



UNIVERSITÉ D'ADRAR
DEPARTEMENT SNV
2020/2021

Cours de microbiologie (suite partie 1),



La morphologie bactérienne :

- C'est la première étude à faire dans un laboratoire de microbiologie.

Cette étude est suffisante pour permettre une orientation vers l'identification

- La morphologie typique est observée dans des cultures jeunes en milieu liquide.

L'étude de la morphologie comprend trois critères :

La taille.

La forme

Le mode d'assemblage

1- La taille (μm):

- Extrêmement variable.

- Les bactéries sont les plus petites des microorganismes.

- En moyenne la taille se situe entre 1 et 10 μm

 - Diamètre : 0,1 à 2 μm

 - Longueur : 0,5 à 5 μm

- Nano bactéries : leur taille ne dépasse guère 0,1 à 0,2 μm

- les bactéries les plus petites ont une taille d'environ 0,2 μm (Chlamydia)

Rickettsies
Chlamydes

- Grosses bactéries : spirillum (50 μm de longueur) , certains Spirochètes peuvent atteindre 500 μm de long

- *Thiomargarita namibiensis* est la plus grosse bactérie

- Sphérique, diamètre 0,1 à 0,3 mm, (0,75 mm), visible à l'œil nu.

- *Epulopiscium fishelsonii* : grande bactérie vivant dans l'intestin des acanthures bruns, diamètre (80 μm), Longueur (600 μm) cette taille dépasse un million de fois celle d' *Escherichia coli*.

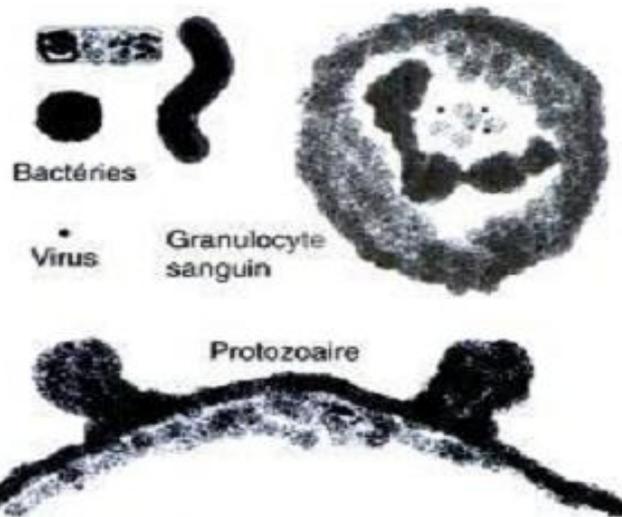
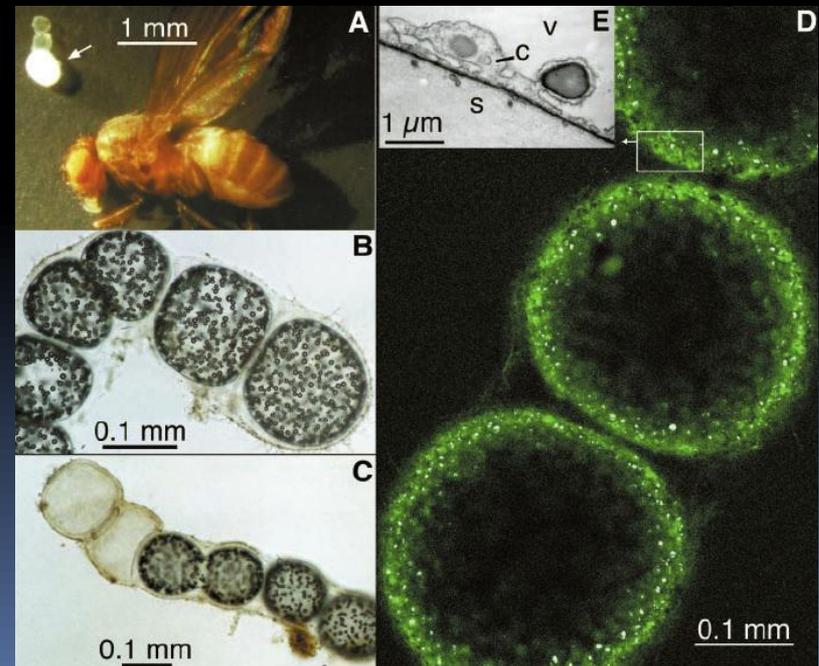


Figure II.5 – Dimensions des bactéries par rapport aux virus, aux cellules sanguines, aux protozoaires.



Size

S. No.	Bacteria	Size
1	<i>Escherichia coli</i>	1.1 to 1.5 wide by 2.0 to 6.0 μm
2	<i>Mycoplasma</i>	0.3 μm in diameter
3	<i>Spirochaetes</i>	500 μm in length
4	<i>Oscillatoria</i>	7 μm in diameter
	<i>Streptococcus</i>	0.8 to 1.0 μm
5	<i>Acanthurus nigrofusus (intestinal)</i>	600 by 80 μm
6	<i>Epulopiscium fishelsoni</i>	600 by 80 μm
7	<i>Thiomargarita namibiensis</i>	

Nanobacteria range from around 0.2 μm to less than

Oscillatoria (a cyanobacterium)
8 x 50 μm



Bacillus megaterium
1.5 x 4 μm



Escherichia coli
1 x 3 μm



Streptococcus pneumoniae
0.8 μm diameter



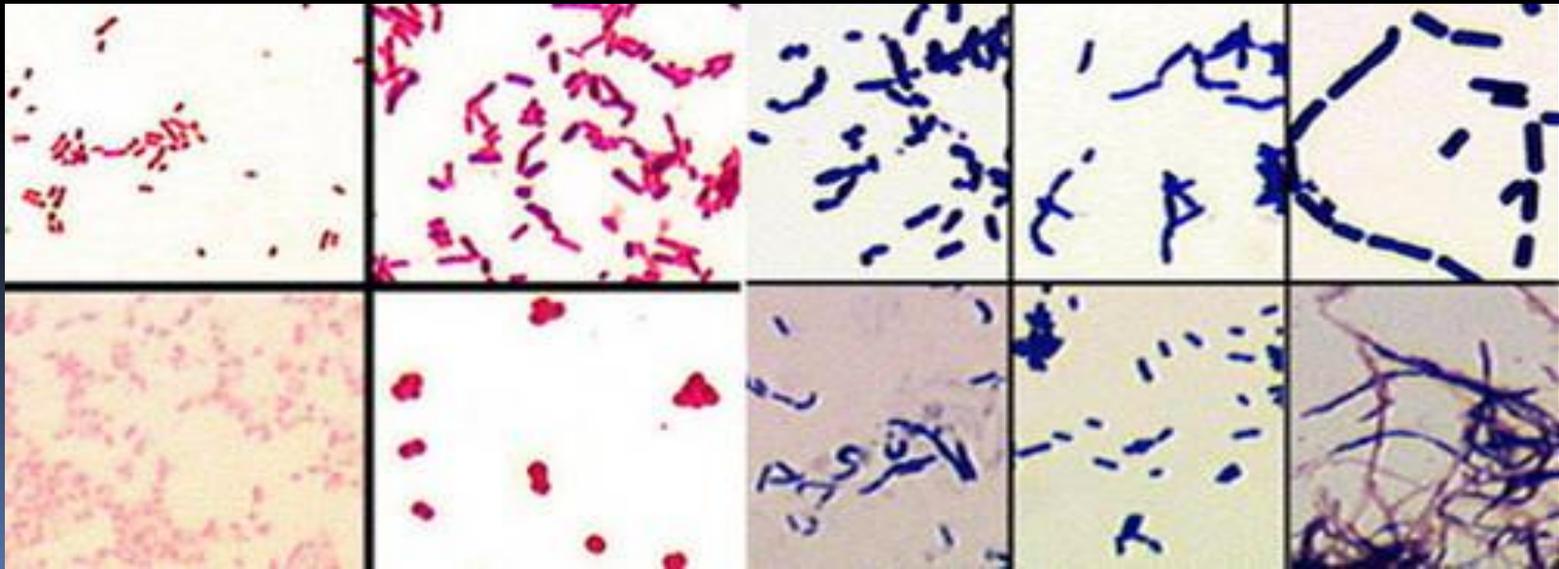
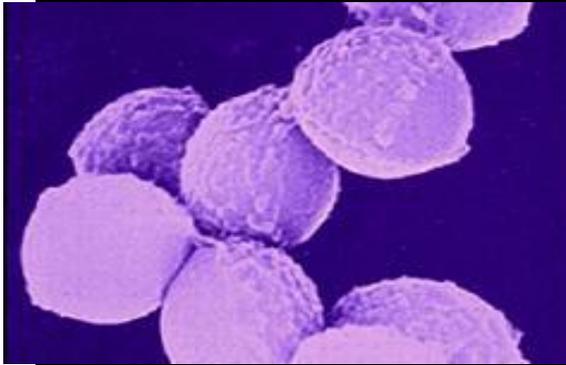
Haemophilus influenzae
0.25 x 1.2 μm



La forme :

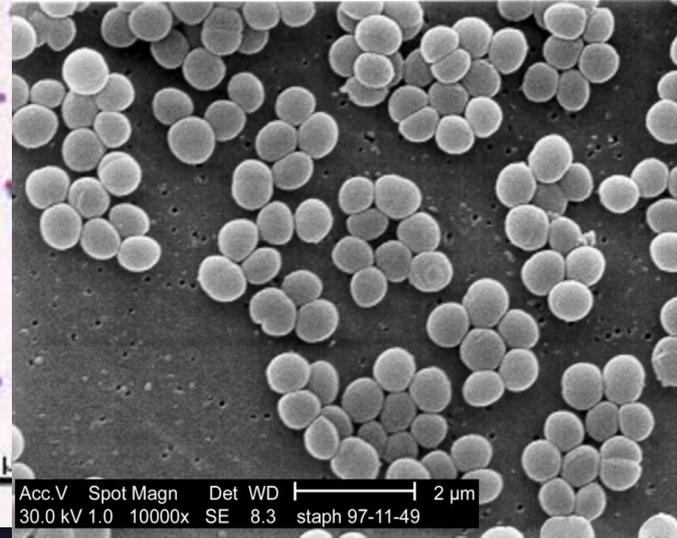
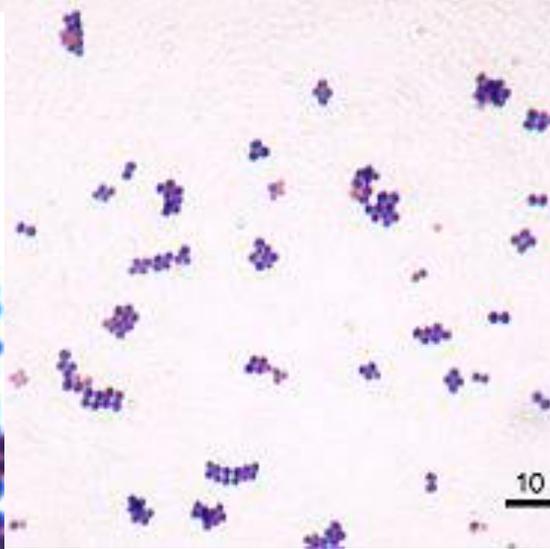
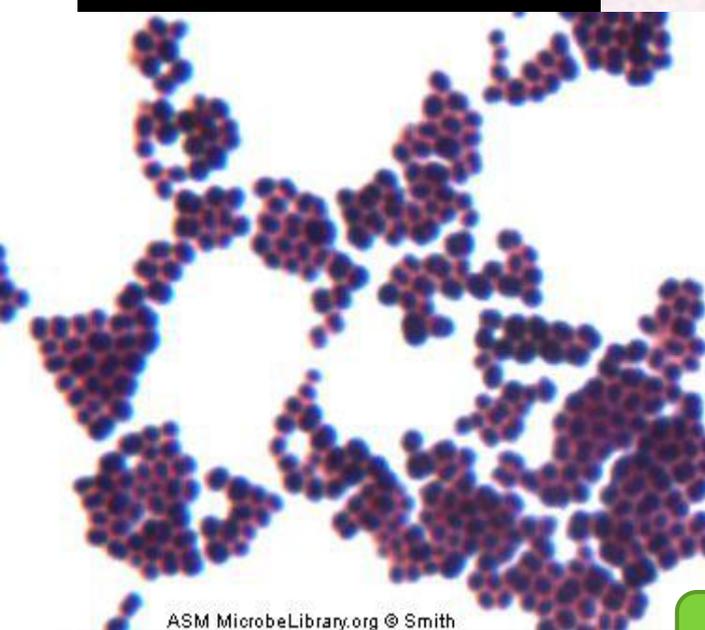
Diversité dans la forme

Principalement : sphérique (coccoïde), cylindrique (bâtonnet), spirale

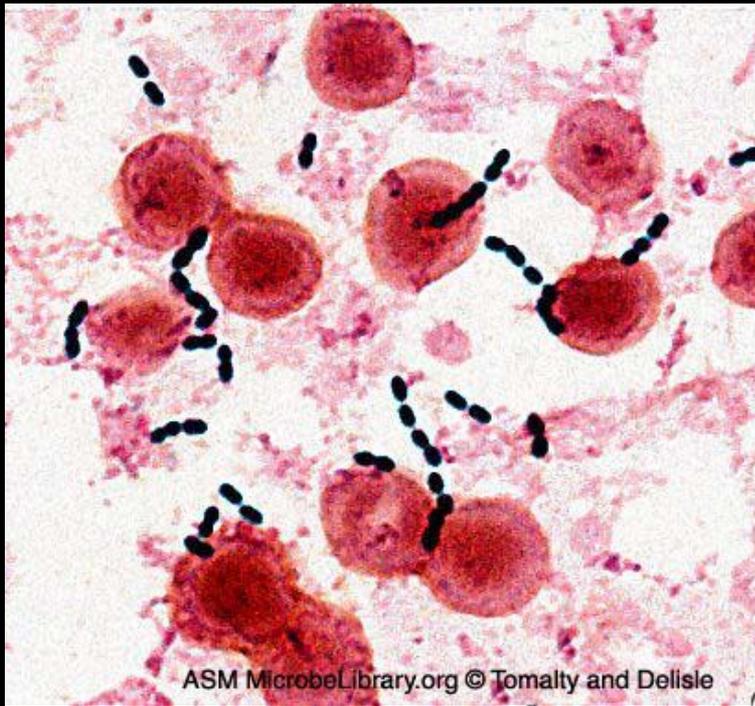


1-forme sphérique : caractérise les cocci ou les coques, elles sont :

- Parfaitement sphérique (*staphylococcus. Sp*)



staphylocoques



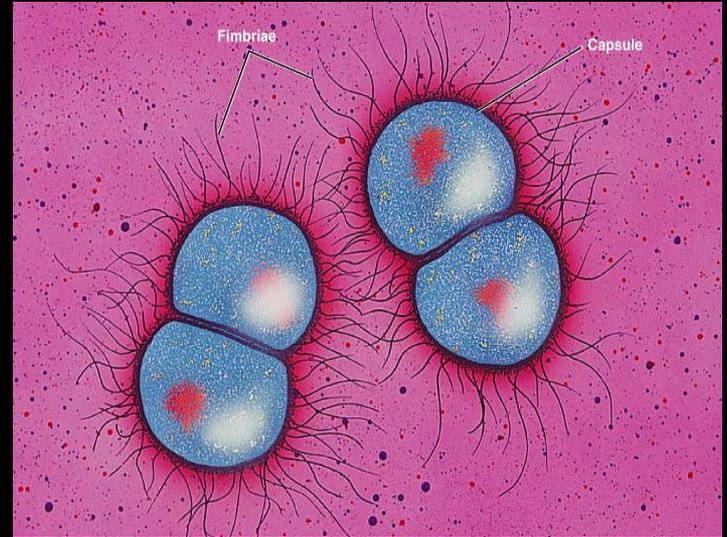
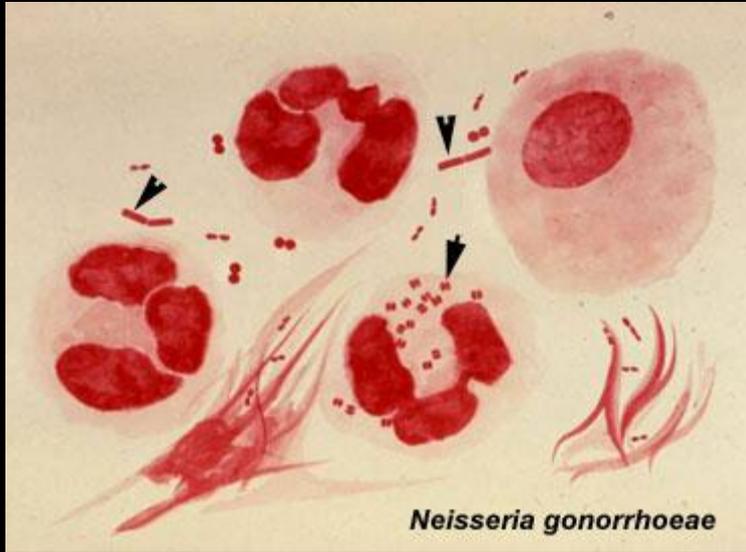
entérocoques



streptocoques

- Effilée en flamme de bougie (*streptococcus*)

- Légèrement ovoïde (*enterococcus* .sp), polymorphisme ...



Neisseria

- Avec face aplatie (*Neisseria*)

2-forme cylindrique (bâtonnets ou bacilles) :

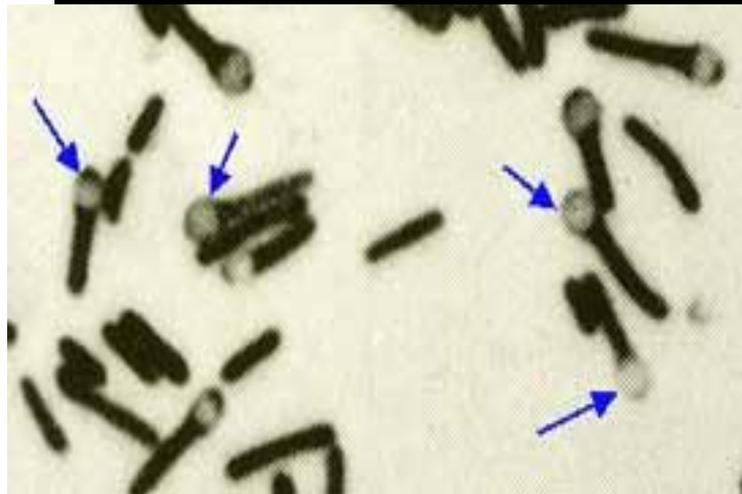
La forme bacille varie du court bacille (cocobacille) à des très longues filaments de millions de micron.

Les bactéries bâtonnets sont soit : droites (rectilignes), incurvées, ramifiées.

Les bactéries rectilignes peuvent avoir :

1- Extrémités arrondies comme les Enterobacteriaceae

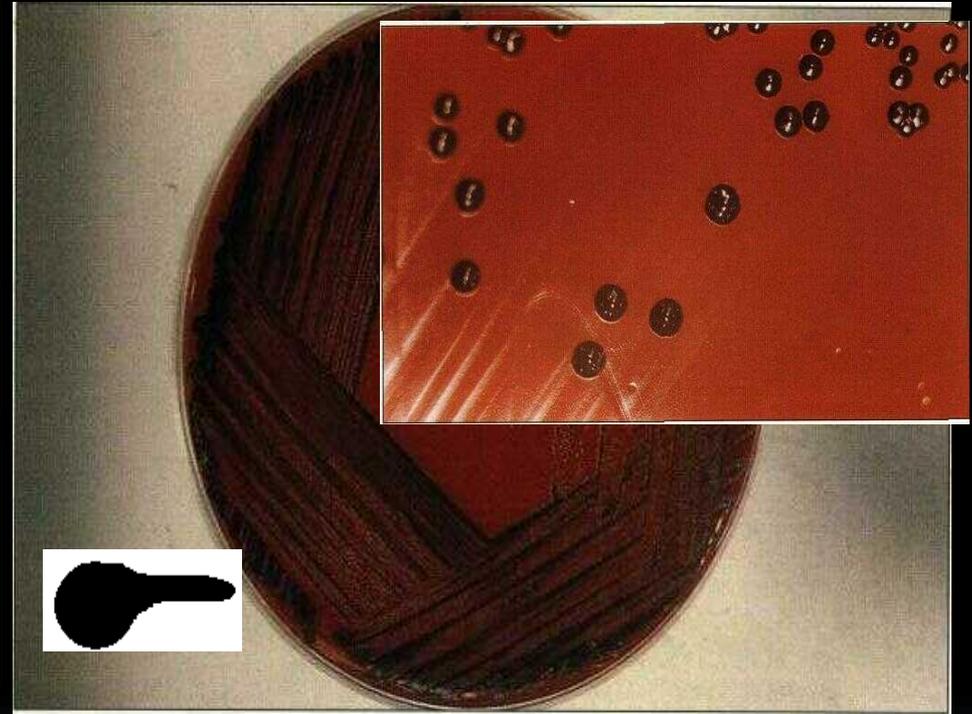
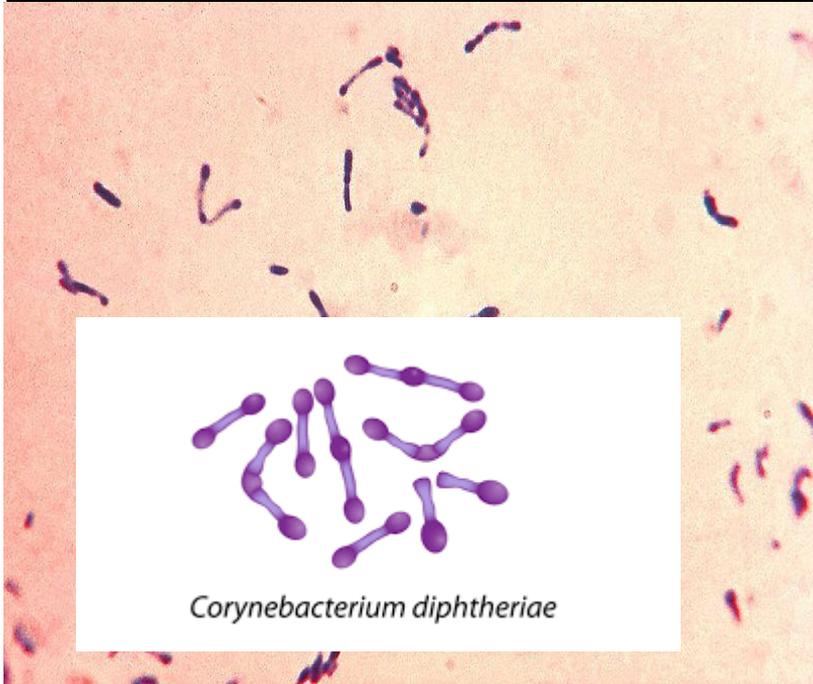
2- Extrémités rectangulaires (planes, bouts carrés) ex. Bacillus



Bacillus



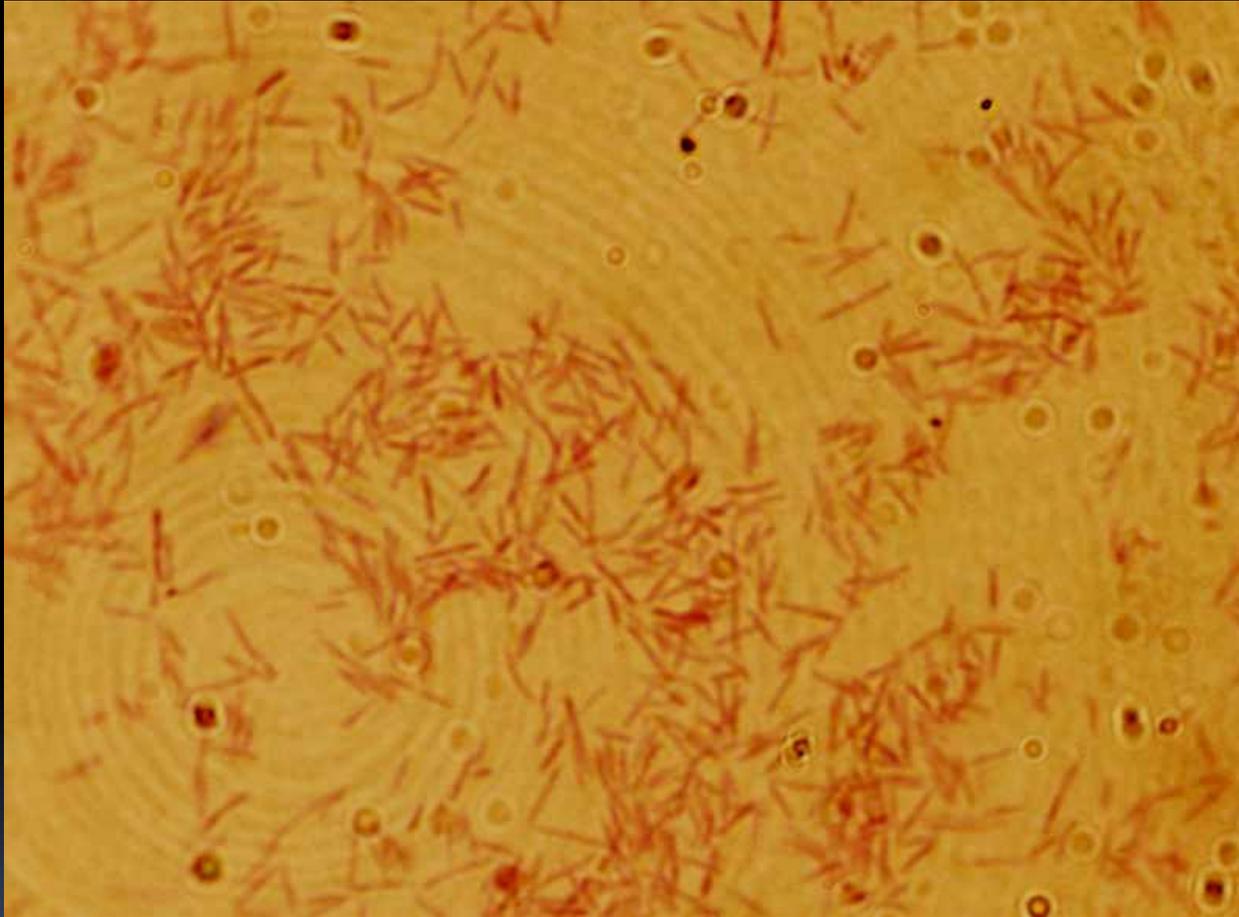
3- Extrémités renflées ; coryneformes (*Corynebacterium diphtheriae* ; bacille de Loeffler)



Corynebacterium diphtheriae

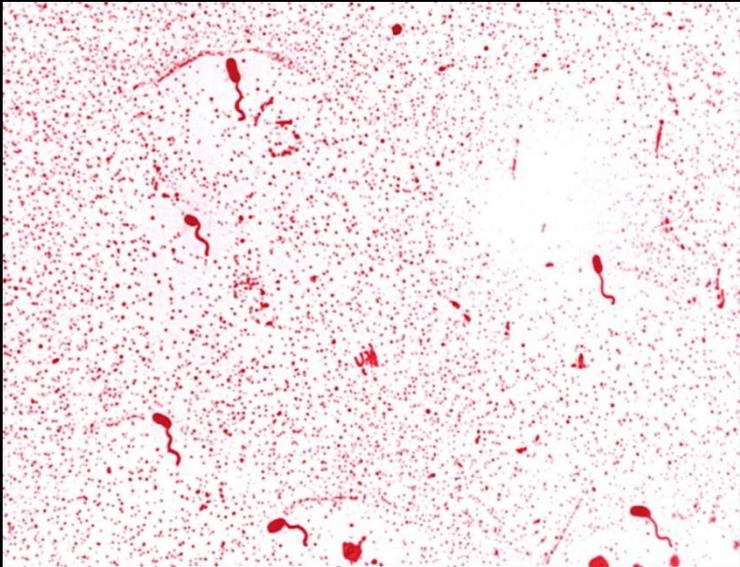
Corynebacterium diphtheriae, sur milieu
tellurite et sang

4- Extrémités effilée, fines et pointues en forme de fusée (fusobacterium).

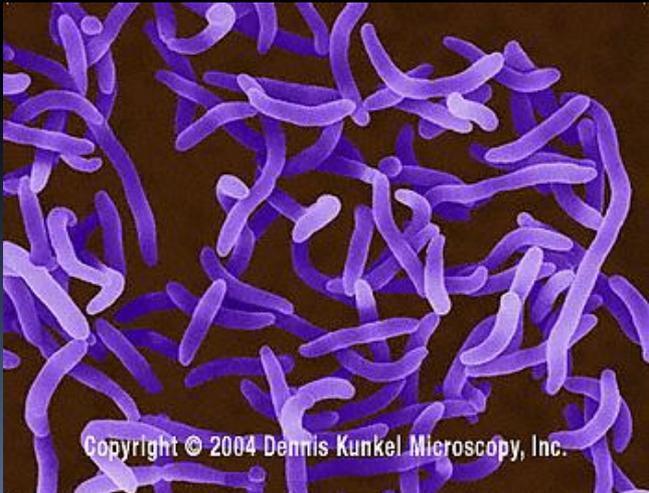
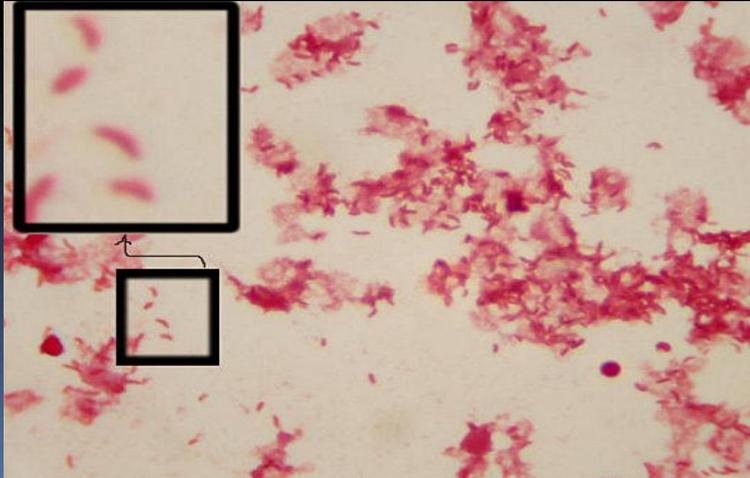


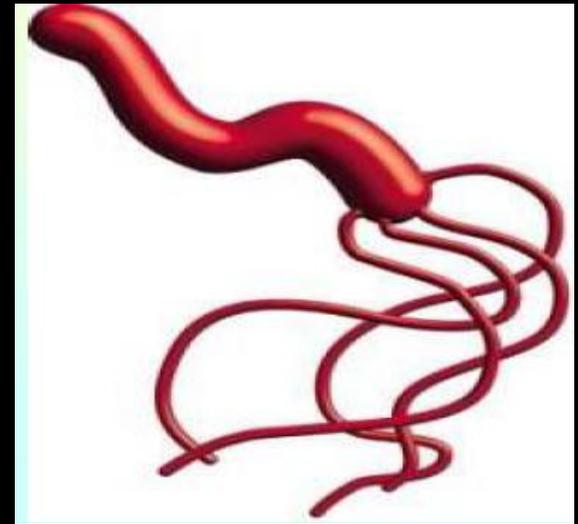
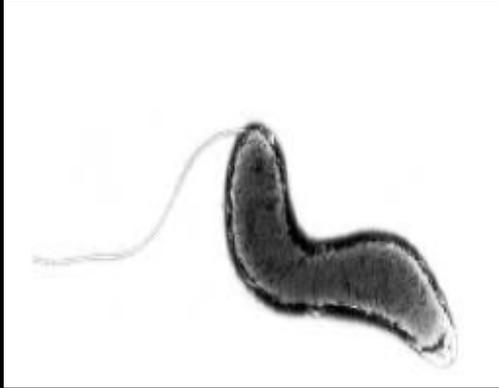
Fusobacterium

Les bacilles incurvés caractérisent certains genres bactériens : *vibrio*, *campylobacter*.



vibrio





Camphylobacter



Les bacilles ramifiés, la ramification est discrète et visible uniquement dans certains stades de la croissance



« Vrais » bacilles



Ex Clostridium sp

Coccobacilles



Ex famille Pasteurellaceae

Bacilles corynéformes
(*coryne* = une massue)



Ex Corynebacterium diphtheriae

Bacilles filamenteux



Ex Clostridium septicum

Bacilles fusiformes (*fusus* = un fuseau)



Ex Fusiformis sp

Vibrions (*vibrio* = qui bouge rapidement)



Ex Vibrio sp

Bacilles ramifiés



Ex Bifidobacterium



3-forme spirale:

les bactéries spiralées se trouvent dans les genres des Spirochètes, Helicobacter, Spirillum ; ces bactéries se présentent sous forme des hélices plus au moins longues.





**Ils
sont :**



**à spires étroites et
régulières**



à spires larges et régulières

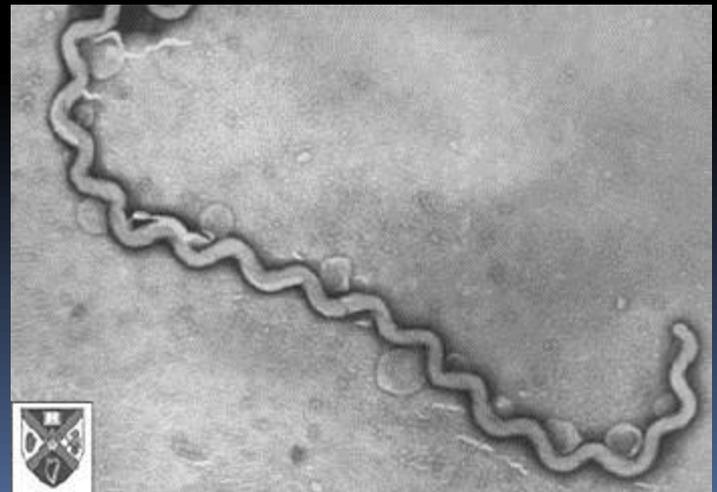


à spires étroites et irrégulières



leptospira

Treponema pallidum





Autres formes de bactéries

Bactéries pédonculées : *Caulobacter*

Bactéries filamenteuses *Actinomycètes*

***Bactéries polymorphe ; sans paroi ;
mycoplasma, ureaplasma***

Le mode de groupement

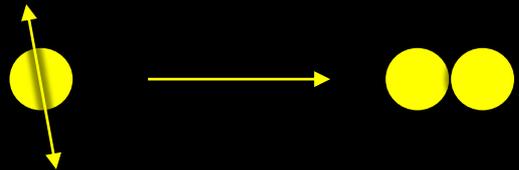
Le mode de groupement, à condition de l'apprécier sur une culture jeune effectuée en milieu liquide et à condition de tenir compte de l'aspect prédominant, est également un élément important pour orienter le diagnostic.

Les streptocoques, les entérocoques et les lactocoques forment typiquement des chaînes,

les staphylocoques des amas asymétriques (grappes),
les sarcines des amas cubiques réguliers, les
corynébactéries des palissades ou des paquets d'épingles,
les listéries des palissades ou des groupement en V ou en
L...

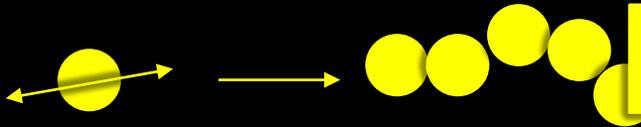
Mode de groupement

Selon le mode et le nombre de plan de division:



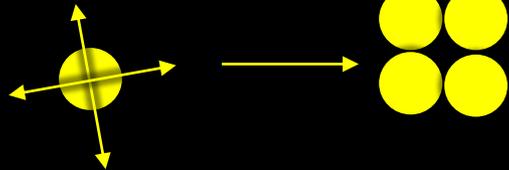
Diplocoques (*Diplo* = deux)

Ex *Neisseria* sp



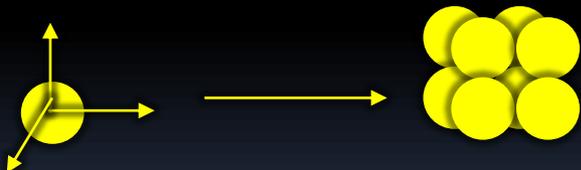
Streptocoques (*Streptus* = flexi)

Ex *Streptococcus* sp



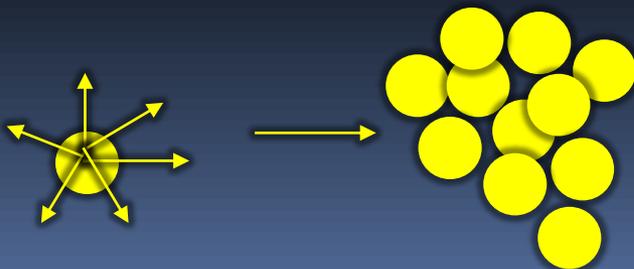
Tétrades

Ex *micrococcus* sp



Sarcines (*Sarcina* = un paquet)

ex *Sarcina* sp



Staphylocoques (*Staphylo* =
grappe de raisin)

Ex: *Staphylococcus* sp

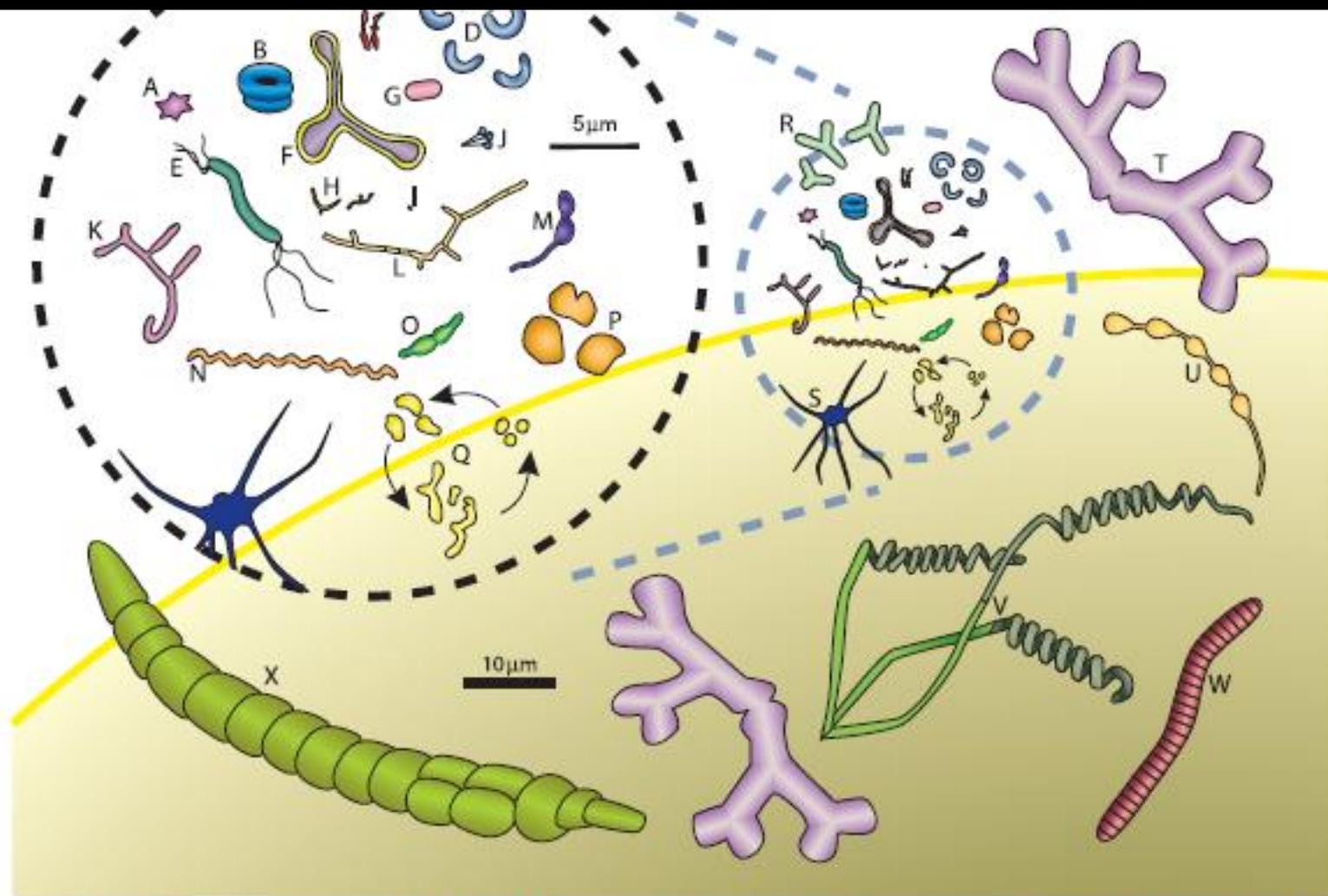


FIG. 1. Variety of prokaryotic shapes. This collage of different cells, unless otherwise stated, is constructed from descriptions and illustrations given by Starr et al. (313) or by Zinder and Dworkin (380). The cells are drawn to scale. Those in the dashed black circle are drawn relative to the 5- μm line. These same cells are included in smaller form in the dashed blue circle to compare their sizes to those of larger bacteria, which are drawn relative to the 10- μm line. (A) *Stella strain* IFAM1312 (380); (B) *Microcyclus* (a genus since renamed *Ancylobacter*) *flavus* (367); (C) *Bifidobacterium bifidum*; (D) *Clostridium cocleatum*; (E) *Aquaspirillum autotrophicum*; (F) *Pyroditium abyssi* (380); (G) *Escherichia coli*; (H) *Bifidobacterium* sp.; (I) transverse section of ratoon stunt-associated bacterium; (J) *Planctomyces* sp. (133); (K) *Nocardia opaca*; (L) Chain of ratoon stunt-associated bacteria; (M) *Caulobacter* sp. (380); (N) *Spirochaeta halophila*; (O) *Prostheco bacter fusiformis*; (P) *Methanogenium cariaci*; (Q) *Anthrobacter globiformis* growth cycle; (R) gram-negative *Alphaproteobacteria* from marine sponges (240); (S) *Ancalomicrobium* sp. (380); (T) *Nevskia ramosa* (133); (U) *Rhodomicrobium vannielii*; (V) *Srepiomyces* sp.; (W) *Caryophanon latum*; (X) *Calothrix* sp. The yellow-lined background orb represents a slice of the giant bacterium *Thiomargarita namibiensis* (290), which is represented to scale with the other organisms.



La paroi bactérienne

- Composition chimique et
structure moléculaire

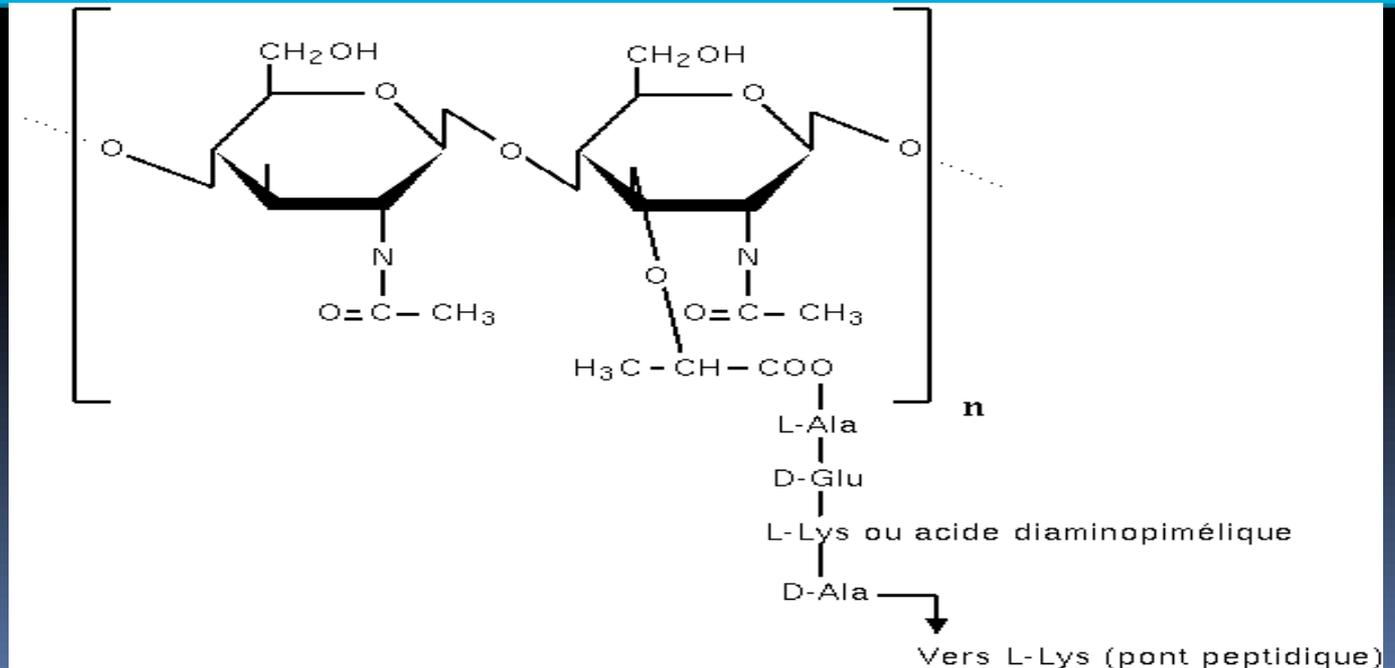
Peptidoglycane

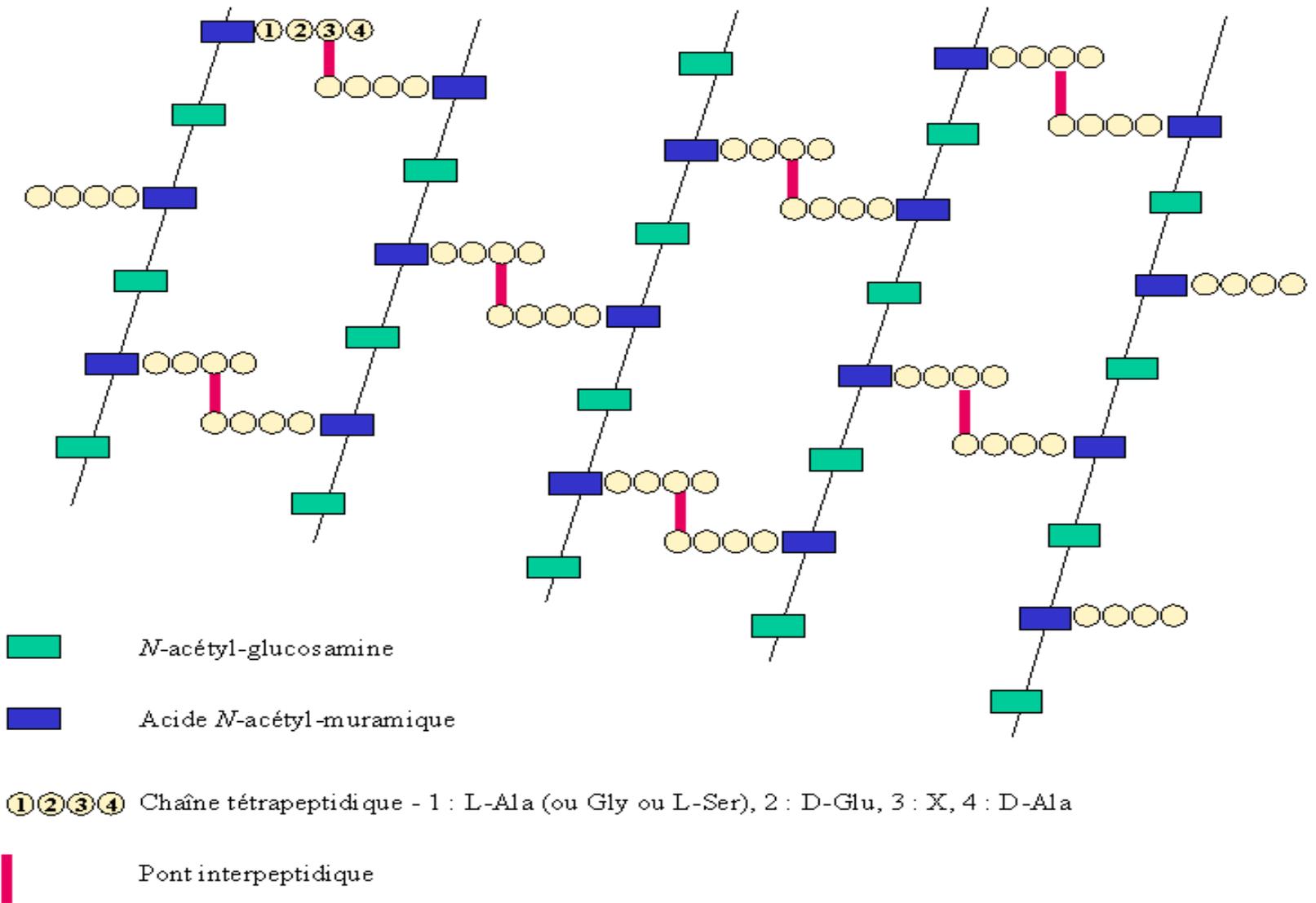
Le peptidoglycane (ou muréine, ou mucocomplexe, ou mucopeptide)

le peptidoglycane est constitué:

1- une partie glucidique : il s'agit d'une alternance de N-Acétyl-Glucosamine (NAG) et de N-Acétyle-Muramique (NAM) reliés par des liaisons osidiques β 1-4.

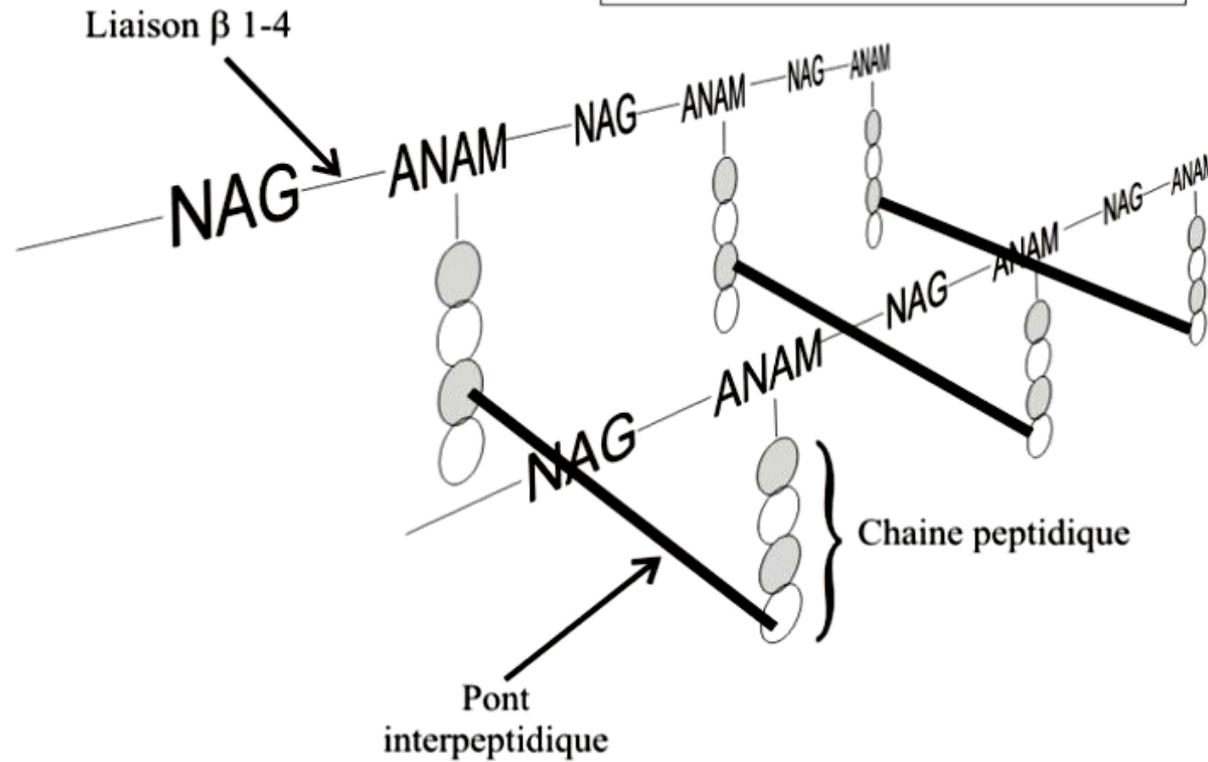
2. une partie peptidique : 4 acides aminés qui sont reliés par une liaison amidique au niveau de la fonction acide carboxylique du résidu pyruvate du NAM.





Le peptidoglycane est formé par de longues chaînes répétitives montrant une alternance NAG-NAM
Les macromolécules ainsi formées sont réunies au niveau des térapeptides pour former une structure solide

NAG : N-acétyl glucosamine
ANAM : acide N acétyl muramique

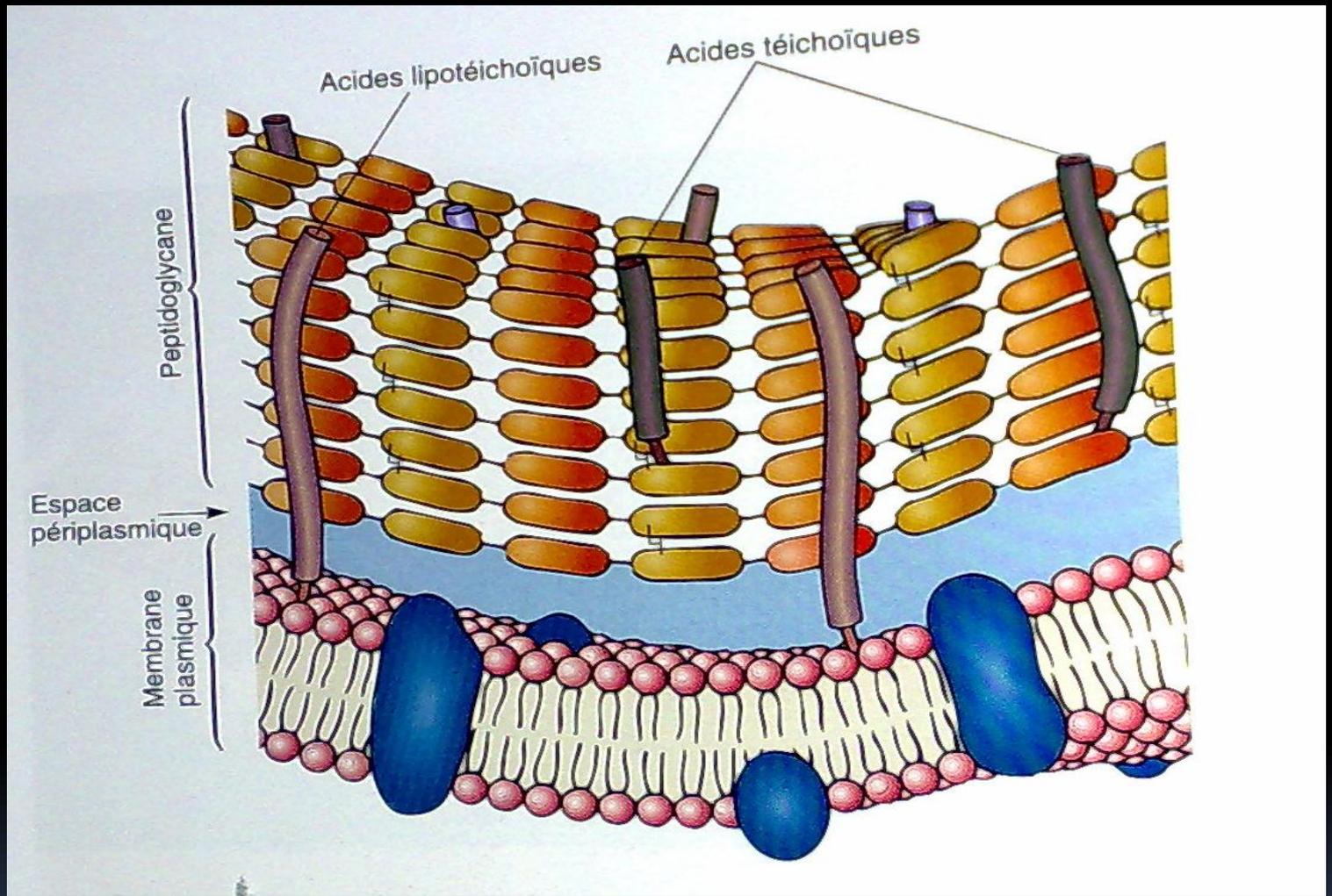


Bactéries Gram positives empérique

Elle est épaisse (entre 15 et 80 nm) (elle ne laisse pas passer l'éthanol), composée d'une épaisse couche de muréine ou **peptidoglycane**.

Cette épaisse couche est traversée par des **acide téichoïque** ou **lipotéichoïques**.





Enveloppe des bactéries gram positif

Composants

Les éléments de la paroi épaisse (Gram +)

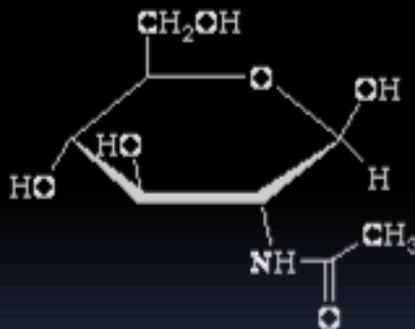
- 1) Osamines
- 2) Acides aminés
- 3) Acides techoïques
- 4) Oses
- 5) Lipides

les parois épaisses (Gram positif) •

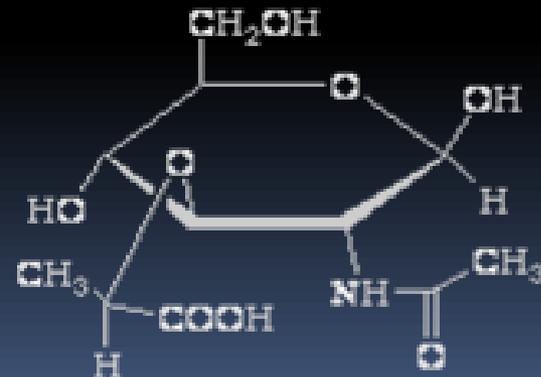
Osamines (des sucres aminés)

- Ils sont liés par une liaison osidique :
 - **N-acétyl-glucosamine = NAG ;**
 - **acide N-acétyl-muramique = NAM**

NAG: est un glucose lié en C2 par une amine secondaire au groupement acétyle ;



N-acétylglucosamine



Acide N-acétylmuramique

NAM: est un NAG + acide lactique lié par une liaison osidique au C3 du glucose ;

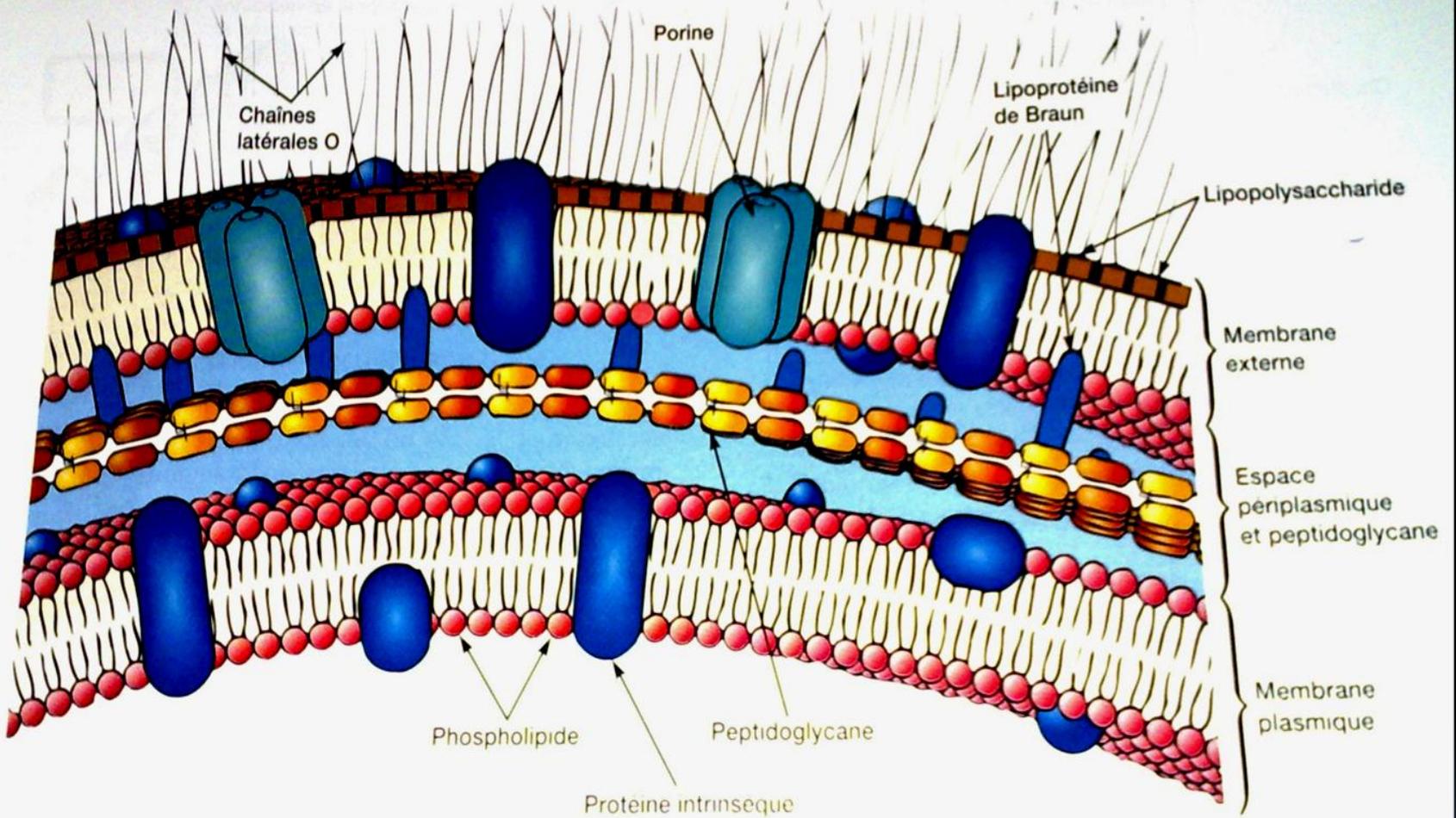
Paroi des Bactéries Gram négatives

Elle est plus fine (entre 6 à 15 nm), présente une structure stratifiée plus complexe. elle comprend trois structures polymériques:

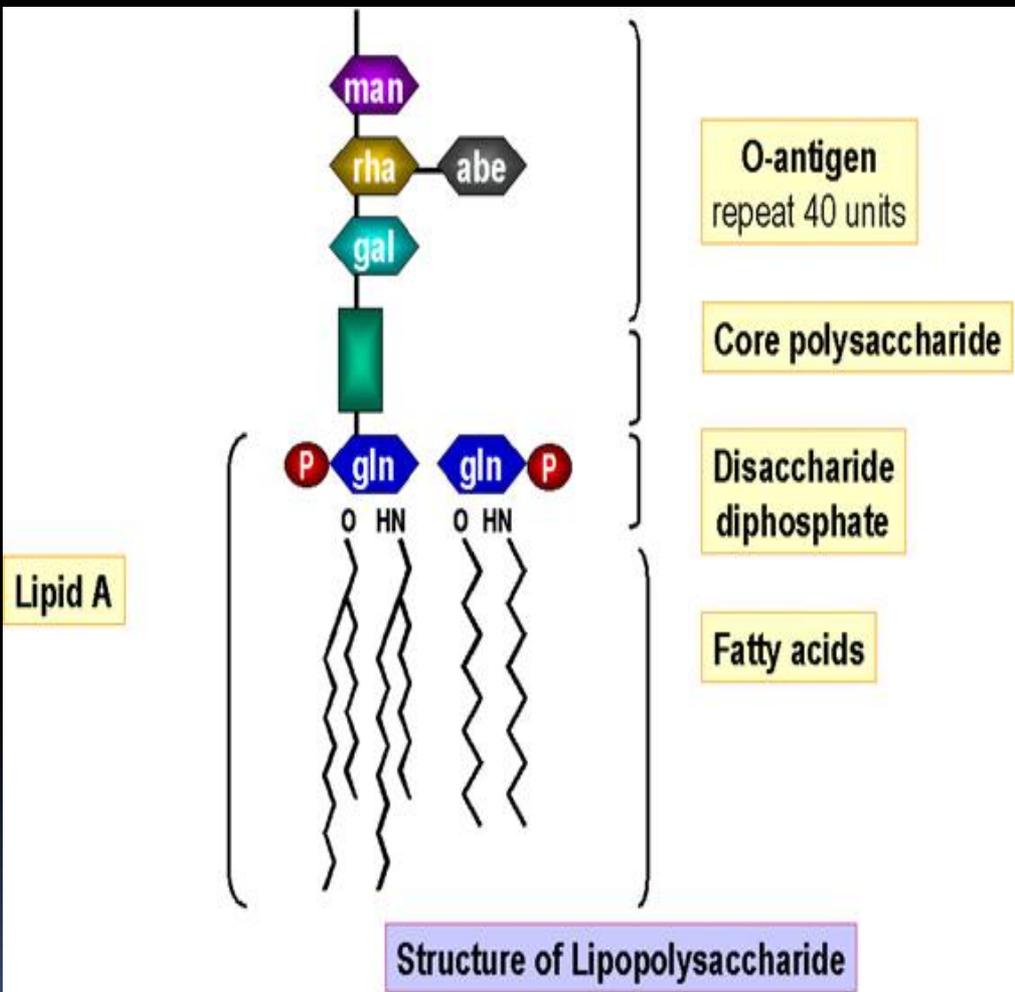
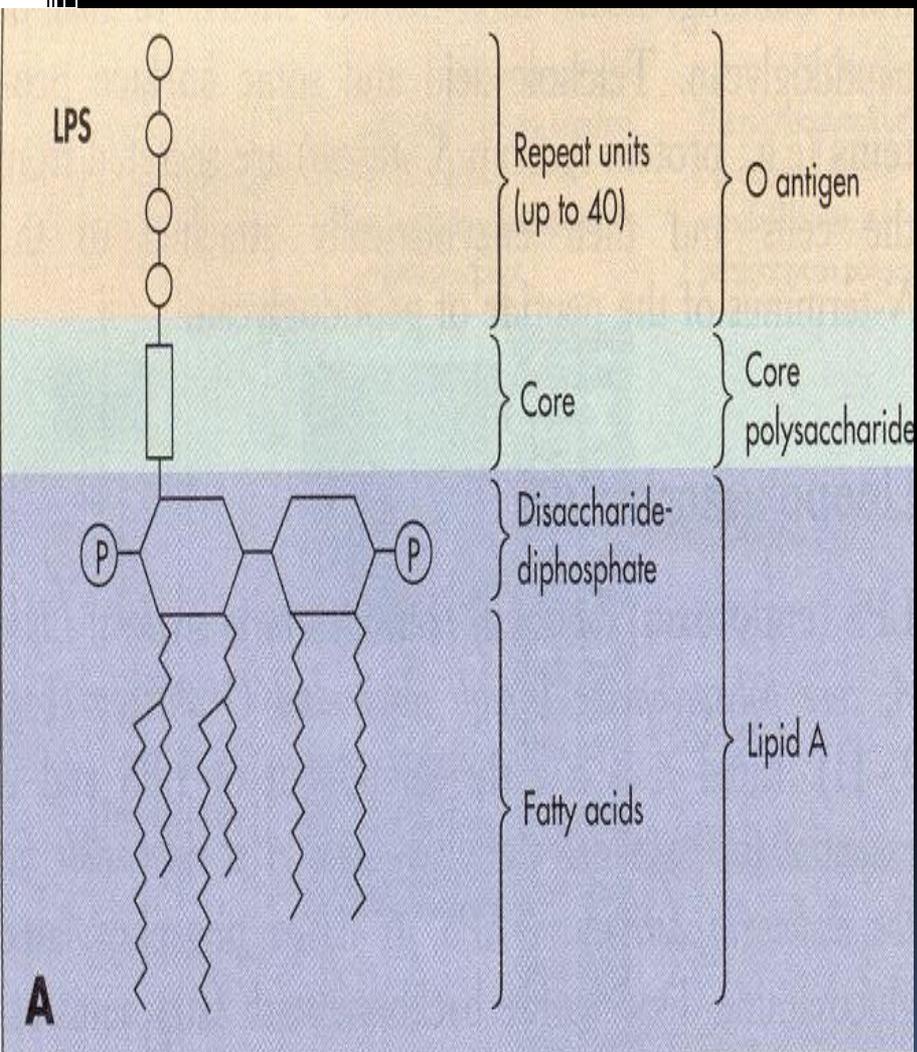
1. Peptidoglycane

2. une couche phospholipidique : « membrane externe » (ce qui explique que l'alcool, liposoluble, passe à travers ce type de paroi)

3. un lipopolysaccharide (LPS) représentant l'antigène O des entérobactéries ainsi que leur toxine.



Enveloppe des bactéries Gram négatif

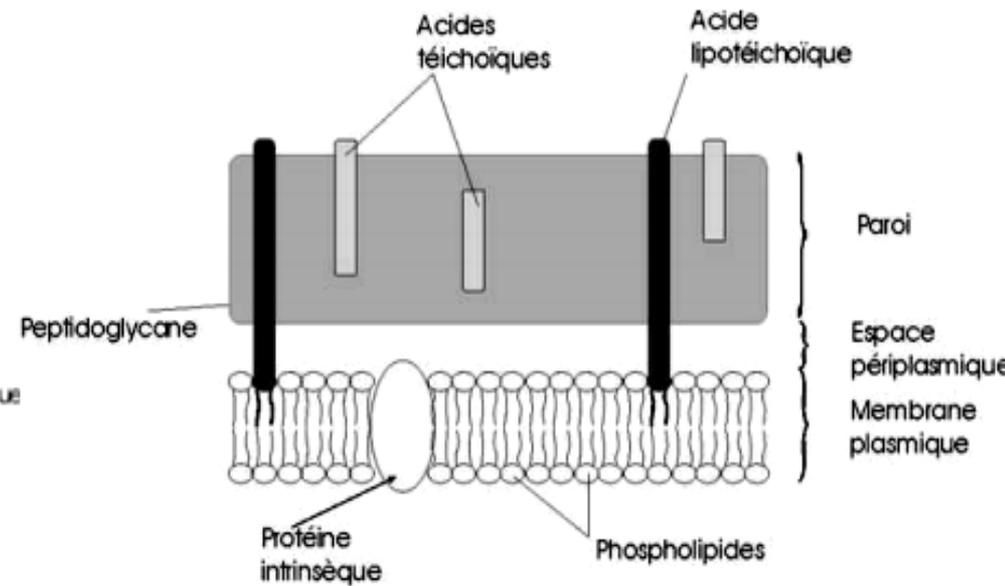
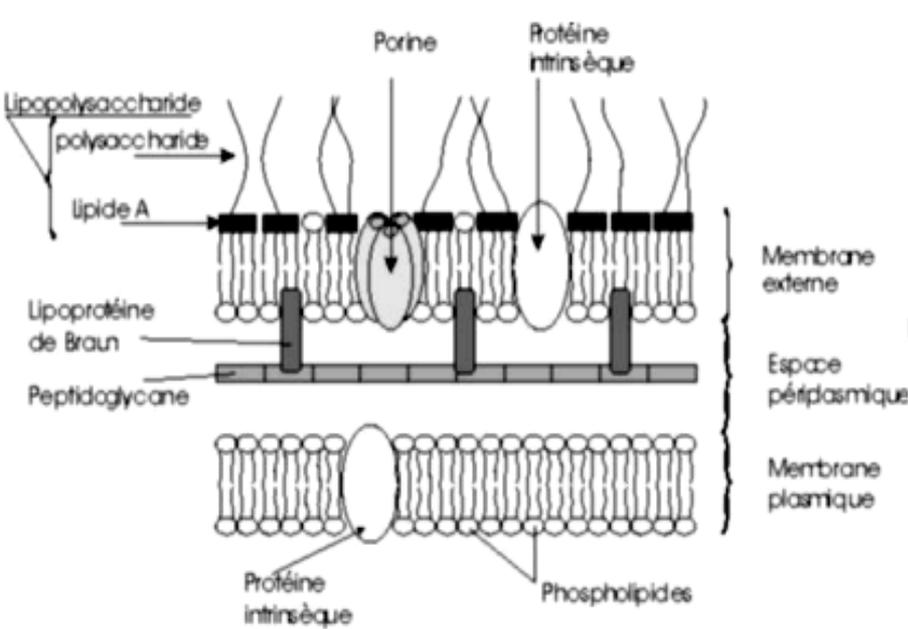
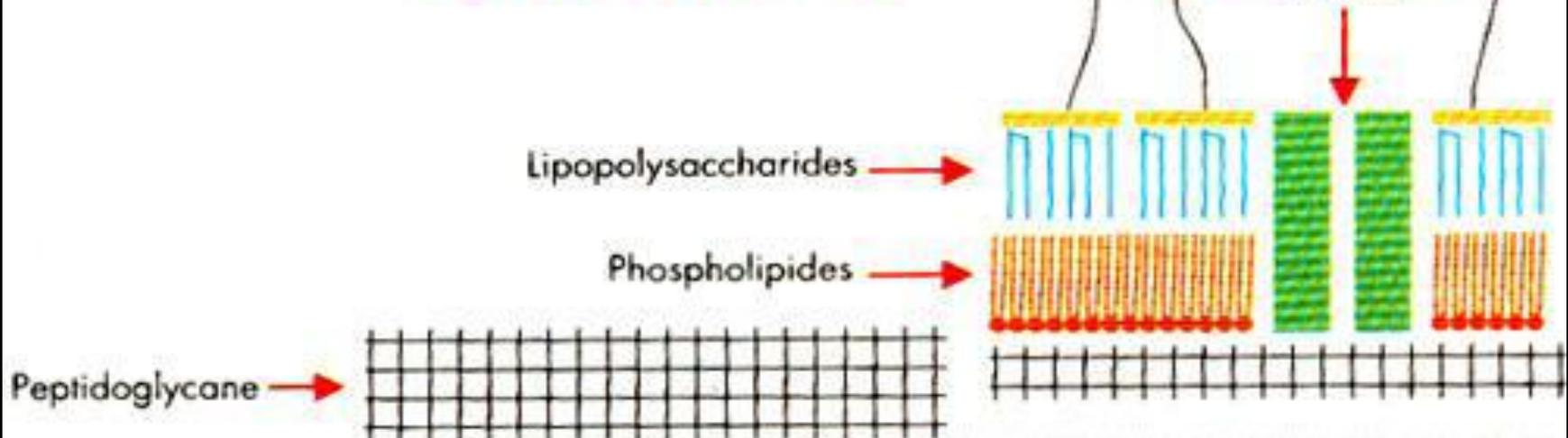


I. Les éléments de la paroi (Gram -)

- 1) Les mêmes osamines chez les Gram +;**
- 2) Les mêmes Acides aminés essentiels et en outre, les A.A rencontrés dans les protéines;**
- 3) L'absence d'acides techoïques;**
- 4) Oses en quantité variable;**
- 5) Des lipides en quantité importante.**

GRAM +

GRAM -



Paroi d'une bactérie Gram négatif.

SMO 800 lycée Lacroix Nabonne

Paroi d'une bactérie Gram positif.

RMorela Lycée Lacroix Nabonne

Comparaison

Les éléments de la paroi	Bactéries à Gram +	Bactéries à Gram –
Osamines	++	+
<ul style="list-style-type: none"> • Acides aminés • - nombre • - acide diamino-pimélique 	24 – 35 % 4 à 10 +++ Exclut la lysine	50 % env 16 à 17 – N'exclut pas la Lysine
Acides teichoïques -polyribitol-phosphate -polyglycérol-phosphate	+++	–
Oses : glucose, galactose, mannose, fucose, rhamnose	20-60 %	20-60 %
Lipides	1-2.5 %	10 – 22 %

- Rôle de la paroi

La paroi est responsable de l'intégrité structurale et de la forme des bactéries

La paroi confère à la bactérie sa morphologie véritable

La paroi maintient la pression osmotique interne

Elle joue un rôle déterminant dans la coloration de Gram.

Elle joue un rôle déterminant dans la spécificité antigénique des bactéries: lysotypie

Elle est le support de l'action de certains enzymes exogènes (lysozyme) ou endogènes (autolysines) et de certains antibiotiques

L'espace périplasmique : Contient des enzymes qui participent à la nutrition (hydrolases) et des protéines qui sont impliquées dans le transport de molécules à l'intérieur de la cellule

Effet du lysozyme:

☐ coupure de liaison 1-4 glycosidiques entre le NAG et le ANAM.

Les bactéries Gram(+): destruction totale de peptidoglycane

Les bactéries Gram(-) :une fragmentation de peptidoglycane (la membrane externe).

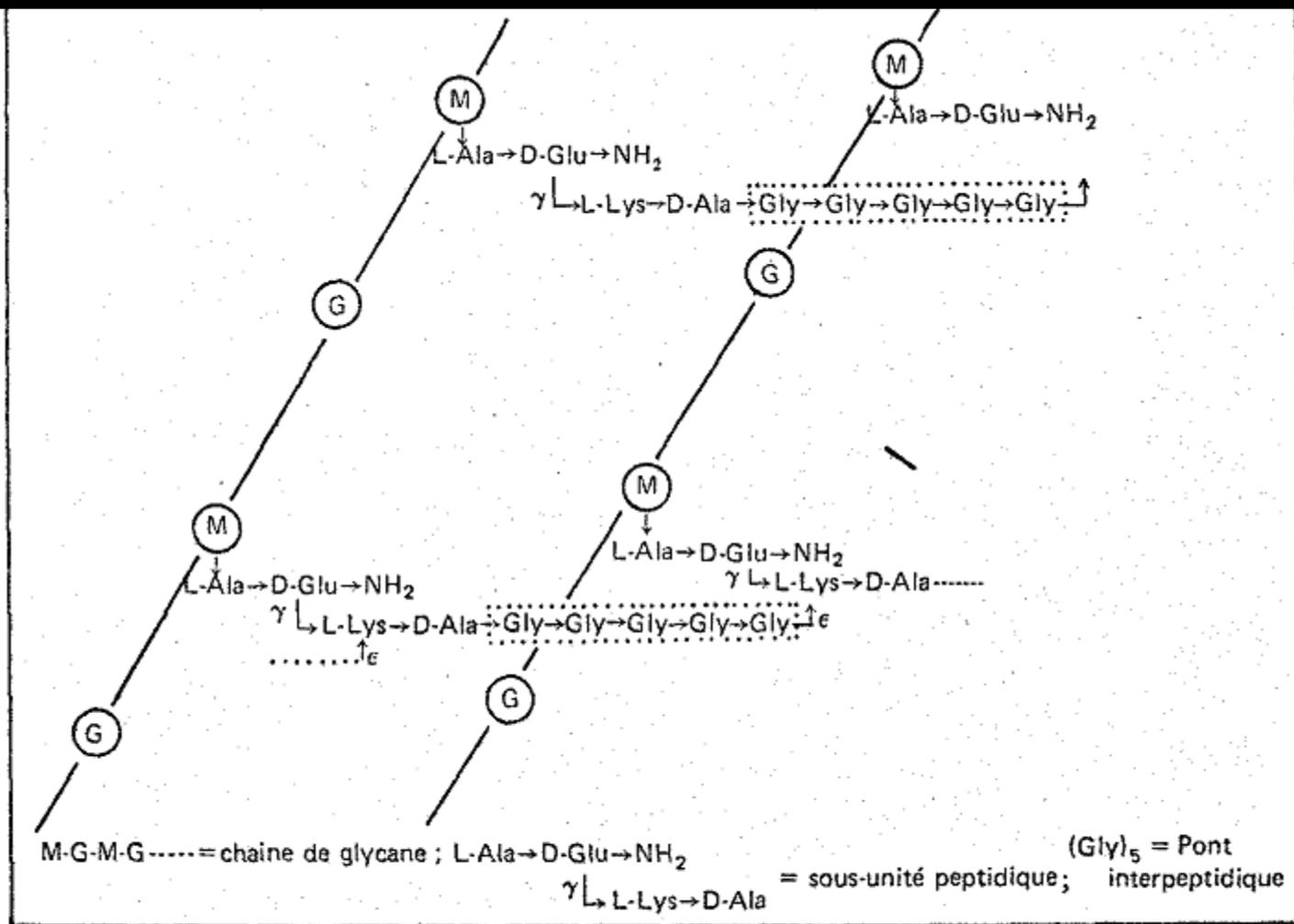


Figure 2 – Structure primaire du peptidoglycane de la paroi de *Staphylococcus aureus*. Les flèches

Expérience

1- *Bacillus subtilis* (bacille Gram+) en milieu hypotonique :

la bactérie se comporte normalement.

2- +**lysozyme**, les bactéries gonflent et éclatent.

3- **milieu isotonique**, les bactéries n'éclatent pas en présence de lysozyme, forme sphérique **PROTOPLASTE**:

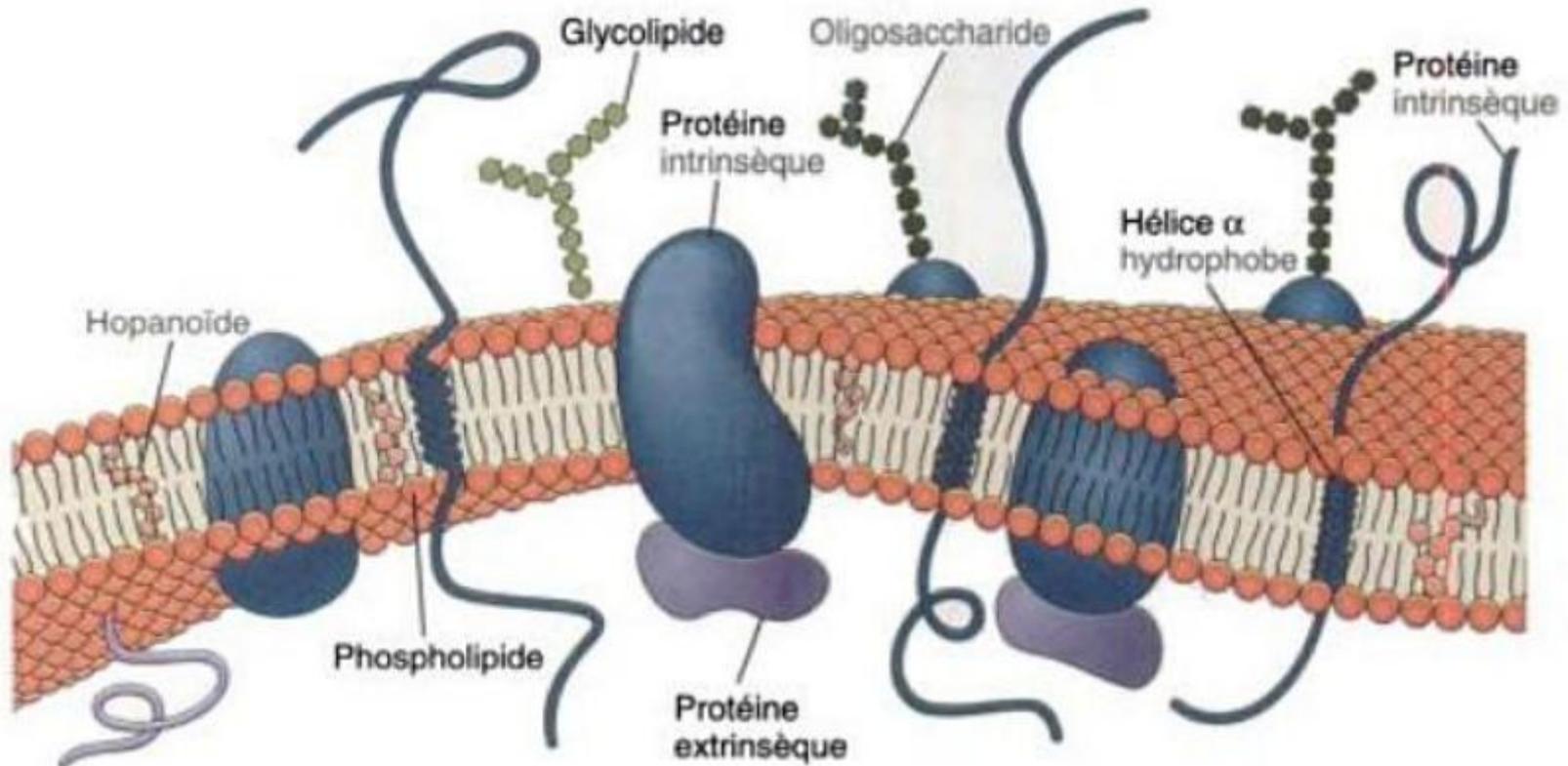
- les propriétés antigéniques
- pas de division
- pas de fixation de bactériophages.
- incapables de mobilité.

4- On fait la même expérience : *Escherichia coli* (bacille Gram-) :

- **milieu isotonique + lysozyme**: **SPHEROPLASTE**

Les sphéroplastes conservent toutes les propriétés initiales de la bactérie.

Membrane plasmique

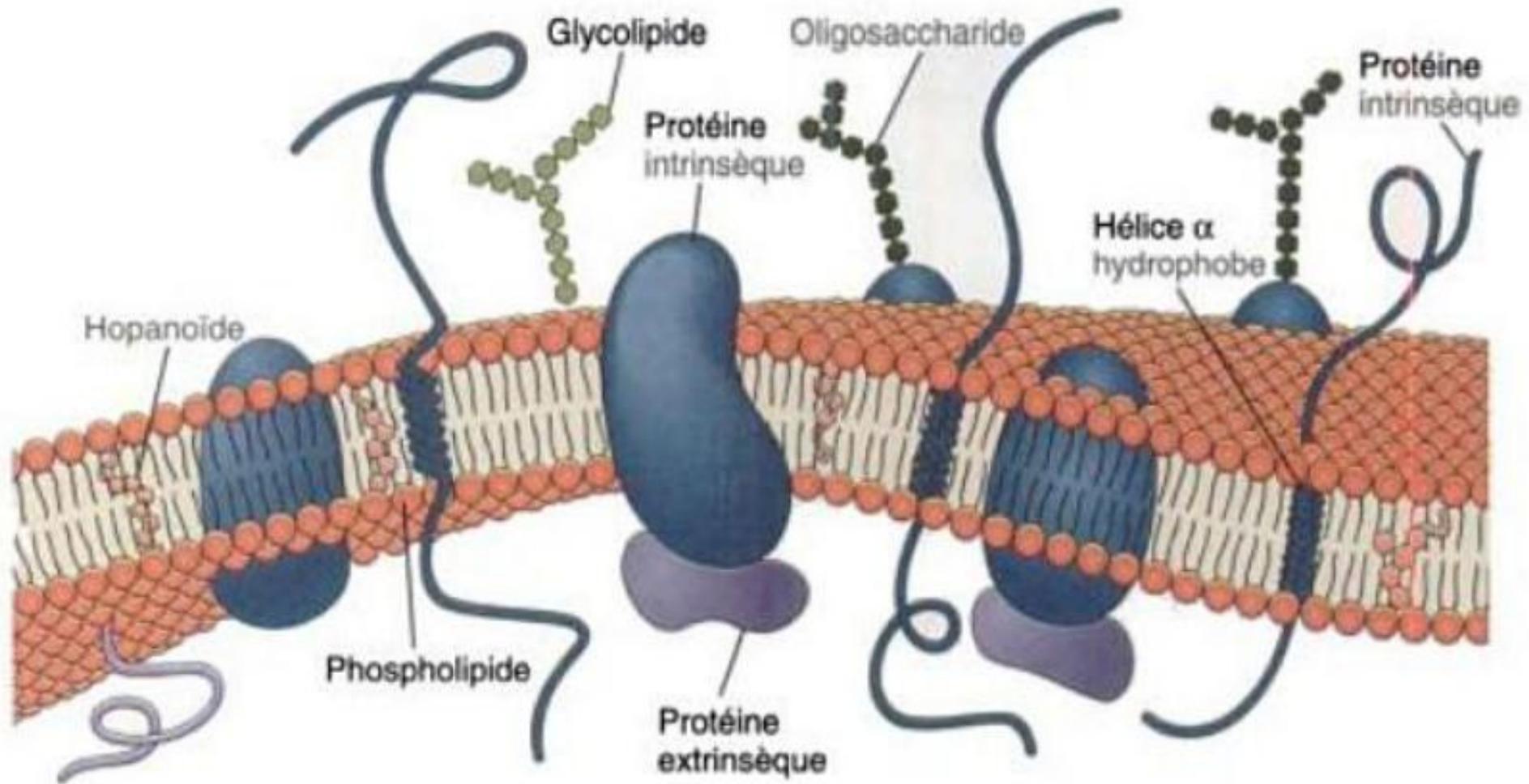


Observation et composition chimique

- ME: Épaisseur de 7.5 nm
- Feuillet interne transparente (lipidique) en sandwich entre deux feuillets externes danses (protéiques)
- Analyse chimique:
 - lipides (+++ 30 à 40%), moins variés (surtout G-), phospholipides (PG: Phosphatidylglycérol, PE: phosphatidyléthanolamine).
 - pas de cholestérol (exception mycoplasma)
 - protéines (++ , 60 à 70% -grosses molécules, très variées)
 - Enzymes de la chaine respiratoire deshydrogénases, les coenzymes, : NAD+, FAD, cytochromes, cytochromes oxydases.
 - Enzymes de synthèse des: lipides complexes, la paroi, réplication de l'ADN.
 - glucides (10%) associés: protéines de surface et aux lipides

structure

- Les lipides sont à la base de structure de MP.
- Structure bimoléculaire: organisée en doubles couches (deux feuillet):Amphiphilie (amphipathique)
- Partie hydrophobe: ,
- Partie hydrophile: têtes (deux couches) immergées dans l'eau.
- Structure pas statique: mosaïque fluide (Singer).
- Les protéines:
 - extrinsèques (périphériques) faiblement attachées, apparaissent sur l'une des 2 faces.
 - Intrinsèques (intégrale, internes): traversent la double couche, apparaissent sur les deux faces.

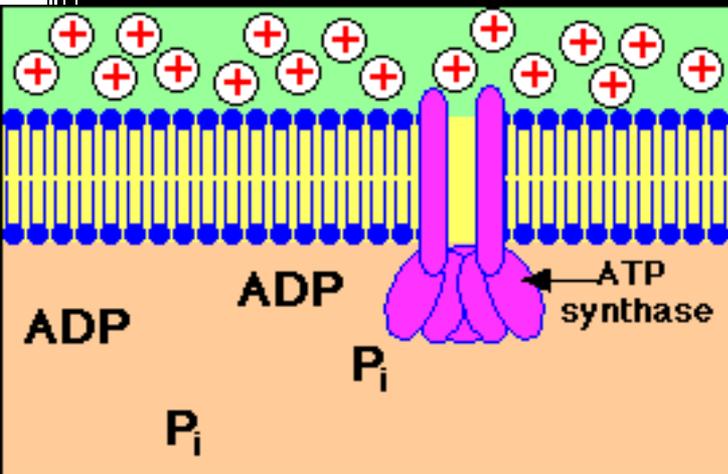


Fonctions

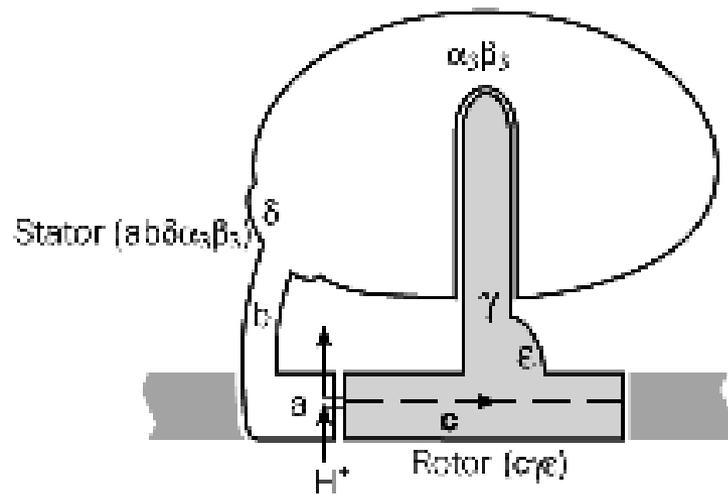
- Biosynthèse.
- Excrétion des enzymes hydrolytiques
- La respiration.
- barrière semi-perméable (ou semi sélective): elle permet le passage de molécules lipophiles et empêche le passage des molécules hydrophiles.
- Site de fixation des flagelles

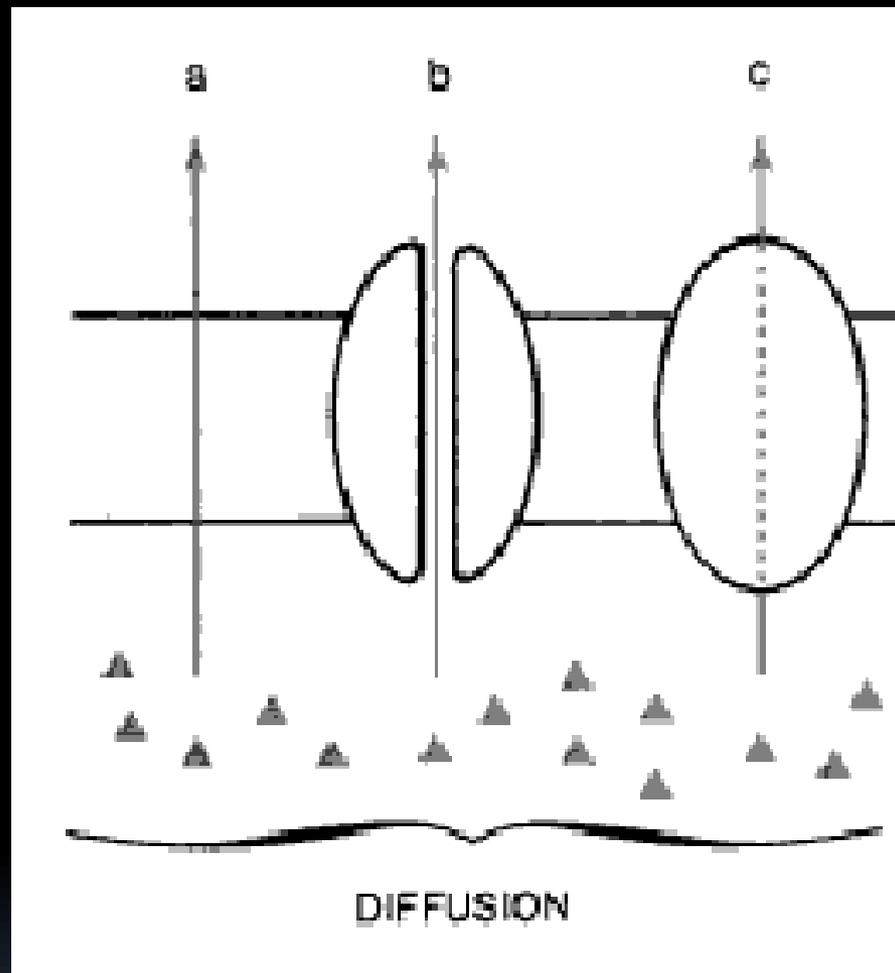
protéines membranaires

- ayant pour rôles :
- Enzymes responsables de la biosynthèse et de l'excrétion dans l'espace périplasmique de molécules nécessaires à la synthèse de la paroi
- Enzymes de la chaîne respiratoire permettant la synthèse d'ATP et celles de la photosynthèse.
- Transporteurs de diverses molécules (ions, sucres, ...) dans les 2 sens.
- Protéines transmembranaires du chimiotactisme.

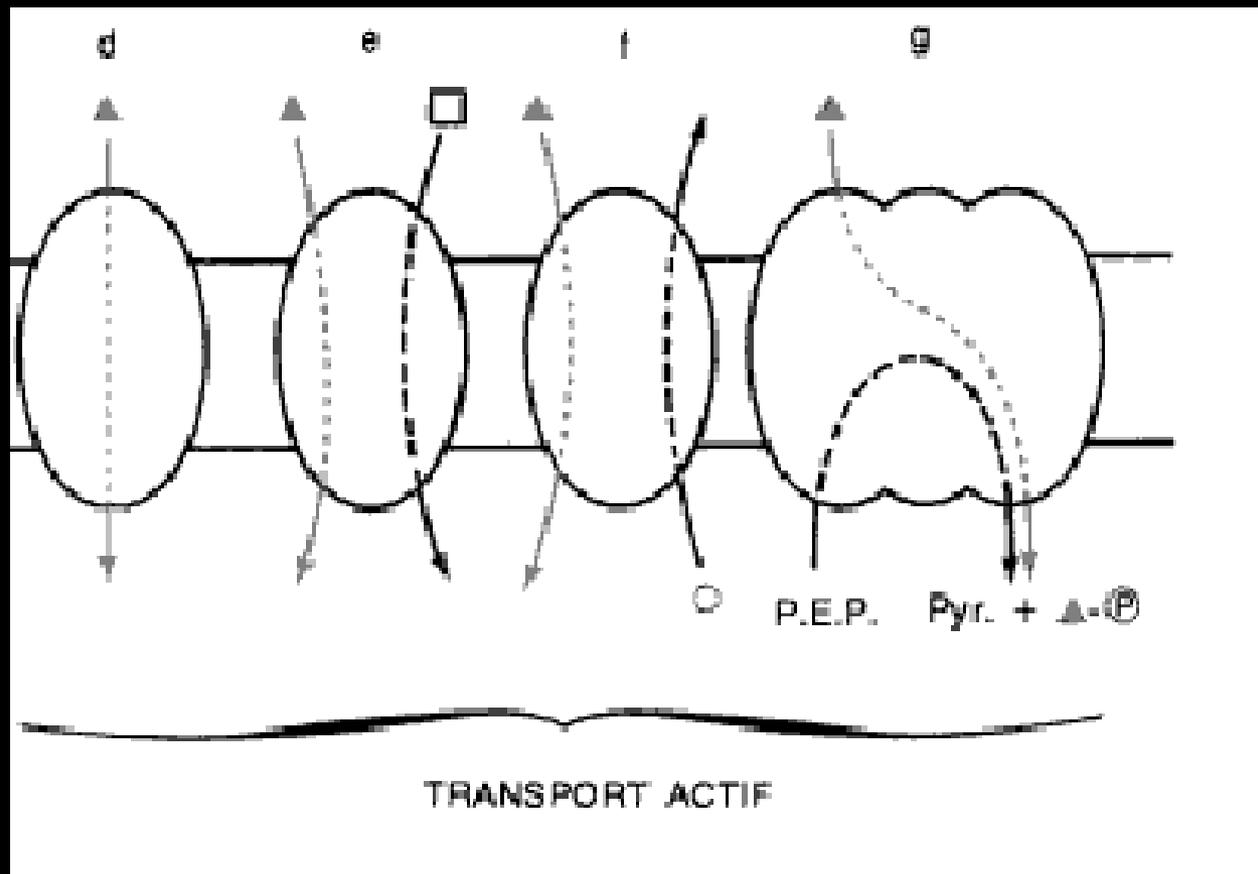


En présence d'un gradient de protons (**force proton-motrice**), le flux de proton à travers le domaine (F₀) fait tourner une tige dans la tête (F₁) de système protéique l'**ATP synthase** et fournit ainsi l'énergie nécessaire à la synthèse d'ATP à partir : : L'ADP et de phosphate.----- phosphorylation





- a : diffusion passive transmembranaire ;
- b : diffusion passive par canal spécifique ou non spécifique ;
- c : diffusion facilitée par protéine porteuse ;



- d : transport actif primaire (uniport) ;
- e : cotransport actif (symport) ;
- f : cotransport actif (antiport) ;
- g : transport par translocation de groupe ;
- ▲ : molécules à transporter ;
- : molécules de cotransport ;
- PEP : phosphoénolpyruvate ;
- pyr : pyruvate.

Cytoplasme

- un hydrogel colloïdal contenant:
- matériel génétique bactérien (chromosome et plasmide), Ribosomes, - Granulations et Substances de réserves, Vacuole à gaz.
- pH moyen de 7 à 7,2 .
- Siege de : réactions métaboliques , synthèse .

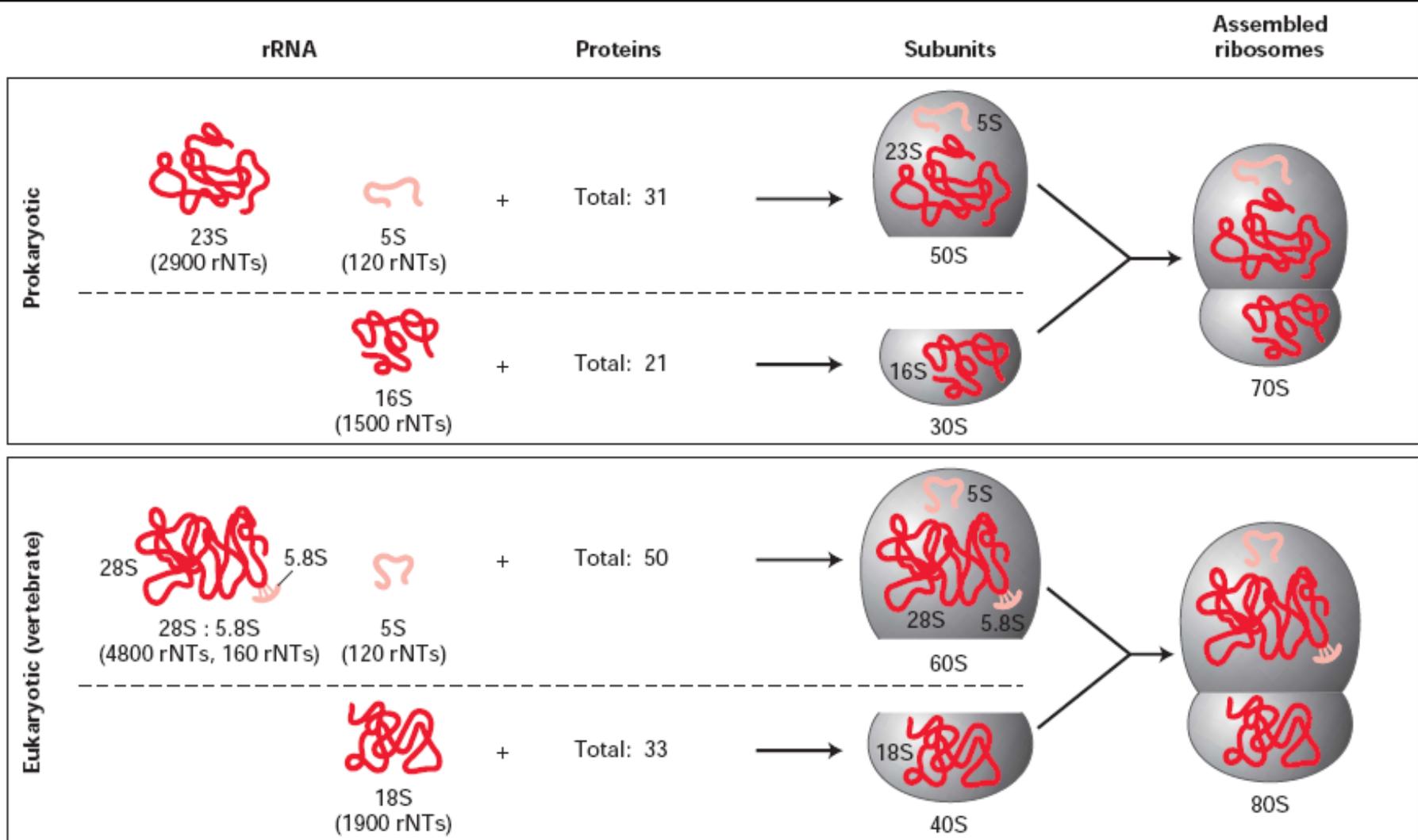
A-Ribosomes:

- Site de synthèse protéique.
- Nombre----activité (plus de 10 000 ribosomes).
- 30% du poids sec.
- Libres dans le cytoplasme.
- 70S (Svedberg).
- 2 sous unités (grande 50s et petite 30s)
- Composé de protéine et ARNr.
- Compacté par Mg^{++}

Le Ribosome d' E. coli

- 70s, constituée de 2 sous-unités :
- **Grande sous-unité 50s compose de:**
- 23S (3200 n) + 5S (120 nucleotides) et de 34 protéines....
- **petite sous-unité 30s contient domaine 16S** (1,600 n), et de 21 protéines.
- L' ARNr 16S forme un fil double. Seulement 30-35% des bases de 16S forme une chaîne monobrin.
- La fonction des ribosomes n'est pas spécifique.
- La streptomycine, neomycine et tetracycline cible la synthèse des protéines.
- Les cellules hôtes ne sont pas affectées.

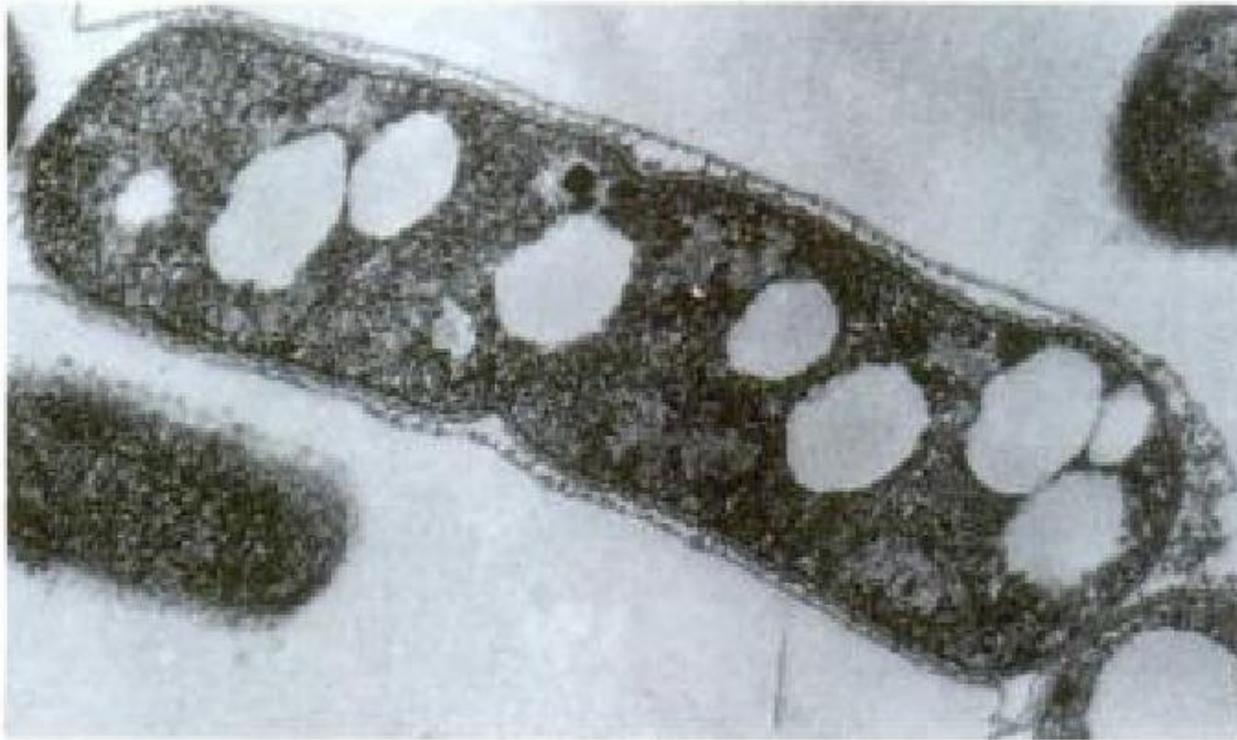
Comparaison des ribosomes



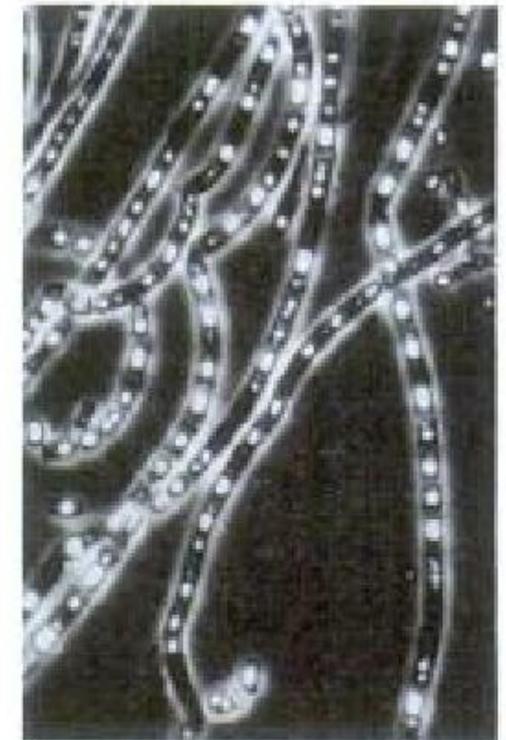
B- Granulations et Substances de réserves

- **A-Corps d'inclusions libres (e.g.**
 - - granules de polyphosphates, -
 - - granules de cyanophycin: polymère d'acides aminés (acide aspartique et arginine), chez les Cyanobactéries, Acinetobacter. Production industrielle en *E. coli* et *Corynebacterium glutamicum*.
 - - *granules de glycogène*.
- **B- Granules entourées d'une membrane unique:**
 - Granules de Poly β -hydroxybutyrate PHB, certaines granules de glycogène, granules de soufre, carboxysomes (cyanobactéries, thiobacilles, bactéries nitrifiantes).
 - Role : reserves nutritionnels et énergétique, régulation de la pression osmotique

Granules de réserve



a



b

Figure II.30 – Substances de réserve : granulations de poly- β -hydroxybutyrate chez *Sphaerotilus natans*.

a : Microscopie optique contraste de phase $\times 1\ 080$ (dû à l'obligeance de E. G. Mulder et V.L. Van Veen) ;

b : Microscopie électronique, $\times 25\ 000$ (Institut Pasteur de Lille, A. Petitprez et coll.).

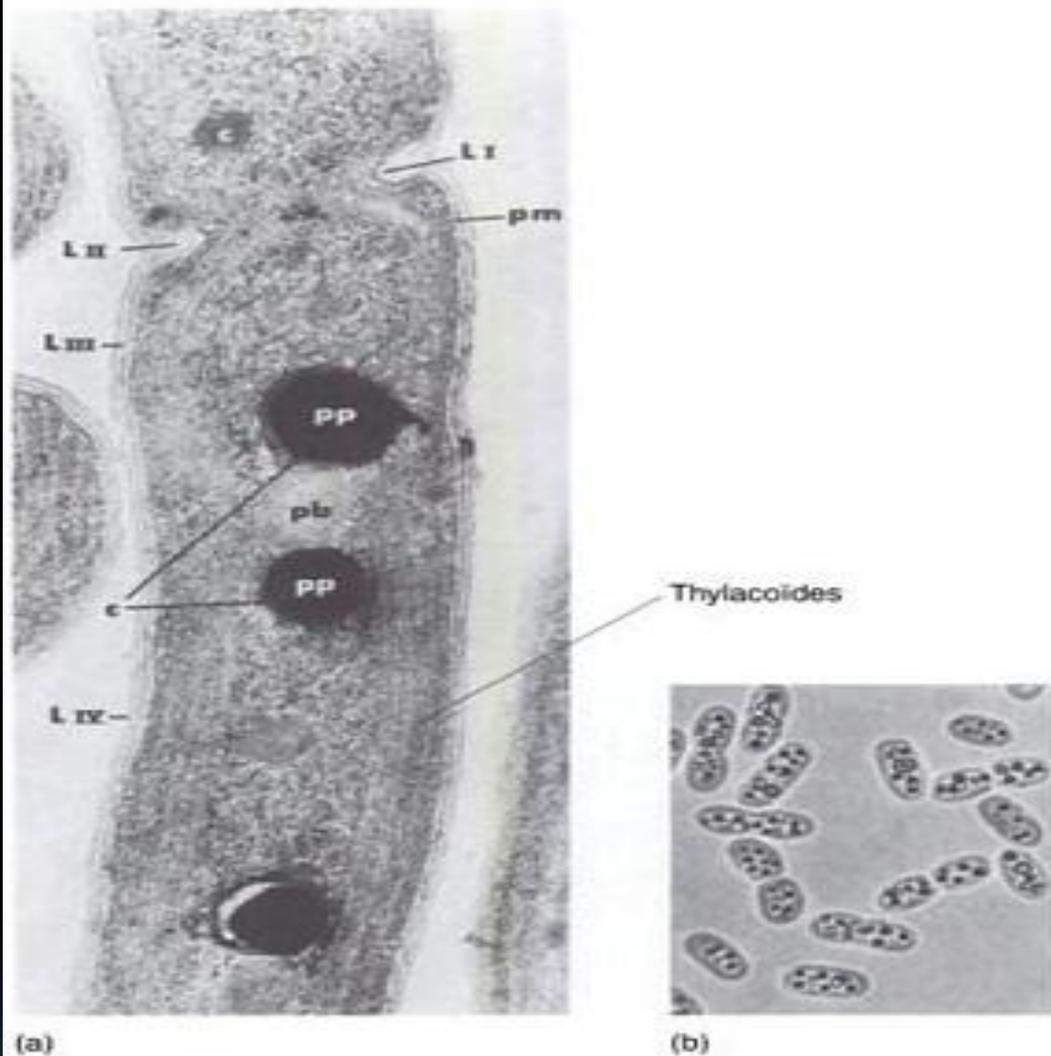
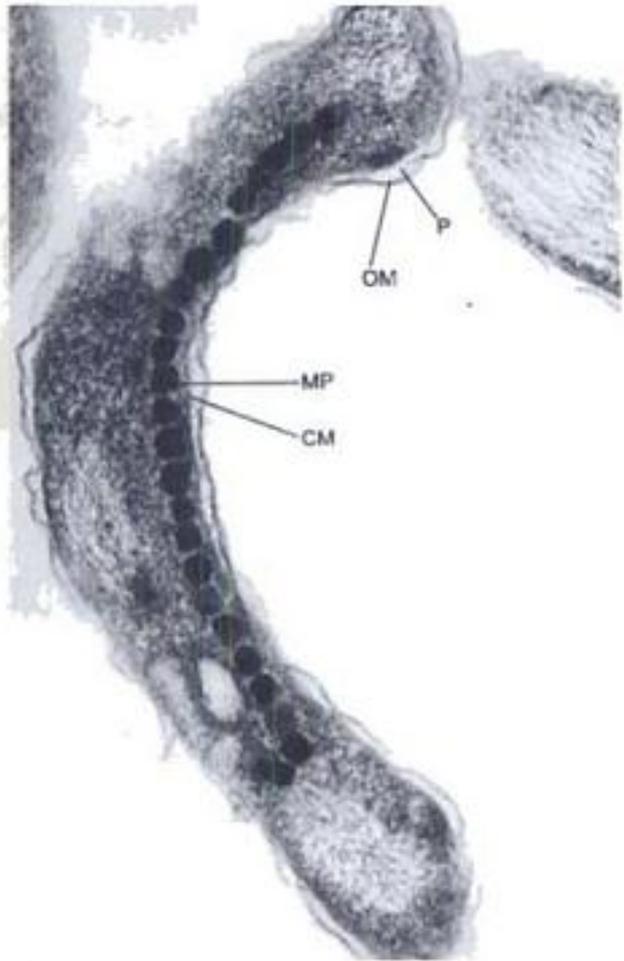


Figure 3.13 Les inclusions dans les bactéries. (a) Ultrastructure de la cyanobactérie *Anacystis nidulans*. La bactérie se divise et un septum est partiellement formé, *LI* et *LII*. On peut voir les couches de la paroi cellulaire *LIII* et *LIV* ; la membrane plasmique, *pm* ; les granules de polyphosphate *pp* ; un corps polyédrique, *pb* ; et un granule de cyanophycine, *c*. Des thylacoïdes se trouvent le long de la cellule. La barre mesure 0,1 μm . (b) *Chromatium vinosum*, une bactérie sulfureuse photosynthétique avec des granules de soufre intracellulaires, sur fond clair (x 2 000).



(a)

Les bactéries magnétotactiques. (a) Photo au microscope électronique à transmission de la bactérie magnétotactique *Aquaspirillum magnetotacticum* (x 123.000). Notez la longue chaîne de particules magnétiques opaques aux électrons, *MP*. Les autres structures : *OM*, membrane externe ; *P*, espace périplasmique ; *CM*, membrane cytoplasmique. (b) Magnétosomes isolés (x 140.000). (c) Bactéries se déplaçant en vagues quand elles sont soumises à un champ magnétique.



(b)



(c)

Des aimants vivants

Les bactéries répondent à d'autres facteurs de l'environnement qu'aux substances chimiques. Un exemple fascinant est celui des bactéries magnétotactiques pouvant s'orienter dans le champ magnétique terrestre. Ces organismes possèdent des chaînes intracellulaires de particules de magnétite (Fe_3O_4) ou magnétosomes, de 40 à 100 nm de diamètre environ et entourées d'une membrane (voir **figure de l'encadré**). Certaines espèces dont l'habitat est riche en soufre, contiennent des magnétosomes formés de greigite (Fe_3S_4) et de pyrite (FeS_2). Comme chaque particule de fer est un petit aimant, les bactéries de l'hémisphère nord utilisent leur chaî-

ne de magnétosomes pour s'orienter vers le nord et le bas. Elles nagent vers les sédiments riches en éléments nutritifs ou localisent la profondeur optimale en eau douce et en mer. Les bactéries magnétotactiques de l'hémisphère sud s'orientent vers le sud et le bas dans le même but. Des magnétosomes sont également présents dans la tête des oiseaux, des thons, des dauphins, des tortues vertes et d'autres animaux vraisemblablement pour les aider à se diriger. Animaux et bactéries ont plus de choses en commun qu'on ne pouvait l'imaginer au point de vue du comportement général.

C-Vacuole à gaz :

- **vésicules remplies de gaz.**
- **Structures cylindriques creuses (nombreuses)**
- **Chez les procaryotes photosynthétiques : les cyanophycées, bactéries pourpres et les bactéries vertes.**
- **Role:, permettent de flotter à la surface de l'eau. Pour la lumière, oxygène et nourriture.**
- **membrane est faite de protéine en ne possédant pas des lipides.**
- **Expérience de cyanobactéries en Bouteille en 1895 par, Ahlborn et al, "expérience du marteau, du bouchon et de la bouteille"**

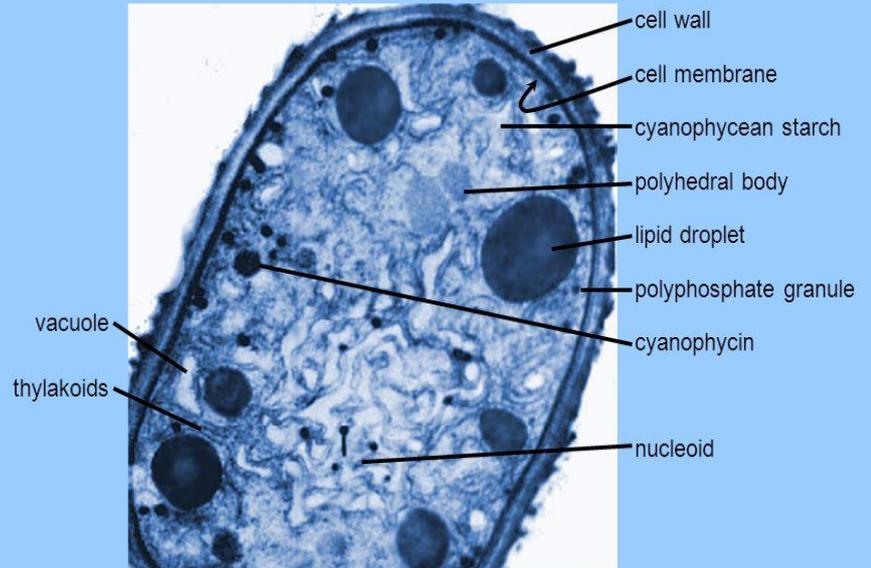


1

2

3

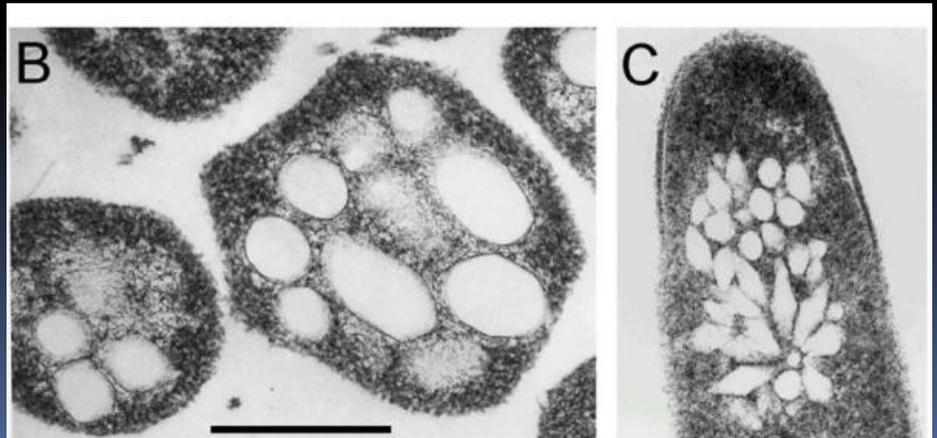
Cyanobacterial Akinete (hypnospor) 1



vacuole
thylakoids

cell wall
cell membrane
cyanophycean starch
polyhedron body
lipid droplet
polyphosphate granule
cyanophycin
nucleoid

<http://www.botany.hawaii.edu/faculty/webb/BOT311/Cyanobacteria/AkineteEMBlue400.jpg>



B

C

L'APPAREIL NUCLEAIRE - A- Le nucléoïde.

- C'est le génome bactérien (ou chromosome bactérien).
- peut exister sous plusieurs copies en même temps (pas de synchronisation ADN/cellule).
- **a\ Organisation:**
- n'est pas isolé du cytoplasme par une membrane.
- double brin circulaire (refermé) d'ADN; deux chaînes antiparallèles, complémentaires.
- sans histones et est super-enroulé: **Topoisomérases et protéines basiques analogues aux histones**

- Ancré en un ou plusieurs points de la membrane plasmique.
- *Escherichia coli*: 5 millions de paires de base/ 4300 gènes (60% du total).
- Taille de 1mm après déroulement, 10% du volume cellulaire.
- Role:
- support de l'hérédité.
- permet de lire le génome, de le transcrire en ARN (afin de synthétiser des protéines).
- réplication pour assurer la descendance.

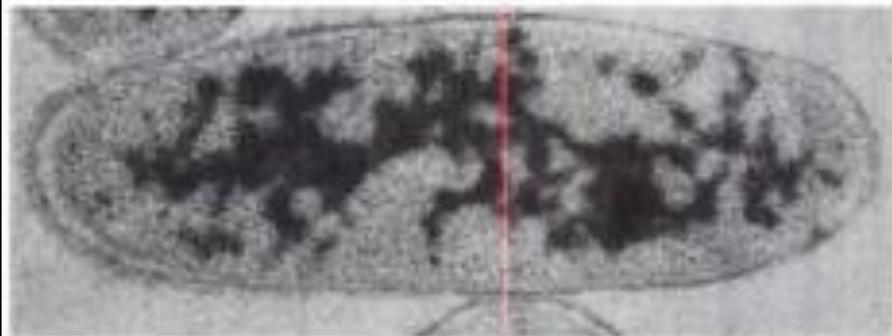
Biosynthèse de nucléoïdes

- un mécanisme semi-conservateur et bidirectionnel.
- *Deux fourches de réplication se déplacent à partir du locus oriC, formant une structure de type thêta.*
- *les zones monocaténaïres ainsi formées sont stabilisées par les protéines SSB (single strand binding)... Contrôle et protection contre les nucléases.*
- **Réplication** « Phosphodiesterification » entre l'amorce d'ADN et ce qui est lu dans la direction 5' vers 3'
- **Très rapide (750 à 1000 paires de bases par seconde).**
- Les fragments synthétisés sur le brin anti-sens sont reliés par une ADN-ligase

Le nucléoïde



(a)



(b)

Figure 3.14 Le nucléoïde bactérien (a) Nucléoïdes dans des cellules de *Bacillus* en croissance, contrastés par une coloration Giemsa-HCl et observés au microscope optique (barre = 5 μm). (b) Une coupe dans *E. coli* en développement rapide, contrastée par une coloration immunologique spécifique de l'ADN et examinés au microscope électronique à transmission. La transcription et la traduction sont couplées dans ces parties du nucléoïde qui font saillie dans le cytoplasme. (c)

■ Les enzymes impliquées:

■ Les ADN polymérases:

■ polymérisent des désoxyribonucléotides assurent l'élongation de l'ADN dans le sens 5' → 3', elles nécessitent une matrice et une amorce.

■ les hélicases:

■ des enzymes qui déroulent (devant la fourche de réplication), en utilisant l'énergie de l'ATP, et qui séparent les deux brins du duplex

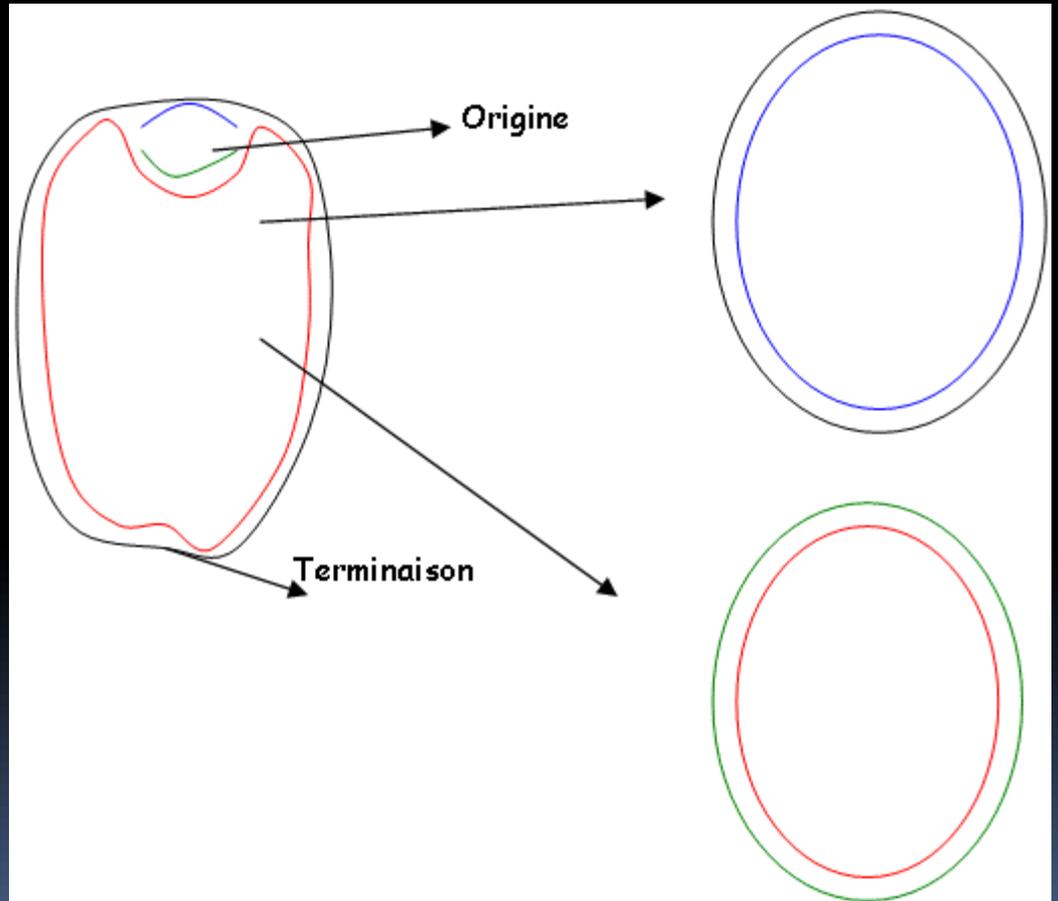
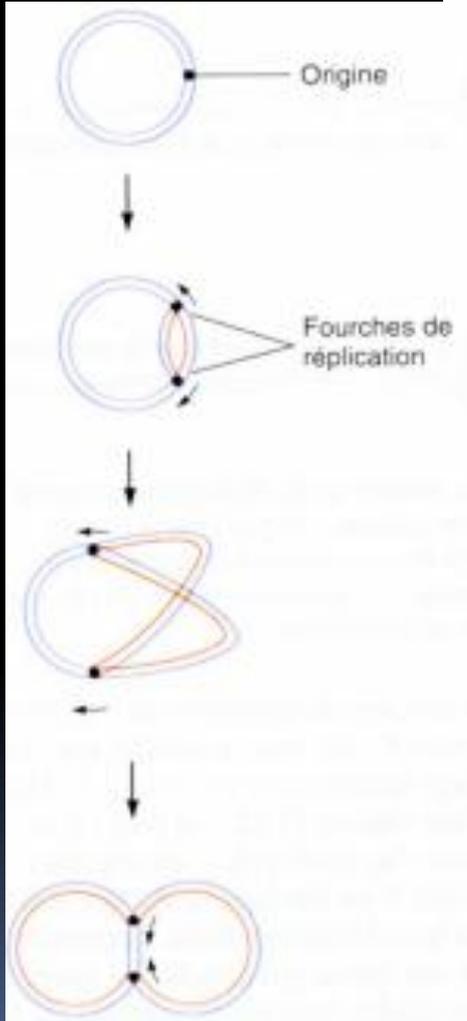
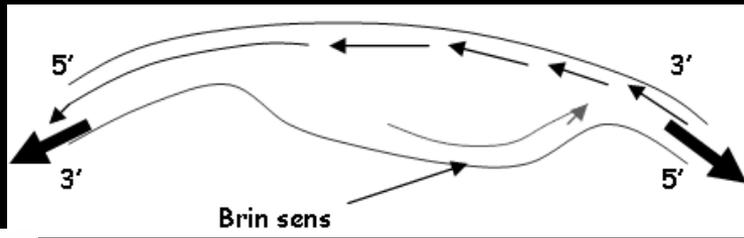
■ L'ADN-gyrase

■ permet de désenrouler au point d'origine et suit le mouvement des fourches. Cette enzyme est inhibée par la norobiocine (antibiotique).

■ les topoisomérases:

■ des enzymes contrôlant le surenroulement (supercoiling +/-) de l'ADN bactérien.

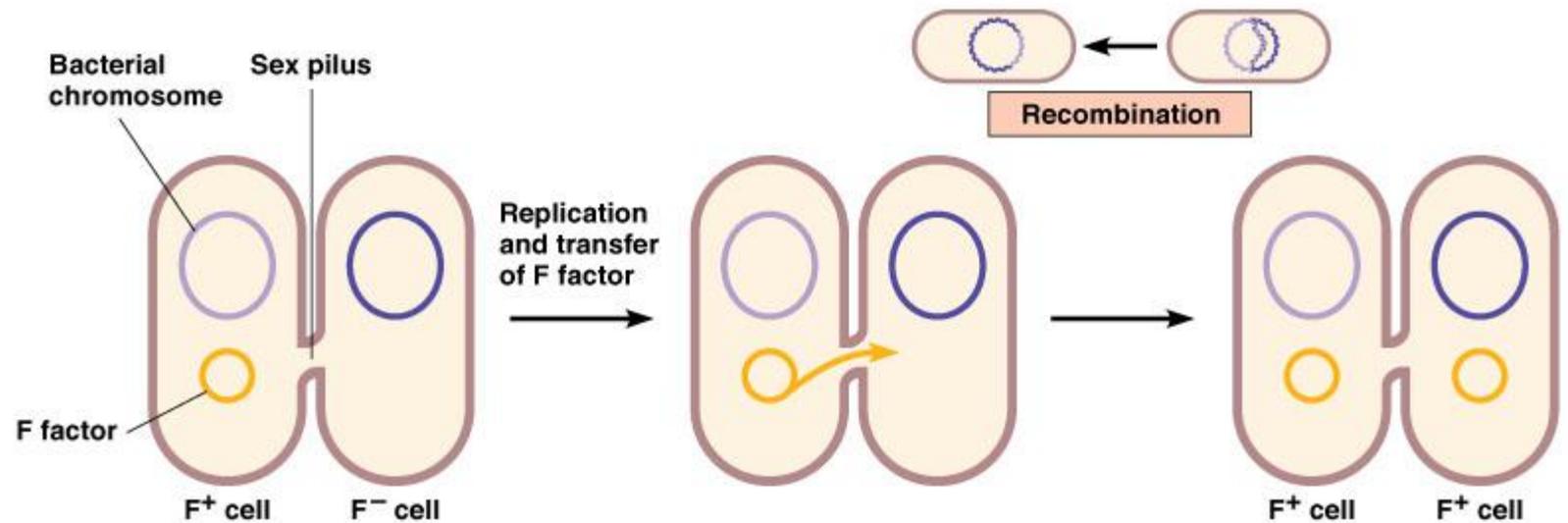
■ l'ADN ligase; forme une liaison phosphodiester entre une extrémité 3'-OH et une extrémité 5'



B- ADN plasmidique

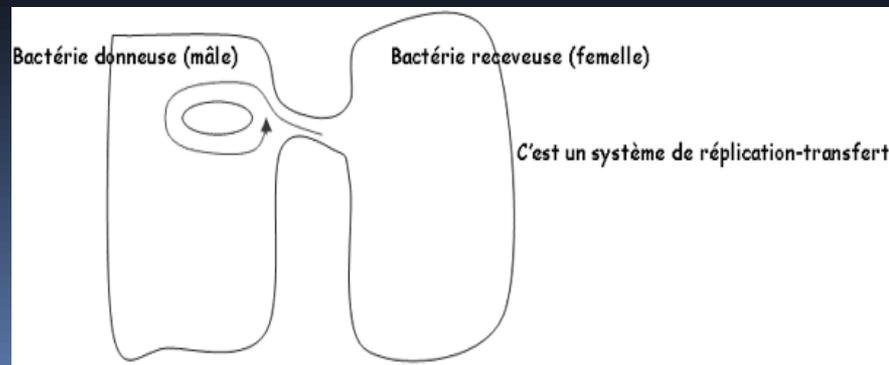
- molécules d'ADN double brin, circulaire, extrachromosomique.
- réplication autonome.
- De petite taille et codent pour une information génétique non-indispensable.
- Ils peuvent infecter des bactéries ou être échangés entre elles.
- Le transfert des plasmides se fait par conjugaison :

Le transfert des plasmides



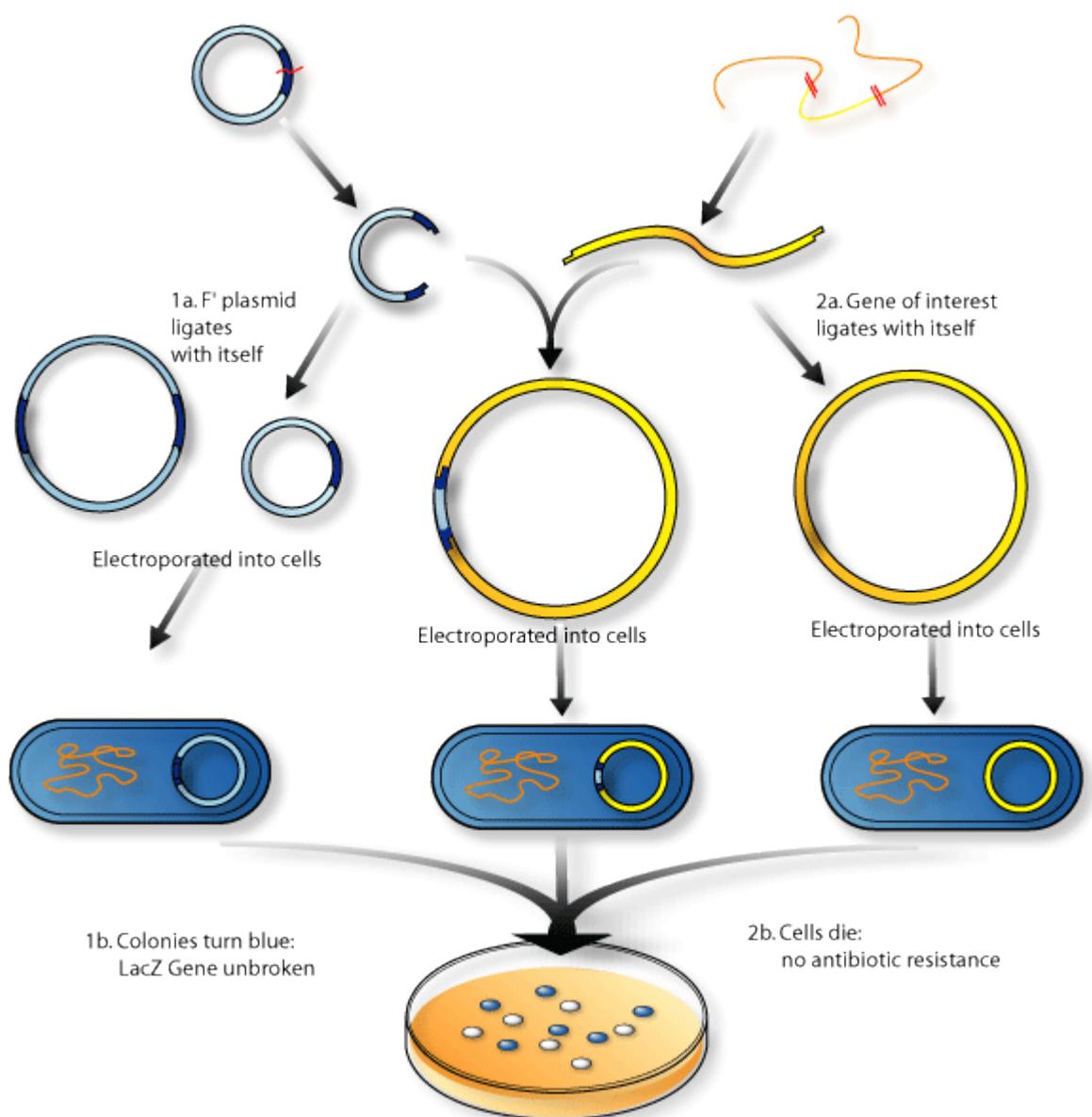
(a) When an F factor (a plasmid) is transferred from a donor (F^+) to a recipient (F^-), the F^- cell is converted into an F^+ cell.

Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.



Propriétés des plasmides

- Unités codantes. Ils donnent à la bactérie :
 - - la possibilité de synthèses spéciales
 - - une résistance à des antibiotiques : la b-lactamase qui résiste aux pénicillines.
 - - Une pathogénicité. Chez *E. coli*, il y a synthèse d'entérotoxines qui provoquent des maladies.
- l'aptitude à se fixer sur une membrane.
- - Un pouvoir infectieux
- - Le plasmide F donne la possibilité de recombinaison génétique : il code pour la synthèse de pili sexuels pendant la conjugaison.



1a. F' plasmid ligates with itself

2a. Gene of interest ligates with itself

Electroporated into cells

Electroporated into cells

Electroporated into cells

1b. Colonies turn blue: LacZ Gene unbroken

2b. Cells die: no antibiotic resistance

Types de plasmides

Types	Exemples	Taille approximative (kb)	Hôtes	Phénotypes
Facteur de fertilité	Facteur F	95-100	<i>E. coli</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Citrobacter</i>	Pilus sexuel, conjugatif
Plasmides R	- RP ₄	54	- <i>Pseudomonas</i> et autres Gram-	- Pilus sexuel, conjugatif, résistance Ap, Km, Nm, Tc
	- R1	80	- Gram -	- Résistance à Ap, Km, Su, Cm, Sm
	- pSH ₆	21	- <i>S. aureus</i>	- Résistance à Gm, Tm, Km
	- pSJ _{23a}	36	- <i>S. aureus</i>	- Résistance à Pn, Asa, Hg, Gm, Km, Nm, Em...
Plasmides Col	- col E ₁	9	- <i>E. coli</i>	- Colicine E ₁
	- col E ₂		- <i>Shigella</i>	- Colicine E ₂
Plasmides de virulence	- Ent (P307)	83	- <i>E. coli</i>	- Production d'entérotoxine
	- ColV-K ₃₀	2	- <i>E. coli</i>	- Sidérophore pour capture du Fer, résistance aux mécanismes immunitaires
	- pZa 10	56	- <i>S. aureus</i>	- Entérotoxine B
Plasmides métaboliques	- CAM	230	- <i>Pseudomonas</i>	- Dégradation du camphre
	- SAL	56	- <i>Pseudomonas</i>	- Dégradation du salicylate
	- TOL	75	- <i>P. putida</i>	- Dégradation du toluène

Légende : Ap : Ampicilline ; Asa : Arséniate ; Cm : Chloramphénicol ; Em : Erythromycine ; Gm : Gentamycine ; Hg : Mercure ; Km : Kanamycine ; Nm : Néomycine ; Pn : Pénicilline ; Sm : Streptomycine ; Su : Sulfamides ; Tc : Tétracycline.

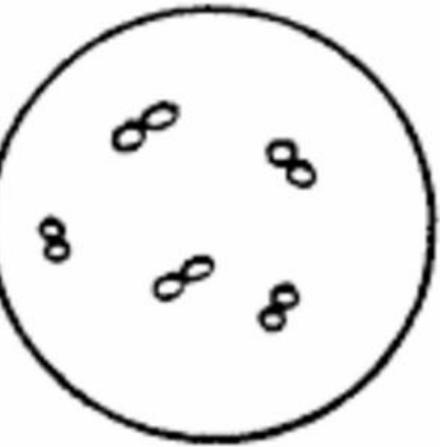
■ Capsule:

- Couche plus ou moins compacte de substances organiques gélatino-visqueuses qui entourent la paroi d'une.
- Composition: polysaccharidique à l'exemple des dextranes des *Leuconostoc* ou des Levanes des *Pseudomonas*.
- polyosides : **glycocalyx**.
- *Bacillus* , la capsule est de nature polypeptidique.
- Mise en évidence au microscope, par l'encre de chine et on observe la capsule sous forme d'un halo clair et réfringent.
- Les glucides DANS LE MILIEU jouent un rôle important dans la présence ou non de la capsule.

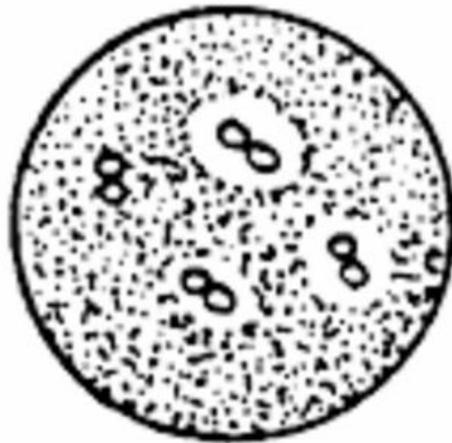
FONCTION

- *Adhésion : c'est une fixation (adsorption) aux supports, inerte ou vivants, assuré en particulier par les polysides du glycocalyx.
- *Protection : vis à vis de leur environnement et la dessiccation.
- *empêche la fixation des bactériophages.
- protège de la prédation par les protozoaires
- *Pathogénicité : support de nombreux antigènes, (les pneumocoques capsulés se révèlent pathogènes, alors que les pneumocoques non capsulés ne le sont pas.

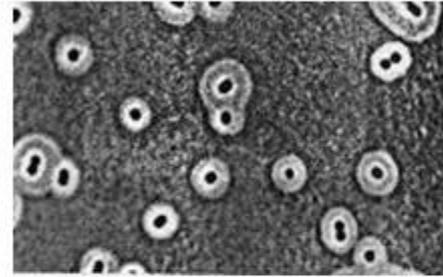
capsules



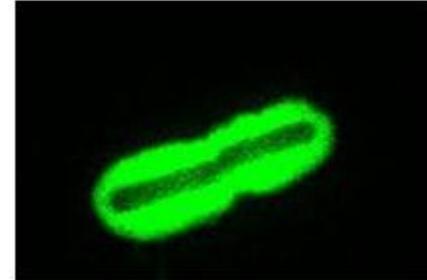
sans encre



• encre de Chine



Capsule de *Streptococcus pneumoniae* visualisée à l'encre de Chine



Capsule de *Bacillus anthracis* visualisée à l'aide d'anticorps fluorescent

LES FLAGELLES

- Mobilité microbienne:
 - - **glissement** sur un support (cyanobactéries),
 - - **Rotation** autour d'un axe central (spirochètes).
 - - **Par flagelles.**
- **Les flagelles :**
 - filaments ténus, invisibles au microscope optique, protéine **flagelline.**
 - En nombre variable : de 1 à 50,
 - Disposition différente . On distingue en effet deux systèmes de distribution et plusieurs types de répartition des flagelles à la surface cellulaire :



(a)



(b)



(c)

Figure 3.31 La distribution des flagelles. Exemples de distribution des flagelles vue au microscope optique. (a) Monotriche polaire (*Pseudomonas*). (b) Lophotriche (*Spirillum*). (c) Péritriche (*Proteus vulgaris*). La barre mesure 5 μm .

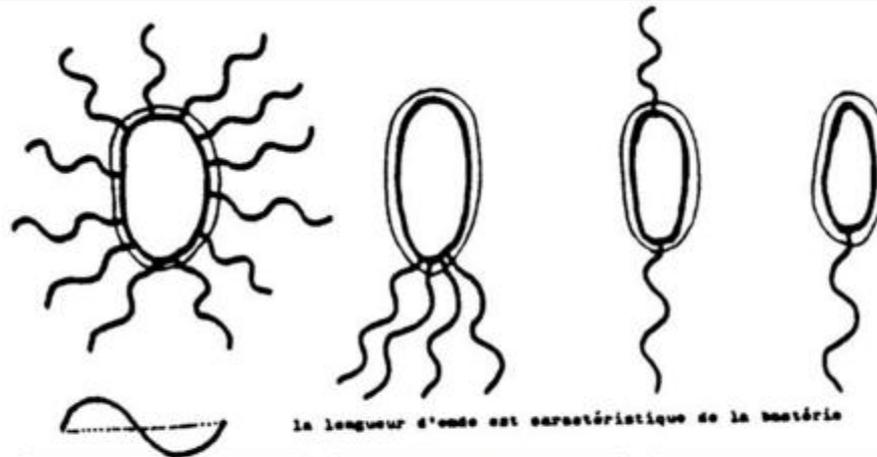
- * **Système polaire** /* **Système péritriche** :

- un seul flagelle polaire = **ciliature monotriche**,
- un flagelle à chaque pôle = **ciliature amphitriche**,
- une touffe de flagelles polaires = **ciliature lophotriche**.
- * **Système péritriche** : flagelles entourant toute la bactérie = **ciliature péritriche**.

- **Composition:**

- un filament hélicoïdal externe,
- un crochet coudé qui fixe le filament à la cellule,
- un corps basal logé dans la cellule et terminé par un des anneaux pour ancrage intracellulaire.
- Les flagelles de certaines bactéries sont porteurs de propriétés antigéniques (antigène H, flagellaire)

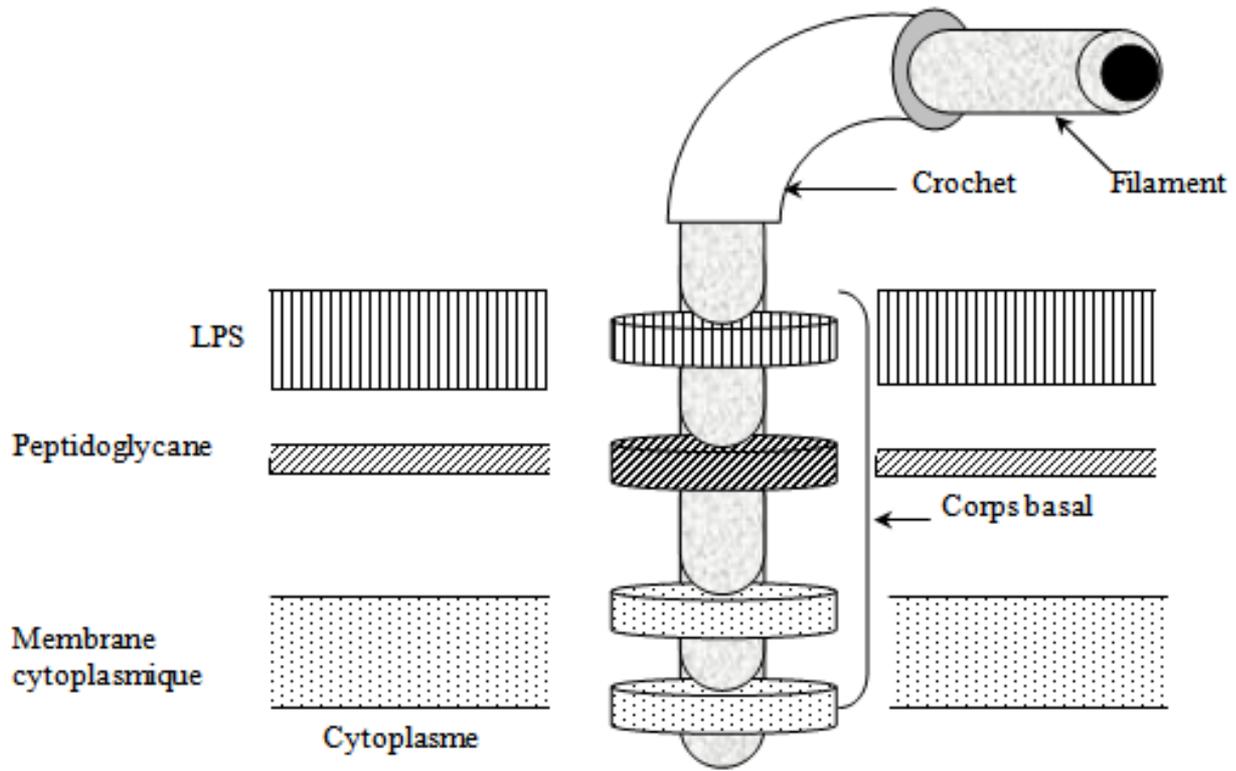
Flagelles



Péritriche
colibacille

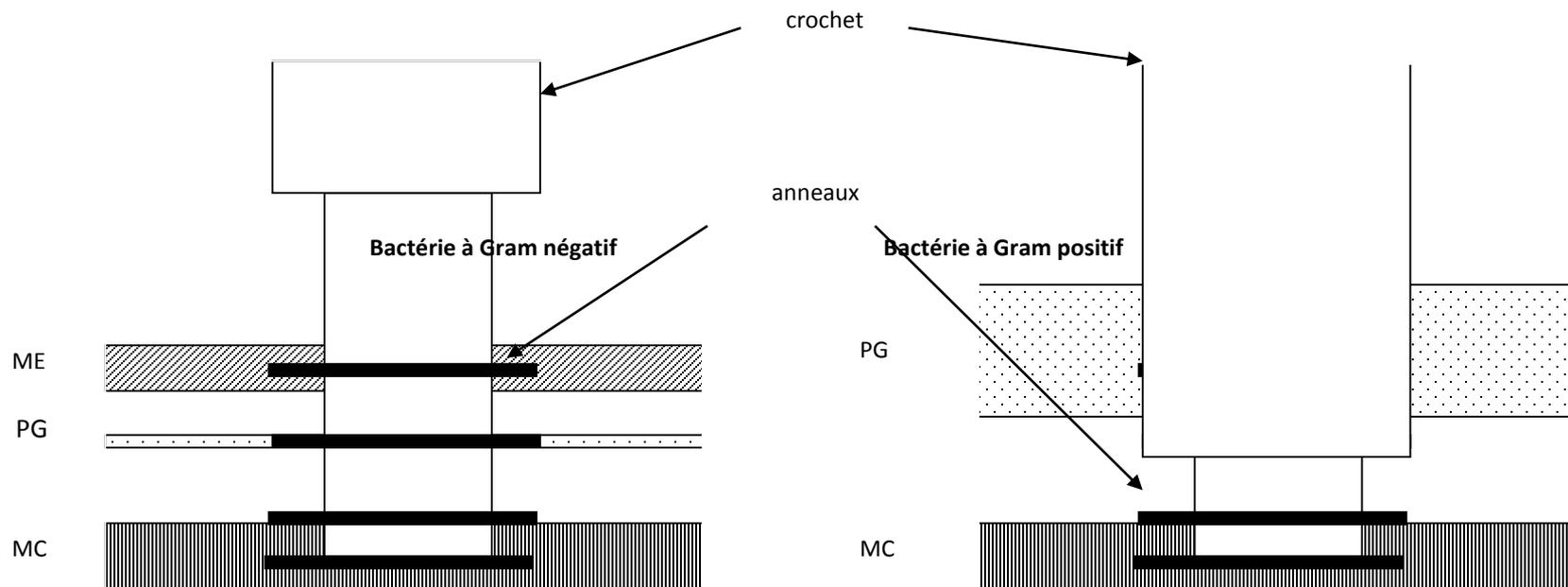
Lophotriche
pseudomonas

Polaire
vibrion



Structure du corps basal du flagelle

Le point d'insertion des flagelles diffère



Flagelles et fimbriae

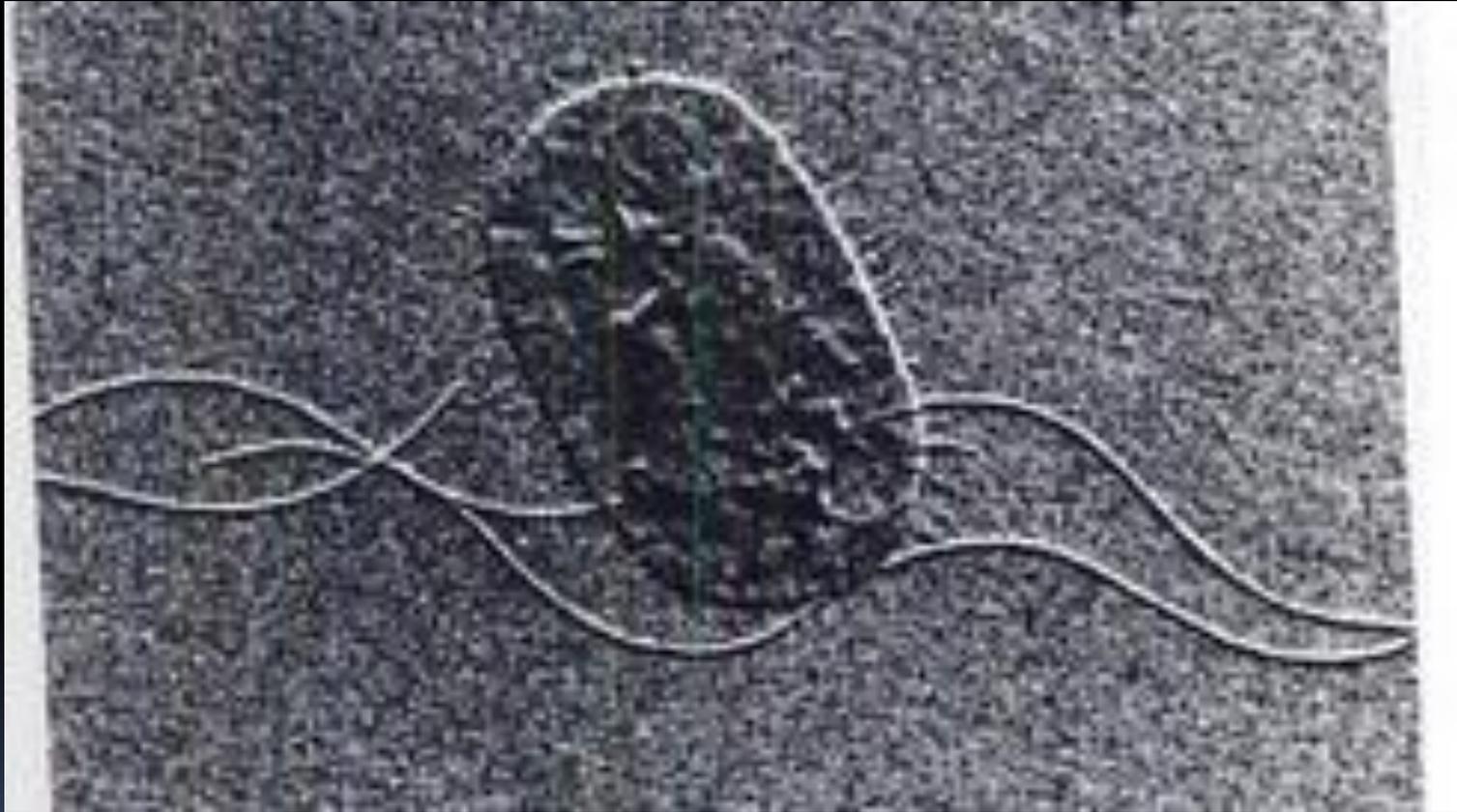


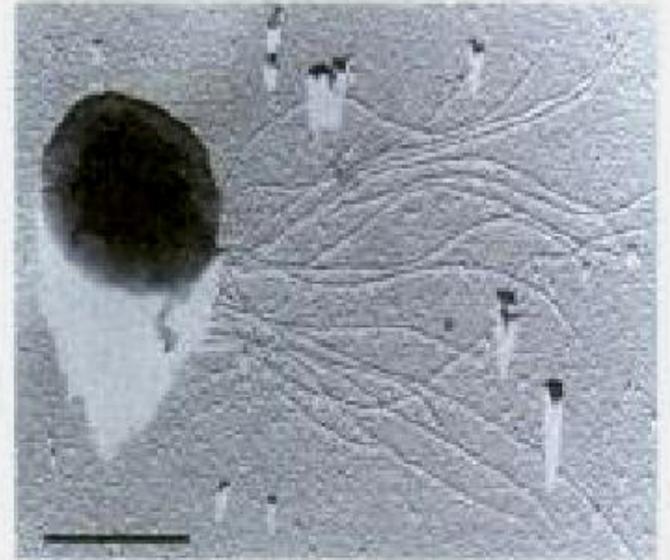
Figure 3.30 Les flagelles et les fimbriae. Les longs flagelles et les nombreux fimbriae sont clairement visibles dans cette photo au microscope électronique de *Proteus vulgaris* (x 39.000).



a



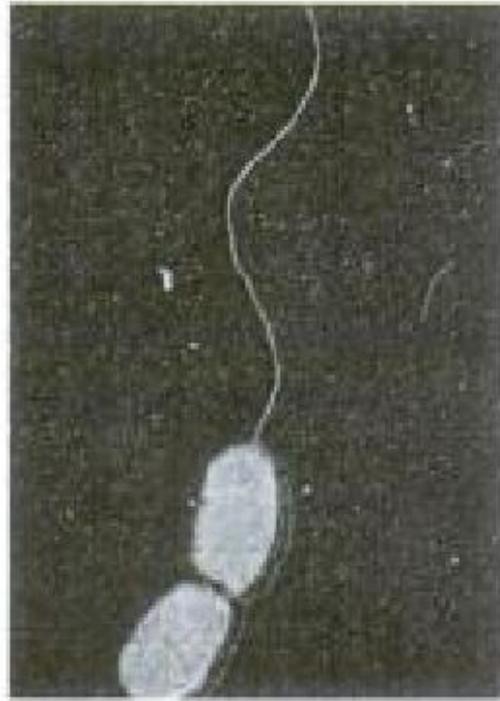
b



c

Figure II.48 - Bactéries ciliées après coloration.

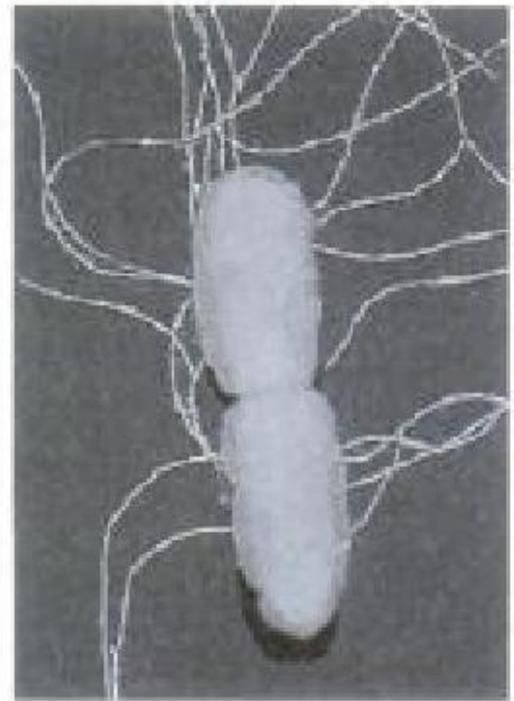
a : *Aeromonas hydrophila* ; cils polaires, $\times 1\ 320$; b : *Proteus vulgaris* ; cils péritriches, $\times 17\ 500$; c : *Thermococcus chiltonophagus* en M.E.T. après ombrage au platine ; cils lophotriches.



a



b



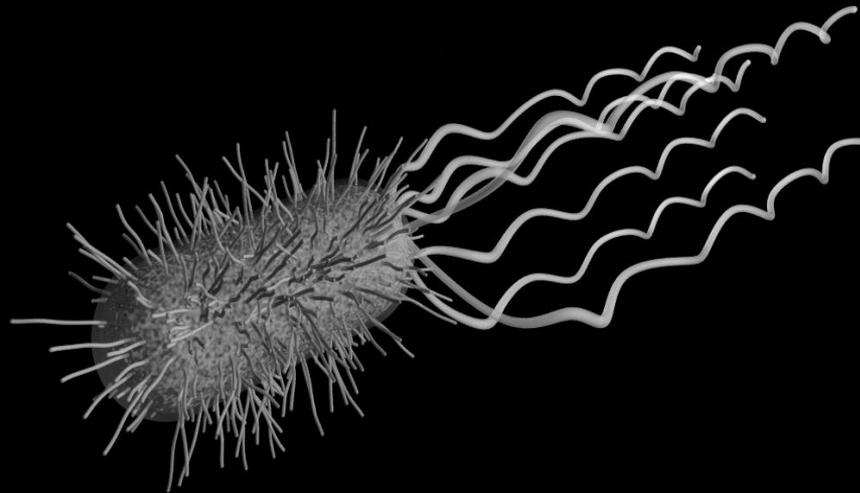
c

a : *Vibrio metchnikowi*, x 12 000 ; b : *Proteus vulgaris*, x 25 000 ; c : *E. coli*, x 15 000.

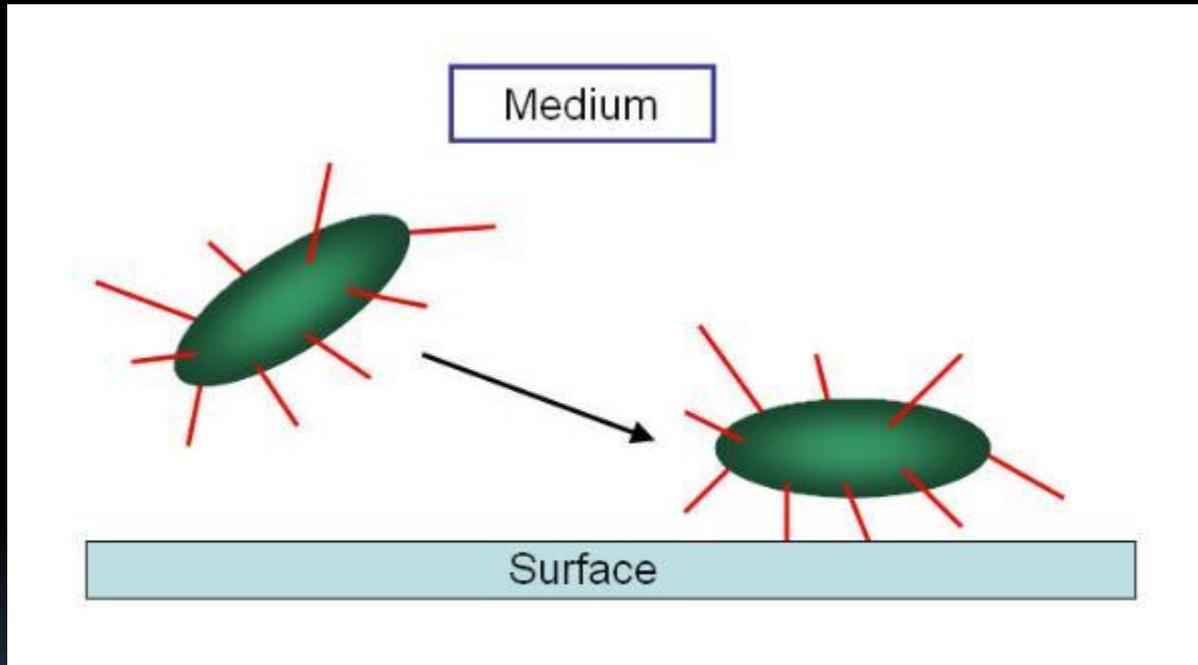
LES PILI (cils)

- Les **pili** (poils) sont des structures externes.
- nature protéique, courtes, minces et plus rigides que les flagelles.
- Les deux principaux types de pili sont les **pili communs** et les **pili sexuels**, (bactéries à Gram négatif –Entérobactéries-).
- **A- Les pili communs :**
 - nombre variable
 - permettre l'adhésion des bactéries à divers supports (surface des cellules eucaryotes qu'elles colonisent).
 - responsables de la tendance des bactéries, (formant une pellicule visqueuse ou **film bactérien**).

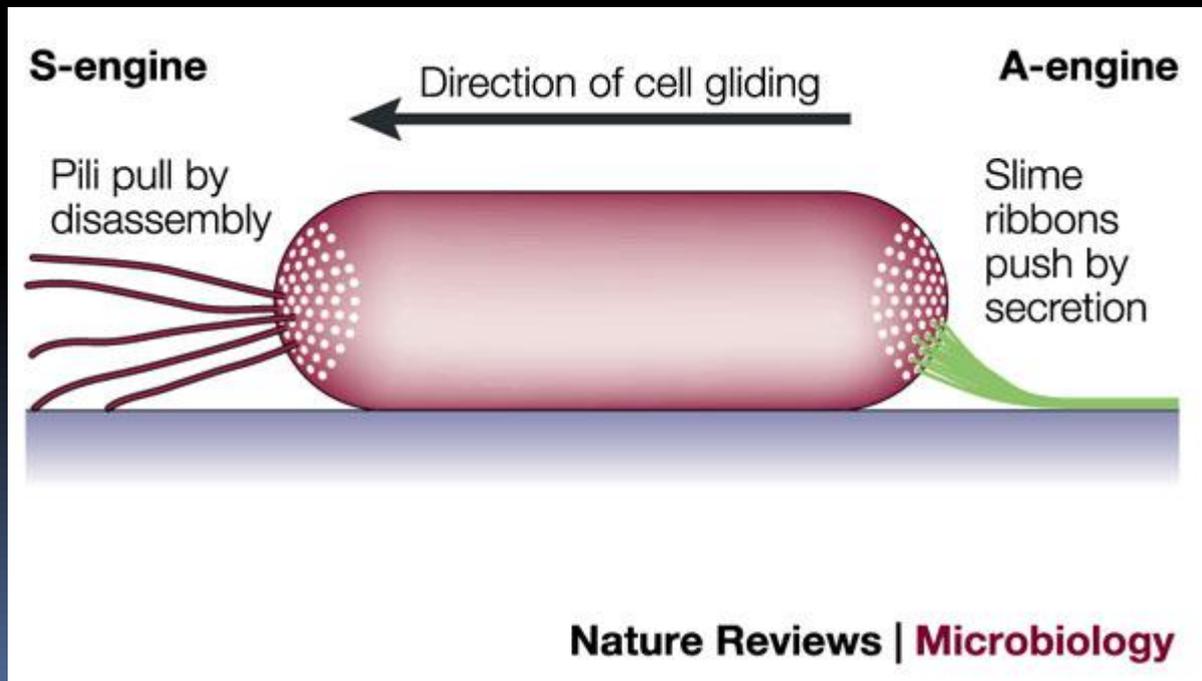
a Pov-Ray computer model of a Pseudomonas bacterium, with seven polar flagella and 600 pili



Adh sion

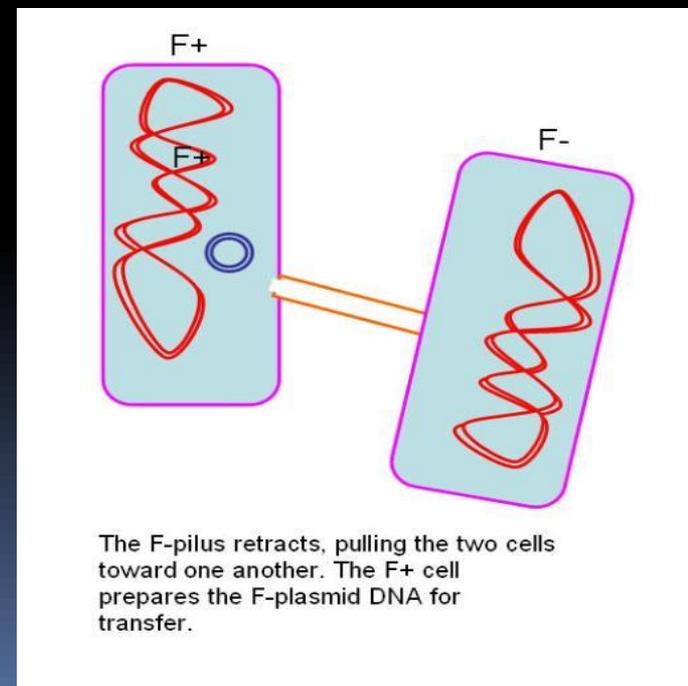
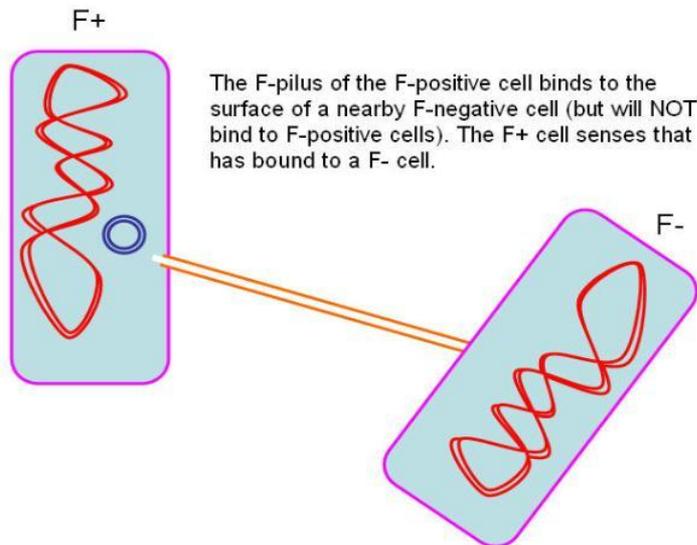


- **Myxobacteria** mobilité par glissement (by gliding)



B- Les pili sexuels :

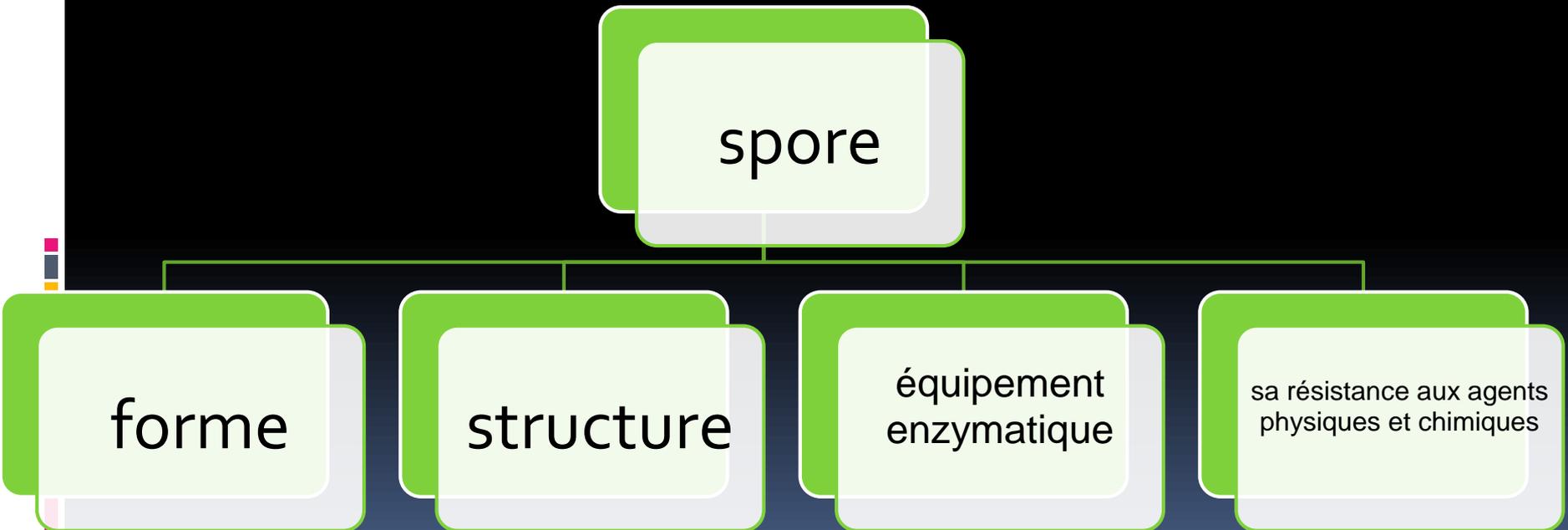
- Plus longs, reliant deux bactéries
- voies d'échanges de matériel génétique entre les bactéries.
- Les bactéries capables de produire des pilis sexuels sont dénommées bactéries "mâles" à l'opposé des autres qui sont dites "femelles".



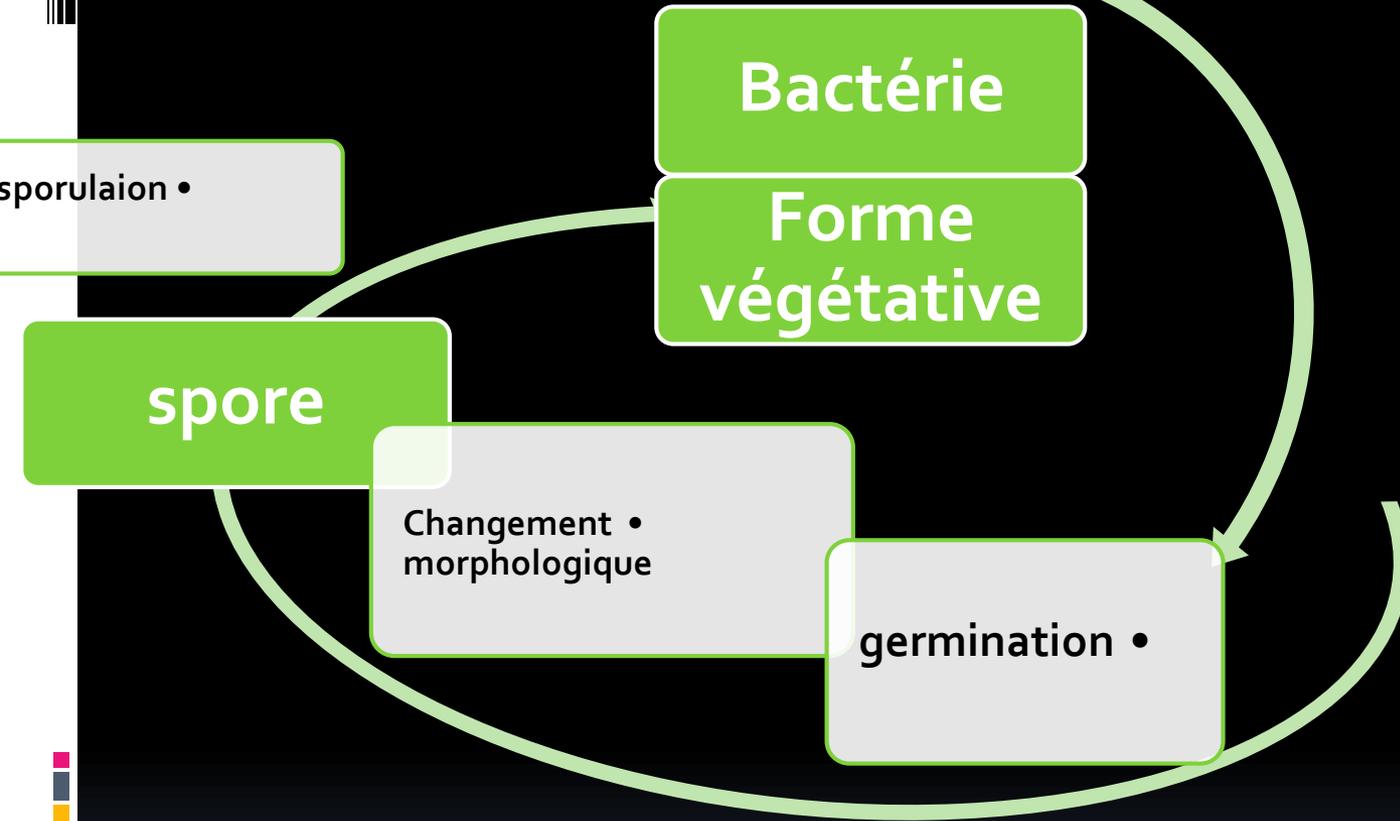
Structure de spore

Organite facultatif qui se forme au sein du cytoplasme de certaines bactéries

Différente de cellule végétative par:



Forme végétative et sporale:





Bactéries sporulées

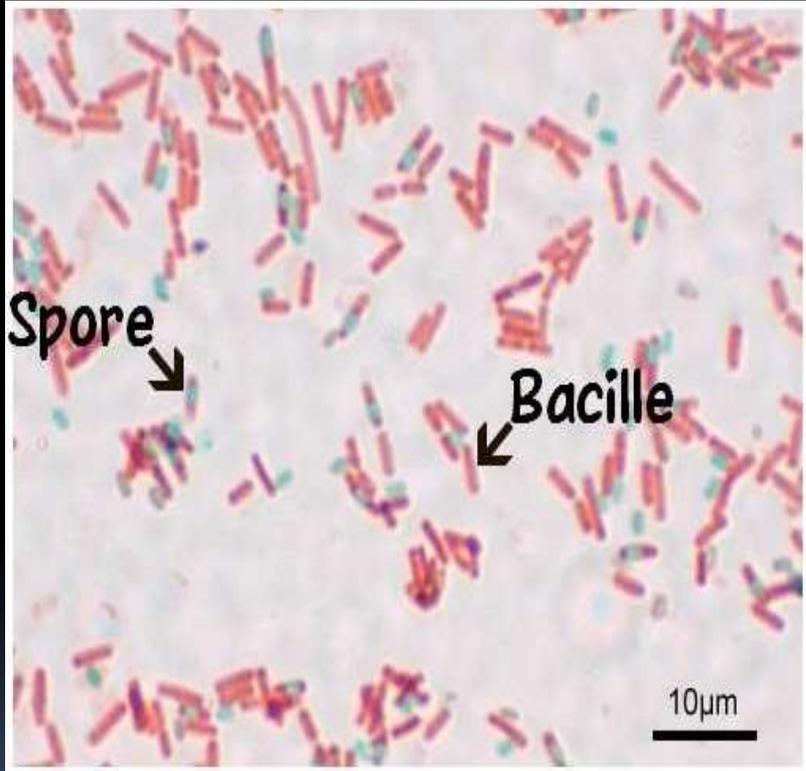
- Bacillus
 - Clostridium
 - Sporolactobacillus. (moins résistante)
 - Sporosarcina
- 

Mise en évidence et coloration

- Coloration de Moeller : fuschine de Ziehl à chaud + bleu de méthylène. Les spores apparaissent rouge sur fond bleu.
- - Coloration de Schaeffer : vert de malachite à chaud + fuschine. Les spores apparaissent vertes sur fond rosé. Ces 2 colorations permettent de voir les spores quelque soit leur localisation

Coloration de Schaeffer : vert de malachite

- - Réaliser un frottis fixé sur lame de verre
- - Recouvrir la lame de vert de malachite
- - Chauffer (éventuellement sur plaque chauffante) jusqu'à émission de vapeurs blanches sans faire bouillir le colorant ni laisser sécher la préparation (ajouter du vert de malachite si nécessaire) le chauffage doit durer 10 min.
- - Laisser refroidir et laver à l'eau
- - Effectuer une contre – coloration en recouvrant la lame de Fuchsine durant 2 min.
- - Laver et sécher/- Observation à l'objectif 100 à immersion
- - Les spore apparaissent vertes et les cellules roses, elles peuvent être déformantes ou non déformantes, terminales subterminales ou centrales.
- Au microscope en contraste de phase, la spore apparaît comme un espace clair très réfringent et limité par un contour net et régulier.
- Rondes ou ovales, d'un diamètre variant de 0,2 à 2 mm.



Disposition de spore

Sa situation à l'intérieur de la cellule permet de reconnaître des spores centrales, subterminales ou terminales. Si le diamètre est supérieur à celui de la cellule végétative la spore est qualifiée déformante, dans le cas contraire elle est non déformante.

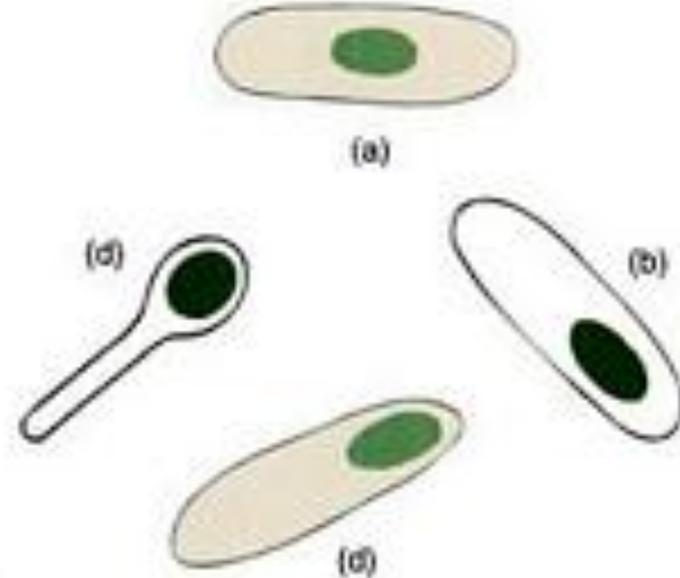


Figure 3.40 Exemples de localisation et de taille des endospores. (a) Spore centrale. (b) Spore subterminale. (c) Spore terminale. (d) Spore terminale avec sporange gonflé.

Position	Forme	Déformation
Centrale	Ovale	Non déformante
Subterminale		
Terminale	Sphérique	Déformante

Central or equatorial in *C.bifermentans*(Spindle shaped)

Sub terminal in *C.perfringens*(club shaped)

Oval and terminal in *C.tertium*(resembling tennis racket)

Spherical and terminal in *C.tetani*(drum sticks)



Spherical Central



Oval Central



Spherical sub-terminal



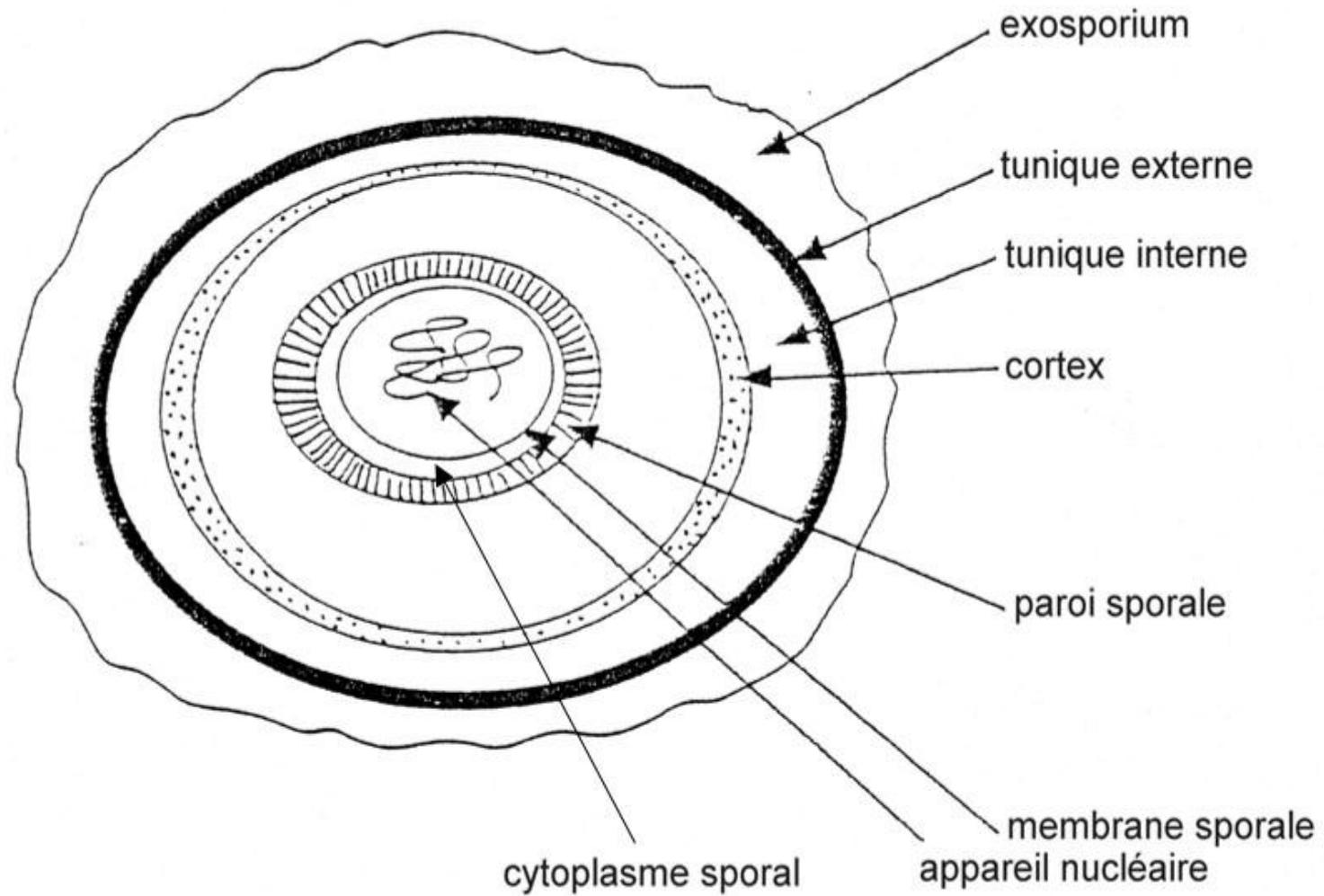
Oval sub-terminal



Spherical terminal



Oval terminal



Structure

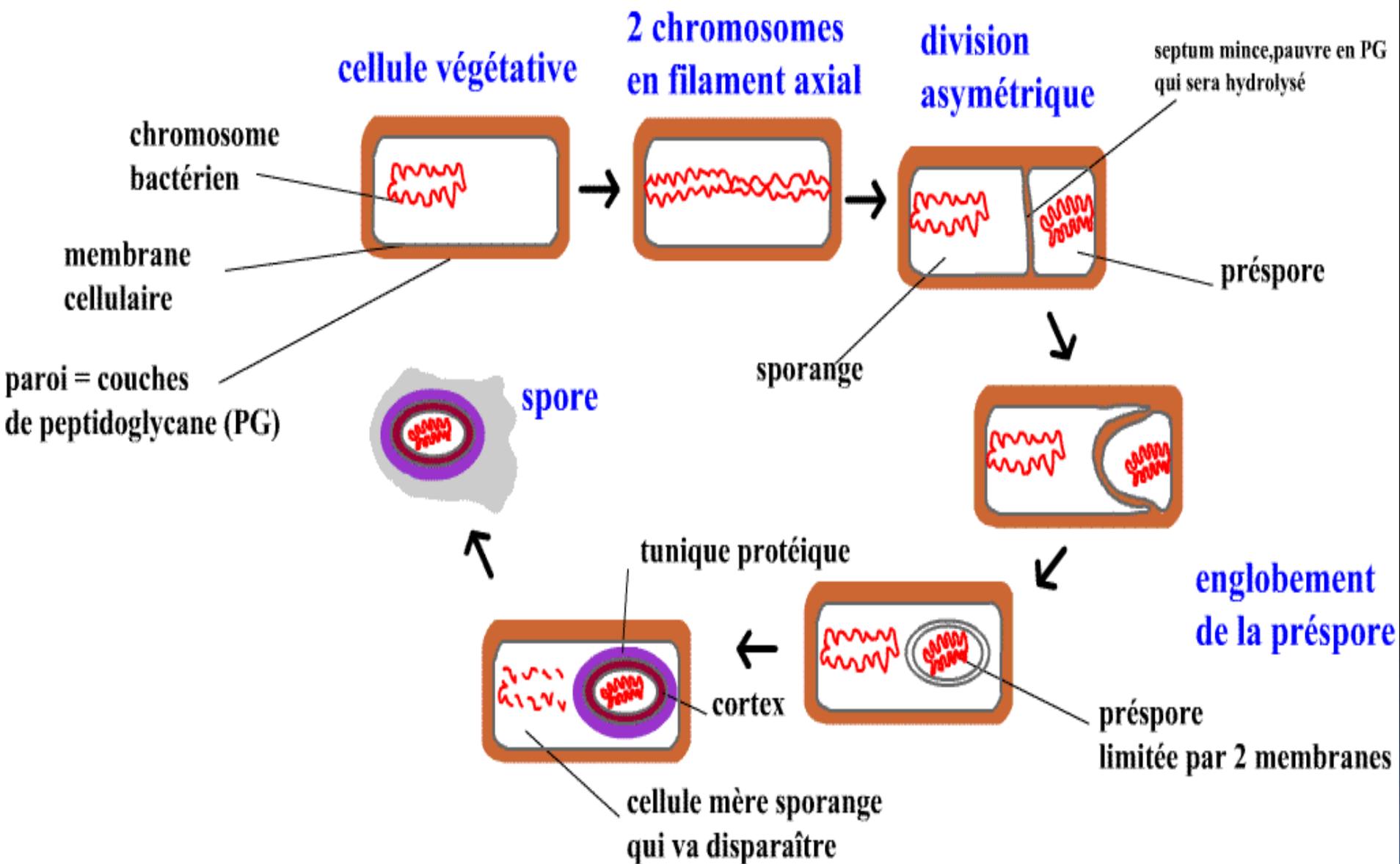
- cytoplasme de texture homogène, pauvre en ARN, en enzymes et en eau.
- La membrane cytoplasmique est entourée par la paroi sporale et le cortex.
- Le cortex, contient un constituant spécifique des spores, « l'acide dipicolinique » sous forme de dipicolinate de calcium.
- les tuniques (appelées alors intine ou tunique interne et exine ou tunique externe) formées de protéines riches en ponts disulfures «cystéines ».
- Éxosporium.

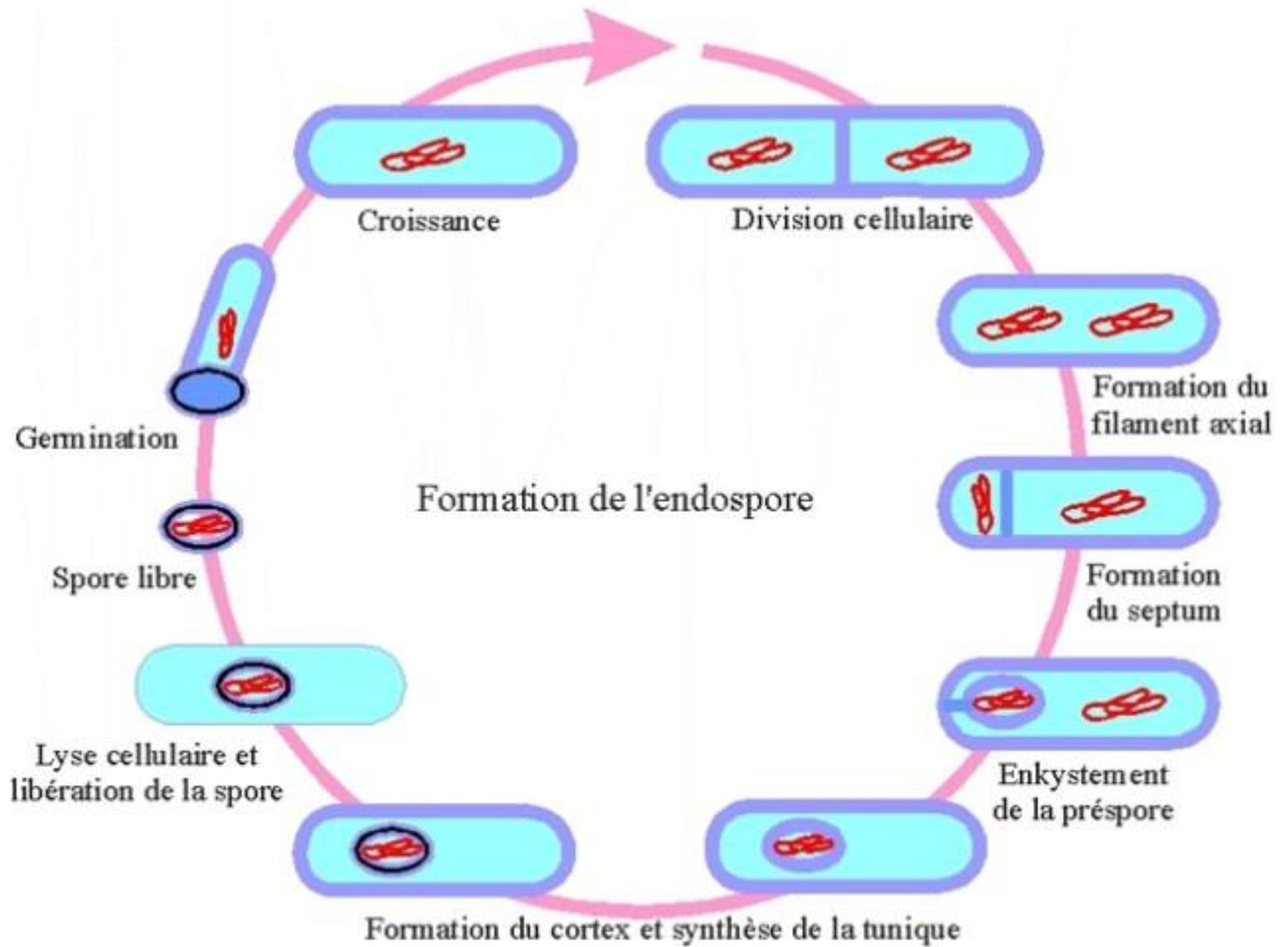
Propriétés des spores

- Déshydratation,
- résistance: dipicolinate de calcium, ponts disulfures des tuniques.
- longévité :plusieurs milliers d'années pour certaines espèces de *Bacillus*.
- La thermorésistance : variable selon les espèces et même selon les souches, selon l'âge des cultures et selon les conditions de culture.
- Résistance : aux radiations, aux pressions, aux antibiotiques, aux antiseptiques et aux désinfectants.

Sporulation

- Conditions de sporulation :
- l'épuisement du milieu en substrat nutritif.
- présence d'oxygène pour les clostridies.
- absence d'oxygène pour *Bacillus anthracis*.
- *Grande densité cellulaire.*
- *La sporulation* débute à la fin de la phase de croissance exponentielle.
- 6 étapes : 7 à 10 heures





- **Stade I ---formation du filament axial** : il est caractérisé par la présence d'un matériel nucléaire qui s'étend sur toute la longueur de la cellule et qui correspond à 2 génomes.
- **Stade II ou formation d'un septum** : les deux génomes se séparent et en même temps la membrane cytoplasmique s'invagine près d'un pôle de la cellule pour former un septum de sporulation.
- **Stade III ou Enkystement** : le septum de sporulation va envelopper le cytoplasme de la plus petite partie pour former une **préspore**.
- **Stade IV** : formation de la paroi et le cortex
- **Stades V** : formation des tuniques (interne et/ou externe) sont élaborées.
- **Stade VI** : lyse de la cellule mère se lyse et libération de la spore mature.
- Au cours de la sporulation il peut y avoir synthèse de différentes substances, antibiotiques, toxines (entérotoxine de *Clostridium perfringens*) ou corps parasporal (*Bacillus thuringiensis*, *Bacillus sphaericus*...) contenant des toxines létales pour les insectes.

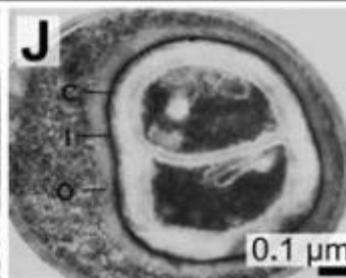
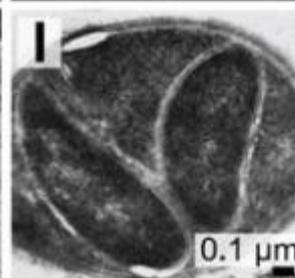
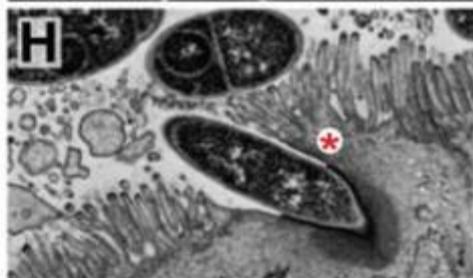
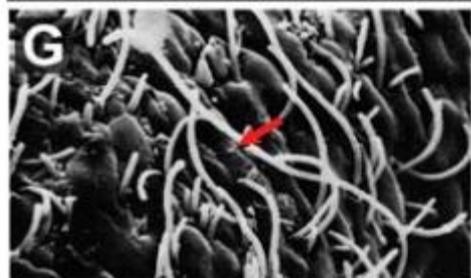
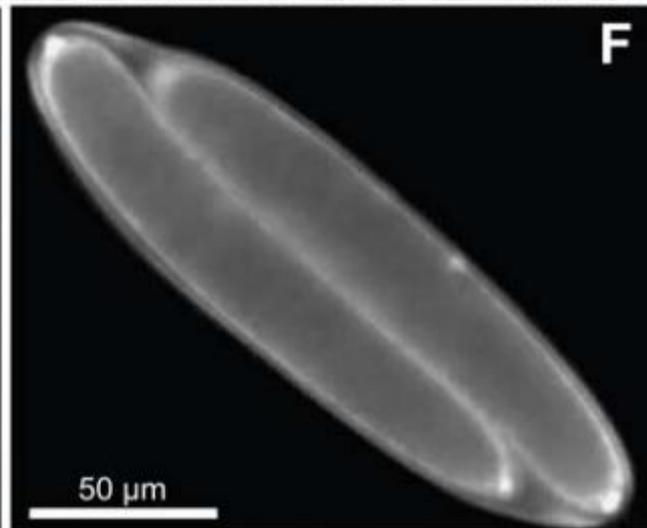
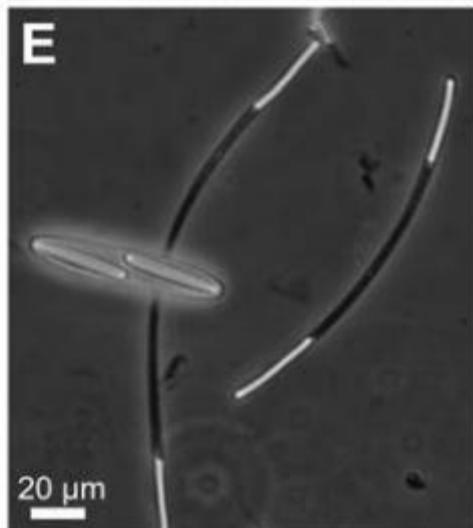
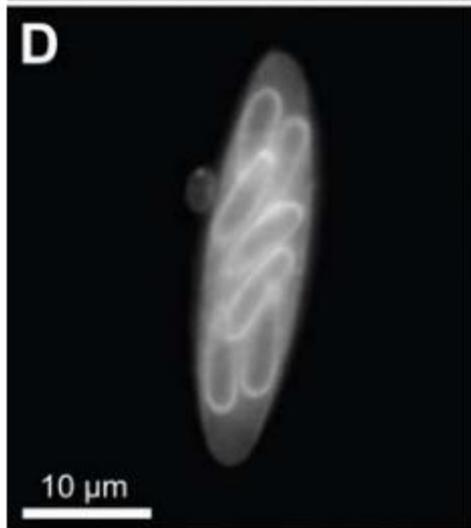
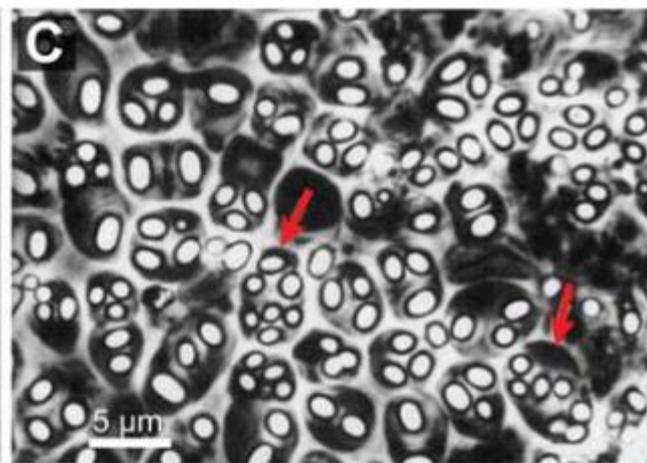
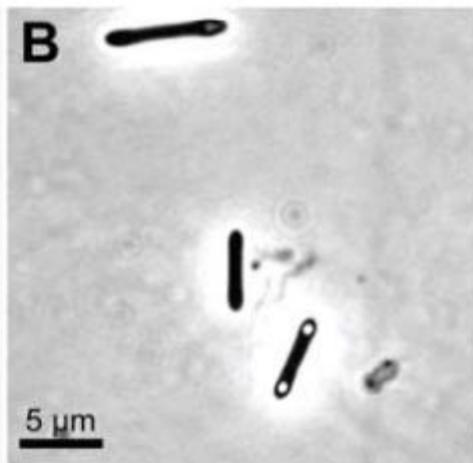
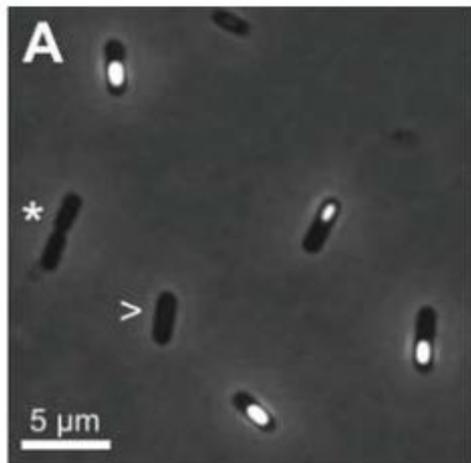
La Germination

- **Stade I ou l'activation** : lésion des enveloppes sporales par des agents physiques ou chimiques (choc, abrasion), des agents physiques (choc thermique) ou chimiques (lysozyme, acides...).
- **Stade II d'initiation** :
 - conditions favorables d'hydratation et en présence de métabolites effecteurs (alanine, adénosine, magnésium, ...)
 - Dégradation de constituants de la spore et notamment le cortex qui libère le dipicolinate de calcium.
- **Stade III ou l'excroissance** : l'émergence d'une nouvelle cellule végétative.
 - La nouvelle cellule entre dans une phase active de biosynthèse et la croissance reprend graduellement.
 -

Germination de spores



Figure 3.44 La germination d'une endospore. *Clostridium pectinovorum* émergeant de la spore en germination. La barre représente 0,5 μm .



- **FIGURE 1** Bacteria that produce endospores exhibit a wide variety of morphological phenotypes.
- Phase-contrast microscopy is often used to identify mature endospores.
- (A): *B. subtilis*,
- (B) *Clostridium oceanicum* .. Spores at both ends of the cell.
- (C) *Anaerobacter polyendosporus*, : seven endospores.
- (D) *Metabacterium polyspora* :
- (E) *Epulopiscium*-like type C and B have two phase-bright endospores.
- (G) the ileum lining epithelial surface densely populated with SFB
- (H) a thin section through the gut wall reveals the structure of the SFB holdfast.