Structure et physiologie de la bactérie : Anatomie - Structure

Collégiale des enseignants de bactériologie-virologie-hygiène

2014

Table des matières

Pr	éambule	3
1.	Définition d'une bactérie	3
2.	Caractéristiques des procaryotes	3
3.	Méthode d'étude	3
4.	Les enveloppes	4
	4.1. La paroi	4
	4.1.1. Peptidoglycane	4
	4.1.2. Paroi des bactéries à Gram positif	6
	4.1.3. Paroi des bactéries à Gram négatif	6
	4.1.4. Autres propriétés de la paroi bactérienne	6
	4.2. La membrane cytoplasmique	7
	4.2.1. Structure	7
	4.2.2. Fonctions principales	7
5.	Contenu bactérien	7
	5.1. Cytoplasme	7
	5.2. Nucléoïde ou appareil nucléaire (voir cours génétique bactérienne)	8
	5.3. ADN extra-chromosomique	8
	5.3.1. Plasmides	8
	5.3.2. Eléments transposables	8
	5.4. Ribosomes.	8
6.	Structures inconstantes.	9
	6.1. Capsules	9
	6.2. Glycocalyx	9
	6.3. Flagelles	. 10
	6.4. Pili ou fimbriae	. 10
	6.4.1. Pili communs	. 10
	6.4.2. Pili sexuels	. 10
	6.5. Spore bactérienne	. 11

Préambule

ANATOMIE - STRUCTURE

1. Définition d'une bactérie

Une bactérie est un être unicellulaire (**procaryote**) de petite taille, de morphologie variable qui présente des caractéristiques propres.

La taille d'une bactérie varie entre 1 à 10 µm. Le poids d'une bactérie est d'environ 10-12 g. Elle contient 70% d'eau. Rapporté au poids sec, une bactérie est constituée de protéines (55%), de lipides (10%), de lipopolysaccharides (3%), de peptidoglycane (3%), de ribosomes (40%), d'ARN (20%) et d'ADN (3%).

2. Caractéristiques des procaryotes

Principaux caractères distinctifs des procaryotes et eucaryotes

caractéristiques	procaryotes	eucaryotes
Taille habituelle	0,3 – 2,5 μm	2 – 20 μm
Noyau avec membrane	non	oui
Nombre de chromosome	1	> 1
Réplication par mitose	non	oui
Position de l'ADN	nucléoïde ou plasmide	noyau et organites IC
Organites intra-cellulaires	non	mitochondries, Golgi
Membranes avec stérols	non	souvent
Enveloppes cellulaires	hétéropolymère glucido-peptidique	cellulose et polysaccharides chez les plantes
Flagelles, cils	pas de cils	agencement typique

3. Méthode d'étude

Compte tenu de leur taille (de l'ordre du micron), les bactéries sont visualisées au microscope optique sans coloration (état frais) ou après coloration.

Diverses techniques de coloration existent, mettant en évidence des affinités tinctoriales différentes telle la coloration de Gram, très utilisée en pratique courante, l'imprégnation argentique pour révéler les spirochètesou celle révélant le caractère acido-alcoolo-résistant de certains bacilles (BAAR ou mycobactéries).

Coloration de Gram

Coloration de Gram : elle est fondée sur l'action successive d'un colorant, le cristal violet, d'iode puis d'un mélange d'alcool et d'acétone. Christian Gram (1853-1938) a été l'inventeur de la coloration en 1884. Son intérêt est de donner une information rapide et médicalement importante, car le pouvoir pathogène et la sensibilité aux antibiotiques sont radicalement différents.

Elle permet de distinguer la paroi des bactéries ayant ± du peptidoglycane. Coloration en 4 étapes :

- 1. coloration par le violet de gentiane ;
- 2. mordançage avec du lugol (solution d'iode iodo-iodurée) ;
- 3. décoloration par l'alcool
- 4. coloration par la safranine

Etapes 1 et 2 = coloration en violet du contenu de la bactérie et fixation par le lugol des structures internes.

Etape 3 = décoloration du cytoplasme des bactéries ayant une paroi pauvre en peptidoglycane qui laisse passer l'alcool pour éliminer le violet de gentiane = bactérie à Gram négatif

Etape 4 = contre-coloration par la safranine teintant en rose les bactéries précédemment décolorées.

Les bactéries à Gram positif restent colorées en violet (pas de passage à travers la couche de peptidoglycane.

Le nucléoïde ou chromosome est visible grâce à la coloration de Feulgen.

4. Les enveloppes

4.1. La paroi

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.

Per Pepidaglyrare Phospholipidas Posiplasma Periplasma Periplasma

Figure 1 : La paroi bactérienne

4.1.1. Peptidoglycane

C'est un hétéropolymère formé de 3 éléments :

- une épine dorsale alternant des chaînons N-Acétyl Glucosamine Acide N-Acétyl Muramique.
- des chaînes latérales peptidiques formées au minimum de quatre aminoacides (par exemple L-Alanine - D-Glycine - L-Lysine - D-Alanine) toujours fixées sur l'acide muramique. L'enchaînement des

aminoacides des séries D et L est une constante.

des ponts inter-peptidiques.

Figure 2: Peptidoglycane

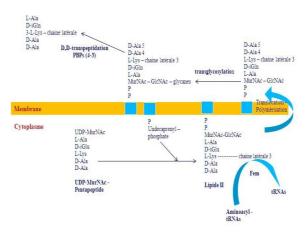
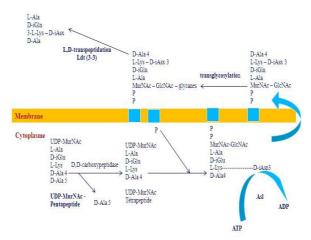


Figure 3: Peptidoglycane



Le peptidoglycane est un hétéropolymère composé de chaînes glucidiques reliées les unes aux autres par des chaînons pentapeptidique. La macromolécule réticulée tridimensionnelle est ainsi constituée et sa solidité dépend de l'importance des interconnexions. La paroi de la bactérie est ainsi une unique macromolécule.

La biosynthèse du peptidoglycane s'effectue par sous-unités dans le cytoplasme jusqu'à l'assemblage du disaccharide-pentapeptide (N-Acétyl Glucosamine-Acide N-Acétyl Muramique- L-Alanine-D-Glycine-L-Lysine-D-Alanine) qui traverse la membrane cytoplasmique fixé sur un transporteur phospholipidique puis est attaché à la chaîne glucidique de la paroi pré-existante (réaction de transglycosylation). Les chaînes peuvent être reliées pour former la molécule réticulée finale par liaison covalente entre les peptides (**réaction de transpeptidation**). D'autres enzymes sont nécessaires: hydrolases permettant de couper les chaînes glucidiques du peptidoglycane (rôle essentiel lors de la division), D-carboxypeptidases coupant le dipeptide D-Alanine-D-Alanine et réduisant le nombre des interconnexions.

Certaines étapes peuvent être entravées par certains antibiotiques: ß-lactamines, glycopeptides ou encore enzyme (lysozyme).

La composition variant selon l'espèce ou le groupe bactérien, il a été possible de distinguer des affinités tinctoriales différentes par la coloration: Gram + et Gram -.

4.1.2. Paroi des bactéries à Gram positif

Le peptidoglycane est le constituant majeur (90% des constituants de la paroi). Le peptidoglycane est très solide, les liaisons croisées entre chaînes glucidiques sont nombreuses.

Présence d'acides teichoïques (A.T.) sont des polymères de glycérol et de ribitol reliés à des groupes PO₄ et dépassent la paroi ; les acides lipoteichoïques s'enchâssent dans la membrane cytoplasmique.

Les A.T. sont connectés au peptidoglycane ou aux lipides de la membrane plasmique (lipoteichoïques). Ils sont chargés négativement. Leur fonction est inconnue mais maintiennent la structure de la paroi.

Les acides LT retiennent le violet lors de la coloration de Gram.

Peu ou pas de protéines, sauf exceptions comme la protéine A de S. aureus.

4.1.3. Paroi des bactéries à Gram négatif

Elle est beaucoup plus complexe.

Le peptidoglycane est une **couche mince**, peu dense (< 15% du poids sec).

L'autre constituant essentiel est le lipide complexe (**lipide A**) couplé à la glucosamine et à des résidus phosphore qui est amphiphile, possédant une partie hydrophobe et une partie hydrophile. Il y a analogie entre les appellations « endotoxine », « lipide A », « antigène O » et « membrane externe ».

Sur les résidus glucosamine, des polysaccharides complexes sont fixés et forment la partie la plus externe de la paroi. Ils sont essentiels pour la physiologie bactérienne dans les processus de pénétration de nutriments ou de toxiques, ils **sont spécifiques de sous-espèces ou de types** et comportent des sucres originaux : antigènes O.

On trouve, à l'intérieur, des **phospholipides**. La membrane est successivement hydrophile (polysaccharide complexe), hydrophobe (lipide A et lipides des phospholipides), hydrophile (têtes hydrophiles des phospholipides).

Des protéines se trouvent enchâssées assurant la cohésion de la membrane, une liaison avec le peptidoglycane et des fonctions diverses de perméabilité sélective ou non. Ces porines, seules structures de transport des composés hydrophiles, sont essentielles à la vie de la bactérie mais aussi à l'action de certains antibiotiques. Enfin d'autres protéines servent à la captation d'ions (fer), ou de vitamines (facteurs de croissance). A noter les **antigènes protéiques M** des streptocoques.

La membrane externe empêche ou diminue l'entrée des sels biliaires, des antibiotiques, etc. Elle a de nombreux sites de contact avec la membrane plasmique.

La **lipoprotéine de Braun** est la protéine la plus abondante. Elle est attachée au peptidoglycane ou elle est fortement liée.

Le **LPS** est constitué du lipide A, du polysaccharide central et de la chaîne latérale O. Les chaînes latérales O peuvent changer rapidement pour échapper à la détection.

Le lipide A est enfoui dans la membrane externe, le reste est projeté à l'extérieur.

4.1.4. Autres propriétés de la paroi bactérienne

Coloration de Gram : cf ci-dessus (§3)

Les morphologies bactériennes sont variées. Les cellules peuvent être courtes, pratiquement sphériques (cocci ou coques) ou allongées (bacilles).

Les bacilles sont essentiellement des cylindres à extrémités hémisphériques mais on en connaît aussi à extrémités fines, pointues (formes en fuseau) ou au contraire planes (bacilles dits « à bouts carrés»). Certains corps bacillaires sont incurvés (*Vibrio*, *Campylobacter*) ou spiralés (*Leptospira*, *Treponema*).

Dans un environnement adapté, les cellules des bactéries peuvent être associées en groupements qui sont caractéristiques de l'espèce.

L'absence de paroi est habituellement létale pour les bactéries (Mollicutes exceptés). Les bactéries dépourvues d'enveloppes extérieures sont les « formes L » et les protoplastes, suite à l'action des antibiotiques (ß-lactamines) ne semblent pas avoir un intérêt médical.

Les **protoplastes** sont observés chez les bactéries à **Gram positif**. L'action du lysozyme entraîne leur formation. Ils ne peuvent se diviser.

Les **sphéroplastes** sont observés chez les bactéries à **Gram négatif**. Ils sont dus à l'action des antibiotiques. Une partie de la paroi cellulaire est toujours présente après traitement par une pénicilline. Ils peuvent se diviser et revenir à l'état ante au contact de substances hypertoniques. Ce sont les formes L.

La paroi est le site d'action d'enzymes exogènes (lysozyme) ou endogènes (autolysines) ou d'antibiotiques qui inhibent la synthèse du peptidoglycane.

Le LPS et le peptidoglycane ont 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).

4.2. La membrane cytoplasmique

4.2.1. Structure

C'est une structure interne à l'interface entre le cytoplasme et les structures externes.

C'est une **membrane trilamellaire** formée d'une double couche de phospholipides dont les pôles hydrophobes sont face à face, associée à des protéines.

Certaines protéines, les **perméases**, ont un rôle important dans les échanges.

D'autres ont un rôle dans la synthèse du peptidoglycane et sont des **protéines de liaison aux pénicillines** (PLP ou PBP).

D'autres protéines sont des enzymes respiratoires ou impliquées dans la production d'énergie (ATPase).

La membrane cytoplasmique ne possède pas de stérols (différent des eucaryotes).

4.2.2. Fonctions principales

La membrane a un rôle métabolique majeur: on y trouve la plupart des activités associées aux mitochondries dans la cellule supérieure :

- Perméabilité sélective et transport des substances solubles vers l'intérieur de la bactérie ; rôle de barrière osmotique et de transport grâce aux perméases.
- Fonction respiratoire par transport d'électrons et de phosphorylation oxydative pour les bactéries aérobies.
- Excrétion d'enzymes hydrolytiques

Les **flagelles bactériens** y sont fixés. C'est là que se génère leur mouvement tournant. Elle est détruite par certains antibiotiques (polypeptides, antiseptiques).

5. Contenu bactérien

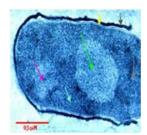
5.1. Cytoplasme

Présence d'ARN solubles (ARN messager et ARN de transfert), et ARN ribosomal.

Présence d'environ **15.000 ribosomes** (40% du poids de la bactérie, 90% de l'ARN) constitués de protéines ribosomales et d'ARN (16S, 23S, 5S) divisés en sous-unités : sous-unité 30S contient de l'ARN16S, sous-unité 50S constitué d'ARN23S.

Une variété importante d'inclusions existe dans le cytoplasme. Elles servent à emmagasiner des **réserves organiques** (glycogène, poly-B-hydroxybutyrate) ou inorganiques (granules de polyphosphate ou métachromatique, magnétosomes).

Figure 4: Cytoplasme



5.2. Nucléoïde ou appareil nucléaire (voir cours génétique bactérienne)

Le chromosome de la cellule procaryote est situé dans une région de forme irrégulière appelée **nucléoïde**. Le chromosome est le plus souvent unique (*V. cholerae* en possède plusieurs)

C'est le support de l'information génétique. Il s'agit d'une formation en **double hélice circulaire** (parfois linéaire), surenroulée grâce aux topo-isomérases. Longueur 1 mm.

Il est composé d'ADN (60%), d'ARN (30%) et de protéines (10%).

5.3. ADN extra-chromosomique

Non indispensable à la vie de la bactérie.

5.3.1. Plasmides

Ce sont des molécules d'ADN double brin qui se **répliquent indépendamment** du chromosome, qui **peuvent s'intégrer** à celui-ci et qui sont **transmissibles**.

Ils sont porteurs de caractères de fertilité (**Facteur F**), de résistance aux antibiotiques (**Facteur R**), de bactériocines (**plasmides Col**), de **virulence**, de résistance aux antiseptiques, de caractères métaboliques, entre autres. Les plasmides peuvent donner un avantage sélectif à la bactérie.

Les plasmides peuvent être éliminés spontanément de la cellule hôte.

5.3.2. Eléments transposables

Ce sont des fragments d'ADN qui se déplacent dans le génome de la bactérie par transposition, d'où le nom de **transposon**. Le transposon est **incapable de se répliquer**.

Les éléments transposables les plus simples sont les séquences d'insertion (IS) ayant une courte séquence d'ADN.

5.4. Ribosomes

Ils sont constitués d'ARN et de protéines. Les ribosomes bactériens comprennent deux sous-unités (30S, 50S).

Fonctionnellement, il y a deux sites essentiels pour la synthèse des protéines : le **site aminoacyl** qui accueille l'acyl-tARN et le **site peptidyl** qui accueille la chaîne d'aminoacides en cours de constitution.

Ils sont particulièrement présents à proximité de la membrane cytoplasmique, site de synthèse de la paroi et des protéines exportées. Ils n'ont pas la structure des ribosomes des eucaryotes expliquant la spécificité propre au monde bactérien. Des antibiotiques perturbent la synthèse des protéines à leur niveau (tétracyclines).

6. Structures inconstantes

6.1. Capsules

Ce constituant inconstant est le plus superficiel. Sa mise en évidence s'effectue par coloration négative (le colorant, encre de Chine ou Nigrosine est repoussé par la capsule et apparaît en clair sur fond noir).

Constitué de **polysaccharides acides** (sucres sous forme d'acides uroniques tel l'acide galacturonique, l'acide glucuronique, mais aussi sous forme de sucres phosphorés), ce composant est lié à certains pouvoirs pathogènes, car il **empêche la phagocytose**. La capsule de *Bacillus anthracis* est constituée d'un polypeptide d'acide D-glutamique.

Elle peut se trouver à l'état soluble dans les liquides de l'organisme (emploi dans le diagnostic = recherche d'antigène soluble).

Elle intervient dans l'identification infra-spécifique. Ce typage est une des méthodes de reconnaissance des épidémies.

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

Etat frais (encre de chine)

Figure 5: Capsule

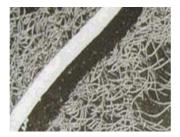
6.2. Glycocalyx

Ce sont des polymères de **nature polysaccharidique** extrêmement fréquents entourant la bactérie et difficiles à visualiser, sauf en microscopie électronique. Le **feutrage des fibres de glycocalyx** est constant dans le cas de bactéries vivant en biofilm dans les conditions naturelles.

Le glycocalyx est aussi appelé *slime* car il englue les cellules.

Il est **responsable de l'attachement des bactéries** aux cellules (cellules buccales, respiratoires, par exemple), à des supports inertes (plaque dentaire sur l'émail dentaire, biofilms sur les cathéters, ou les prothèses dans le cas de bactéries d'intérêt médical). Il **protège les bactéries** du biofilm de la dessiccation, sert à concentrer ou à modifier les éléments nutritifs exogènes et rend les bactéries résistantes: antiseptiques, désinfectants, antibiotiques.

Figure 6: Glycocalyx



6.3. Flagelles

Ce sont des structures inconstantes.

Ils sont de nature protéique (**flagelline**), long de 6-15 μm.

Ils sont ancrés dans le cytoplasme par une structure complexe.

La synthèse des flagelles nécessite 20 à 30 gènes. Le mécanisme est très compliqué.

1 gène pour la flagelline, 10 gènes ou plus pour les protéines du crochet et du corps basal.

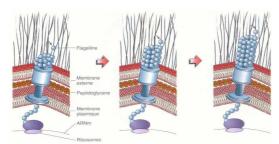
D'autres gènes existent pour le contrôle de la synthèse et la fonction du flagelle. Les unités de flagelline seraient transportées au travers du tube creux du filament.

A l'extrémité, elles s'assemblent spontanément.

Ils ont un rôle:

- dans la mobilité de la bactérie (implantation monotriche/polaire ou péritriche)
- antigénique utilisé (sérodiagnostic) pour la différentiation des espèces bactériennes.

Figure 7 : Croissance des filaments flagellaires



(L.M. Prescott, J.P. Harley, D. A. Klein)

6.4. Pili ou fimbriae

Chez les **bactéries à Gram négatif** (exceptionnellement à Gram positif) peuvent exister des structures fibrillaire et rigide situées à la surface, plus fines que des flagelles : les pili ou fimbriae.

Il s'agit de la polymérisation d'une sous-unité polypeptidique (**piline**) assemblée à des polypeptides mineurs comme l'**adhésine**.

6.4.1. Pili communs

Ils peuvent attacher spécifiquement des bactéries à la surface de cellules eucaryotes, phase essentielle dans certains pouvoirs pathogènes (*Escherichia coli* au cours de certaines infections urinaires, *Vibrio cholerae* sur les entérocytes).

6.4.2. Pili sexuels

Ils sont plus longs et sont codés par des plasmides (facteur F).

Ils ont un rôle dans l'attachement des bactéries entre elles (conjugaison) et sont le récepteur de virus bactériens ou bactériophages spécifiques

Chez les bactéries à Gram positif, des protéines de surface assimilées aux fimbriae jouent un **rôle dans l'adhérence bactérienne**. C'est le cas de la protéine M de *S. pyogenes* et de la protéine A de *S. aureus*.

6.5. Spore bactérienne

Certaines bactéries, entre autres d'intérêt médical (genre *Clostridium* et *Bacillus*), ont la propriété de se différencier en **formes de survie** appelées **spores**. Elles se présentent sous une forme végétative métaboliquement active et potentiellement pathogène ou métaboliquement inactive et non pathogène (forme sporulée).

La transformation de la forme végétative en spore est la sporulation:

- Temps: 6 à 8 heures à 37°C pour Bacillus subtilis.
- Conditions : déclenchée par des modifications de l'environnement tel épuisement en matières nutritives.
- Etapes : déshydratation progressive du cytoplasme, par l'apparition de composés (dipicolinate de calcium), une densification des structures nucléaires et enfin la synthèse d'une paroi sporale épaisse et imperméable, donc hautement résistante (chaleur).
 La spore intra-bactérienne est libérée dans le milieu extérieur et y survit des années.

Dans des conditions favorables (nutritives, thermiques et chimiques), elle redonne une cellule végétative (germination).

Intérêt médical:

- conserves familiales (Botulisme) (Clostridium botulinum).
- plaies souillées par de la terre (Tétanos) (Clostridium tetani).
- chez l'animal : mange des chardons (Charbon) (Bacillus anthracis).

Figure 8 : Spore bactérienne

