concentré.

Dans la plupart des cas, les échanges à travers la membrane échappent aux lois de diffusion: les bactéries admettent et concentrent sélectivement certaines substances. Cette sélectivité met en œuvre des transporteurs protéiques analogues aux systèmes enzymatiques. Ce sont des perméases qui interviennent dans le passage de certains métabolites (acides aminés, sucres, acides organiques...); on parle donc de transport actif. La pénétration implique la formation d'un complexe entre le substrat et le transporteur membranaire, le passage du complexe à travers la phase lipidique de la membrane puis la dissociation du complexe à la surface de la membrane interne. Le passage des métabolites à travers la membrane n'est pas à sens unique mais régi par un mécanisme dans lequel la pénétration continue est contrebalancée par une sortie également continue. Le mécanisme de transport actif est consommateur d'énergie (ATP).

## 2.5. Cytoplasme

C'est un hydrogel colloïdal, pauvre en structures intracellulaires. Il contient en suspension le matériel génétique bactérien, de très nombreux ribosomes et quelques

inclusions dont la présence est facultative. Son pH est situé entre 7 et 7.2. Il comporte en solution ou en suspension: des ions, des enzymes, des métabolites organiques, des lipides et une large variété de composés solubles. Le cytoplasme est le siège de la plupart des réactions métaboliques cellulaires.

### 2.5.1. Ribosomes

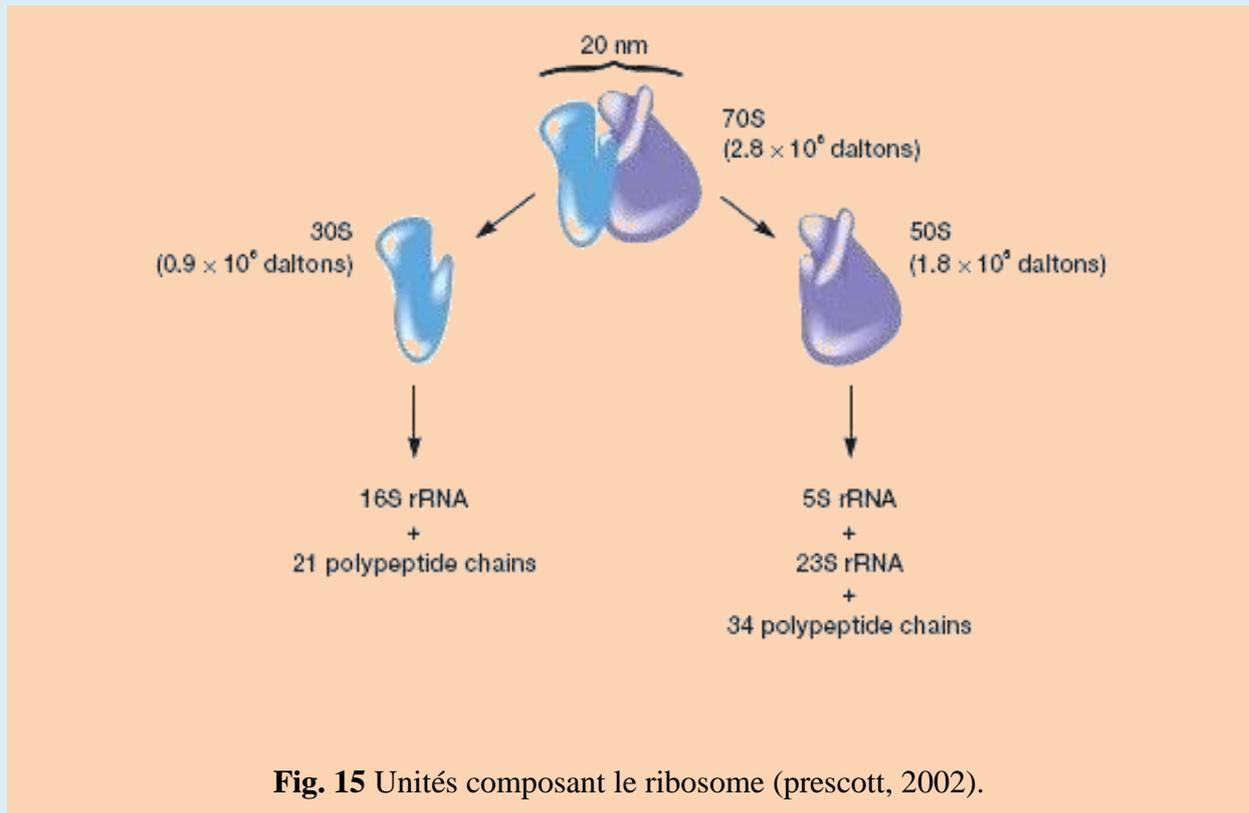
Les ribosomes sont les principales structures intracellulaires communes à toutes les bactéries. Ce sont de petites granulations sphériques, de 10 à 20nm de diamètre et de poids moléculaire de 2.7 million, qui paraissent remplir totalement le cytoplasme, excepté les régions nucléaires. Leur constante de sédimentation est de **70S**. Ces particules sont constituées de deux (02) unités associées: les unes ont une constante de sédimentation de **50S** et les autres, moins volumineuses, de **30S**. (Fig. 15).

Les ribosomes sont constitués **d'ARN** (63 - 65%) et de **protéines** (35 - 37%). L'ARN ribosomal représente **80 - 90%** de l'ARN total cellulaire.

Les ribosomes sont le **siège de la biosynthèse des protéines**. C'est à leur niveau que les acides aminés s'unissent les uns aux autres par liaison peptidique pour former une chaîne peptidique. Dans les cellules en phase active de biosynthèse protéique, les ribosomes sont souvent associés par de minces filaments d'ARN messenger, réalisant ainsi des structures en chapelets qu'on appelle des **polyribosomes** ou **polysomes** (Fig. 16).

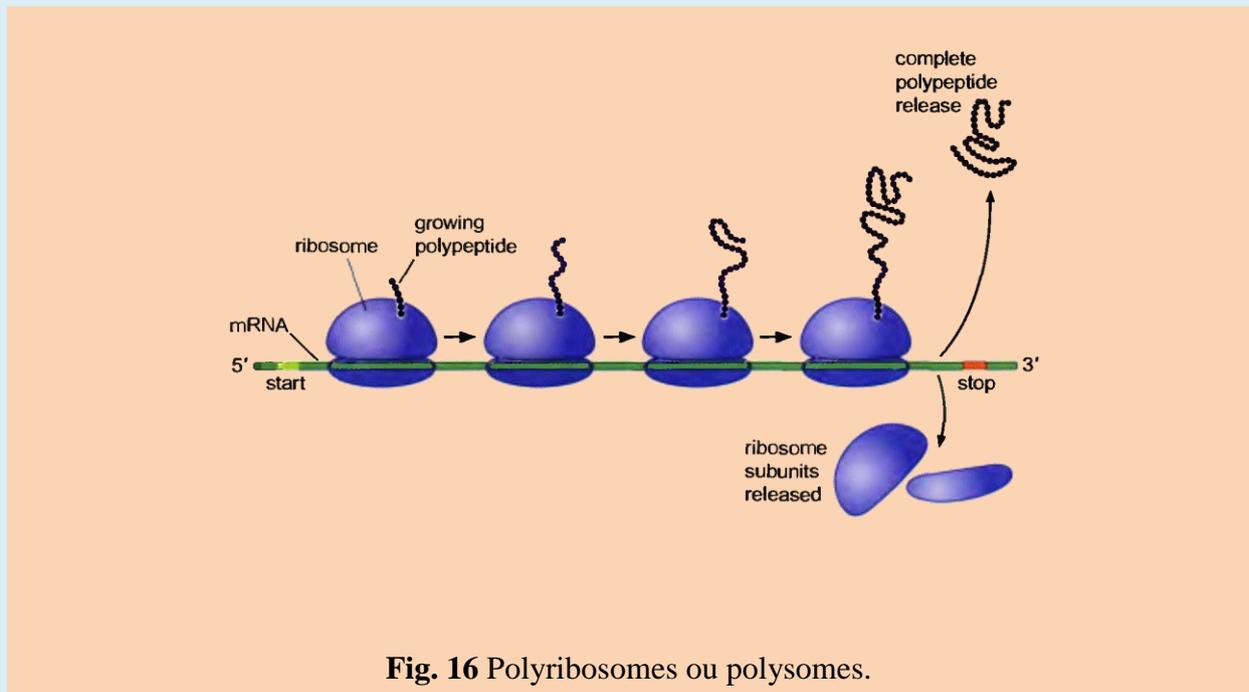
Les cellules bactériennes contiennent des quantités variables de ribosomes allant de **5000 à 50000** (*E. coli* en contient approximativement 18000); leur nombre varie selon le taux de croissance et il est maximal durant la phase d'accélération de la croissance.

La différence entre les ribosomes des bactéries (70S) et ceux des eucaryotes (80S) est d'une grande importance dans la lutte contre les bactéries pathogènes; certains antibiotiques inhibent spécifiquement la synthèse protéique réalisée par les ribosomes à 70S sans affecter la fonction des ribosomes à 80S.



**Fig. 15** Unités composant le ribosome (prescott, 2002).

N HENDEL



**Fig. 16** Polyribosomes ou polysomes.

### 2.5.2. Substances de réserve

Certaines bactéries accumulent dans leur cytoplasme des produits de réserve en forme de granules au contact direct du cytoplasme ou limités par une mince enveloppe de lipides. Ces granules peuvent être mobilisés au profit du métabolisme cellulaire dès que les conditions sont favorables. Ces matériaux organiques ou inorganiques constituent généralement des réserves d'énergie.

De nombreuses bactéries comme les entérobactéries, les *Bacillus* ou les *Clostridia*, mettent en réserve du glycogène (polymère ramifié de glucose). D'autres espèces appartenant aux genres *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Azotobacter*... accumulent des produits carbonés lipidiques sous forme d'acide  $\beta$ -hydroxybutyrique. D'autres encore peuvent accumuler les deux types de matériel de réserve tel est le cas des bactéries pourpres des *Sphaerotilus* tandis que d'autres en sont dépourvues (bactéries vertes).

Des réserves azotées peuvent être rencontrées chez les cyanobactéries qui accumulent la cyanophycine (polymère d'arginine et d'aspartate). Ces acides aminés servent de précurseurs pour la biosynthèse d'autres acides aminés et d'acides organiques.

Des granulations chromatiques ou volutines constitués de polyphosphates inorganiques sont associés à la région nucléaire et peuvent représenter jusqu'à 50% des phosphates cellulaires. Ces granules sont intégrés à la composition des acides nucléiques, des phospholipides, des acides teichoïques et des nucléotides (ATP, GTP, NAD<sup>+</sup>, FAD).

Des inclusions de soufre ou de fer sont aussi caractéristique de certaines bactéries: les thiobactéries; telles que les *Beggiatoa* et les *Thithrix* qui tirent leur énergie de l'oxydation de l'hydrogène sulfuré. Les bactéries qui oxydent le fer contiennent des inclusions cytoplasmiques d'hydroxyde ferrique qui peut être également incrusté dans les gaines des sidérobactéries.

## 2.6. Le chromosome

Le génome bactérien est le plus petit des cellules vivantes. Il est formé d'ADN et constitue le support de l'hérédité des bactéries. Il stocke et contrôle toutes les activités et les

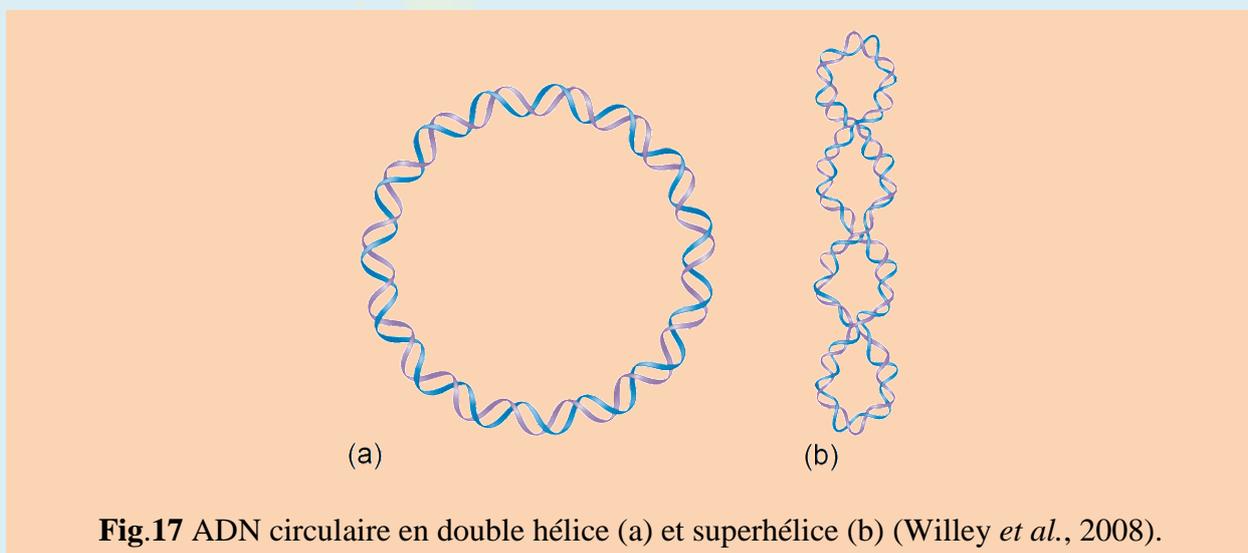
fonctions bactériennes. D'autres structures d'ADN extrachromosomiques sont également présents ; les plasmides qui sont responsables de l'expression phénotypique de nombreux caractères métaboliques additionnels.

### 2.6.1. Morphologie

L'observation au microscope électronique révèle que l'appareil nucléaire n'est pas entouré d'une membrane ; contrairement au noyau de la cellule eucaryote. Le corps chromatinien présente une structure fibrillaire constituée principalement d'ADN. Cette molécule est en suspension dans le cytoplasme cellulaire où elle est enroulée en un anneau.

L'ADN bactérien a une structure bicaténaire : constituée de l'association complémentaire de deux brins appariés en une double hélice, appelée génophore ou chromosome qui est situé dans un espace cytoplasmique appelé région nucléaire ou nucléoïde. Ce dernier prend une forme variable, selon les espèces et leur état physiologique.

Dans la bactérie, l'anneau d'ADN se présente en une structure pelotonnée liée à la membrane cytoplasmique. Il est toujours associé à de l'ARN et à des protéines dont principalement l'ADN polymérase. La double hélice de l'ADN est enroulée formant des boucles fixées sur un résidu central d'ARN. Ces boucles présentent un enroulement supplémentaire sur elles même : les superenroulements (super hélice ; plus d'une paire de bases dans une unité de longueur) (Fig. 17)



**Fig.17** ADN circulaire en double hélice (a) et superhélice (b) (Willey *et al.*, 2008).

Le chromosome déroulé d'*E. coli* mesure 1.3mm, soit 1000 fois sa taille. Il est formé d'environ 4 million de paires de bases, d'un poids moléculaire de  $2.9 \times 10^9$  Da (3000 gènes).

A l'image de l'ADN des cellules eucaryotes, qui est couplé à des protéines basiques : les histones, l'ADN des bactéries est neutralisé, non par les histones qui n'ont jamais été isolés chez les bactéries mais par des cations  $Mg^+$  ou  $Ca^+$  et des protéines basiques de types polyamines : les protéines P.

De nombreuses bactéries présentent 02 ou même 04 chromosomes dont certains sont partiellement formés. Cette situation s'explique par le fait que chez les bactéries à croissance rapide, la duplication des différents éléments cellulaires est relativement moins rapide que celle du chromosome dont la copie est initiée avant même que l'ensemble de sa structure originale ne soit terminée.

### 2.6.2. Composition chimique et structure

L'acide désoxyribonucléique est un polymère de poids moléculaire élevé, composé de nucléotides. Chaque nucléotide est formé d'un groupement phosphoré, d'un sucre à 05 atomes de carbone (le désoxyribose) et d'une base purique (adénine A ou guanine G), ou pyrimidique (cytosine C ou thymine T). Le groupement phosphoré est un phosphodiester en position 3' et 5' du désoxyribose.

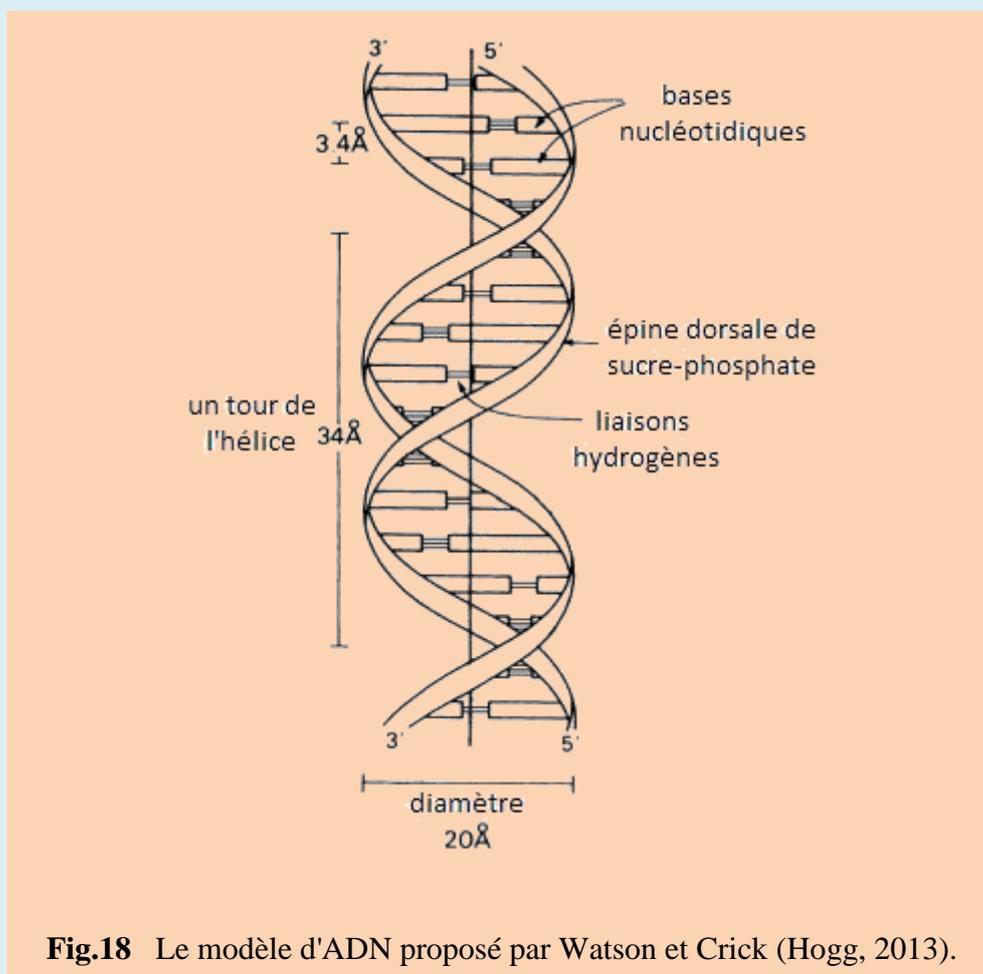
Les nucléotides s'unissent les uns aux autres par des liaisons diester établies entre les fonctions acides de l'acide phosphorique et les fonctions alcools du sucre. De longues chaînes polynucléotidiques se constituent ainsi, formant une épine dorsale avec des projections latérales par les bases organiques fixes aux molécules de sucre.

Dans tous les ADN d'origine bactérienne, les chaînes sont associées par deux et maintenues par des liaisons hydrogènes qui relient les molécules de bases.

Selon WATSON et CRICK, « la molécule d'ADN est constituée d'une double hélice enroulée à la manière d'une échelle de corde autour d'un axe imaginaire » (Fig. 18).

- Les 02 montants de l'échelle sont constitués par les squelettes désoxyribophosphates et les barreaux de l'échelle par les paires de bases.

- La distance séparant les 02 chaînes latérales est constante. L'appariement A-T et C-G est capable de maintenir le parallélisme.
- La largeur de la double hélice est de 02 nm, les nucléotides se succèdent tous les 0.34nm. Un tour complet de l'hélice est réalisé tous les 3.4nm, faisant intervenir un enchaînement de 10 nucléotides.
- Les 02 chaînes de la double hélice ont des polarités opposées par rapport aux liaisons 3`- 5` des désoxyriboses avec les phosphates.

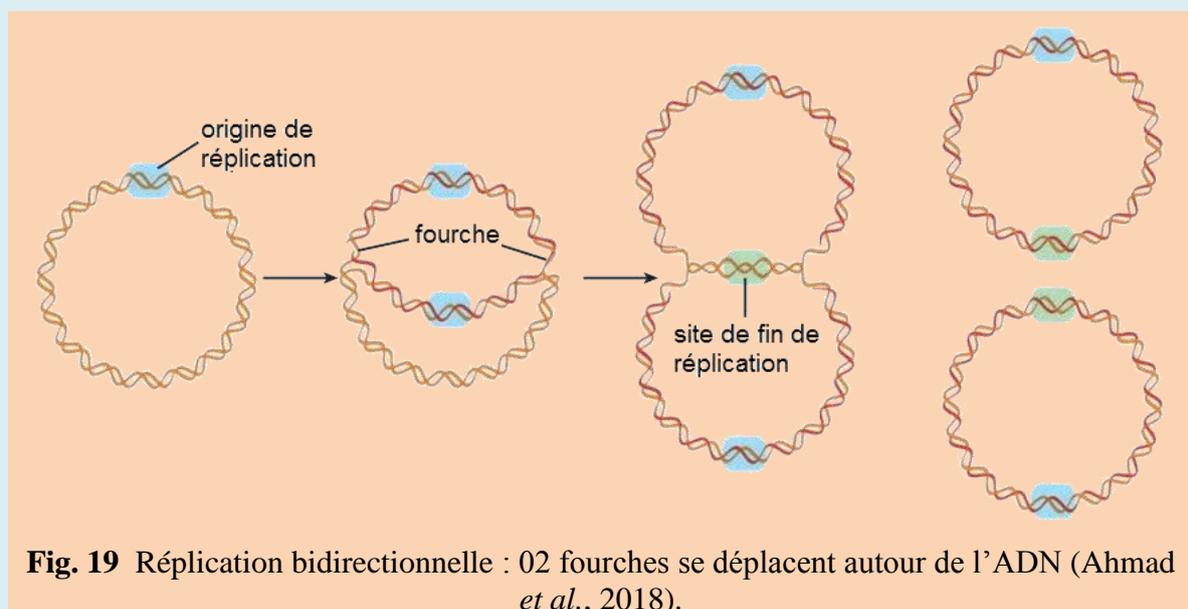


### 2.6.3. Réplication

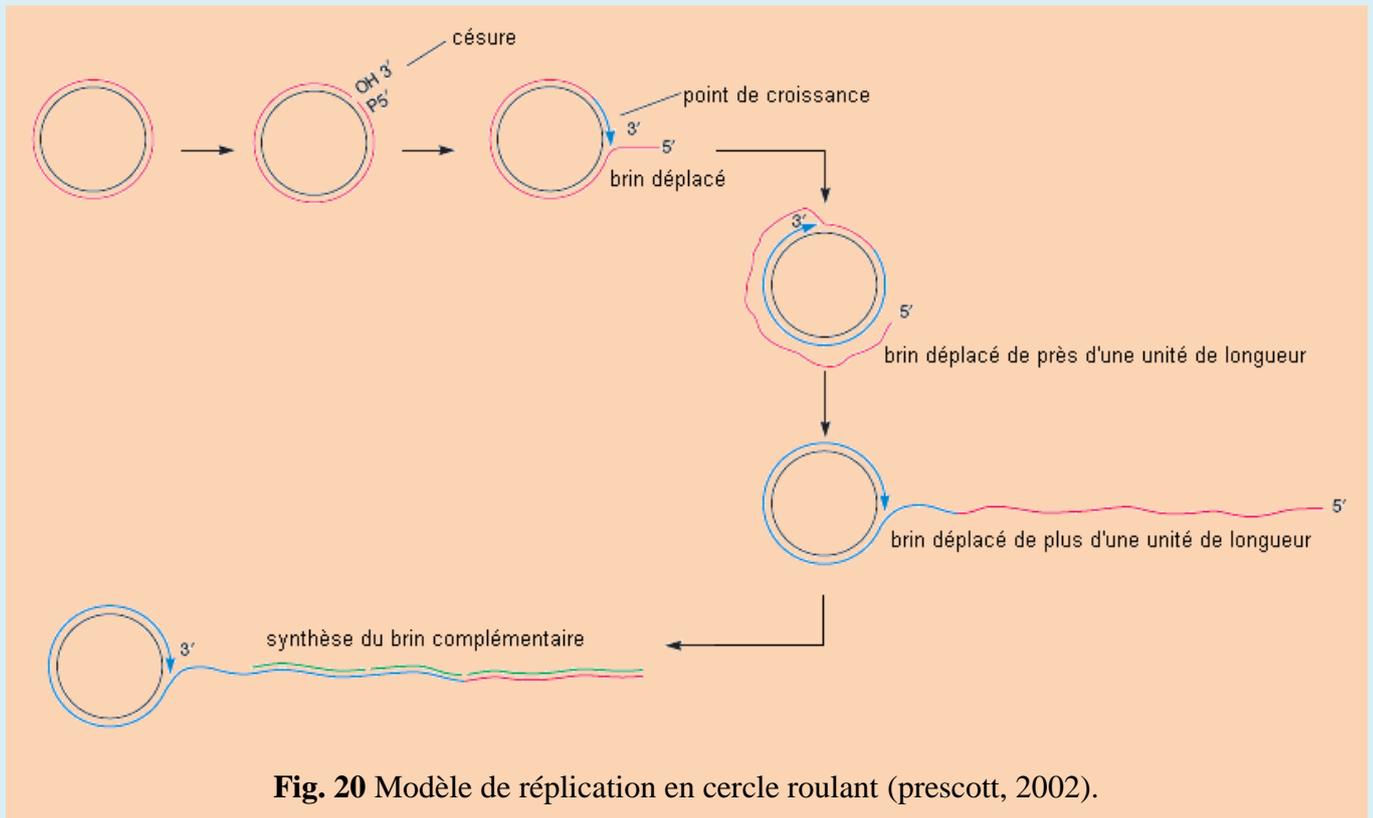
La réplication ou la duplication chez les bactéries se fait de la même manière que chez les cellules eucaryotes c.à.d. selon un mécanisme semi-conservatif.

Chez *E. coli* la réplication commence à un seul endroit, l'origine. La séparation de la structure en double brins aboutit à la formation d'une **fourche de réplication**. Deux fourches de réplication se déplacent à partir de l'origine jusqu'à la copie totale du réplicon : 02 chromosomes sont formés (Fig. 19).

Durant la conjugaison d'*E. coli* le mode de réplication s'effectue en **cercle roulant** (Fig. 20). Un brin est coupé et l'extrémité 3' s'agrandit grâce aux enzymes de la réplication. Le point de croisance tourne autour de la molécule circulaire et l'extrémité 5' du brin se déplace formant une queue « monobrin ». Celle-ci peut être convertie en double brin par la synthèse du brin complémentaire.



**Fig. 19** Réplication bidirectionnelle : 02 fourches se déplacent autour de l'ADN (Ahmad *et al.*, 2018).



**Fig. 20** Modèle de réplication en cercle roulant (prescott, 2002).

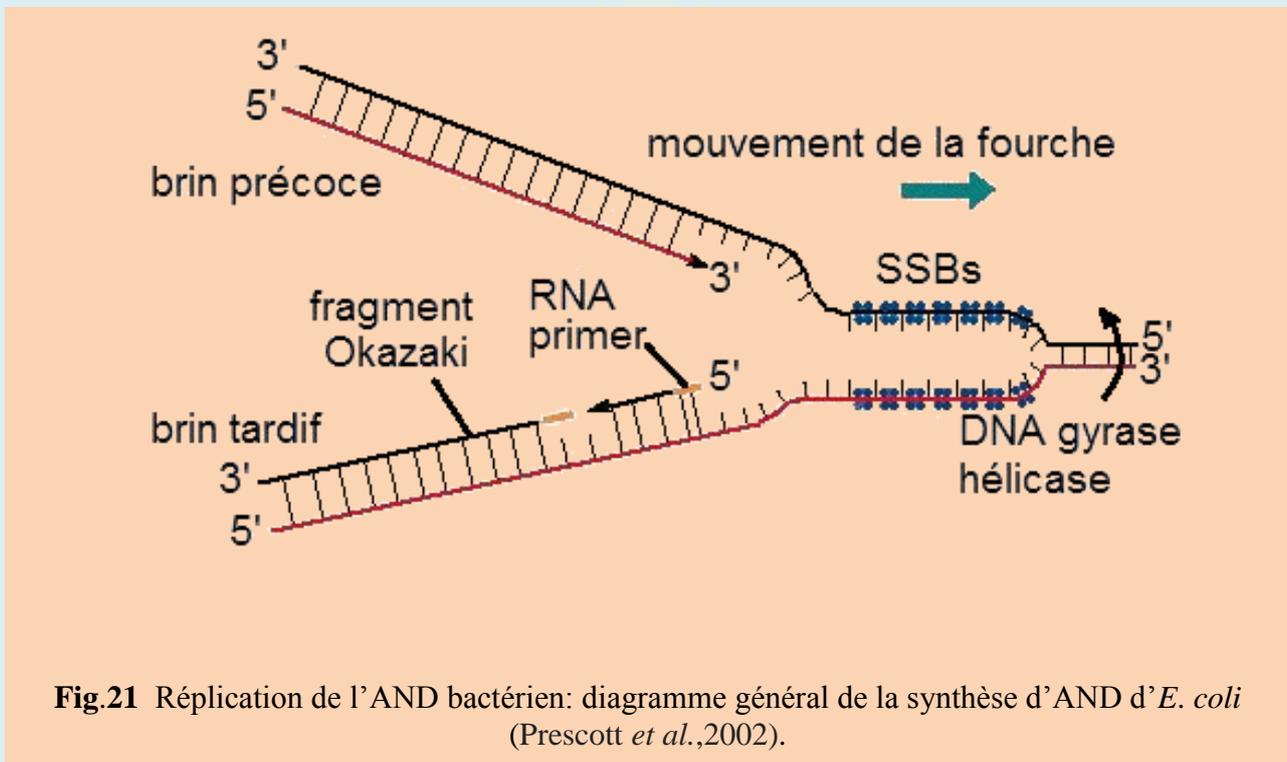
### 2.6.3.1. Mécanisme de réplication de l'ADN

Le mécanisme de réplication chez *E. coli* met en œuvre un complexe multienzymatique appelé **réplisome** composé au moins d'une trentaine (30) de protéines. La réplication commence par l'ouverture de la double hélice de l'ADN en un point d'origine fixe. Ce site est composé de 100 à 200 paires de bases riches en A-T.

*E. coli* possède 03 ADN polymérases différentes, chacune catalysant la synthèse de l'ADN dans la direction 5' → 3', en lisant la séquence de l'ADN matrice dans la direction 3' → 5' (Fig. 21). Les nucléotides sont ajoutés aux extrémités 3'OH de la chaîne en croissance. L'ADN polymérase III joue le rôle majeur dans la réplication et probablement aussi la polymérase I. Les polymérases I et II sont considérées comme réparateurs de l'ADN endommagé.

- Les **hélicases**, ATP dépendantes, sont responsables du déroulement. Les super-enroulements sont enlevés par les **topoisomérases** (ADN girase).

- Au cours de la réplication, les 02 brins séparés sont stabilisés par des protéines spécialisées SSB (Single-Stranded DNA Binding Proteins : protéines se liant à l'ADN simple brin).

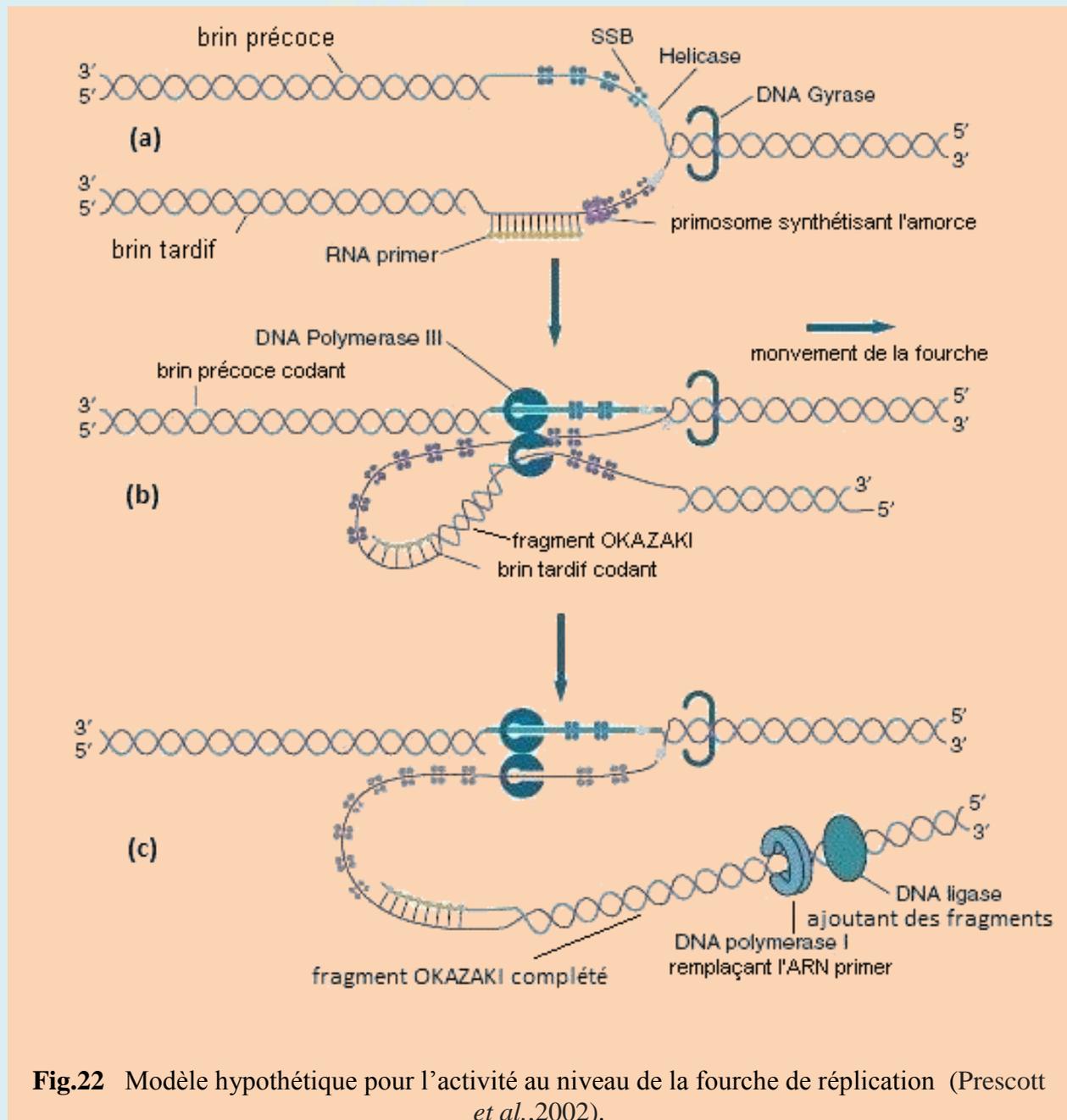


Le processus de réplication est déroulé selon 04 phases (Fig. 22):

- 1- L'hélicase déroule l'hélice avec la participation de l'ADN girase, et les brins séparés sont stabilisés par les protéines SSB (Fig. 22 a).
- 2- L'ADN est répliqué de manière continue, par l'ADN polymérase III, sur le brin précoce ; et discontinue sur le brin tardif. Sur ce dernier, le mécanisme implique la formation de fragments, dans la direction 5`- 3`, ajoutés à de petits fragments d'ARN (ARN primer : amorce) synthétisés par la primase (primase + protéines assistantes = primosome). Ces fragments d'ADN de 1000 à 2000 nucléotides sont appelés fragments Okazaki (Fig. 22 b).
- 3- Après duplication d'une grande partie du brin tardif par des fragments Okazaki, l'ADN polymérase I ou l'ARNase H enlève les amorces d'ARN. Les vides ainsi engendrés sont

complétés par l'ADN polymérase I ou III.

4- Finalement, les fragments sont raccordés par l'ADN ligase qui forme une liaison phospho-diester entre le groupement 3`OH du brin en croissance avec le groupement 5` phosphate du fragment Okazaki (Fig. 22 c).



**Fig.22** Modèle hypothétique pour l'activité au niveau de la fourche de réplication (Prescott *et al.*, 2002).

## 2.7. Les plasmides

La conjugaison, le transfert d'ADN entre les bactéries impliquant le contact direct, dépend de la présence d'une molécule d'ADN extrachromosomique connue sous le nom de **plasmide**.

Les plasmides sont de petites molécules d'ADN circulaire, capables de se répliquer de manière autonome et sont présents chez beaucoup de bactéries. Ils sont présents aussi chez quelques levures et d'autres champignons. Ils se classent d'après leur stabilité et leur mode de propagation.

L'ADN plasmidique se distingue des acides nucléiques des bactériophages par 02 caractères fondamentaux : ils ne provoquent aucun dommage aux cellules bactériennes qui les hébergent et ils n'ont aucune existence autonome à l'état libre en dehors des bactéries.

### 2.7.1 Structure

Le plasmide est une molécule d'ADN bicaténaire, circulaire et surenroulée, d'un poids moléculaire de 0.5 à 400 Mda (mégadalton = 1 million) et contient un petit nombre de gènes ; généralement moins de 30. Mais il existe quelques plasmides de structure linéaire.

La cellule bactérienne peut héberger de nombreux plasmides distincts les uns des autres selon leur nature et l'espèce bactérienne. Certains plasmides sont en nombre réduit (1 à 10 copies), d'autres sont plus nombreux (10 à 100 copies). Une bactérie peut héberger plusieurs types de plasmides ; plus leur taille est importante et moins ils sont nombreux.

Les plasmides sont généralement formés de séquences nucléotidiques différentes de celles du chromosome bactérien, ce qui montre qu'ils lui sont étrangers.

### 2.7.2 Propriétés.

L'acquisition des plasmides augmente le potentiel d'adaptation des bactéries en leur conférant des propriétés additionnelles. Certains plasmides portent des gènes conférant plusieurs propriétés phénotypiques à la cellule hôte.

Les principales fonctions codées par les plasmides sont

**a. La résistance aux antibiotiques**

Les plasmides de résistance (plasmides R ou facteurs R) ont des gènes qui codent pour des enzymes capables de détruire ou modifier les antibiotiques. Certains plasmides R ont seulement un gène de résistance, d'autres ont un nombre pouvant atteindre 08. Parce que les facteurs R sont des plasmides conjuguants, ils peuvent propager et s'étendre sur toute une population bactérienne.

**b. Production de toxines**

Certains plasmides appelés plasmides de virulence rendent la bactérie qui les héberge plus pathogénique, car elle devient plus résistante à la défense de l'hôte ou à la production de toxines. Par exemple les souches entérotoxiques d'*E. coli* causent différents types de diarrhée car elles contiennent des plasmides codant pour une entérotoxine et d'autres substances qui assurent l'adhésion de la bactérie à l'épithélium intestinal puis son envahissement.

**c. Production de bactériocine**

Les bactéries contiennent des plasmides (plasmides Col) qui leur confèrent un avantage compétitif dans le monde microbien. Les bactériocines sont des protéines bactériennes qui détruisent d'autres bactéries. Elles agissent, sur des souches de la même espèce ou d'espèces voisines de la souche productrice, par la formation de canaux dans leurs membranes plasmiques, ainsi élever la perméabilité ou attaquer le peptidoglycane et affaiblir la paroi cellulaire. Les plasmides Col contiennent des gènes pour la synthèse des bactériocines connues sous le nom de colicines qui sont dirigées contre *E. coli*. La bactérie productrice n'est plus affectée par les bactériocines qu'elle produit.

**d. Caractères métaboliques**

Les plasmides qui codent pour les caractères biochimiques sont appelés plasmides métaboliques. Ils contiennent des gènes codant pour des enzymes qui dégradent des substances comme les composés aromatiques (toluène), les pesticides (acide 2-4 dichlorophénoxyacétique), et des sucres (lactose).

D'autres fonctions physiologiques ont aussi un support plasmidique : la fixation de l'azote, production d'H<sub>2</sub>S, la production de pigments ...

Les plasmides confèrent aux bactéries qui les hébergent de nombreux caractères génétiques par un mécanisme d'addition et non par un mécanisme de substitution. Ils représentent un élément essentiel d'adaptation bactérienne. Ils sont responsables d'épidémies de gènes (notamment de résistance aux antibiotiques), qui ont fait découvrir les transposons, appelés encore gènes sauteurs ou mobiles.

## **2.8. Les pili (fimbriae)**

### **2.8.1. Structure**

Ce sont des structures externes, de nature protéique, plus courtes, plus minces, et plus rigides que les flagelles. De nombreuses bactéries à Gram négatif (exceptionnellement des bactéries à Gram positif) possèdent les pili (singulier : *pilus*). Ils sont ancrés dans la membrane plasmique mais ne possèdent pas de corps basal. Ils sont constitués d'un polymère d'une même protéine structurale spécifique : la piline. Leur diamètre est de 3 à 10nm par une longueur pouvant atteindre 10µm. On distingue deux catégories de pili: les pili communs et les pili sexuels.

### **2.8.2. Fonction**

#### **2.8.2.1. Les pili communs**

De 3 à 10nm de diamètre sur plusieurs µm de long, ils sont disposés régulièrement à la surface de la bactérie (1000 fimbriae par cellule). Leur piline, est assemblée à des polypeptides mineurs dont l'adhésine qui peut avoir des interactions avec un récepteur cellulaire hydrocarboné (glycolipides ou glycoprotéines) présent à la surface d'une cellule eucaryote. Ainsi, les pili peuvent attacher spécifiquement des bactéries à la surface de cellules eucaryotes, phase essentielle dans certains pouvoirs pathogènes (ex. fixation d'*Escherichia coli* sur la muqueuse vésicale). Les pili communs permettent aussi aux bactéries qui en possèdent de former des films bactériens à la surface des milieux liquides. Les complexes pili-adhésine ont un support génétique plasmidique ou chromosomique.

### 2.8.2.2. Les pili sexuels

Désignés par le terme pili F (facteur de fertilité F), plus longs, plus épais que les pilis communs, ils sont en nombre très restreint (9 à 10) et sont codés par des plasmides conjugatifs (facteur F). Présent seulement chez les bactéries mâles ( $F^+$ ), ils jouent un rôle essentiel dans l'attachement des bactéries entre elles au cours de la conjugaison. Ces pilis sexuels servent également de récepteurs de bactériophages spécifiques au début de leur cycle de multiplication.

## 2.9. La capsule

De nombreuses bactéries synthétisent et sécrètent des substances organiques qui se déposent et s'accumulent, autour de leur paroi, en couche plus ou moins compacte et d'épaisseur variable. Les termes capsule et couche visqueuse sont fréquemment utilisés pour décrire des couches de polysaccharides; le terme le plus inclusif **glycocalyx** est également utilisé. Le glycocalyx est défini comme le matériel contenant du polysaccharide situé à l'extérieur de la cellule. Lorsque cette couche externe présente une surface nettement définie, entourant étroitement la cellule et qui exclut les particules, comme l'encre de Chine, elle est appelée **capsule**. Si elle est plus diffuse et abondamment sécrétée, elle est généralement appelée **couche visqueuse**.

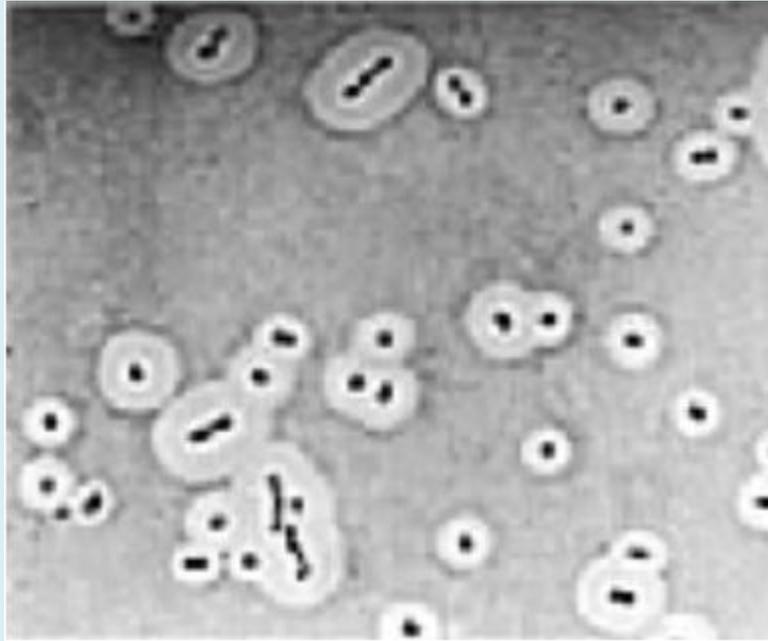
La capsule n'est pas présente chez toutes les bactéries et, chez une même souche, la formation de capsule est largement influencée par les constituants du milieu. Les glucides jouent un rôle important.

La capsule peut être aisément éliminée par un lavage avec une solution saline et souvent par l'effet mécanique d'une simple agitation d'une suspension bactérienne. Elle n'a pas de fonction vitale pour les bactéries, qui peuvent croître et se multiplier après l'avoir perdue.

### 2.9.1 Mise en évidence et morphologie

Pour mettre en évidence la capsule chez les bactéries, on procède habituellement à la coloration à l'encre de Chine: sur le fond noir de la préparation constitué par un mélange

d'encre de Chine et de suspension bactérienne, la capsule apparaît comme un halo brillant, réfringent entourant le corps bactérien (Fig. 23).



**Fig. 23** Streptocoques avec capsule : coloration à l'encre de Chine ( Moat *et al.*, 2002).

La capsule paraît entourer une cellule bactérienne ou quelquefois une courte chaînette de quelques cellules. Sa présence donne aux colonies obtenues en milieu solide un aspect muqueux caractéristique (ex. *Klebsiella pneumoniae*). Les amas visqueux entourant et noyant dans leur masse un grand nombre de cellules sont appelés **zooglées** (ex. *Zoogloea ramigera*).

### 2.9.2. Composition chimique

Avec une exception connue (les capsules d'acide poly-D-glutamique de *Bacillus anthracis* et *Bacillus licheniformis*), le matériel extracellulaire (glycocalyx) est un

polysaccharide. Selon les espèces la capsule peut être plus ou moins épaisse et rigide, en fonction de sa structure chimique, généralement formé d'une large variété de polysaccharides incluant des glucides aminés.

### 2.9.3. Fonctions

La capsule ne joue pas un rôle vital comme l'appareil nucléaire ou la paroi: une bactérie dépourvue de capsule peut croître et se multiplier. L'élimination des constituants capsulaires par hydrolyses enzymatique n'empêche pas la bactérie de se reproduire.

Les substances capsulaires sont de véritables facteurs de virulence: les pneumocoques capsulés injectés à la souris provoquent sa mort, alors que les mêmes cellules, acapsulées, perdent leur agressivité vis-à-vis de la souris. Ces substances capsulaires protègent la bactérie de la phagocytose.

Les substances capsulaires sont aussi le support de l'antigénicité: leur injection dans un animal l'oblige à élaborer des anticorps protecteurs.

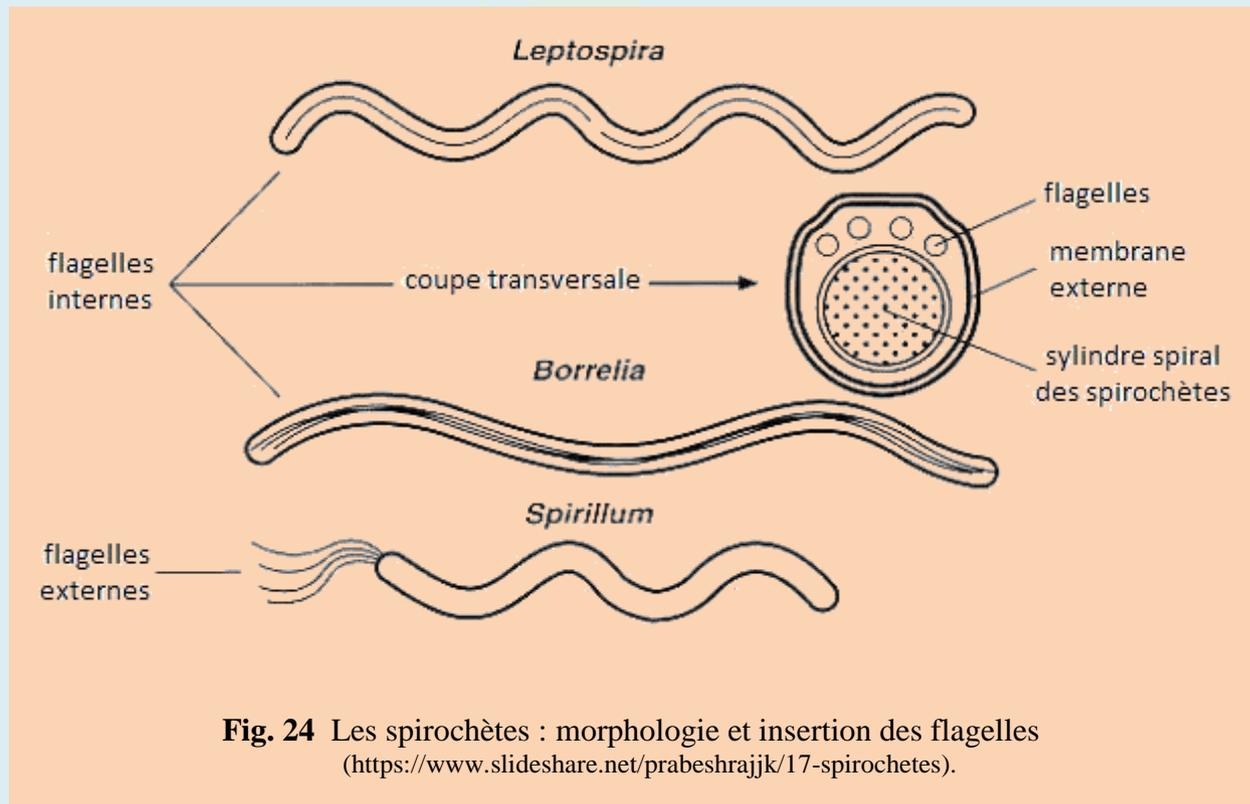
La capsule joue un rôle important contre les bactériophages qui sont incapables de se fixer et de pénétrer chez les bactéries capsulées. Elle forme aussi une structure protectrice contre le pouvoir agressif des agents physiques et chimiques (ex. dessiccation).

La capsule assure l'adhésion qui constitue la première étape de colonisation bactérienne d'un écosystème. Elle permet aux bactéries de se développer en microcolonies adhérentes aux surfaces des objets solides dans les environnements aquatiques ou des tissus dans les plantes dans les plantes et les animaux hôtes. *Streptococcus mutans*, par exemple, doit sa capacité à adhérer étroitement à l'émail des dents à son glycocalyx. Les cellules bactériennes de la même espèce ou d'espèces différentes deviennent piégées dans le glycocalyx, qui forme la couche connue sous le nom de plaque sur la surface de la dent; les produits acides excrétés par ces bactéries provoquent des caries dentaires

La capsule est donc un facteur important de survie contribuant au maintien et à la multiplication des espèces qui la possèdent.

## 2.10. Cils ou flagelles

Les algues bleues et les myxobactéries se déplacent par glissement sur un support solide. Les eubactéries et les spirochètes se meuvent grâce à des organes locomoteurs spécialisés: chez les eubactéries, ce sont les flagelles ; chez les spirochètes, il s'agit d'un filament axial finement enroulé autour de la cellule et fixé à ses deux extrémités (Fig. 24).



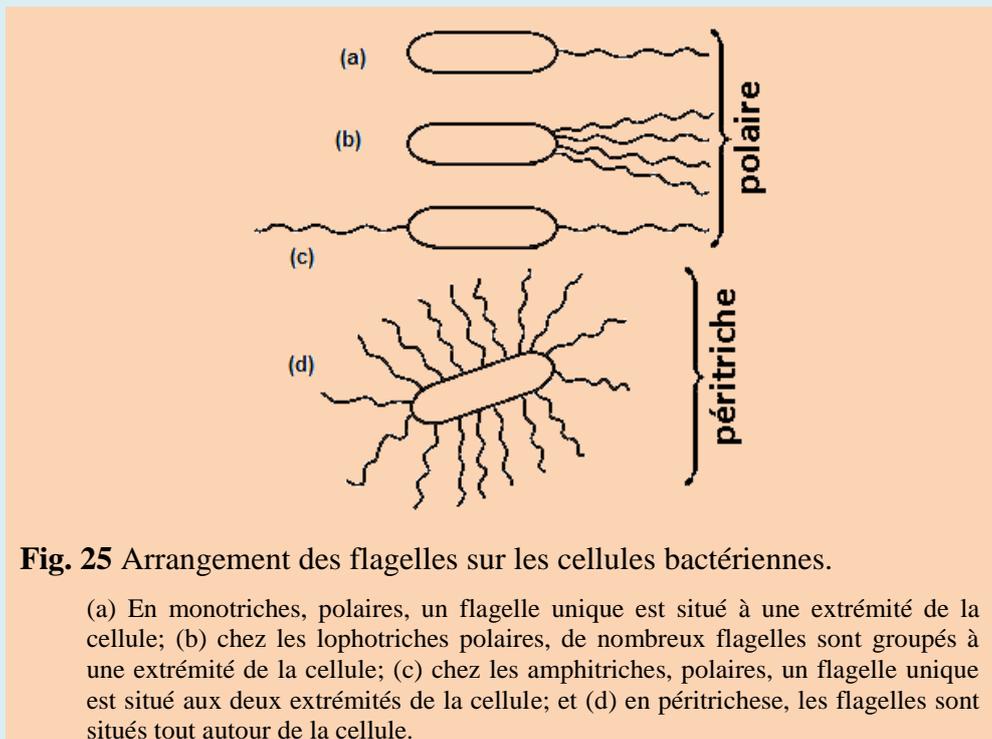
### 2.10.1. Mise en évidence

Les flagelles ou cils sont des organites extrêmement ténus (12–30nm de diamètre), invisibles au microscope optique sur des cellules vivantes. Leur mise en évidence nécessite des techniques spéciales de coloration qui augmentent leur épaisseur. Ces filaments sont traités d'abords par un mordant énergétique, puis par une solution colloïdale qui, en se déposant à leur surface, les grossit considérablement et les rend visibles : les cellules sont traitées par une suspension colloïdale instable de sels d'acide tannique, entraînant la formation d'un précipité lourd sur les parois cellulaires et les flagelles. Cependant, la meilleure méthode

d'étude est l'observation au microscope électronique qui, seule, permet de détailler leur forme, leur mode d'insertion et leurs dimensions.

### 2.10.2. Structure

Les flagelles apparaissent sous forme d'organites simples, minces, filamenteux, sinueux, généralement plus longs que la bactérie elle-même, d'environ 20nm de diamètre et 15 à 20µm de long. La structure détaillée d'un flagelle ne s'observe qu'au microscope électronique. Chez le spirochète, le filament axial enroulé autour du corps cellulaire et attaché aux deux extrémités de la bactérie serait en réalité formé de deux touffes de fibrilles polaires venant se rejoindre en son centre.



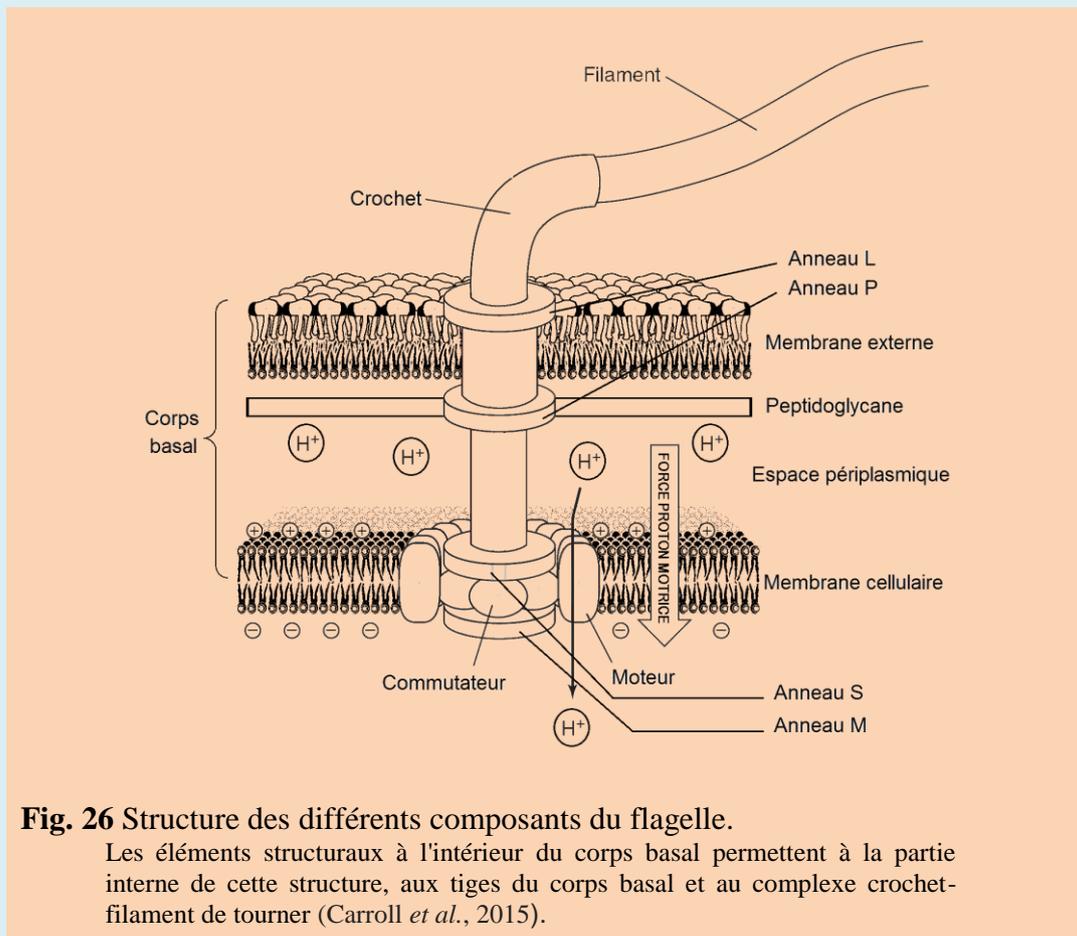
**Fig. 25** Arrangement des flagelles sur les cellules bactériennes.

(a) En monotriches, polaires, un flagelle unique est situé à une extrémité de la cellule; (b) chez les lophotriches polaires, de nombreux flagelles sont groupés à une extrémité de la cellule; (c) chez les amphitriches, polaires, un flagelle unique est situé aux deux extrémités de la cellule; et (d) en péritrichese, les flagelles sont situés tout autour de la cellule.

Les espèces bactériennes se distinguent souvent par le mode de distribution des flagelles ; *polaire* et *péritriche*. Les bactéries *monotriches* (du grec *trikhos*, cheveu) ont un seul flagelle; s'il est situé à une extrémité, on le dit polaire (Fig. 25a). Les bactéries *amphitriches* ont à chaque extrémité, un seul flagelle. Au contraire, les bactéries *lophotriches*

(en grec *lophos* veut dire touffe) ont une touffe de flagelles à l'une ou aux deux extrémités (Fig. 25b). Les flagelles sont distribués sur toute la surface des bactéries *péritriches* (Fig. 25c). La distribution des flagelles est très utile à l'identification des bactéries (en taxonomie): ainsi, dans la famille des *Pseudomonadaceae*, les bactéries sont généralement mobiles grâce à des flagelles polaires; dans la famille des *Enterobacteriaceae*, toutes les cellules mobiles possèdent un système flagellaire péritriche.

La microscopie électronique a permis de montrer que le flagelle bactérien se compose de trois parties (Fig. 26): (1) la partie la plus longue et la plus évidente, le *filament* s'étend depuis la surface cellulaire, (2) un corps basal est enfoui dans la cellule et (3) un segment court et courbe, le *crochet*, lie le filament au corps basal. Le filament est un cylindre creux constitué d'une seule protéine appelée la flagelline dont la masse moléculaire varie de 30.000 à 60.000.



**Fig. 26** Structure des différents composants du flagelle.

Les éléments structuraux à l'intérieur du corps basal permettent à la partie interne de cette structure, aux tiges du corps basal et au complexe crochet-filament de tourner (Carroll *et al.*, 2015).

Le crochet et le corps basal sont très différents du filament. Le crochet est un peu plus large que le filament et composé de différentes sous-unités protéiques. Le corps basal est le plus complexe. Chez *E. coli* et la plupart des bactéries Gram négatives, le corps a quatre anneaux attachés à un axe central. Les anneaux extérieurs L et P s'associent respectivement avec les lipopolysaccharides (LPS) et le peptidoglycane. L'anneau M interne s'attache à la membrane plasmique. Les bactéries Gram positives ont seulement deux anneaux dans le corps basal, un anneau interne connecté à la membrane plasmique et l'autre probablement attaché au peptidoglycane.

### 2.10.3. Fonctions

Les bactéries flagellées se déplacent dans les milieux liquides ou à la surface des géloses molles qu'elles recouvrent parfois en formant un véritable film.

Les flagelles bactériens sont des rotors hélicoïdaux semi-rigides auxquels la cellule transmet un mouvement de rotation. La rotation est entraînée grâce à des gradients de sodium ou de protons dans la cellule. Les bactéries vivant dans des environnements alcalins (alcalophiles) utilisent l'énergie du gradient d'ions sodium - plutôt que le gradient de protons - pour actionner le moteur flagellaire. Lorsqu'une bactérie péritriche nage, ses flagelles s'associent pour former un faisceau postérieur qui entraîne la cellule en avant dans une ligne droite par rotation contraire des aiguilles d'une montre. Les flagelles inversent leur sens de rotation et se dissocient momentanément pour provoquer la culbute de la cellule afin de changer la direction.

Ce comportement (mobilité) rend possible la propriété de **chimiotaxie** ou chimiotactisme: Une cellule mouvant loin d'une source d'un attractif chimique culbute et se réoriente et se déplace vers l'attractif. La présence d'un attractif chimique (par exemple, un sucre ou un acide aminé) est détectée par des récepteurs spécifiques situés dans la membrane cellulaire ou dans son espace périplasmique. Ces protéines de liaison sont également impliquées dans le transfert de ces composants à l'intérieur de la cellule. La cellule bactérienne détecte l'existence d'un gradient chimique spatial (c'est-à-dire un gradient entre ses deux pôles) et temporel ; c'est-à-dire des concentrations diminuent avec le temps pendant

lequel la cellule s'éloigne de la source attractive et augmentent avec le temps pendant lequel la cellule se déplace vers la même source.

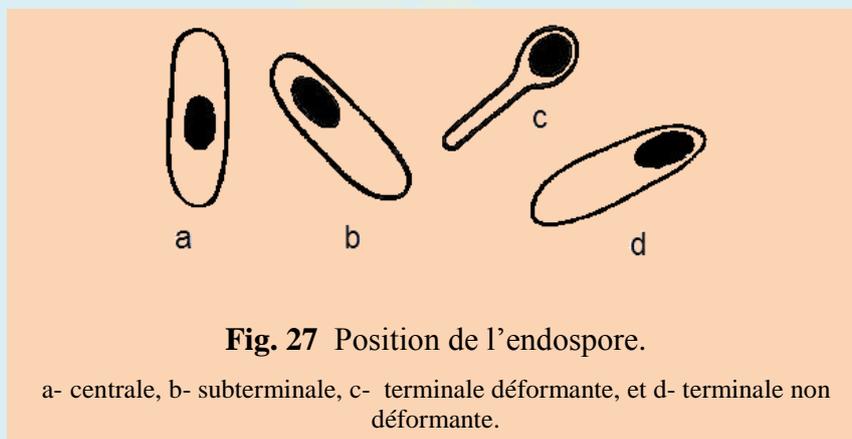
Certains composés agissent comme répulsifs plutôt que comme attractifs. Le mécanisme par lequel les cellules répondent aux attractifs et aux répulsifs implique une méthylation à médiation par GMPc (Guanosine monophosphate cyclique) et une déméthylation de protéines spécifiques dans la membrane. Alors que les attractifs provoquent une inhibition transitoire de la déméthylation de ces protéines, les répulsifs stimulent leur déméthylation. Le mécanisme par lequel un changement de comportement cellulaire est provoqué en réponse à un changement dans l'environnement est appelé transduction sensorielle. La transduction sensorielle est responsable non seulement de la chimiotaxie, mais aussi de l'aérotaxie (mouvement vers la concentration optimale en oxygène), de la phototaxie (mouvement des bactéries photosynthétiques vers la lumière) et des accepteurs d'électrons taxies (déplacement des bactéries respiratoires vers d'autres accepteurs d'électrons, tels que le nitrate et le fumarate).

## 2.11. Spore

Dans les conditions nutritionnelles défavorables, certaines espèces bactériennes se transforment en petites unités; les **spores** ou **endospores**: ce sont des formes de résistance capables de retourner à la forme végétative dans les conditions physicochimiques favorables.

### 2.11.1. Morphologie et structure

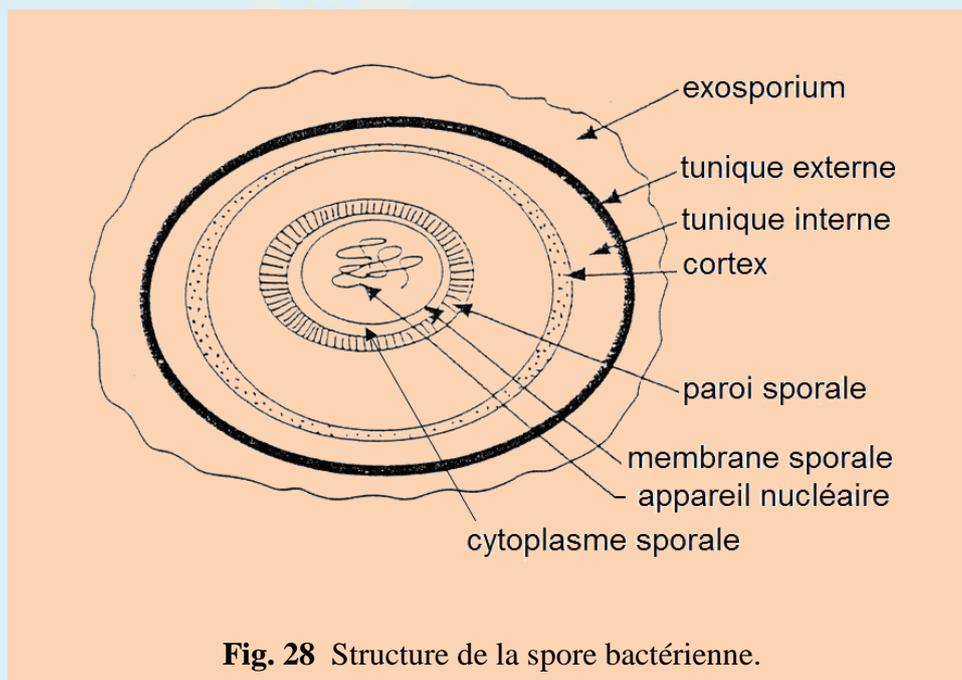
La spore bactérienne apparaît comme un espace clair, réfringent et ovoïde. Sa position dans la cellule peut être centrale, subterminale ou terminale (Fig. 27).



**Fig. 27** Position de l'endospore.

a- centrale, b- subterminale, c- terminale déformante, et d- terminale non déformante.

En microscopie électronique, la spore apparaît constituée d'une région centrale entourée de plusieurs enveloppes. La région centrale présente des zones claires représentant le matériel nucléaire et d'autres sombres représentant les acides nucléiques et les substances de réserve. Les enveloppes qui entourent cette région ont des structures et des compositions variées (Fig. 28):



**Fig. 28** Structure de la spore bactérienne.

- la **paroi sporale** : formée d'un peptidoglycane normale qui deviendra la paroi après la germination.
- le **cortex**: couche épaisse transparente formée d'un peptidoglycane inhabituel très sensible au lysozyme et contenant le dipicolinate de calcium.
- les **tuniques** (interne et externe): composée d'une protéine riche en liaisons disulfures (kératine). Elles sont imperméables et responsables de la résistance aux agents chimiques.
- l'**exosporium** : c'est la couche la plus externe. Il est formé d'une membrane lipoprotéinique contenant des sucres; il n'est pas essentiel à la survie de la spore.

### 2.11.2. Sporulation.

Le processus de sporulation se déclenche à la fin de la phase exponentielle de croissance ou en début de la phase stationnaire. Il dure de 7 à 10h pendant lesquelles la cellule subit de profondes modifications métaboliques et morphologiques menées parallèlement.

- **modifications morphologiques:** généralement différenciées en 7 phases:

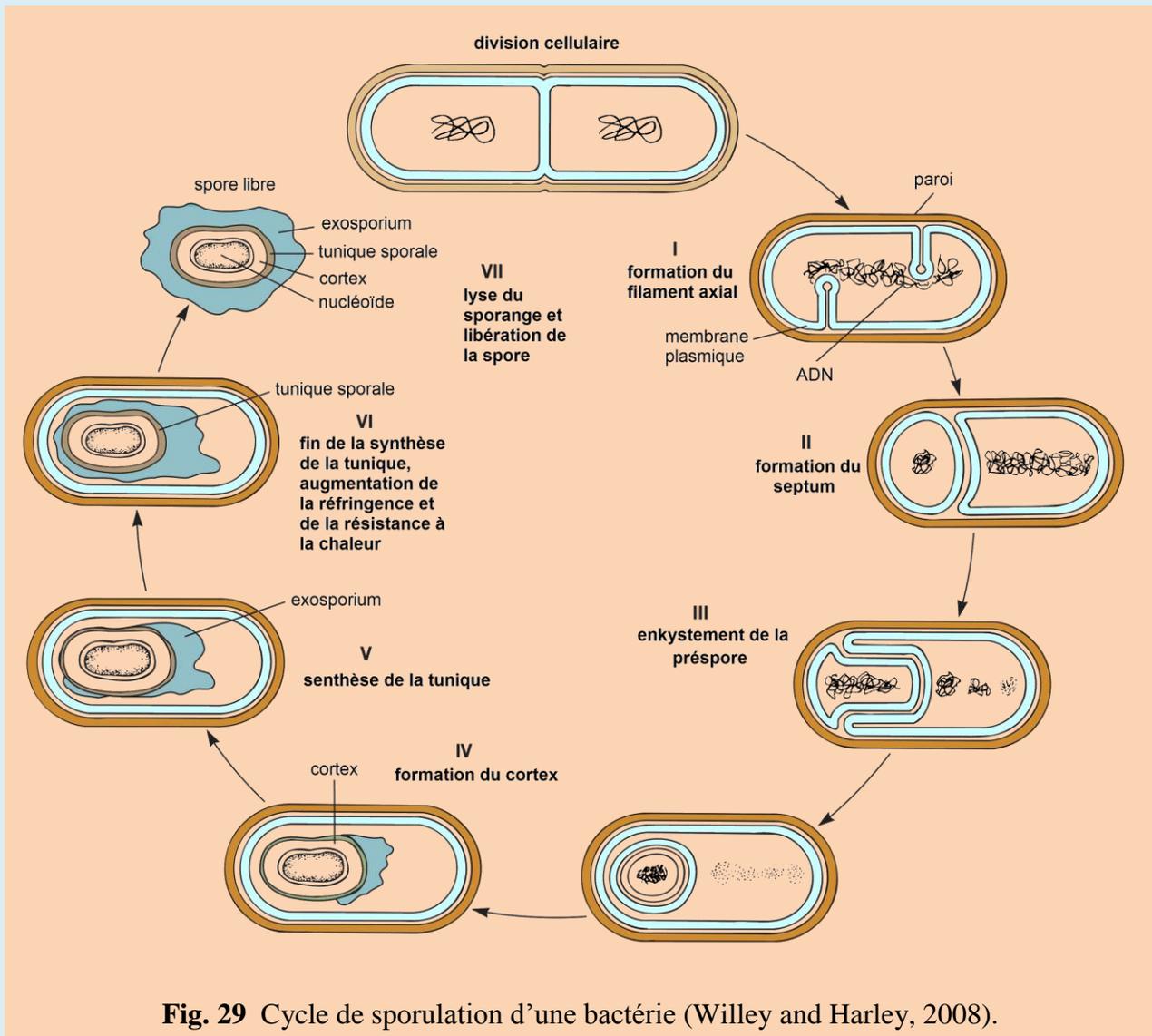
- **Stade I:** changement de l'ADN en un filament chromatique axial comprenant 02 génomes.
- **Stade II:** après séparation, l'un des 02 génomes occupe un pôle de la cellule en même temps qu'apparaît une invagination de la membrane plasmique séparant la cellule en 02 compartiments asymétriques.
- **Stade III:** formation de **présore** ovoïde qui est progressivement entourée de la membrane de la cellule mère où elle baigne (02 enveloppes sont formées).
- **Stade IV:** entre les 02 membranes se forme une **paroi sporale** puis le **cortex**.
- **Stade V:** formation des 02 enveloppes de nature protéique; les **tuniques sporales**.
- **Stade VI:** lyse de la cellule mère après maturation de la spore.
- **Stade VII:** libération de la spore mûre dépourvue de toute activité métabolique.

☒ chez quelques bactéries (ex. *Bacillus cereus*), une enveloppe externe se forme; c'est l'**exosporium**.

- **modifications métaboliques:**

Les biosynthèses cellulaires subissent différentes variations:

- accumulation de matériel protéique et de substances de réserve. Ce phénomène est accompagné de production de toxines et d'antibiotiques.
- dégradation des protéines principales de la cellule végétative.
- apparition de nouveaux composés: acide dipicolinique qui combine avec les ions  $\text{Ca}^+$  produits en même temps formant ainsi le dipicolinate de calcium.
- diminution de la teneur en eau jusqu'à 20% de la teneur initiale.



**Fig. 29** Cycle de sporulation d'une bactérie (Willey and Harley, 2008).

### 2.11.3. Propriétés

#### 2.11.3.1. Thermorésistance

Alors que les cellules végétatives sont détruites par un chauffage de 10 min à 80°C, les spores peuvent vivre et résistent à de températures plus élevées (quelques heures à 100°C). Cette propriété constitue un problème dans les hôpitaux et les industries alimentaires. On croyait que la thermorésistance des spores est essentiellement en rapport avec le dipicolinate de calcium formé uniquement au cours de la sporulation et de la teneur basse en eau qui est préservée grâce à l'imperméabilité des enveloppes dont principalement le cortex. En réalité

différents facteurs sont impliqués: dipicolinate de calcium, les protéines solubles dans l'acide stabilisant l'ADN, la déshydratation des protoplastes et la grande stabilité des protéines cellulaires des bactéries adaptées à la croissance dans les environnements à haute température.

### **2.11.3.2. Résistance aux agents chimiques et physiques**

La spore présente une résistance importante aux rayons UV, X et les ultrapressions. Ses propriétés et sa survie ne sont pas gravement affectées au contact des agents antiseptiques. Les antibiotiques sont légèrement sporostatiques par rapport à leur effet bactéricide sur les cellules végétatives.

### **2.11.3.3. Synthèse d'antibiotiques**

Ces substances antibactériennes et d'autres produits comme les protéases et les ribonucléases sont synthétisées au moment de l'engagement t irréversible de la sporulation.

### **2.11.4. Germination**

Après une période de dormance, la spore peut retourner rapidement à son état initial en présence des conditions favorables de croissance et suite d'une activation exercée par des chocs physiques ou chimiques.

Le processus de germination implique 03 étapes : activation, germination ou initiation et excroissance d'une cellule végétative à partir de la structure sporale. Après activation, les spores peuvent germer en présence de nutriments spécifiques (ac aminés, glucides, ions inorganiques...). La spore perd sa réfractilité, sa résistance parallèlement à la perte de dipicolinate de calcium et du cortex. L'excroissance implique le gonflement de la spore qui résulte de sa réhydratation et de la synthèse de nouvelles molécules de protéines, ADN, ARN... La cellule végétative émerge des enveloppes sporales et s'engage dans un processus de croissance si les conditions du milieu le permettent.