

## **DFGSP2 - UE 3A**

**Année 2024-2025**

### **Polycopié de bactériologie -**

### **Les structures bactériennes**

**Claire JANOIR – Séverine PÉCHINÉ**

**Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires, dont le matériel génétique est constitué d'ADN, et qui ne possèdent pas de noyau : elles appartiennent au taxon des PROCARYOTES.**

**Les cellules bactériennes sont délimitées par les enveloppes bactériennes, constituées *a minima* de la membrane cytoplasmique et de la paroi bactérienne.**

**Au sein du cytoplasme bactérien, se trouvent le génome et les ribosomes. Les bactéries ne possèdent pas d'autres organites intracellulaires complexes.**

**Le domaine des bactéries est constitué d'un nombre considérable d'espèces extrêmement variées, qui diffèrent par la composition de leur génome et par leurs propriétés structurales, métaboliques et de virulence. En ce qui concerne les structures bactériennes, certaines sont communes à toutes les bactéries (structures constantes) et certaines sont inconstantes. Elles confèrent alors aux bactéries qui les possèdent des propriétés particulières.**

## Premier chapitre - Les enveloppes bactériennes

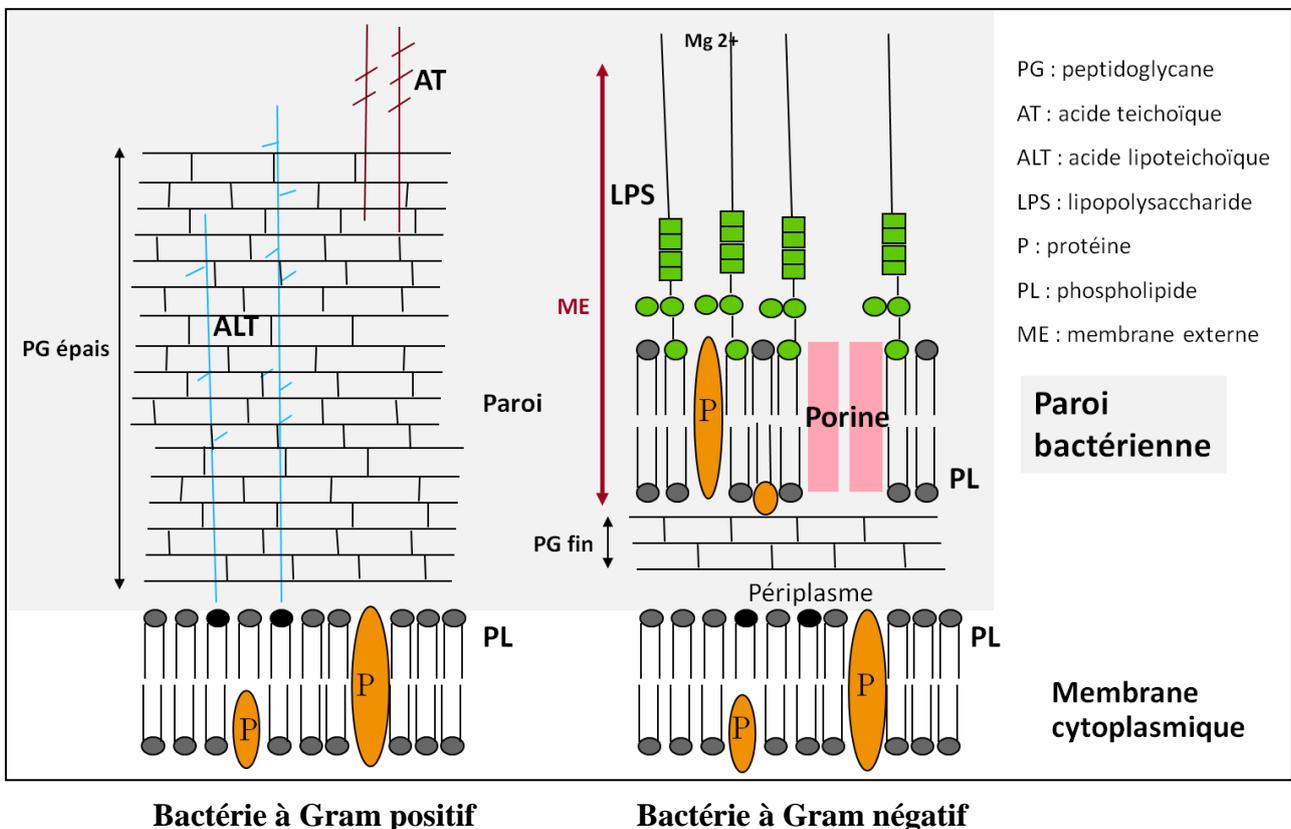
Les enveloppes désignent l'ensemble des structures qui entourent le cytoplasme et délimitent ainsi le corps bactérien.

Les enveloppes des bactéries sont constituées de la **membrane cytoplasmique**, présente chez toutes les bactéries sans exception et d'une **paroi**, dont la structure varie en fonction des grands groupes bactériens. En particulier, on distingue les **bactéries à Gram positif** et les **bactéries à Gram négatif**, qui réagissent différemment à la coloration de Gram en raison de différences de structure importantes au niveau de leur paroi (*Figure 1*).

La paroi bactérienne est caractérisée par la présence d'une **structure spécifique** aux bactéries : le **peptidoglycane (PG)**, présent chez la plupart des bactéries. Chez les bactéries à Gram positif, le PG est épais et décoré de polymères particuliers appelés acides teichoïques. Chez les bactéries à Gram négatif, le PG est mince et il est entouré du côté extérieur par une deuxième membrane, appelée membrane externe.

Certaines structures inconstantes, présentes uniquement chez certaines espèces, font également partie des enveloppes bactériennes. C'est le cas de la capsule qui, lorsqu'elle est présente, est la couche la plus extérieure de la surface bactérienne (*cf. pages 14-15*).

L'espace entre la membrane cytoplasmique et la paroi bactérienne est appelé périplasma (ou espace périplasmique). Il contient différentes enzymes, soient associées à la membrane cytoplasmique, soient libres dans cet espace.



**Figure 1.** Représentation schématique des enveloppes des bactéries à Gram positif et à Gram négatif (sans présence de structures inconstantes).

## 1. La membrane cytoplasmique (appelée parfois membrane interne)

### 1.1. Structure de la MC

La membrane cytoplasmique (MC) des bactéries est une **double couche phospholipidique** classique dans laquelle sont enchâssées des protéines et des glycoprotéines.

### 1.2. Fonctions de la MC

Les protéines et glycoprotéines de la membrane ont pour certaines un rôle structural et pour d'autres une **fonction métabolique**, dont les principales sont :

#### 1.1.1. Participation à la synthèse du PG (cf. pages 6-8)

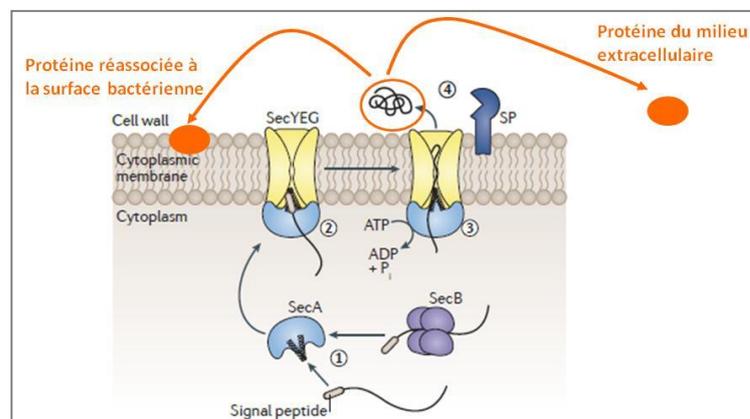
#### 1.1.2. Respiration aérobie

La MC contient la **chaîne cytochromique de transfert des électrons** présente chez les bactéries aérobies (strictes et facultatives), qui permet le transfert des électrons sur leur accepteur final ( $O_2$ ) lors de la respiration aérobie (cf. Cours 2).

#### 1.1.3. Fonctions de transport

- ✓ **Transport de nutriments** dans la bactérie, par diffusion passive selon le gradient de concentration des molécules de part et d'autre de la MC, ou par transport actif grâce à des enzymes plus ou moins spécifiques appelés perméases.
- ✓ **Sécrétion de molécules de l'intérieur de la bactérie vers l'extérieur :**

Plusieurs systèmes bactériens permettant la sécrétion vers l'extérieur des protéines synthétisées dans le cytoplasme ont été décrits, dont le **système de sécrétion générale ou système « Sec »**. Ce système, essentiel (la bactérie meurt s'il n'est plus fonctionnel), est conservé au sein des bactéries. Les protéines sont synthétisées dans le cytoplasme sous forme de pré-protéines, c'est à dire avec un peptide signal qui permet de les adresser aux protéines SecYEG qui forment un canal dans la MC. Le peptide signal est clivé et la protéine est libérée dans le périplasma. (**Figure 2**).



**Figure 2.** Représentation du système de sécrétion générale Sec (exemple d'une bactérie à Gram positif).

Chez les bactéries à Gram négatif, la protéine peut ensuite traverser la membrane externe grâce à différents systèmes pour gagner le milieu extracellulaire. Les protéines sécrétées peuvent soit être libérées dans le milieu extérieur, soit être réassociées à la surface bactérienne.

Il existe d'autres systèmes de sécrétion, dont le rôle est le transport actif vers l'extérieur d'autres protéines ou de structures bactériennes complexes comme les pili (*cf.* Cours 4).

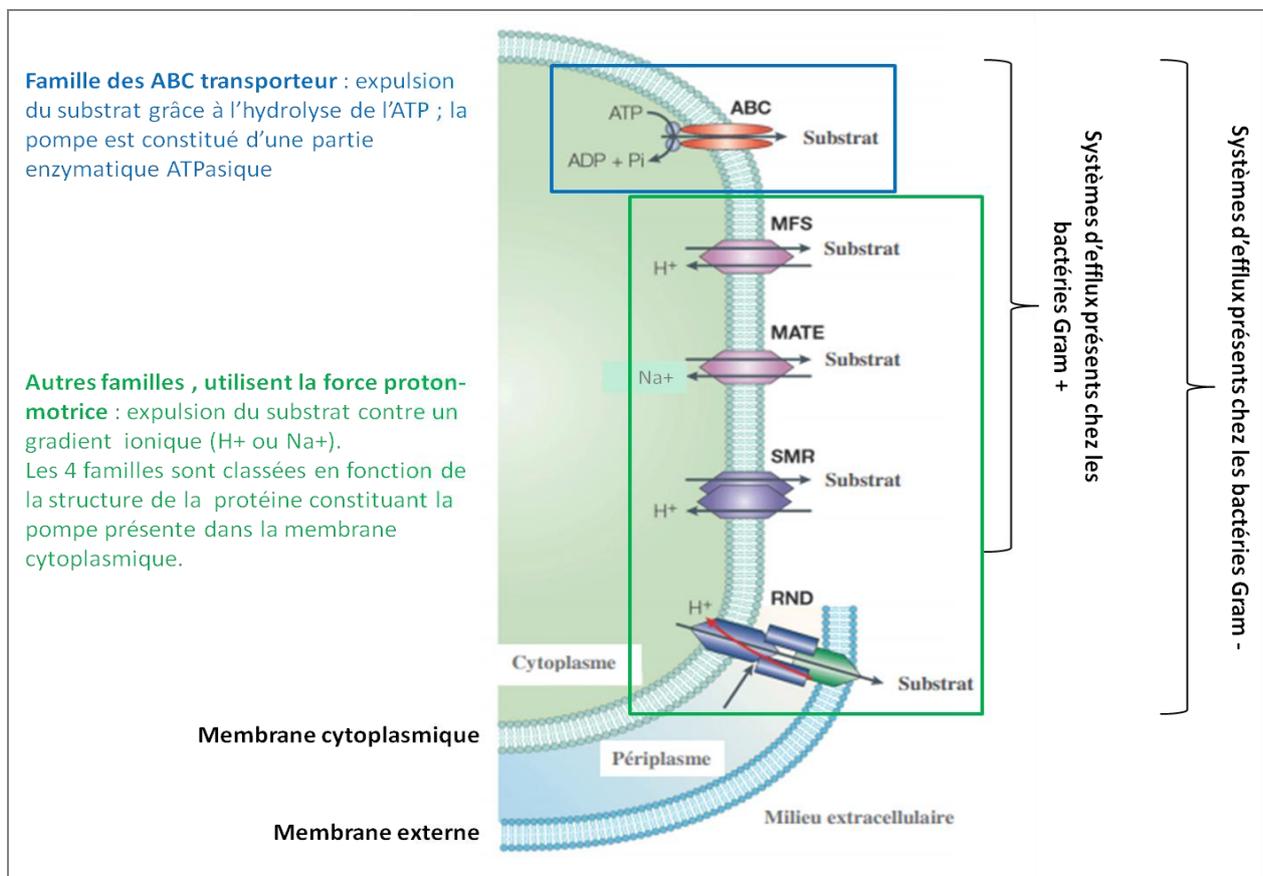
✓ **Expulsion de molécules toxiques** vers l'extérieur de la bactérie.

Ce processus est lié à des systèmes de détoxification appelés efflux actifs, qui permettent l'expulsion de composés toxiques pour la bactérie, qu'ils soient d'origine endogène (par exemple, des déchets du métabolisme) ou environnementale (par exemple des antibiotiques). Certains transporteurs ont des spécificités de substrats étroites, mais la plupart d'entre eux sont capables d'expulser des molécules structurellement différentes : antibiotiques de différentes classes, métaux lourds, sels biliaires, solvants organiques, colorants, antiseptiques... Les gènes de pompes d'efflux peuvent être portés par le chromosome ou par des plasmides (*cf.* pages 20-21).

Pour en savoir plus

Les systèmes d'efflux sont tous énergie-dépendants et sont classés en fonction de l'origine de l'énergie qu'ils utilisent et de la structure de leur pompe membranaire (*Figure 3*). Les ABC transporteurs (ABC pour ATP binding cassette) utilisent l'énergie issue de l'hydrolyse de l'ATP. Les 4 autres familles sont des systèmes antiports qui exportent leurs substrats contre un gradient de protons ou d'ions sodium. La dissipation de ce gradient est appelée force proton motrice.

Chez les bactéries à Gram positif, les pompes d'efflux ne sont constituées que d'une protéine de transport (appelée pompe) localisée dans la membrane cytoplasmique, directement responsable de l'efflux vers le périplasma et l'environnement extérieur. Ces systèmes simples existent également chez les bactéries à Gram négatif, où les molécules exportées dans le périplasma franchissent la membrane externe grâce à d'autres protéines.



*Figure 3. Schéma de 5 familles d'efflux actifs décrites chez les bactéries.*

## 2. Le peptidoglycane (PG)

### 2.1. Structure du PG

Le PG est présent dans la paroi de presque toutes les bactéries (à l'exception des bactéries du genre *Mycoplasma*, cf. page 11-12). Il s'agit d'une **structure en réseau constituée de chaînes linéaires de nature polysaccharidique qui sont reliées entre elles par des ponts peptidiques** (Figure 4).

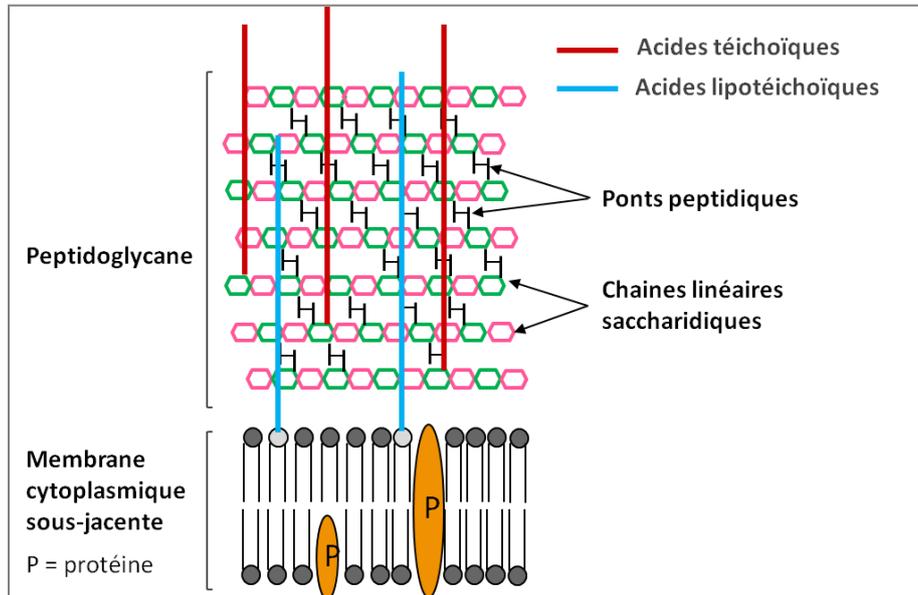
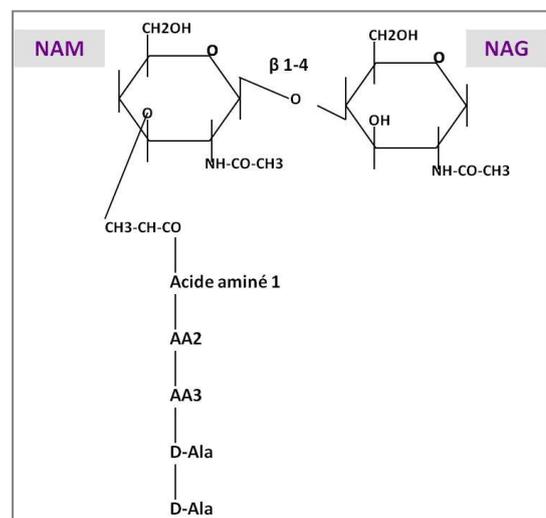


Figure 4. Structure en réseau du peptidoglycane (exemple d'une bactérie à Gram positif).

Les chaînes polysaccharidiques sont constituées de la répétition de 2 sucres, l'acide N-acétyl-muramique (NAM) et le N-acétyl-glucosamine (NAG). Le groupement lactoyl du NAM est substitué par un pentapeptide, dont la nature peut varier en fonction des bactéries mais il se termine toujours par un groupement DAlanyl-DAlanine.

Ce dioside pentapeptide constitue la brique de base du PG (Figure 5).

Figure 5. Dioside pentapeptide (NAG-NAM substitué par le pentapeptide) constituant le PG.



Des liaisons covalentes entre les chaînes pentapeptidiques permettent la **réticulation du PG**. Généralement, la liaison se fait entre l'AA en position 3 d'une chaîne peptidique et le DAla en position 4 d'une autre chaîne, avec la perte du DAla en position 5 (Figure 6).

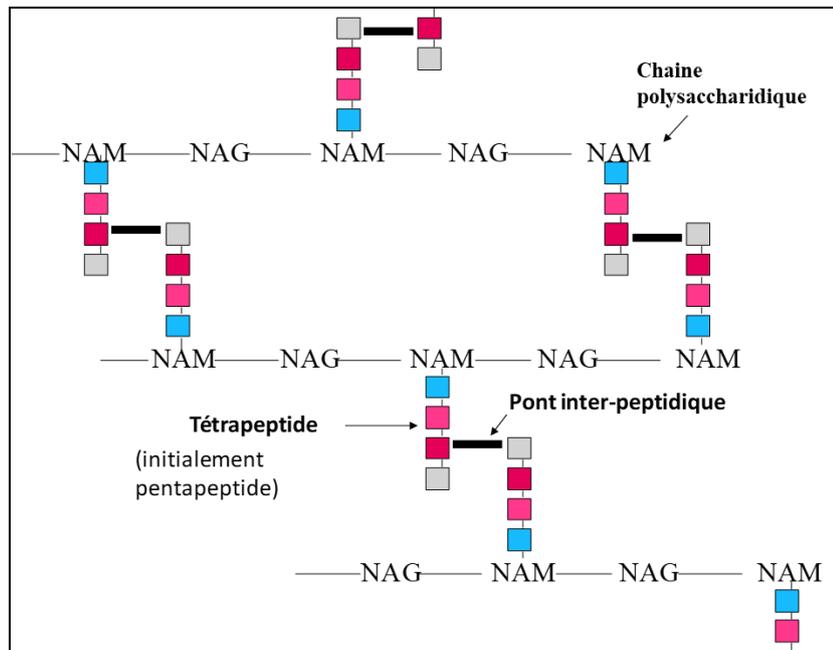


Figure 6. Schéma détaillé de la réticulation du PG.

**La réticulation est indispensable pour assurer la cohérence et la solidité du peptidoglycane.**

## 2.2. Biosynthèse du PG

La biosynthèse du PG est un processus complexe, qui fait intervenir de nombreuses enzymes spécifiques, cibles de différents antibiotiques. Il peut être décomposé en trois étapes :

- la **synthèse des précurseurs** se fait dans le cytoplasme ;
- le **transport des précurseurs** vers l'extérieur de la bactérie en vue de leur assemblage se fait par un transporteur lipidique présent dans la membrane cytoplasmique ;
- l'étape de **polymérisation du PG** : l'ajout des précurseurs au PG en formation () se fait au niveau de la face externe de la membrane cytoplasmique.

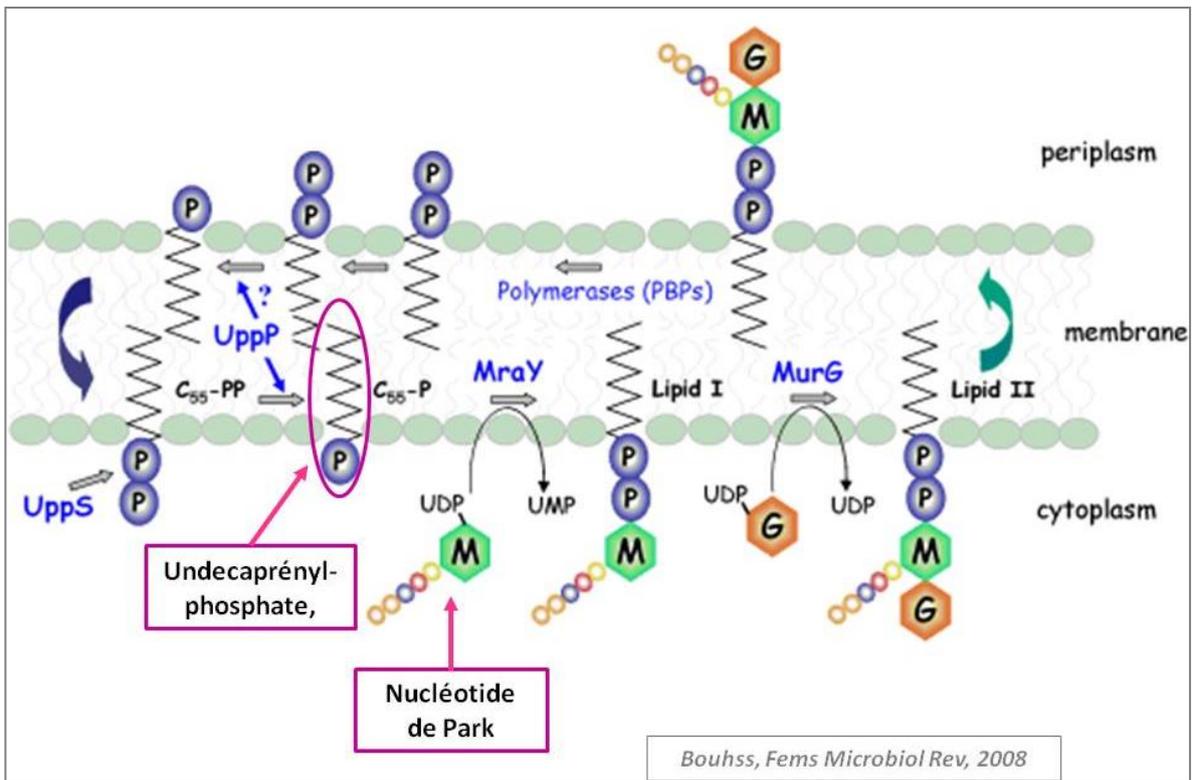
### 2.2.1. Étape cytoplasmique

L'étape cytoplasmique aboutit à la synthèse de l'UDP-NAM-pentapeptide (ou nucléotide de Park), à partir du N-acétyl-glucosamine-6-Phosphate.

Certaines enzymes spécifiques de cette voie de biosynthèse sont la cible d'antibiotiques, en particulier la pyruvate transférase, cible de la fosfomycine (antibiotique utilisé notamment pour le traitement de certaines infections urinaires).

### 2.2.2. Étape membranaire

Le nucléotide de Park est pris en charge par un lipide membranaire, l'undecaprényl-phosphate, pour former le lipide I. Un groupement NAG est ajouté à ce complexe pour former le dioside élémentaire pentapeptide lié au transporteur, ou lipide II. Le lipide II est alors transloqué grâce à une enzyme dédiée vers la face périplasmique de la membrane cytoplasmique. Le précurseur est transféré au PG en formation et le lipide est recyclé pour prendre en charge de nouveaux précurseurs (*Figure 7*).

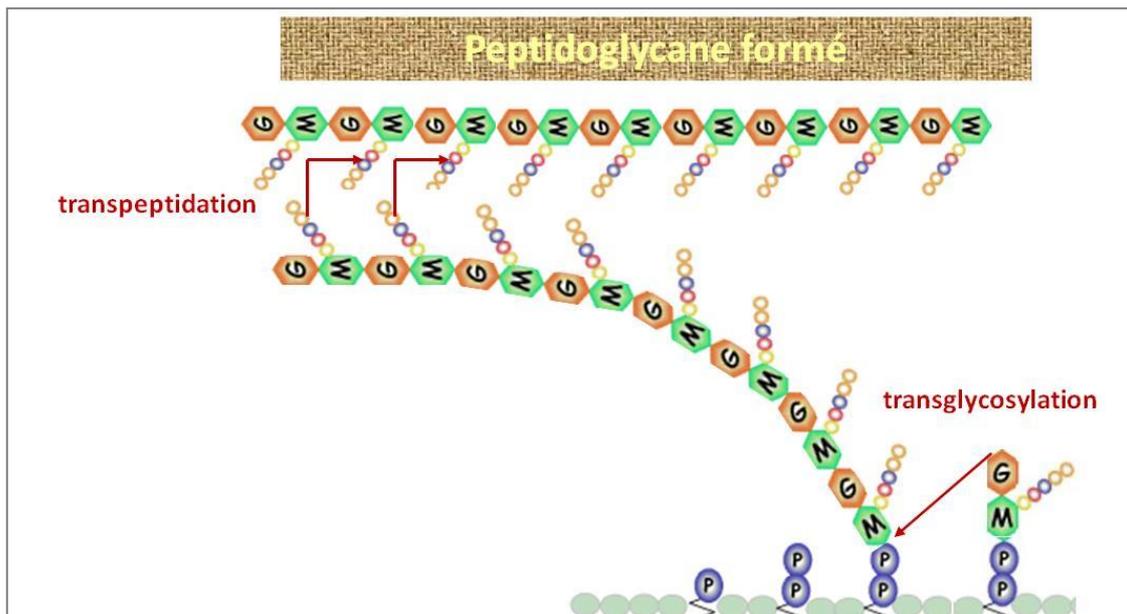


**Figure 7.** Transfert des précurseurs du PG de la face interne à la face externe de la membrane cytoplasmique.

### 2.2.3. Étape périplasmique

La **polymérisation** du PG se fait en deux étapes (**Figure 8**) :

- allongement de la chaîne polysaccharidique : étape de **transglycosylation**
- réticulation entre les chaînes polysaccharidiques par formation de ponts inter-peptidiques : étape de **transpeptidation**.



**Figure 8.** Étape de polymérisation du peptidoglycane (espace périplasmique).

Ces deux activités enzymatiques sont portées majoritairement par des **enzymes bi-fonctionnelles** associées à la face externe de la membrane cytoplasmique, appelées **PLP** (pour protéines de liaison à la pénicilline, ou PBP en cours anglais pour *penicillin binding protein*) (**Figure 9**). Les PLP sont la cible de la principale famille d'antibiotiques utilisés en clinique, les bêta-lactamines, et leur nombre est variable en fonction des bactéries.



**Figure 9.** Schéma d'une PLP ; le domaine transmembranaire permet son ancrage dans la membrane cytoplasmique ; les domaines enzymatiques sont exposés dans le périplasme bactérien.

---

#### Pour en savoir plus

La première étape de la transpeptidation est le clivage du DAla terminal (en position 5) de la chaîne peptidique donneuse et la formation d'un complexe intermédiaire entre le DAla en position 4 et le domaine transpeptidase de la PLP. La deuxième étape permet la formation de la liaison interpeptidique entre le DAla en position 4 de la chaîne donneuse et l'AA en position 3 d'une chaîne peptidique adjacente. Les PLP sont ainsi des D,D-transpeptidases à l'origine d'un pontage inter-peptidique de type 4→3. Il existe d'autres enzymes capables de réaliser d'autres types de transpeptidation, notamment les L,D-transpeptidases qui catalysent des pontages de type 3→3. Ces enzymes sont généralement minoritaires et ne sont, pour la plupart, pas inhibées par les bêta-lactamines.

---

**Le PG est une structure dynamique soumise à un renouvellement constant.** Il est hydrolysé partiellement à sa surface externe (PG « ancien ») grâce à des enzymes bactériennes appelées peptidoglycane hydrolases (PGH), mais cette hydrolyse est compensée par l'apport de nouveaux précurseurs disaccharide-pentapeptides du côté de la membrane cytoplasmique. **Si un déséquilibre se produit en faveur de la dégradation du PG, cela aboutit à la lyse bactérienne.** Certaines PGH, appelées autolysines, sont responsables d'une dégradation accrue du PG et entraînent la lyse de la bactérie. Elles sont exprimées dans des conditions particulières.

### 2.3. Rôles du PG

Le PG est très **solide** mais reste suffisamment flexible pour permettre la division bactérienne. Il s'agit d'une structure **perméable**. Il constitue l'**exosquelette** des bactéries. Grâce à sa rigidité, il est responsable de leur **morphologie** (coque, bacille) et leur permet de résister à la forte pression osmotique intracytoplasmique (= turgescence). Dans de l'eau distillée, une bactérie dont on a détruit le PG se gonfle puis éclate.

### 2.4. Le PG, cible d'anti-infectieux

Le lysozyme synthétisé par l'hôte (présent par exemple au niveau des muqueuses) détruit les liaisons entre le NAG et le NAM des chaînes polysaccharidiques. Il constitue un moyen de défense non spécifique, surtout efficace vis-à-vis des bactéries à Gram positif.

Plusieurs antibiotiques ciblent la synthèse du PG. Les plus importants sont les **bêta-lactamines** (pénicillines, céphalosporines) **qui inhibent l'étape de transpeptidation** car ce sont des substrats suicides des PLP.

### Points les plus importants

- le PG est un élément constant de la paroi bactérienne présent chez la quasi totalité des bactéries d'intérêt médical ;
- le PG est constitué de chaînes linéaires polysaccharidiques (formées par la répétition de 2 sucres), et ces chaînes sont reliées entre elles par des ponts inter-peptidiques ; c'est la réticulation du PG qui assure sa solidité, et qui lui permet de résister à la turgescence ;
- le PG confère leur morphologie aux bactéries ;
- la synthèse du PG est réalisée en 3 étapes par différentes enzymes dont plusieurs sont spécifiques aux bactéries ; certaines de ces enzymes sont la cible d'antibiotiques.

D'autres structures constituent la paroi bactérienne, les acides teichoïques chez les bactéries à Gram positif, et la membrane externe chez les bactéries à Gram négatif.

### 3. Les acides teichoïques des bactéries à Gram positif

Les acides teichoïques (AT) ne sont présents qu'à la surface des bactéries à Gram positif, dont ils représentent en moyenne 60% de la masse totale. Ce sont des **polymères anioniques** riches en phosphate dont la structure peut varier selon les espèces. Il existe deux types d'AT :

- les **acides teichoïques** *stricto sensu* sont liés de façon covalente au PG (liaison au NAM) ;
- les **acides lipoteichoïques** sont liés à la membrane cytoplasmique sous-jacente par une ancre lipidique ; ils sont partiellement exposés à la surface de la bactérie (*cf. Figure 4*).

Les acides teichoïques jouent un rôle structural important. Ils forment un **gel polyanionique** à la surface de la bactérie qui permet le maintien de l'homéostasie des cations métalliques et contrôlent ainsi le flux d'ions et de nutriments à travers la membrane cytoplasmique. Ils peuvent également jouer un rôle dans l'adhésion bactérienne à son hôte (première étape de l'infection, *cf. Cours 4*) et servir de site de fixation aux bactériophages (= virus infectant les bactéries, *cf. Cours 3*).

En tant que structure anionique, ils sont la cible des peptides antimicrobiens cationiques (PAMC) produits par les cellules immunitaires et/ou les autres bactéries (par exemple, les bactéries des microbiotes). Leur interaction avec les PAMC se traduit par une déstabilisation de la paroi bactérienne et une perméabilisation membranaire entraînant la lyse bactérienne.

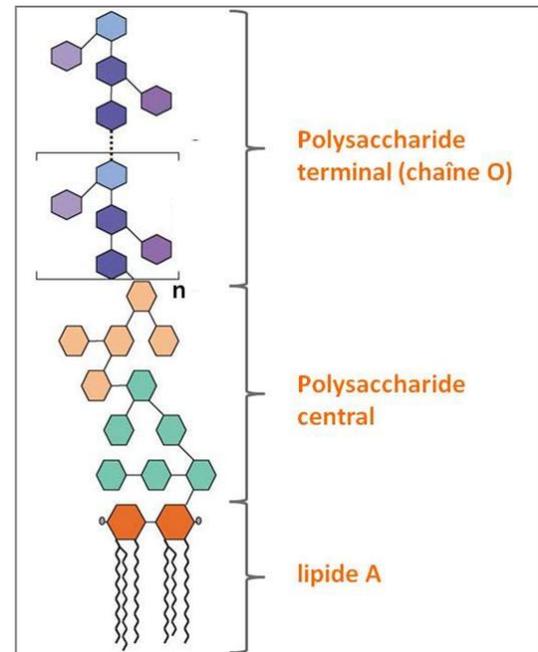
### 4. La membrane externe des bactéries à Gram négatif

#### 4.1. Structure de la membrane externe

La présence d'une membrane externe au-dessus du PG définit les bactéries à Gram négatif (appelées parfois bactéries didermes). C'est une **bicouche phospholipidique asymétrique** fluide, constituée de phospholipides, de protéines et glycoprotéines diverses et d'une **structure spécifique importante, présente sur la face extérieure de la membrane externe : le lipopolysaccharide (LPS)** (*cf. Figure 1*).

Le LPS est constitué de trois parties (**Figure 10**) :

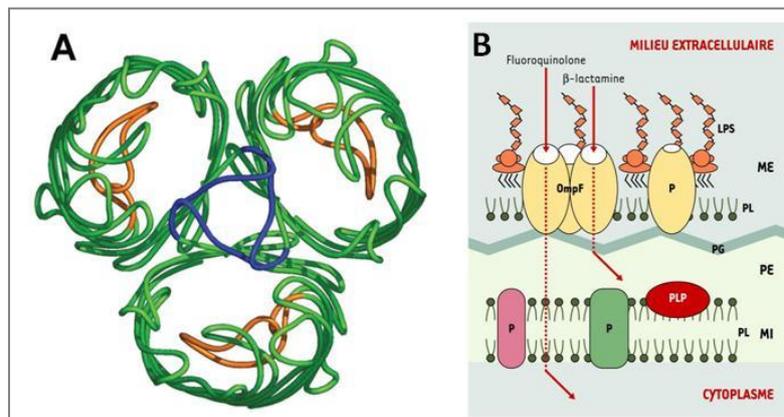
- le **lipide A** ancre le LPS dans la bicouche phospholipidique ; il est chargé négativement (présence de groupements phosphate) ;
- le **core**, ou polysaccharide central : sa structure varie en fonction des bactéries ;
- la **chaîne polysaccharidique O (ou antigène O)**, à la surface de la bactérie. La composition de cette structure hydrophile peut varier en fonction des souches au sein d'une même espèce. La spécificité antigénique de ce polysaccharide variant en fonction de sa composition, elle est à la base de l'identification antigénique de nombreuses bactéries à Gram négatif : le **sérogroupe**.



**Figure 10.** Structure du LPS des bactéries à Gram négatif

La membrane externe renferme également de nombreuses protéines :

- les lipoprotéines de Braun qui lient la membrane externe au PG ;
- les **porines** : il s'agit de protéines transmembranaires formant des **canaux hydrophiles** dans la membrane externe permettant la **diffusion des petites molécules hydrophiles**. Certaines porines sont non spécifiques alors que d'autres ont une spécificité de substrat étroite (porines sélectives). Les porines sont organisées sous forme de trimères. Certains antibiotiques hydrophiles utilisent les porines pour franchir la membrane externe (**Figure 11**).



**Figure 11.** (A) Structure de la porine non spécifique OmpF de Escherichia coli ; (B) Entrée d'antibiotiques hydrophiles par la voie des porines.

#### 4.2. Fonctions et propriétés de la membrane externe

La membrane externe a un rôle structural et fonctionnel. De par son caractère hydrophobe lié aux lipides membranaires, c'est une barrière de perméabilité pour les molécules hydrophiles, qui doivent pour la plupart emprunter la voie des porines.

Le **lipide A** porte les **propriétés toxiques du LPS**. Il s'agit d'un **composé puissamment pro-inflammatoire par sa liaison aux TLR4**. Comme le LPS est libéré essentiellement lors de la lyse

bactérienne, il est désigné par le terme d'**endotoxine** des bactéries à Gram négatif (par opposition aux exotoxines, sécrétées par les bactéries vivantes). Il est **thermostable** et son absence doit être vérifiée dans tous les médicaments injectables qui doivent être stériles et apyrogènes. La structure du lipide A peut varier en fonction des bactéries, et ses propriétés pro-inflammatoires également.

#### 4.3. La membrane externe, cible d'antibactériens

Les polymyxines sont des antibiotiques polypeptidiques chargés positivement, qui ciblent le LPS des bactéries à Gram négatif (chargé négativement) en entraînant la désorganisation de la membrane externe et la lyse bactérienne. Elles ne sont actives que sur les bactéries à Gram négatif. Ces antibiotiques sont réservés aux infections liées à des bactéries à Gram négatif résistantes aux autres antibiotiques.

##### Points les plus importants

- Les acides teichoïques sont présents uniquement chez les bactéries à Gram positif ; chargés négativement, ils participent à la régulation des flux entrant d'ions et de nutriments
- La membrane externe est spécifique aux bactéries à Gram négatif. Il s'agit d'une barrière de perméabilité, en particulier pour les molécules hydrophiles qui doivent utiliser la voie des porines pour pénétrer dans la bactérie. Le LPS présent à la surface externe de cette membrane est constitué de 3 parties dont la partie lipidique (lipide A) ancrée dans la membrane externe, qui est puissamment pro-inflammatoire et confère sa toxicité au LPS.

#### 5. Les bactéries présentant une paroi particulière

Certaines bactéries importantes en pathologie humaine présentent des parois particulières.

C'est le cas des **mycobactéries**, dont l'espèce la plus connue est *Mycobacterium tuberculosis*, agent de la tuberculose. La paroi des mycobactéries est composée de trois couches (définies par observation au microscope électronique) (**Figure 12**).

- une couche basale composée d'un PG contenant des sucres particuliers, sur lequel est attaché un polymère spécifique aux mycobactéries, l'arabinogalactane ;
- liés à l'arabinogalactane, les acides mycoliques forment la couche intermédiaire ; il s'agit de molécules d'acides gras complexes ramifiés, très peu perméables aux substances hydrophiles ;
- la couche externe contient notamment du lipoarabinomannane, structure complexe impliquée dans la virulence, constitué d'acides gras fixés sur un polymère de résidus mannose et arabinose.

**Cette structure pariétale particulière, très riche en lipides, explique en grande partie la résistance des mycobactéries à de nombreux antibiotiques** (paroi peu perméable aux antibiotiques hydrophiles) qui ne peuvent atteindre leurs sites d'action, mais également à différents facteurs physicochimiques (comme les pH acides et basiques). De plus, les acides mycoliques étant peu fluides, ils entraînent également une imperméabilité relative aux composés hydrophobes.

Il faut noter un autre cas particulier, qui concerne les mycoplasmes (genre *Mycoplasma*, classe des Mollicutes) : ces bactéries n'ont pas de paroi, seulement une membrane cytoplasmique (**Figure 12**).

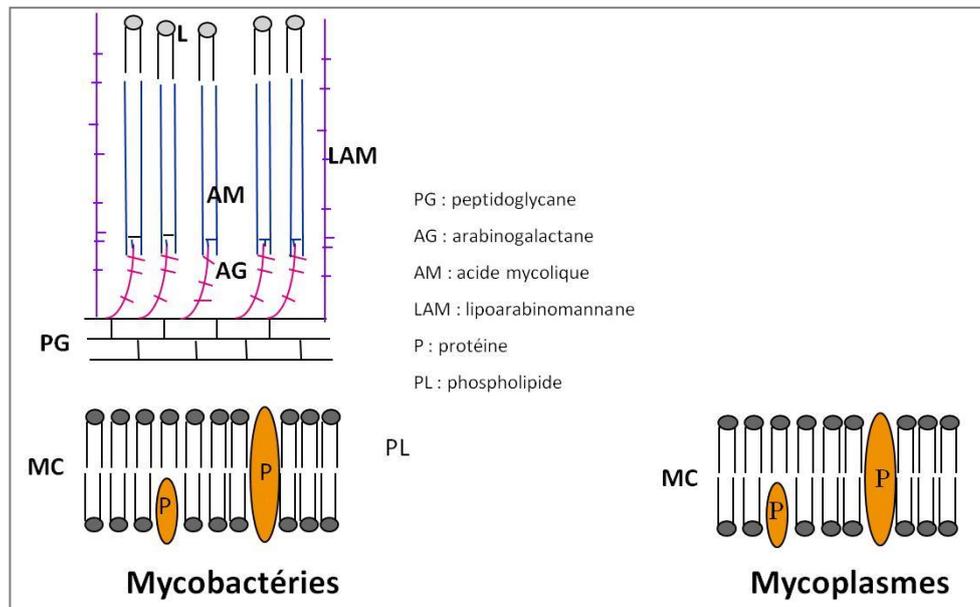


Figure 12. Structure des enveloppes des mycobactéries et des mycoplasmes.

## 6. Les enveloppes, responsables de la perméabilité bactérienne

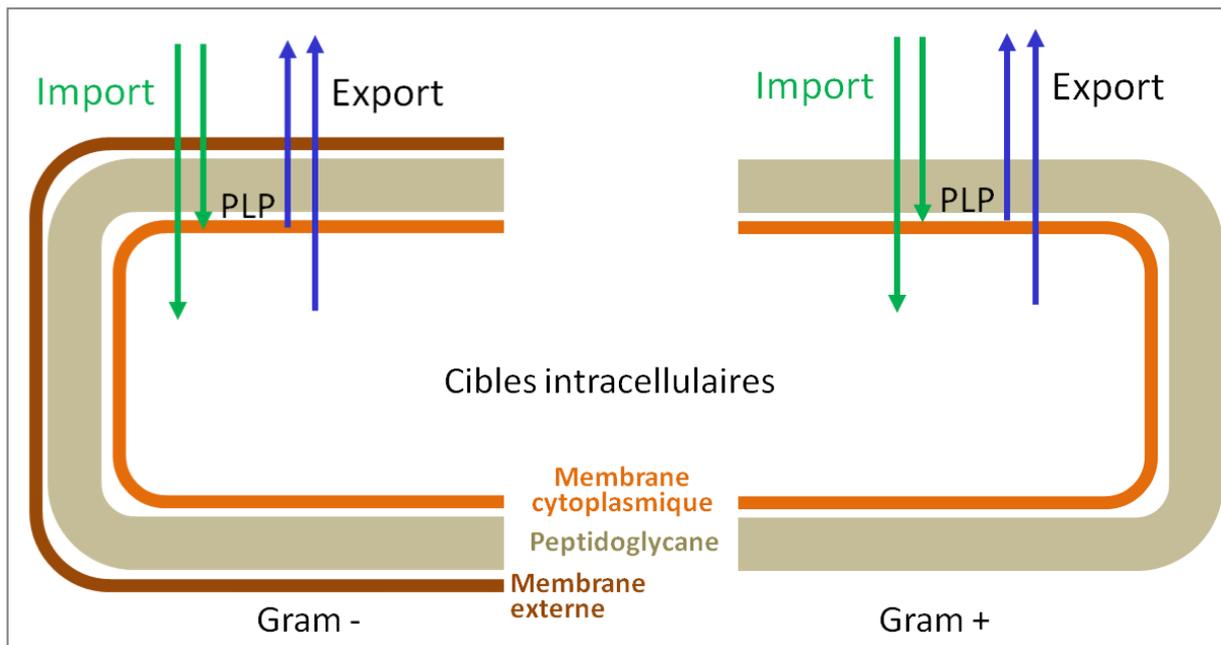
La perméabilité des enveloppes bactériennes est une propriété importante car elle conditionne les échanges avec l'extérieur, que ce soit à l'import (par exemple des nutriments) ou à l'export (molécules toxiques pour la bactérie). Elle détermine notamment la facilité avec lesquelles différentes molécules présentes dans l'environnement vont pénétrer dans la bactérie, par exemple les antibiotiques qui doivent atteindre leurs cibles intracellulaires.

Dans la plupart des cas, le PG ne représente pas une barrière de perméabilité. La perméabilité globale résulte ainsi essentiellement des propriétés des membranes, membrane cytoplasmique pour toutes les bactéries et membrane externe pour les bactéries à Gram négatif. Les membranes sont des bicouches lipidiques hydrophobes, qui limitent l'entrée des composants hydrophiles. L'hydrophobicité est toutefois contrebalancée par la présence de structures hydrophiles associées à la paroi (acides teichoïques chez les bactéries à Gram positif, chaînes polysaccharidiques du LPS chez les bactéries à Gram négatif). De plus, la perméabilité dépend du nombre et du type de systèmes protéiques de transport insérés dans les membranes.

La plupart des antibiotiques doivent traverser au moins une membrane avant d'atteindre leur cible :

- chez les bactéries à Gram négatif, tous les antibiotiques y compris les bêta-lactamines dont les cibles se trouvent dans le périplasme ;
- chez les bactéries à Gram positif : tous les antibiotiques, à l'exception des bêta-lactamines puisqu'elles ciblent les étapes périplasmiques de la synthèse du PG.

La concentration de l'antibiotique au niveau de la cible est le résultat de son import et de son export éventuel par des systèmes d'efflux actif (Figure 13).



**Figure 13.** Représentation schématique de l'équilibre entre entrée (import) et sortie éventuelle (export) des antibiotiques de la cellule bactérienne.

### Les messages clés sur la paroi bactérienne

- le PG est un élément constant de la paroi bactérienne présent chez la quasi-totalité des bactéries d'intérêt médical ; il s'agit d'une structure spécifique aux bactéries, cible de nombreux antibiotiques ;
- certains éléments de la paroi participent à la virulence bactérienne ; c'est le cas notamment du lipopolysaccharide présent sur la membrane externe des bactéries à Gram négatif, fortement pro-inflammatoire ;
- contrairement au PG très perméable, la membrane cytoplasmique (présente chez toutes les bactéries) et la membrane externe des bactéries à Gram négatif sont hydrophobes et représentent ainsi une barrière plus ou moins stricte pour l'entrée des molécules hydrophiles ; des systèmes existent pour limiter cette barrière d'imperméabilité.

## Deuxième chapitre - Les structures inconstantes conférant un avantage aux bactéries

### 1. La capsule

À l'extérieur de la paroi bactérienne, en contact direct avec l'hôte, d'autres structures peuvent être présentes **chez certaines** bactéries ; ce sont des exopolymères de surface. Ils peuvent être considérés comme une couche des enveloppes bactériennes. Selon leur composition et leur structure, on distingue :

- **la capsule : couche structurée** liée de manière covalente à la paroi ;
- le « slime » : couche polysaccharidique diffuse, facilement dissociable de la bactérie (non traité).

#### 1.1. Structure des capsules

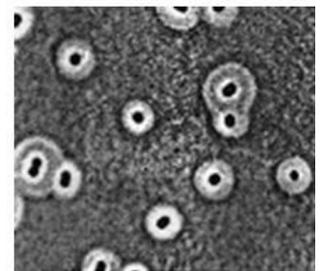
**La capsule est une structure très hydratée, constituée la plupart du temps de sucres chargés négativement. Elle est généralement immunogène. Sa composition chimique varie en fonction des espèces ; elle peut être :**

- homopolysaccharidique, c'est à dire constituée de la répétition d'un seul sucre ;
- hétéropolysaccharidique, constituée d'une répétition d'oligosaccharides, eux-mêmes constitués de sucres différents. L'immunogénicité de la capsule dépend alors des sucres qui la constituent et des types de liaisons entre les sucres. La bactérie *Streptococcus pneumoniae* (ou pneumocoque) possède une capsule dont la composition varie en fonction des souches ; chaque type capsulaire induit la production d'anticorps spécifiques.
- constituée d'acide sialique ; c'est le cas des capsules de deux bactéries très différentes, *Escherichia coli* K1 (bacille à Gram négatif) et *Neisseria meningitidis* (coque à Gram négatif), qui partage cependant un pouvoir pathogène similaire (ils sont responsables tous deux de méningites).

Un très petit nombre de bactérie présente une capsule de nature protéique.

#### 1.2. Mise en évidence des capsules

Les capsules ne sont généralement pas visibles à la coloration de Gram. Pour les mettre en évidence, il faut réaliser une coloration spécifique, à l'encre de Chine : celle-ci ne traverse pas la couche capsulaire et la bactérie apparaît alors entourée d'un halo clair dans un fond sombre (on parle de coloration négative) (**Figure 14**).



**Figure 14.** (A) Observation en microscopie optique d'une suspension de *S. pneumoniae* après coloration à l'encre de Chine.

La présence d'une capsule peut modifier l'aspect de la colonie bactérienne : les colonies de bactéries capsulées sont lisses et parfois muqueuses (S), les colonies de bactéries non capsulées sont rugueuses (R).

### 1.3. Propriétés et fonctions des capsules

**Les capsules sont des structures importantes pour l'expression de la virulence bactérienne.**

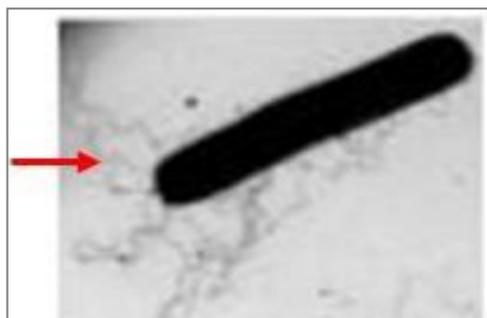
Le rôle de la capsule dans la virulence bactérienne a été initialement montré pour le pneumocoque grâce à l'expérience du Dr F. Griffith en 1928 (*cf.* Cours 3). F. Griffith a infecté des souris par injection intra-péritonéale avec des pneumocoques issus de colonies lisses (bactéries capsulées) et toutes les souris sont mortes en 48h. Un autre groupe de souris a été infecté avec des bactéries issues de colonies rugueuses (bactéries non capsulées) et elles ont toutes survécu. Le rôle essentiel de la capsule dans le pouvoir pathogène du pneumocoque a été confirmé par la suite et les souches de pneumocoque responsables d'infections humaines sont toujours capsulées.

Ce rôle important des capsules dans la virulence est lié à leur **pouvoir anti-phagocytaire** : la présence de la capsule entraîne une diminution de l'opsonisation par le facteur C3b du complément et par les anticorps spécifiques dirigés contre des antigènes de surface et diminue donc l'efficacité de la clairance bactérienne par l'hôte.

**Les capsules étant immunogènes, elles représentent des cibles vaccinales** très intéressantes. Plusieurs vaccins à base d'antigènes capsulaires sont commercialisés.

## 2. Les flagelles

Seuls les bacilles peuvent être munis de flagelles, mais tous les bacilles n'en ont pas. **Les flagelles sont les organes locomoteurs des bactéries.** Ils ne sont pas visibles en microscopie optique, mais le mouvement des bactéries induit par la présence de flagelles est en revanche bien visible par cette technique, lors d'un examen direct sur des bactéries vivantes (état frais, *cf.* TP). Les flagelles peuvent être observés directement en microscopie électronique (**Figure 15**). Une bactérie peut posséder un ou plusieurs flagelles.



**Figure 15.** Observation des flagelles de la bactérie *Clostridioides difficile* par microscopie électronique.

### 2.1. Structure des flagelles

Les flagelles sont des filaments hélicoïdaux rigides de 10 à 20  $\mu\text{m}$  environ, constitués de plusieurs composants (**Figure 16**) :

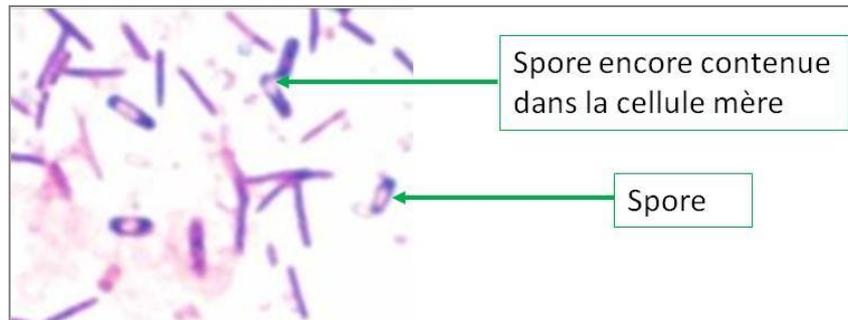
- le filament est la partie distale du flagelle : c'est un tube hélicoïdal constitué par la répétition d'une seule sous-unité protéique, la **flagelline** ; à l'extrémité distale du filament, se trouve la protéine de coiffe du flagelle ;



### 3. Les spores

Les spores sont des **formes cellulaires particulières, quiescentes, incapables de se diviser**, qui n'existent que chez quelques espèces de bacilles à Gram positif, comme les *Bacillus* ou les *Clostridia* (par exemple, *Clostridium tetani*, agent du tétanos). Elles résultent d'un phénomène de différenciation cellulaire à partir des bactéries sous forme végétative, la **sporulation**. Les spores sont une **forme de résistance** des bactéries. La résistance des spores à différents agents chimiques et physiques est liée à leur constitution particulière : cytoplasme peu hydraté, composants particuliers assurant la protection du matériel génétique, synthétisés lors de la sporulation.

Les spores sont visibles en microscopie optique. Après coloration de Gram, elles apparaissent incolores soit dans le corps de la cellule bactérienne mère, soit libres dans le milieu extérieur (*Figure 17*).



*Figure 17. Observation en microscopie optique d'une culture de C. difficile contenant des spores.*

#### 3.1. Cycle sporal

Les spores sont des **formes de résistance**, que les bactéries vont produire **en conditions défavorables** à leur survie (manque de nutriments, conditions de stress...) : c'est le phénomène de **sporulation**, soumis à une régulation très fine. La formation d'une spore prend quelques heures. Le processus est irréversible dès les premières étapes. La spore se forme à l'intérieur de la cellule mère, puis est libérée dans le milieu extérieur après la lyse de celle-ci.

La bactérie va persister sous cette forme parfois plusieurs années, jusqu'au moment où elle va rencontrer des **conditions favorables** (nutriments, atmosphère, température...) pour sa survie et sa multiplication, qu'elle peut percevoir via des protéines senseurs présentes à sa surface. La spore va alors se transformer en une cellule végétative, capable de se multiplier et d'exercer un pouvoir pathogène : c'est le processus de **germination**.

**Les spores peuvent être les formes contaminantes des bactéries mais ne sont pas virulentes.**

#### 3.3. Propriétés des spores

La spore est la **structure cellulaire connue la plus résistante**. Elle est **thermo-résistante**, ce qui peut poser des problèmes lors de la stérilisation de matériel ou réactifs, résistante à la dessiccation, **résistante aux agents chimiques** (antiseptiques, alcool, antibiotiques) ainsi qu'à différents agents physiques (UV, radiations).

## Troisième chapitre - Les structures intra-cytoplasmiques

### 1. Les ribosomes

#### 1.1. Structure des ribosomes

Les ribosomes bactériens (70S) sont constitués d'ARN ribosomiaux et de protéines ribosomiales. Ils comprennent deux sous-unités :

- la SU 30S, constituée d'ARN 16S et de plus de 20 protéines ;
- la SU 50S, constituée des ARN ribosomiaux 23S et 5S, et de plus de 30 protéines.

Ils constituent une part importante des constituants cytoplasmiques ( $\approx 18\ 000$  / bactérie) et sont responsables de la **synthèse protéique** (= traduction). Les deux SU du ribosome existent séparément et se rassemblent au moment de la synthèse protéique.

Le mécanisme de la traduction est proche de celui des eucaryotes. Toutefois, **chez les procaryotes, en l'absence de membrane nucléaire, la traduction est couplée à la transcription**. Plusieurs copies d'une protéine peuvent ainsi être synthétisées en même temps à partir d'un seul ARNm (organisation en polyribosomes).

#### 1.2. Les ribosomes, cibles d'antibiotiques

Plusieurs familles d'antibiotiques ciblent les ribosomes et inhibent la synthèse protéique, bien que leurs mécanismes d'action soient différents :

- les aminosides ciblent la SU 30S ;
- les macrolides ciblent la SU 50S.

### 2. Le génome bactérien

Le génome bactérien est le **support de l'information génétique** des bactéries. **Il est composé exclusivement d'ADN et est constitué au minimum du chromosome bactérien et, chez certaines bactéries, d'un ou plusieurs plasmides** (élément inconstant).

Toutes les molécules d'ADN peuvent subir des altérations physiologiques (par exemple, les mésappariements liés aux erreurs des ADN polymérases lors de la réplication) ou induites (cassures simple-brin ou double-brin de l'ADN liées à des conditions environnementales délétères comme les rayonnements UV ou les agents génotoxiques), pour lesquelles des mécanismes spécifiques de réparation existent. La présence de zones d'ADN simple-brin ou de cassures double-brin conduit à l'activation du système global de réparation, appelé système SOS.

Le génome bactérien peut être étudié à des fins :

- taxonomiques, pour la classification des bactéries (*cf.* Cours 2) ;
- épidémiologiques : de très nombreuses méthodes basées sur l'étude de l'ADN bactérien, notamment chromosomique, permettent de déterminer les relations phylogénétiques entre

différentes souches d'une même espèce ; la plus puissante de ces méthodes est la comparaison de génomes complets après séquençage total ;

- diagnostiques (cf. Cours 2) : identification d'une bactérie par la recherche de son ADN dans des prélèvements biologiques.

## 2.1. Le chromosome bactérien

### 2.1.1. Structure du chromosome bactérien

Il est composé d'**ADN double brin**, la plupart du temps **circulaire**. La taille du chromosome des bactéries d'intérêt médical est en moyenne de 4 à 5 Mpb, codant entre 3000 et 5000 gènes. Cependant, elle est variable parmi ces bactéries et est généralement corrélée à la variété des environnements dans lesquels la bactérie peut survivre :

- les bactéries ubiquistes ont généralement un grand génome avec de nombreux gènes codant différentes voies métaboliques leur permettant de s'adapter à de nombreux environnements ;
- les bactéries symbiotiques ont souvent un plus petit génome ; par exemple, un des plus petits génomes parmi les bactéries pathogènes est celui de *Mycoplasma genitalium*, bactérie intracellulaire strictement humaine responsable d'infections sexuellement transmissibles (génome de 580 000 pb). Cette petite taille, corrélée à un faible nombre de gènes, peut s'expliquer par une perte progressive de gènes non utiles chez cette bactérie adaptée à un seul environnement spécifique et stable (ici, le tractus génito-urinaire humain).

**L'expression des gènes bactériens est la plupart du temps soumise à une régulation précise en fonction de l'environnement dans lequel se trouve la bactérie**, grâce à des mécanismes de régulation de différente nature (transcriptionnels, post-transcriptionnels, traductionnels et post-traductionnels).

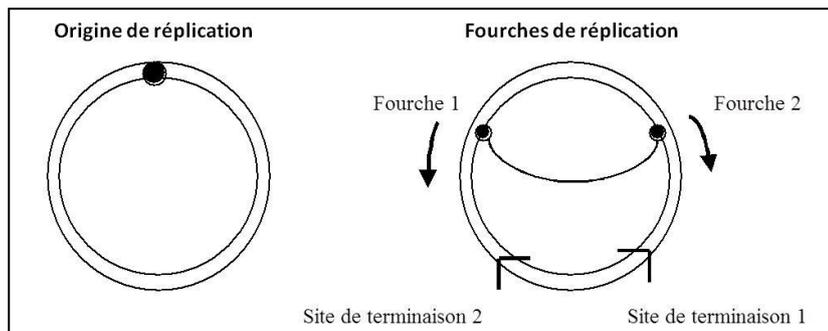
**Toutes les bactéries pathogènes pour l'homme et l'animal sont haploïdes** (1 seule copie du chromosome).

Le génome de la bactérie *E. coli* contient en moyenne 4,6 Mpb, ce qui représente, une fois étirée, une molécule d'environ 1600 µm de long, soit 1000 fois la longueur de la bactérie. **Le chromosome bactérien doit donc être très compacté pour tenir dans la cellule bactérienne**. Il s'organise en domaines fortement surenroulés sous forme d'une structure fibrillaire. L'association avec les ARN et plusieurs protéines permet de le maintenir sous cette forme.

La topologie de l'ADN joue un rôle dans la régulation de l'expression des gènes, dans la réplication et dans l'étape terminale de la division bactérienne, la ségrégation des chromosomes dans chacune des cellules filles. La topologie de l'ADN est sous le contrôle de nombreuses enzymes bactériennes dont les topoisomérases de type II, la gyrase (ou topoisomérase II) et la topoisomérase IV.

### 2.1.2. Réplication du chromosome bactérien

La réplication du chromosome bactérien se fait selon un processus similaire à la réplication eucaryotes, de façon semi-conservative (1 brin fille, 1 brin mère) (**Figure 18**).



**Figure 18.** Représentation de la réplication semi-conservative bi-directionnelle du chromosome bactérien.

De nombreuses enzymes sont impliquées dans la réplication du chromosome bactérien. L'hélicase permet le désenroulement de la double hélice au niveau de la fourche de réplication. La progression de la fourche de réplication entraîne un surenroulement positif en amont. L'introduction par la gyrase de supertours négatif permet de relâcher ces contraintes topologiques. La gyrase est une enzyme hétérotétramérique composée de 2 sous-unités catalytiques (sous-unités A) et de 2 sous-unités B responsables de l'hydrolyse de l'ATP nécessaire à l'activité enzymatique.

### 2.1.3. L'ADN bactérien, cibles d'antibiotiques

Comme exemple, on peut citer les fluoroquinolones, qui ciblent le complexe ADN-gyrase, ou les sulfamides et le triméthoprime, qui ciblent la synthèse de l'ADN en inhibant la synthèse des bases pyrimidiques.

## 2.2. Les plasmides

### 2.2.1. Définition et structure

Les plasmides sont des éléments génétiques **distincts du chromosome bactérien, capables de réplication autonome**, c'est à dire qu'ils se répliquent de manière indépendante du chromosome. Ils sont constitués d'**ADN bicaténaire**, généralement circulaire, et ont une taille très variable, allant de 5 à 500 kb. Des plasmides ont été retrouvés chez la plupart des bactéries, mais ces éléments peuvent être éliminés de certaines souches et acquis par d'autres. **Leur présence est donc inconstante au cours de la vie d'une bactérie.**

Les plasmides ont une organisation modulaire (**Figure 19**).

Ils possèdent toujours un module de réplication (région *ori*). L'origine de réplication porte les sites de fixation des enzymes de réplication de l'ADN plasmidique, ces dernières étant, pour la plupart, codées par le chromosome bactérien. Les plasmides dit « cryptiques » ne portent que le module de réplication et sont de très petite taille. Cette région est responsable de la spécificité d'hôte, c'est à dire de la capacité d'un plasmide à exister chez un nombre étroit ou large d'espèces bactériennes. Elle est aussi responsable de la régulation de la réplication du plasmide et donc du nombre de copies qui se traduit par un nombre de copie allant de 1 à plus de 100 dans la cellule bactérienne. Deux plasmides présentant des séquences identiques dans leurs régions impliquées dans la réplication ne peuvent pas coexister dans la même cellule bactérienne : ils sont incompatibles.

Deux autres modules peuvent être présents, un module d'expression phénotypique (gènes divers, par exemple des gènes de résistance aux antibiotiques), et un module de transfert. Lorsque ce dernier est présent, le plasmide est alors conjugatif (*cf.* Cours 3).

Un **épisode** est un plasmide intégré dans le chromosome bactérien. Seuls quelques plasmides sont capables d'exister sous cette forme épisomique.

Les plasmides peuvent être éliminés de la cellule bactérienne, soit spontanément (par exemple, au cours des repiquages de la souche les hébergeant ou au cours de sa conservation), soit sous l'influence de facteurs environnementaux : on parle de cure plasmidique.

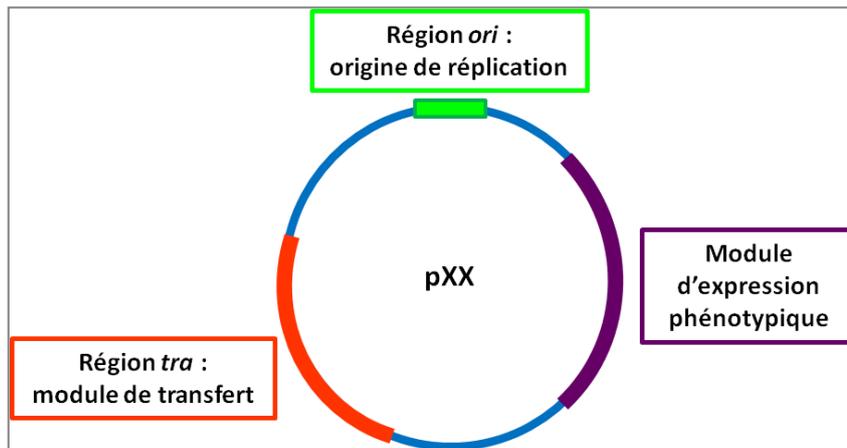


Figure 19. Schéma de la structure modulaire d'un plasmide.

### 2.2.2. Propriétés des plasmides

**Les plasmides codent pour des caractères généralement non essentiels, mais souvent avantageux pour la bactérie car facilitant son adaptation à l'environnement.** Dans certains cas, ces caractères additionnels peuvent se révéler indispensables pour la survie de la bactérie.

Les fonctions portées sont très variées :

- fonctions métaboliques (par exemple, utilisation d'un sucre particulier comme nutriment) ;

- fonctions de **virulence** ; quelques exemples :

✓ *Yersinia pestis* (bacille à Gram négatif) est l'agent étiologique de la peste ; sa virulence repose sur la production de nombreux facteurs (dont une capsule) codés par 3 plasmides différents. La perte d'un seul de ces plasmides entraîne une diminution importante de la virulence bactérienne.

✓ *E. coli* enterotoxinogène (ETEC) (bacille à Gram négatif) est responsable de diarrhées aqueuses chez l'homme (type « *turista* ») et l'animal. Chez les souches humaines, les facteurs permettant à la bactérie d'adhérer à l'intestin grêle (*cf.* Cours 4 et ED n°2) sont codés par des gènes plasmidiques. Les entérotoxines responsables de la diarrhée peuvent également être codées par des gènes plasmidiques.

- fonctions de **résistance** à différents composés toxiques : métaux lourds, substances organiques toxiques, **antibiotiques** ;

- fonction de transfert pour les plasmides conjugatifs (*cf.* Cours 3).

**Le génome bactérien évolue constamment sous l'effet de mécanismes divers : les mutations et surtout, les transferts génétiques. Ce phénomène d'évolution est essentiel car il est à l'origine de l'adaptation** des bactéries à l'hôte et l'environnement.

La génétique bactérienne est l'étude des mécanismes impliqués dans l'évolution des bactéries et sera abordée pendant le troisième cours et l'ED n°1.