



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique
جامعة حسيبة بن بوعلي الشلف
Université Hassiba Benbouali de Chlef
كلية علوم الطبيعة والحياة
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
قسم البيولوجيا
Département de Biologie



N° d'ordre :/25

Polycopié de cours de Microbiologie

Destiné aux étudiants de :

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie (SNV)

Filière : Sciences Biologiques

Niveau : Licence – 2^{ème} année



Auteur : Dr MERAZI Yahya – Septembre 2025
y.merazi@univ-chlef.dz

Préface

Le présent cours de microbiologie a pour finalité d'introduire les concepts fondamentaux relatifs aux micro-organismes, en définissant leur nature, leur diversité et leurs principales caractéristiques. Une attention particulière est accordée à la composition et à la structure de la cellule bactérienne, qui constitue le modèle de base de l'étude en microbiologie. Ce support pédagogique est destiné principalement aux étudiants de deuxième année licence (L2) inscrits dans le domaine des Sciences Biologiques, mais il peut également s'avérer utile à tout étudiant ou chercheur issu d'autres disciplines souhaitant acquérir des connaissances de base dans ce champ scientifique.

Prérequis

L'assimilation de ce cours suppose des connaissances préalables solides en biologie générale, biochimie générale et génétique générale. Il est également attendu que l'étudiant possède une compréhension globale des agents pathogènes et de leur rôle biologique.

Objectifs du cours

Le cours de microbiologie poursuit les objectifs pédagogiques suivants :

- Fournir les bases théoriques nécessaires à la compréhension et à l'intégration des modules du tronc commun.
- Présenter les aspects liés à la structure cellulaire, à leurs fonctions.
- Présenter les aspects liés à la structure des virus et des champignons, à leurs fonctions.

Compétences acquises

À l'issue de ce cours, l'étudiant devra maîtriser les notions fondamentales relatives au monde microbien, incluant la diversité, la morphologie et les caractéristiques biologiques des principaux groupes de micro-organismes. Il saura également appliquer les techniques d'observation microscopique, notamment les méthodes de préparation et de coloration, permettant l'identification et l'étude des structures microbiennes.

De plus, l'étudiant sera capable d'analyser les différents paramètres influençant la croissance bactérienne, d'expliquer les phases de développement microbien et d'interpréter leur signification biologique.

Enfin, il développera des compétences en classification bactérienne, en mobilisant les critères morphologiques, physiologiques, biochimiques et moléculaires nécessaires à une approche systématique et taxonomique rigoureuse.

Modes d'évaluation

- Évaluation continue : comprenant des tests courts, des devoirs.
- Examen portant sur les travaux dirigés et pratiques (TD/TP) : destiné à évaluer les compétences appliquées.
- Examen final : visant à tester la compréhension théorique.

Avis aux lecteurs

Ce polycopié peut contenir certaines lacunes typographiques ou scientifiques mineures qui n'altèrent pas son contenu ni son utilité pédagogique. Tout travail humain reste perfectible ; les lecteurs sont invités à signaler les erreurs éventuelles afin d'améliorer ce support

I.	Le Monde microbien	1
I.1.	Introduction :	1
I.1.1.	Origine du terme "microbe" :	1
I.1.2.	Classification des microbes :	1
I.2.	Historique.....	3
I.2.1.	Avancées préliminaires.....	3
I.2.2.	Révélation du monde microbien dans l'histoire :	3
I.2.3.	Contributions au débat sur l'origine de la vie : Génération spontanée vs la biogénèse :..	4
I.3.	Place de microorganismes dans le monde vivant.....	8
I.4.	Caractéristiques générales de la cellule procaryote	9
II.	La Cellule bactérienne	10
II.1.	Techniques d'observation de la cellule bactérienne	10
II.1.1.	Observation par le microscope optique.....	10
II.1.2.	La microscopie électronique.....	13
II.1.3.	Préparation et coloration des échantillons.....	14
II.2.	La morphologie cellulaire	18
II.2.1.	Vue d'ensemble de la structure de la cellule procaryote.....	18
II.2.2.	La taille de la cellule bactérienne	18
II.2.3.	La forme et le mode de groupement	19
II.2.4.	Arrangements de Cocci.....	19
II.2.5.	L'influence la division cellulaire sur la forme et le mode de groupement des cocci	22
II.2.6.	Arrangements des bacilles.....	22
II.2.7.	Disposition de la spirale.....	24
II.3.	La paroi.....	27
II.3.1.	Composition chimique :	28
II.3.2.	Structure moléculaire	29
II.3.3.	Observation microscopique et organisation de la paroi bactérienne.....	32
II.3.4.	Fonctions de la paroi.....	33
II.3.5.	Coloration de Gram.....	36
II.4.	La membrane plasmique	37
II.4.1.	Structure et composition chimique générale de la membrane plasmique	37
II.4.2.	Fonctions biologiques de la membrane plasmique	41
II.5.	Le cytoplasme	44
II.5.1.	Le cytoplasme.....	44
II.5.2.	Les ribosomes chez les bactéries	45
II.5.3.	Les substances de réserve chez les bactéries	47
II.6.	Le chromosome	49
II.6.1.	Morphologie et structure du chromosome bactérien.....	49
II.6.2.	Composition chimique du chromosome bactérien.....	52
II.6.3.	Réplication chimique du chromosome bactérien.....	53
II.7.	Les plasmides.....	55
II.7.1.	Structure des plasmides bactériens	55
II.7.2.	Réplication des plasmides	56
II.7.3.	Propriétés des plasmides bactériens.....	57
II.8.	Pili et fimbriae.....	58
II.8.1.	Généralité.....	58
II.9.	La capsule	65
II.9.1.	Structure et morphologie des capsules bactériennes.....	65
II.9.2.	Composition chimique des capsules	66
II.9.3.	Fonctions biologiques des capsules	67

II.10.	Les cils et flagelles	68
II.10.1.	Mise en évidence des flagelles bactériens	68
II.10.2.	Structure des flagelles bactériens.....	69
II.10.3.	Répartition des flagelles	70
II.10.4.	Fonctions des flagelles chez les bactéries.....	72
II.11.	La spore.....	73
II.11.1.	Morphologie	73
II.11.2.	Phénomènes de sporulation	76
II.11.3.	Propriétés.....	77
II.11.4.	Phénomènes de germination.....	77
III.	La Classification Bactérienne	78
III.1.	La taxinomie.....	78
III.1.1.	Définition et principes de classification phénétique	79
III.1.2.	Observations macroscopiques et microscopiques	79
III.1.3.	Mesure de l'affinité entre les souches	80
III.1.4.	La classification phénotypique présente plusieurs limitations, notamment :	80
III.2.	La Classification Phylogénétique	81
III.2.1.	Fondements moléculaires	81
III.2.2.	Techniques utilisées de la taxonomie génétique ou phylogénique (naturelles)	81
III.3.	La Classification de Bergey	84
III.3.1.	Historique et objectifs	84
III.3.2.	Structure de la classification.....	84
III.3.3.	La Classification selon le manuel de Bergey.....	84
IV.	Nutrition bactérienne.....	87
IV.1.	Les besoins élémentaires des bactéries	88
IV.1.1.	Les macronutriments.....	88
IV.1.2.	Les micronutriments	88
IV.2.	Les facteurs de croissance.....	88
IV.2.1.	Principaux types.....	89
IV.3.	Les types trophiques bactériens.....	89
IV.3.1.	Selon la source de carbone	89
IV.3.2.	Selon la source d'énergie	89
IV.4.	Les paramètres physico-chimiques influençant la nutrition bactérienne	89
IV.4.1.	Température.....	89
IV.4.2.	pH.....	90
IV.4.3.	Oxygène	90
IV.4.4.	Activité de l'eau (aW).....	91
IV.4.5.	Bactéries & chlorure de sodium.....	92
IV.4.6.	La pression	93
V.	La Croissance Bactérienne.....	93
V.1.	Cycle cellulaire bactérien.....	93
V.2.	Mesure de la croissance bactérienne.....	94
V.2.1.	Mesure directe	94
V.2.2.	Mesure indirecte	95
V.3.	Paramètres de la croissance bactérienne	96
V.4.	Courbe de croissance bactérienne	96
V.4.1.	Courbe de croissance bactérienne (culture discontinue) (culture batch ou fermé)	96
V.4.2.	Courbe de croissance continue (chemostat, turbidostat)	98
V.5.	La culture bactérienne.....	99
V.5.1.	Types de cultures bactériennes.....	99

V.6.	Types de milieux de culture	100
V.6.1.	Définition et composition d'un milieu de culture	100
V.6.2.	Classification des milieux de culture	100
V.6.3.	Les agents antimicrobiens et leur effet sur la croissance bactérienne	101
VI.	Mycologie (Levures et Moisissures) et virologie.....	102
VI.1.	Taxonomie des levures et moisissures	103
VI.1.1.	De la morphologie à la phylogénie	103
VI.1.2.	Principaux phyla de champignons	103
VI.1.3.	Classification	104
VI.2.	Morphologie : levures et moisissures	104
VI.2.1.	Levures.....	104
VI.2.2.	Moisissures – Les champignons filamenteux	107
VI.3.	Reproduction des levures et moisissures.....	108
VI.3.1.	Modes de reproduction chez les levures.....	108
VI.3.2.	Modes de reproduction chez les moisissures :	111
VII.	Virologie.....	117
VII.1.	Morphologie : capsid e et enveloppe	117
VII.1.1.	Capsid e.....	117
VII.1.2.	Enveloppe virale	119
VII.2.	Différents types de virus	120
VII.2.1.	Selon le génome : classification de Baltimore.....	120
VII.2.2.	Selon le tropisme cellulaire	120
VII.2.3.	Autres critères de classification	120

I. Le Monde microbien

I.1. Introduction :

Les micro-organismes existent sur la terre depuis des milliards d'années, ils constituent un ensemble important et diversifié d'organismes microscopiques existant en tant que cellule seule ou en groupe et fonctionnent en tant que populations ou assemblages d'organismes similaires. Les micro-organismes appelés aussi microbes et protistes, forment un ensemble d'organismes vivants invisibles à l'œil nu.

I.1.1. Origine du terme "microbe" :

Le terme « microbe » a été introduit en 1878 par le chirurgien Charles Sédillot pour désigner les organismes microscopiques. Il regroupe l'ensemble des micro-organismes capables de se nourrir, de respirer et de se reproduire de manière autonome.

La microbiologie, dérivée du grec *mikros* (« petit ») et *bios* (« vie »), est la science qui étudie ces êtres vivants invisibles à l'œil nu. Le terme « microbe » inclut ainsi l'ensemble des micro-organismes, également appelés protistes primitifs

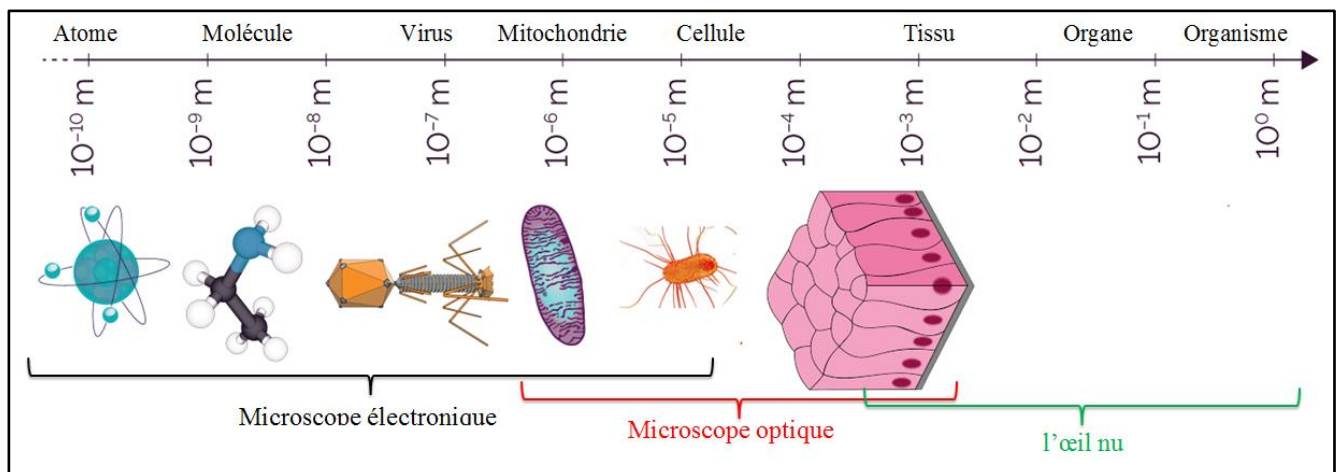


Figure I. 1 : Tailles relatives des cellules et de leurs composants

I.1.2. Classification des microbes :

Les micro-organismes regroupent une grande diversité d'entités vivantes et non vivantes, comprenant notamment les bactéries, les protozoaires, les champignons microscopiques (mycètes) ainsi que les algues unicellulaires. À ces organismes s'ajoutent les virus, qui sont considérés comme des micro-organismes acellulaires et non vivants.

En fonction de leur nature biologique, les micro-organismes présentent des dimensions très variables, allant de quelques nanomètres à plusieurs centaines de micromètres :

Virologie

- S'intéresse aux agents acellulaires :
 - Prions : environ 35 000 Da (protéines infectieuses sans acide nucléique).
 - Viroïdes : environ 130 000 Da (ARN circulaires infectieux, sans capsid protéique).
 - Virus : de 25 à 300 nm, parasites intracellulaires obligatoires.

Bactériologie

- Étude des bactéries, micro-organismes procaryotes.
- Taille comprise entre 0,2 et 10 µm.

Mycologie

- Science des champignons microscopiques :
 - Levures : 5 à 10 µm.
 - Moisissures : tailles variables, structures filamenteuses.

Phycologie (ou algologie)

- Étude des algues unicellulaires, de 10 à 60 µm.

Parasitologie

- Couvre les protozoaires (eucaryotes unicellulaires) de 1 à 150 µm.
- Inclut aussi les helminthes (vers parasites), beaucoup plus grands, mesurant de 1 mm à 10 m.

Figure I. 2 : Classification biologique contemporaine des organismes vivants

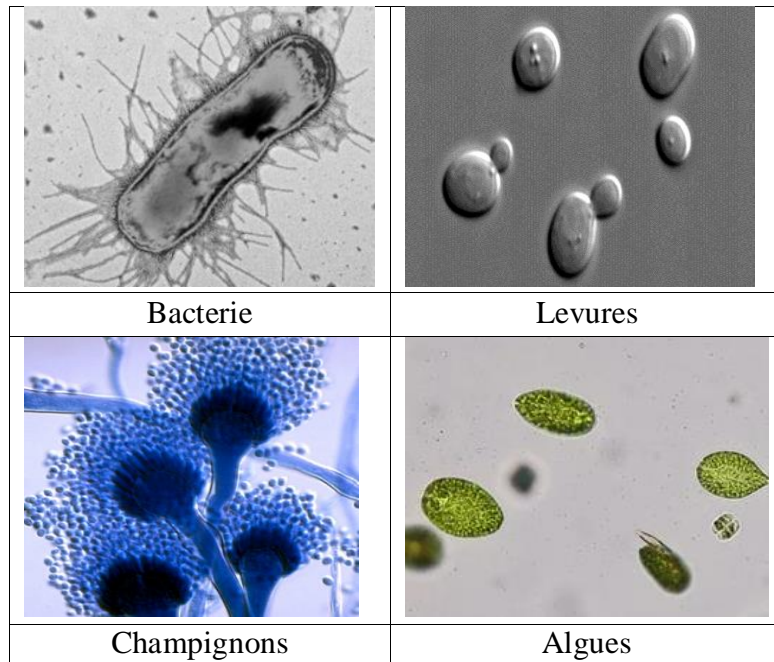


Figure I. 3 : Quelques microorganismes vivants

I.2. Historique

I.2.1. Avancées préliminaires

Fracastoro (1478-1553), médecin et poète italien, fut l'un des premiers à proposer que les maladies étaient causées par des « semences de maladie » invisibles. Dans son ouvrage *De contagione et contagiosis morbis et eorum curatione* (1546), il émet l'hypothèse d'agents contagieux minuscules, posant ainsi les bases de la microbiologie moderne malgré l'impossibilité de les observer à son époque.

Au début du XVII^e siècle, Hans Janssen et son fils Zacharias, opticiens néerlandais, développèrent les premiers microscopes composés à lentilles convexes. Ces instruments permirent l'observation du monde microscopique et révolutionnèrent la recherche sur les micro-organismes.

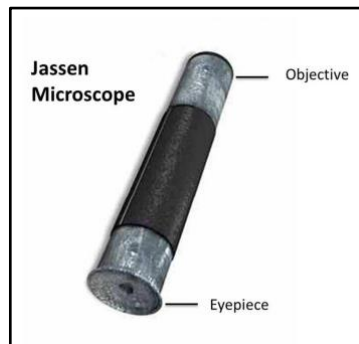


Figure I. 4: Le microscope rudimentaire

I.2.2. Révélation du monde microbien dans l'histoire :

L'Antiquité a vu les premières observations de micro-organismes, bien que leur nature exacte n'ait pas été comprise à l'époque. Ces mentions de "petites créatures invisibles" se retrouvent dans des textes anciens.

Au 17^{ème} siècle, Robert Hooke a posé les fondements de la théorie cellulaire en démontrant que la cellule est l'unité structurelle fondamentale des êtres vivants. (La plus petite unité structurale d'un organisme vivant est la cellule)

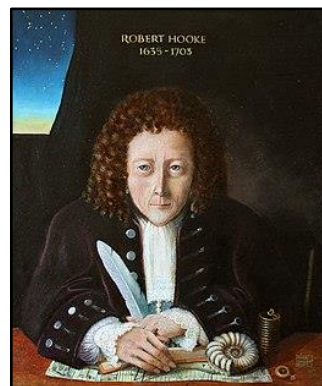


Figure I. 5 : Robert Hooke

Antonie van Leeuwenhoek, un marchand de draps néerlandais du 17^{ème} siècle, est largement reconnu comme un pionnier de l'observation microscopique. En utilisant des microscopes simples qu'il a fabriqués lui-même, van Leeuwenhoek a réalisé des observations révolutionnaires sur le monde

microscopique. En 1676, il a été le premier à décrire et à dessiner précisément les bactéries, qu'il appelait alors "animalcules". Cette découverte a marqué le début d'une nouvelle ère dans la compréhension du monde microbien, ouvrant la voie à une exploration plus approfondie des micro-organismes et de leur rôle dans la nature. Les observations de van Leeuwenhoek ont jeté les bases de la microbiologie moderne et ont eu un impact profond sur de nombreux domaines de la science, de la médecine à la biologie environnementale.

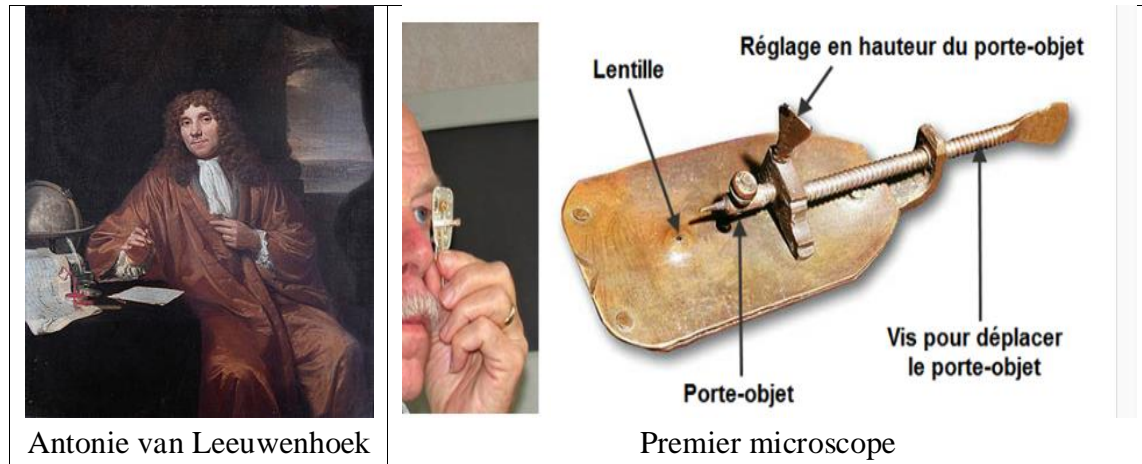


Figure I. 6 : Antonie van Leeuwenhoek et le Premier microscope

Au 18ème siècle, John Needham, un naturaliste et prêtre britannique, a mené des expériences qui semblaient initialement soutenir la théorie de la génération spontanée. Needham a mené une série d'expériences dans lesquelles il a chauffé des solutions contenant des micro-organismes, puis observé la croissance ultérieure de ces micro-organismes après refroidissement. Il a conclu que la génération spontanée de nouveaux organismes vivants à partir de matière inanimée était possible.



Figure I. 7 : John Needham

I.2.3. Contributions au débat sur l'origine de la vie : Génération spontanée vs la biogénèse :

I.2.3.1. Expérience de Francesco Redi

Francesco Redi a entrepris une série d'expériences pour tester l'hypothèse de la génération spontanée. Dans ces expériences, il plaça de la viande fraîche dans des conteneurs ouverts. Comme prévu, des mouches furent attirées par la décomposition de la viande, et bientôt, celle-ci fut envahie par des larves

écloses des œufs pondus par les mouches. Cependant, lorsque Redi couvrit les pots pour empêcher les mouches d'accéder à la viande, aucune larve ne fut produite.

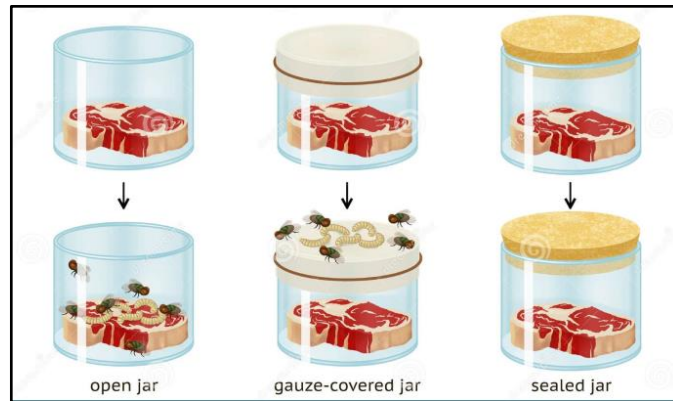


Figure I. 8 : L'expérience de Redi

L'expérience de Redi a fourni une preuve convaincante contre la théorie de la génération spontanée. En contrôlant les conditions expérimentales et en manipulant les variables, Redi a démontré que les larves ne résultaient pas de la viande en décomposition elle-même, mais plutôt des œufs pondus par les mouches. Cette observation a été importante pour établir que la vie ne naît pas spontanément de la matière non vivante.

I.2.3.2. Expérience de John Needham

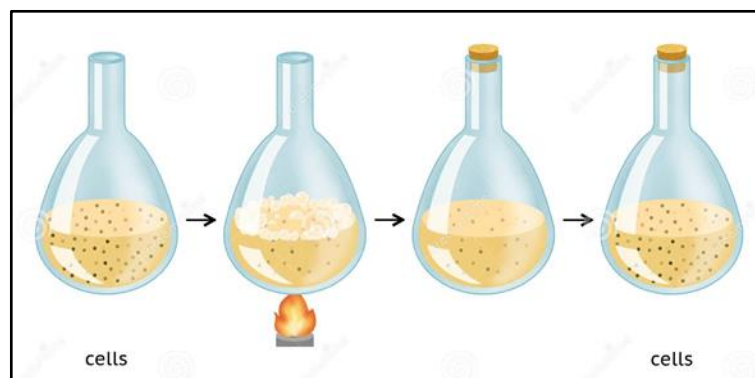


Figure I. 9 : Expérience de John Needham

John Needham a contesté les résultats de Redi en menant une expérience dans laquelle il a placé du bouillon ou du jus de viande dans une bouteille, l'a chauffé pour tuer tout ce qui était à l'intérieur, puis l'a scellée.

Quelques jours plus tard, Needham a observé la présence de vie dans le bouillon et a affirmé que la vie avait été créée à partir de la non-vie.

Cependant, cette conclusion a été contestée par d'autres scientifiques de l'époque, notamment par Redi lui-même. Les résultats de cette expérience ont alimenté un débat prolongé sur la théorie de la génération spontanée versus la biogénèse.

I.2.3.3. Expérience de Lazzaro Spallanzani

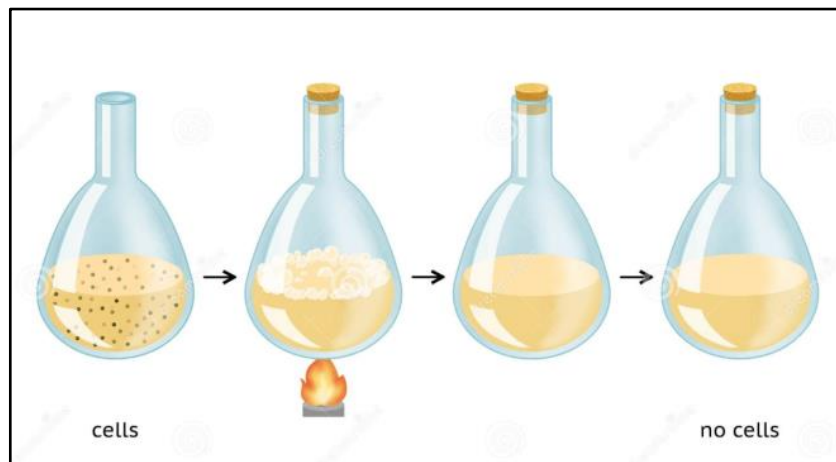


Figure I. 10 : Expérience de Lazzaro Spallanzani

Spallanzani a mené une expérience dans laquelle il a chauffé des flacons scellés contenant un milieu nutritif, mais ces flacons sont restés clairement exempts de tout signe de croissance spontanée, à moins que les flacons n'aient ensuite été ouverts à l'air.

Les résultats de l'expérience de Spallanzani ont fourni un soutien supplémentaire à l'idée que la génération spontanée n'est pas la cause de la croissance microbienne. Cette expérience a contribué à renforcer la théorie de la biogénèse, selon laquelle toute vie provient de la reproduction d'organismes vivants préexistants.

I.2.3.4. Expérience de Theodor Schwann et Franz Schulze

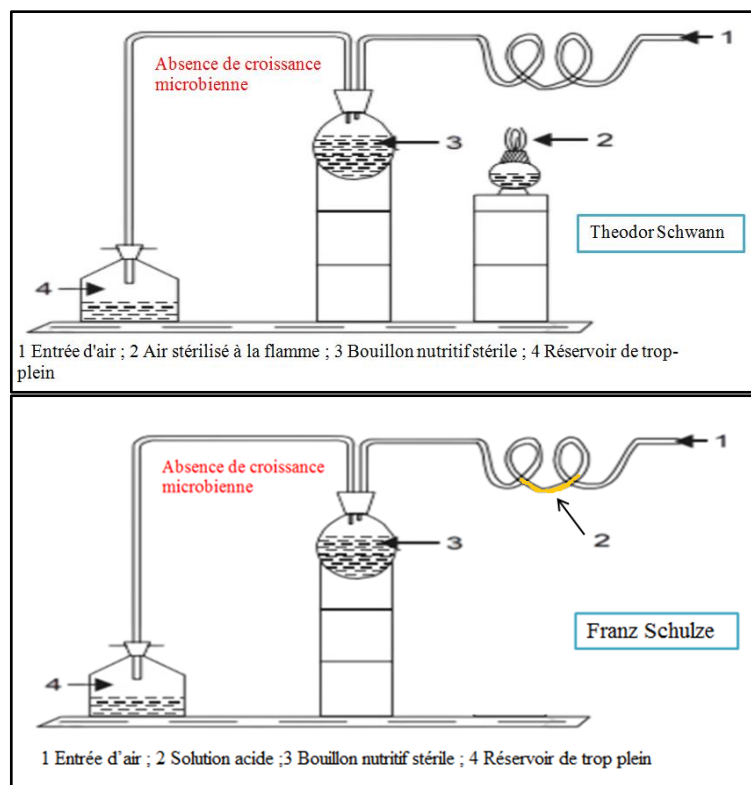


Figure I. 11 : Expérience de Theodor Schwann et Franz Schulze

(Les microorganismes de l'air sont tués par un acide fort ; Les microorganismes sont détruits par la chaleur.)

Cette expérience a fortement remis en question la théorie de la génération spontanée en suggérant que la croissance microbienne précédemment observée dans d'autres expériences n'était pas le résultat d'une génération spontanée, mais plutôt de la contamination par des micro-organismes présents dans l'air. Les résultats de Schwann et Schulze ont apporté un soutien significatif à la théorie de la biogénèse, qui stipule que toute vie provient de la reproduction d'organismes vivants préexistants, et ont contribué à l'avancement de la microbiologie moderne.

Expérience de Schroeder et Van Dusch

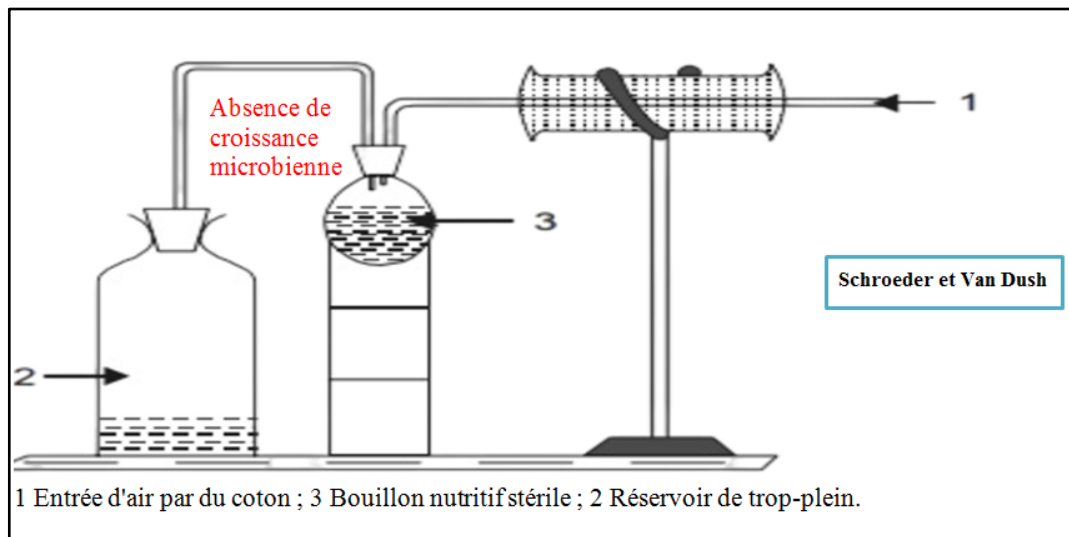
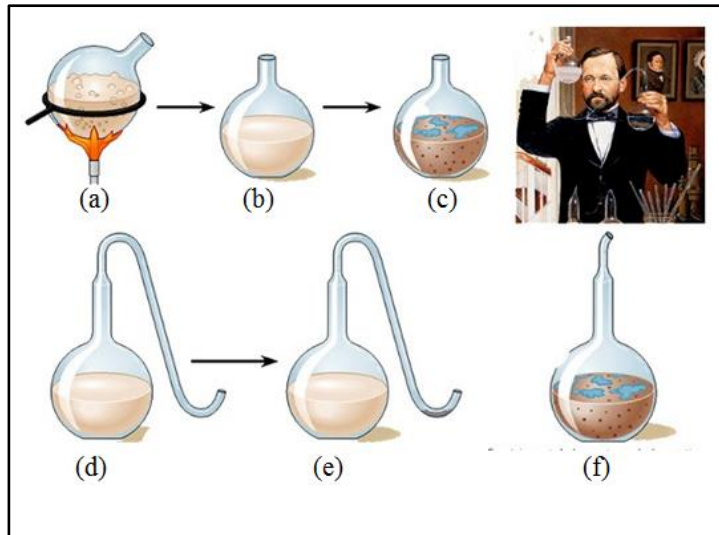


Figure I. 12 : Expérience de Schroeder et Van Dusch

Schroeder et Van Dusch ont conçu un dispositif dans lequel de l'air était fait passer à travers des tubes remplis de coton. Le coton servait de filtre pour piéger les particules présentes dans l'air, y compris les microorganismes. Ils ont fait passer l'air à travers les tubes remplis de coton pendant un certain temps. Après avoir fait passer l'air à travers les tubes, Schroeder et Van Dusch ont analysé les échantillons d'air pour déterminer s'ils contenaient encore des microorganismes. Ils ont constaté que l'air ayant traversé les tubes remplis de coton était dépourvu de microorganismes. Cela suggérait que le coton avait efficacement filtré les microorganismes présents dans l'air, les empêchant de passer à travers.

I.2.3.5. Contributions majeures de Louis Pasteur

Louis Pasteur a réfuté la théorie de la génération spontanée en démontrant que les micro-organismes sont responsables de la fermentation et de la dégradation des matières organiques.



(a) Bouillon stérilisé par chauffage ; (b) Bouillon stérile ; (c) Bouillon contaminé par des micro-organismes ; (d) Bouillon stérile dans un flacon à col recourbé en forme de S ; (e) Témoin : la courbure inférieure du col en forme de S emprisonne la poussière et les micro-organismes ; le bouillon reste stérile ; (f) Expérimental : la rupture de la partie supérieure du col permet aux micro-organismes de pénétrer dans le flacon ; le bouillon se détériore.

Figure I. 13 : Expérience Louis Pasteur

Ses travaux ont conduit à des avancées majeures dans la préservation des aliments par la pasteurisation, révolutionnant ainsi l'industrie alimentaire. Certains évènements majeurs survenus pendant l'âge d'or de la microbiologie sont répertoriés dans le tableau suivant.

Tableau I. 1: Quelques évènements importants dans le développement de la microbiologie

Année	Auteur	Découverte
1590	Zacharias Janssen	Développe le premier microscope composé
1665	Robert Hooke	Publie : <i>Micrographia</i> 1676 Leeuwenhoek découvre les «animalcules»
1668	Francesco Redi	réfute la génération spontanée des asticots
1676	Antonie van Leeuwenhoek	découvre les « animalcules »
1765–1776	Lazzaro Spallanzani	attaque la théorie de la génération spontanée
1861	Louis Pasteur	réfute la génération spontanée
1876–1877	Robert Koch	démontre que le charbon est dû à <i>Bacillus anthracis</i>
1885	Louis Pasteur	développe le vaccin contre la rage
1884	Hans Christian Gram	Coloration de Gram
1929	Alexandre Fleming	découvre la pénicilline
1977	Carl Woese	Divise les procaryotes en <i>Bacteria</i> et <i>Archaea</i>
Actuel		Les découvertes se poursuivent

I.3. Place de microorganismes dans le monde vivant

Arbre phylogénétique proposé par Carl Woese, il montre les trois domaines du vivant (bactéries, archaea et eucaryotes)

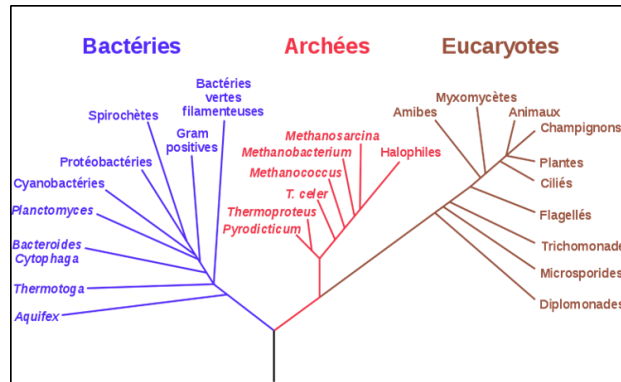


Figure I. 14 : Arbre phylogénétique de la vie

I.4. Caractéristiques générales de la cellule procaryote

Leurs caractéristiques comprennent :

- a) **Absence de noyau** : L'ADN est généralement présent sous forme de molécule circulaire unique, localisée dans une région appelée le nucléoïde.
- b) **Organisation cellulaire simple**: Les cellules procaryotes sont généralement beaucoup plus petites et plus simples que les cellules eucaryotes. Elles sont dépourvues d'organites membranaires internes complexes tels que les mitochondries ou les chloroplastes.
- c) **Membrane plasmique**: Présente chez toutes les cellules, la membrane plasmique des procaryotes joue un rôle essentiel dans le contrôle des échanges de substances avec l'environnement extérieur.
- d) **Paroi cellulaire**: La plupart des cellules procaryotes sont enveloppées dans une paroi cellulaire rigide, offrant une protection et un soutien structuraux. La composition de cette paroi peut varier selon les espèces.
- e) **Flagelles et pili**: Certains types de procaryotes possèdent des structures externes telles que des flagelles pour la locomotion et des pili pour l'adhésion à des surfaces ou à d'autres cellules.
- f) **Ribosomes**: Les ribosomes des procaryotes sont légèrement différents de ceux des cellules eucaryotes, bien qu'ils partagent la même fonction essentielle dans la synthèse des protéines.
- g) **Plasmides**: Ces éléments génétiques conférant des capacités telles que la résistance aux antibiotiques ou la métabolisation de certains composés.

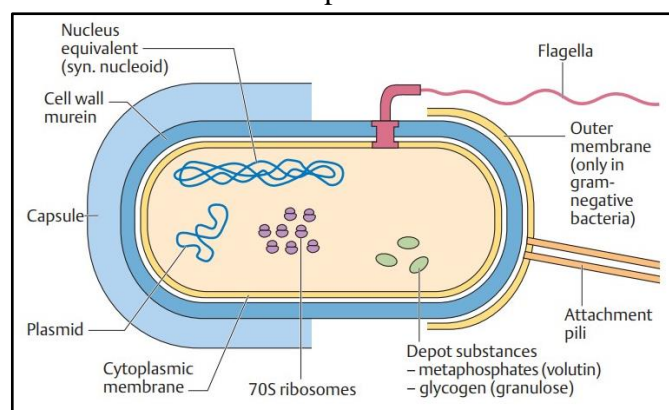


Figure I. 15 : les composants de la cellule procaryote

Conclusion

Ce chapitre met en évidence l'origine, la diversité et l'importance des micro-organismes

II. La Cellule bactérienne

La cellule bactérienne, unité structurale et fonctionnelle des procaryotes, présente une organisation interne simple mais dotée de structures spécialisées lui permettant de s'adapter à divers environnements. Grâce aux techniques microscopiques modernes, sa morphologie, sa composition et ses fonctions sont aujourd'hui bien décrites. Ses principaux composants incluent la paroi, la membrane plasmique, le cytoplasme contenant le matériel génétique (chromosome et plasmides), ainsi que des structures périphériques telles que pili, capsule, flagelles et spores. Dans ce chapitre, nous aborderons l'étude de ces éléments afin de comprendre leur organisation, leur composition chimique et leurs fonctions biologiques

II.1. Techniques d'observation de la cellule bactérienne

La microscopie est un ensemble de techniques permettant d'obtenir une image des structures biologiques. Le principe est dans tous les cas le même : une onde est envoyée sur la préparation ou émise par la préparation. Aujourd'hui la microscopie est divisée en deux grands groupes, différents par la nature de la particule élémentaire impliquée :

- Le microscope optique
- Le microscope électronique

II.1.1. Observation par le microscope optique

La microscopie optique regroupe :

- Le microscope à fond clair
- Le microscope à fond noir
- Le microscope à contraste de phase
- Le Microscope à fluorescence

II.1.1.1. Le microscope à fond clair

Les microscopes modernes, sont tous des microscopes composés. L'image agrandie est formée par 2 lentilles au minimum

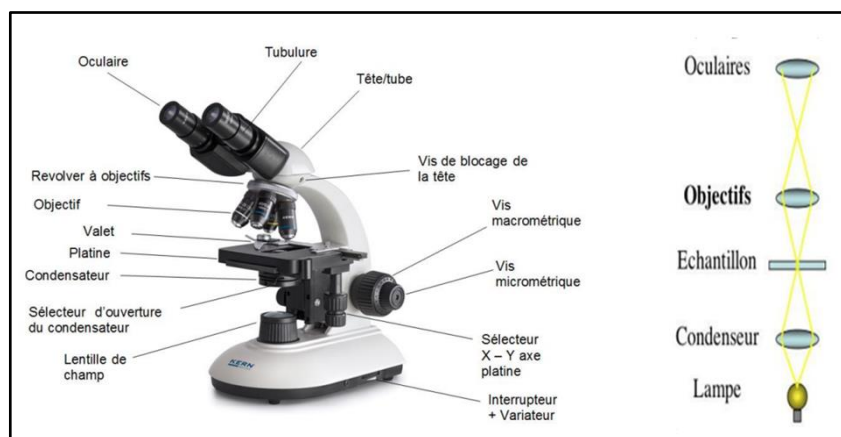


Figure II.1. 1 : le microscope optique et le mode de fonctionnement

L'objectif de l'huile à immersion :

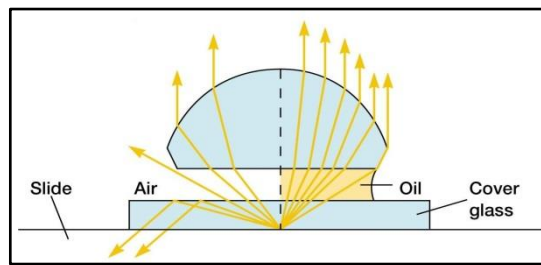


Figure II.1. 2 : Principe de l'huile d'immersion

L'huile à immersion possède un indice de réfraction similaire à celui du verre. En substituant l'huile à l'air, il en résulte en une augmentation de l'ouverture numérique et de la résolution. Il produit une image foncée sur un fond brillant.

Les microscopes compensateurs produisent des images qui demeurent au focus quand on change l'objectif. Le grossissement total est calculé en multipliant le grossissement de l'objectif par celui de l'oculaire.

Le microscope optique possède plusieurs objectifs, il utilise les rayons lumineux pour l'observation des préparations. Il permet d'atteindre un grossissement compris entre 1500 et 2000 fois, offrant ainsi une résolution adaptée à l'étude des structures cellulaires. L'épaisseur des coupes observées varie généralement entre 1 et 5 μm , ce qui favorise une bonne transparence à la lumière. Il autorise aussi bien l'observation de cellules vivantes que celle de préparations colorées, facilitant l'analyse morphologique et fonctionnelle.

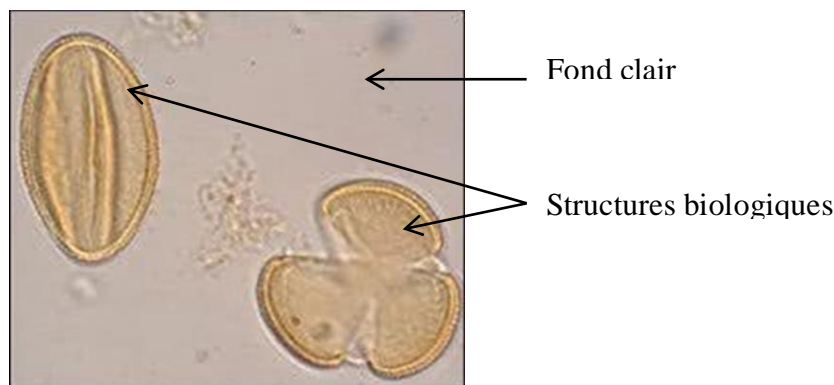


Figure II.1. 3 : Structures biologiques observé par microscope à fond clair

II.1.1.2. Le microscope à fond noir

Le champ qui entoure l'échantillon apparaît noir, tandis que l'objet lui-même est brillant. Il est utilisé pour observer des organismes vivants non colorés.

Le microscope à fond noir utilise un fond sombre pour faire ressortir les structures transparentes. Les zones diffusant la lumière apparaissent lumineuses, créant un fort contraste. Cette technique est idéale pour observer des éléments fins, comme les flagelles ou les fibres, trop transparents pour la

microscopie classique. En revanche, elle n'est pas adaptée aux objets colorés, car le contraste dépend uniquement de la diffusion lumineuse.

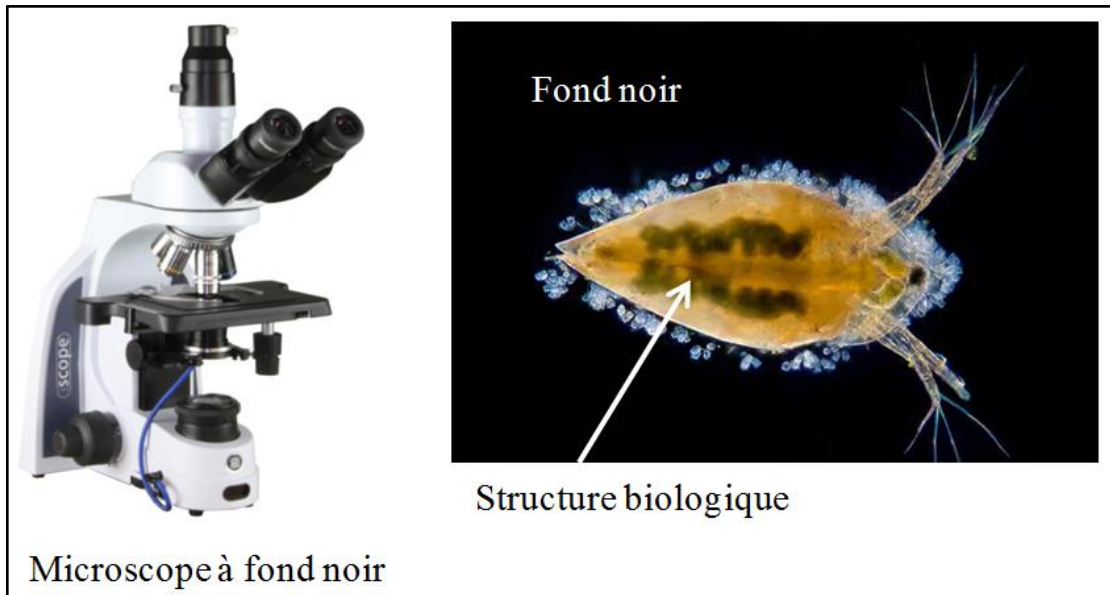
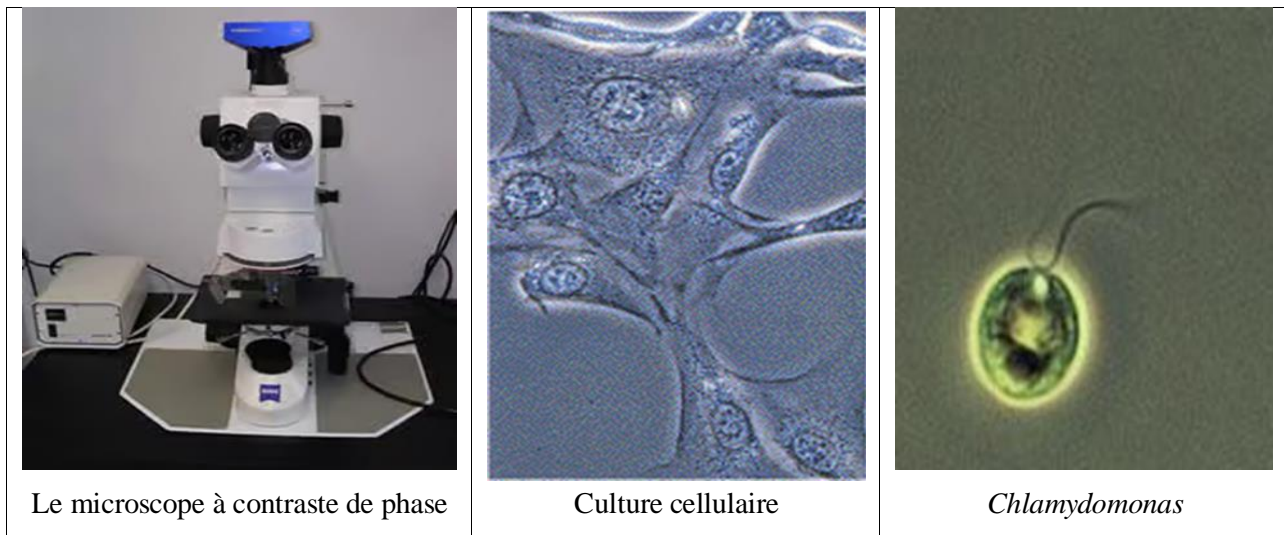


Figure II.1. 4 : Image d'une puce d'eau observée au microscope à fond noir.

II.1.1.3. Le microscope à contraste de phase

Le microscope à contraste de phase transforme les faibles différences d'indice de réfraction et de densité cellulaire en variations de lumière visibles. Il permet d'observer les cellules vivantes sans coloration ni préparation particulière. L'éclairage précis de Köhler est nécessaire, et l'image obtenue en noir et blanc montre les structures bordées de lumière et d'ombre, créant un contraste net.



Le microscope à contraste de phase

Culture cellulaire

Chlamydomonas

Figure II.1. 5 : Image d'une culture cellulaire et *Chlamydomonas* observée au microscope à contraste de phase.

II.1.1.4. Le microscope à fluorescence

L'échantillon est éclairé par une lumière ultraviolette, violette ou bleue. Il est généralement coloré avec un fluorochrome, qui émet de la lumière fluorescente permettant de visualiser l'objet. Cette technique

cible des molécules capables de fluorescer sous une lumière de longueur d'onde appropriée. Les colorants couramment utilisés sont la rhodamine (lumière rouge) et la fluorescéine (lumière verte).

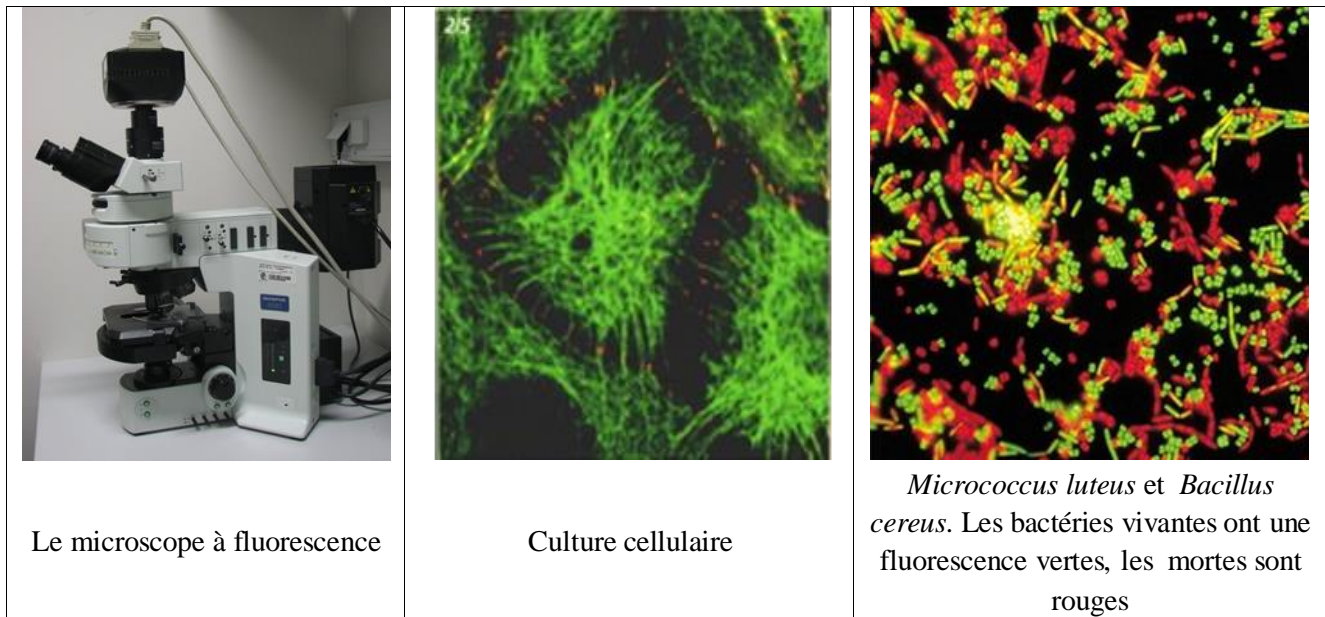


Figure II.1. 6: Image d'une culture cellulaire et *Legionella pneumophila* observée au microscope à fluorescence.

II.1.2. La microscopie électronique

Il existe deux variantes de la microscopie électronique :

- La microscopie à transmission
- La microscopie à balayage

II.1.2.1. La microscopie électronique à transmission

Le microscope électronique en transmission (MET) utilise comme source de rayonnement un faisceau d'électrons au lieu des rayons lumineux. L'observation se fait sous ultraviolet, condition indispensable pour éviter la dispersion des électrons. Cet appareil permet d'atteindre un grossissement très élevé, allant de 75 000 à 5 000 000 fois, offrant une résolution inégalée pour l'étude des structures intracellulaires. Les échantillons doivent être préparés sous forme de lames extrêmement fines, d'environ 50 nanomètres d'épaisseur, afin de laisser passer le faisceau électronique. L'image obtenue est projetée sur un écran fluorescent ou capturée par caméra. En microscopie électronique, la technique de la coloration négative fait apparaître l'échantillon biologique plus clair que son environnement, donnant l'impression que la structure est blanche sur un fond sombre.

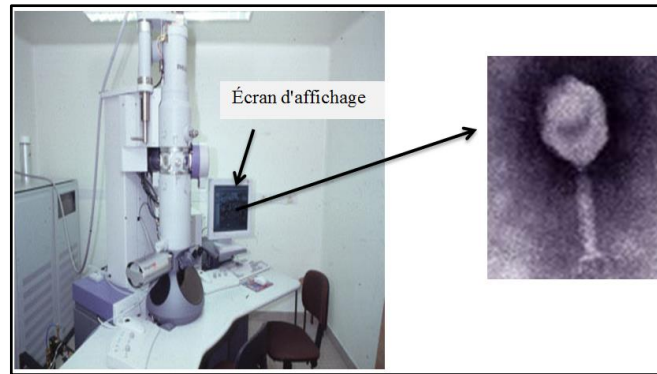


Figure II.1. 7 : Observation de Bactériophage par le microscopie électronique à transmission

II.1.2.2. La Microscopie électronique à balayage

Le microscope électronique à balayage (MEB) utilise un faisceau d'électrons comme rayonnement, ce qui nécessite une observation sous ultravide afin d'éviter toute déviation du faisceau. Il permet d'obtenir un grossissement très élevé, variant de 75 000 à 5 000 000 fois, et se distingue par sa capacité à fournir des images en trois dimensions (3D), offrant une visualisation détaillée de la surface des échantillons. Les observations concernent généralement des coupes d'une épaisseur comprise entre 300 et 600 Å, ce qui rend possible l'examen précis de l'ultrastructure cellulaire et des topographies de surface.

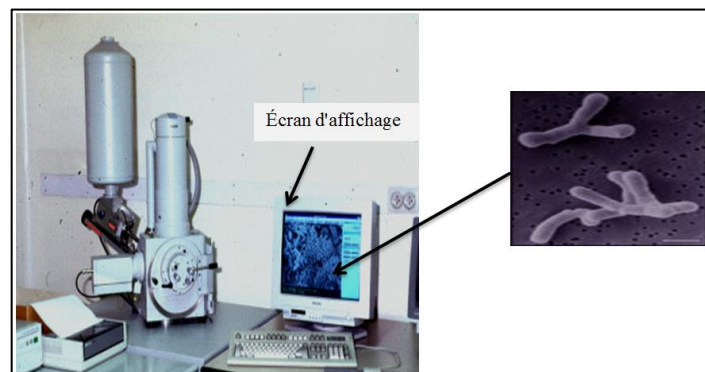


Figure II.1. 8 : Observation de *Bifidobacterium adolescentis* par le microscope électronique à balayage

II.1.3. Préparation et coloration des échantillons

La coloration en microscopie a pour principaux objectifs d'augmenter la visibilité des structures cellulaires et tissulaires, d'accentuer les particularités morphologiques spécifiques permettant leur différenciation.

II.1.3.1. La Fixation

La fixation en microscopie est un procédé essentiel par lequel les structures internes et externes des cellules et des organismes sont conservées et stabilisées en place. Au cours de cette étape, le micro-organisme est généralement tué puis fixé fermement sur la lame porte-objet, ce qui permet de maintenir sa morphologie. On distingue principalement deux types de fixation :

- La fixation par la chaleur, qui préserve la morphologie générale des cellules, mais ne permet pas de conserver les structures intracellulaires fines.
- La fixation chimique, qui, au contraire, protège les structures cellulaires délicates et la morphologie de micro-organismes plus grands et plus fragiles, grâce à l'utilisation d'agents tels que le formaldéhyde ou l'éthanol.

II.1.3.2. Les colorants et la coloration simple

Les colorants en microscopie optique jouent un rôle fondamental en rendant les structures internes et externes des cellules plus visibles, grâce à une augmentation du contraste avec l'arrière-plan. Leur efficacité repose sur certaines propriétés communes :

- Ils possèdent des groupes chromophores, constitués de doubles liaisons conjuguées, responsables de la couleur.
- Ils ont la capacité de se lier aux cellules par différents types d'interactions, notamment ioniques, covalentes ou hydrophobes, assurant ainsi une affinité sélective avec les structures biologiques ciblées.

a. Coloration simple:

La coloration simple consiste à utiliser un seul colorant afin d'augmenter le contraste et de faciliter l'observation microscopique des cellules. Selon leur nature chimique, les colorants employés peuvent être classés en deux grandes catégories :

- Les colorants basiques, de charge positive, qui interagissent avec les composants cellulaires chargés négativement (comme l'ADN ou les acides ribonucléiques). Parmi les plus utilisés, on retrouve le crystal violet, le bleu de méthylène, la fuchsine basique, la safranine et le vert de malachite.
- Les colorants acides, de charge négative, qui se fixent sur les structures cellulaires basiques ou protéiques. Les exemples courants incluent l'éosine, le rose bengale et la fuchsine acide.

b. Coloration différentielle :

Les colorations différentielles constituent des techniques essentielles en microbiologie, car elles permettent de diviser les bactéries en groupes distincts selon leurs propriétés structurales et leur affinité pour certains colorants. Contrairement à la coloration simple, elles reposent sur l'utilisation de plusieurs colorants et réactifs successifs. Les principales méthodes sont :

➤ Coloration de Gram:

La coloration de Gram est la méthode la plus largement utilisée en bactériologie pour l'étude des micro-organismes. Cette technique, mise au point par Hans Christian Gram en 1884. Les Gram positives, qui apparaissent violettes, et les Gram négatives, qui apparaissent rouges ou roses. Cette distinction repose sur les différences de structure de la paroi cellulaire, en particulier la composition en peptidoglycane.

La procédure de la coloration de Gram comporte plusieurs étapes successives :

- a) Premier colorant (crystal violet) : il pénètre dans toutes les cellules et colore l'ensemble des bactéries en violet.
- b) Mordant (lugol ou iode) : il forme un complexe insoluble avec le crystal violet, renforçant la fixation du colorant à la paroi des bactéries Gram positives.
- c) Décoloration (alcool ou alcool-acétone) : elle dissout les lipides de la membrane externe des bactéries Gram négatives, entraînant la perte du colorant, tandis que les Gram positives conservent la coloration violette grâce à leur paroi épaisse en peptidoglycane.
- d) Contre-coloration (safranine ou fuchsine) : elle recolore les bactéries Gram négatives en rose/rouge, tandis que les Gram positives restent violettes.

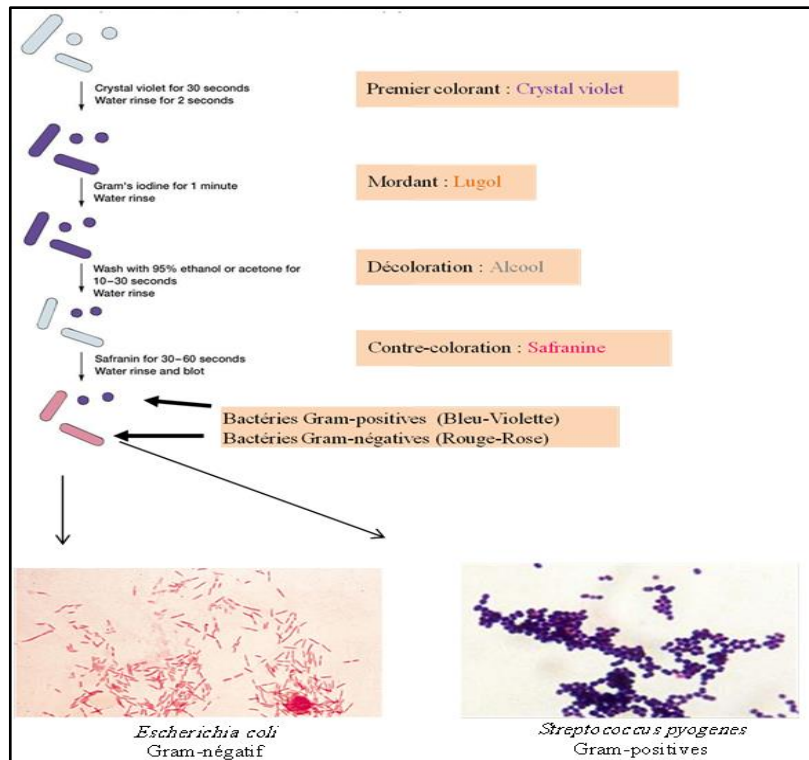


Figure II.1. 9: Observation microscopique à l'objectif x100 d'*Escherichia coli* et de *Streptococcus pyogenes*

➡ **Coloration acido-alcoolo-résistante:**

La coloration acido-alcoolo-résistante (Ziehl-Neelsen) permet d'identifier les *Mycobacterium*, responsables de la tuberculose et de la lèpre. Elle exploite la paroi riche en acides mycoliques, résistante à la décoloration par l'alcool acide. Les bactéries acido-alcoolo-résistantes apparaissent rouges, tandis que les autres micro-organismes, contre-colorés au bleu de méthylène, apparaissent bleus.

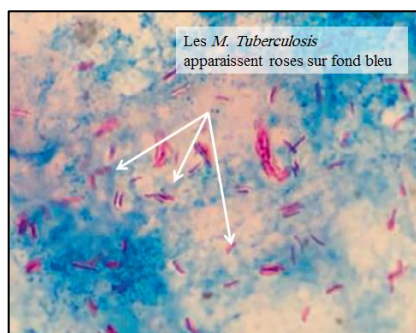


Figure II.1. 10: Coloration acido-alcoolo-résistante

► **Coloration de structures spécifiques**

La coloration négative est une technique spécifique utilisée pour mettre en évidence la présence de capsules bactériennes, qui sont des structures extracellulaires muqueuses jouant un rôle important dans la protection et la virulence. Contrairement aux colorations classiques, ce procédé ne colore pas directement la capsule. À la place, il utilise des colorants tels que l'encre de Chine ou la nigrosine, qui assombrissent l'arrière-plan. La capsule apparaît alors comme une zone claire et incolore entourant la cellule, créant ainsi un contraste net avec le fond sombre et la cellule elle-même.

Cette méthode est particulièrement utile pour l'identification de bactéries capsulées comme *Klebsiella pneumoniae* ou *Cryptococcus neoformans*.

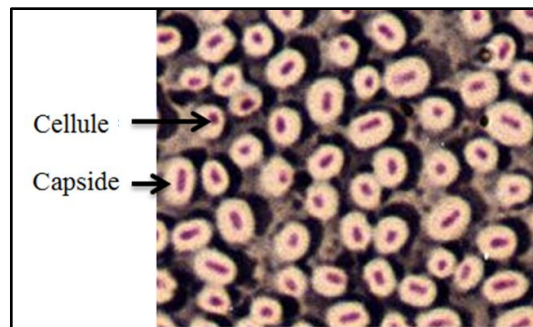


Figure II.1. 11: Coloration negative de la capsule

La coloration des spores permet de visualiser les endospores bactériennes, résistantes et difficiles à colorer par les méthodes classiques. La technique de Schaeffer-Fulton utilise le vert de malachite comme colorant primaire, chauffé pour pénétrer les endospores, puis la safranine comme contre-colorant pour le cytoplasme. Les endospores apparaissent vertes (ou bleues) et les cellules végétatives en rose ou rouge, permettant une distinction nette.

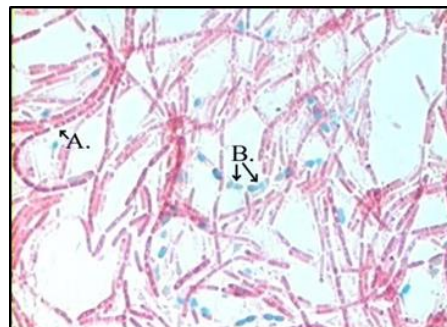


Figure II.1. 12: coloration des spores (A: Bactérie; B: Spore)

La coloration des flagelles est une technique spéciale destinée à mettre en évidence ces structures de locomotion extrêmement fines, généralement invisibles en microscopie optique classique. Afin de les rendre observables, on utilise un mordant qui permet d'épaissir artificiellement les flagelles en favorisant la fixation successive de colorants. Cette étape accroît leur diamètre apparent, ce qui facilite leur visualisation au microscope optique.

Cette méthode est particulièrement utile pour l'identification des genres bactériens mobiles, tels que *Salmonella* ou *Proteus*, chez lesquels l'arrangement et le nombre de flagelles constituent des critères taxonomiques importants.



Figure II.1. 13: coloration des flagelles

II.2. La morphologie cellulaire

II.2.1. Vue d'ensemble de la structure de la cellule procaryote

Les procaryotes présentent une grande variété de tailles, de formes et d'arrangements cellulaires. Leur organisation est plus simple que celle des eucaryotes, car ils sont dépourvus de noyau et d'organites membranaires. Toutefois, ils possèdent des structures uniques, telles que les plasmides, les pili ou les inclusions, qui ne se retrouvent pas chez les eucaryotes.

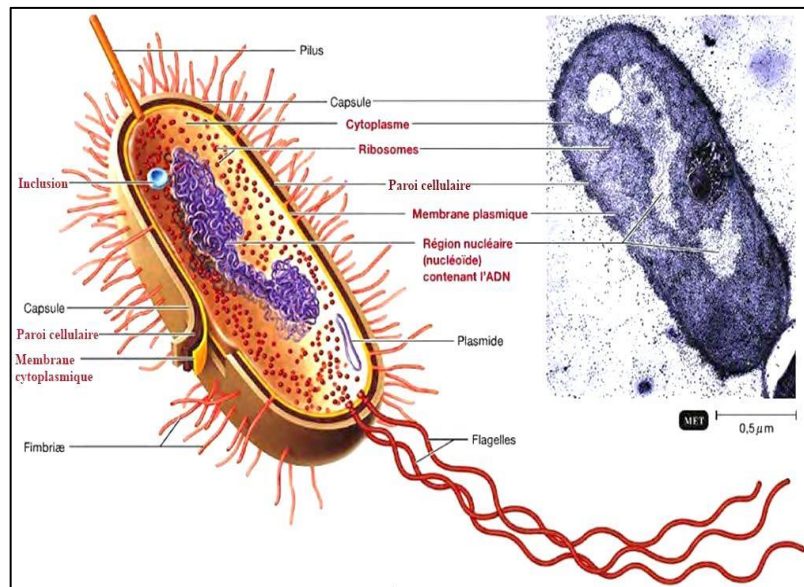


Figure II.2. 1: Structure d'une cellule bactérienne.

II.2.2. La taille de la cellule bactérienne

La petite taille des cellules bactériennes constitue un avantage adaptatif majeur. Elle permet une croissance et une multiplication rapides, favorisant ainsi une propagation efficace dans divers environnements. Cette dimension réduite facilite également une adaptation rapide aux conditions changeantes, notamment par des ajustements métaboliques et comportementaux. La surface cellulaire proportionnellement élevée par rapport au volume permet une exploitation plus efficace des ressources disponibles dans le milieu.



Figure II.2. 2 : Taille d'une cellule bactérienne.

II.2.3. La forme et le mode de groupement

Les catégories courantes de bactéries en fonction de leur forme sont :

Cocci (en forme de sphère)

Les bactéries de forme ovale ou sphérique sont appelées bactéries cocci. Ceux-ci peuvent soit resté seuls, soit être attachés les uns aux autres en groupes. Ils apparaissent aplatis lorsqu'ils sont placés en groupes.

Bacilles (en forme de bâtonnet)

Ce sont des cellules en forme de bâtonnet qui, comme les coques, restent soit uniques, soit attachées à d'autres cellules.

Spirale

Ce groupe comprend les bactéries de forme hélicoïdale ou courbée (en forme de virgule). Les bactéries peuvent aller d'une spirale légèrement courbée à une spirale en forme de tire-bouchon.

II.2.4. Arrangements de Cocci

Les bactéries Cocci peuvent être disposées individuellement, par paires, en groupes de quatre, en chaînes, en grappes ou en cubes constitués de huit cellules. Ces cellules restent attachées lors de la division cellulaire.

II.2.4.1. Coccus

Ce groupe comprend les bactéries présentes sous forme de cellule unique.

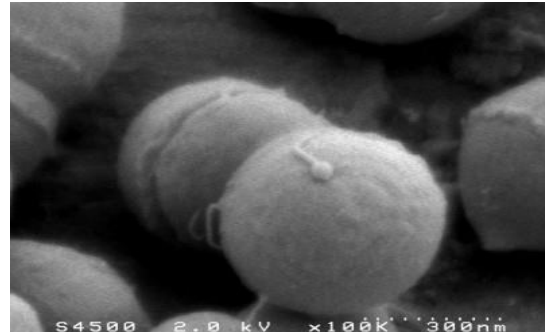
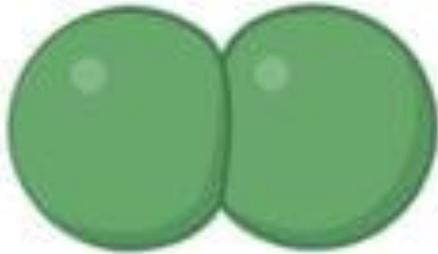


Figure II.2. 3 : Schéma de la forme cocci isolé

II.2.4.2. Diplocoques

Cet arrangement se produit lorsque deux cellules bactériennes forment une paire (réunies). Certaines des cellules de cet agencement peuvent rester sphériques tandis que d'autres peuvent apparaître aplaties, allongées ou en forme de haricot.

Exemples : *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Enterococcus spp*, *Neisseria gonorrhoeae*.



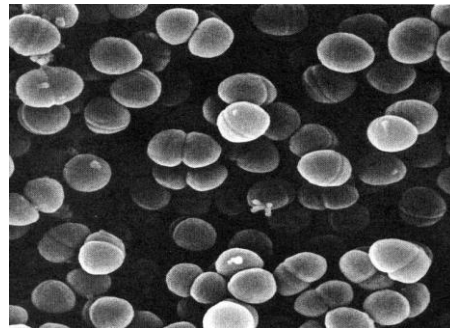
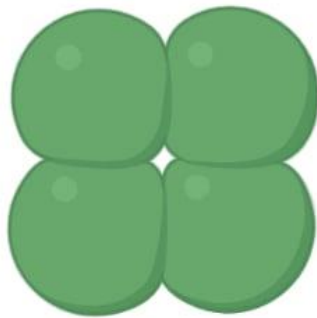
Enterococcus faecalis

Figure II.2. 4 : Schéma et observation microscopique de la forme diplocoque

II.2.4.3. Tétrade

Les bactéries tétrades sont disposées en groupe de quatre cellules qui restent attachées et se développent dans l'attachement après la division cellulaire. Cet arrangement se produit lorsque les cellules se divisent en deux plans.

Exemples : *Aerococcus*, *Pediococcus* et *Tetragenococcus*.



Pediococcus

Figure II.2. 5 : Schéma et observation microscopique de la forme tétrade

II.2.4.4. Sarcina

Dans cette disposition, les cellules bactériennes forment un groupe de huit cellules. Cela se produit lorsque les cellules se divisent dans un plan perpendiculaire. La caractéristique commune associée à ces organismes est leur anaérobiose stricte. Exemples : *Sarcina aurantiaca*, *Sarcina lutea*, *Sarcina ventriculi*.

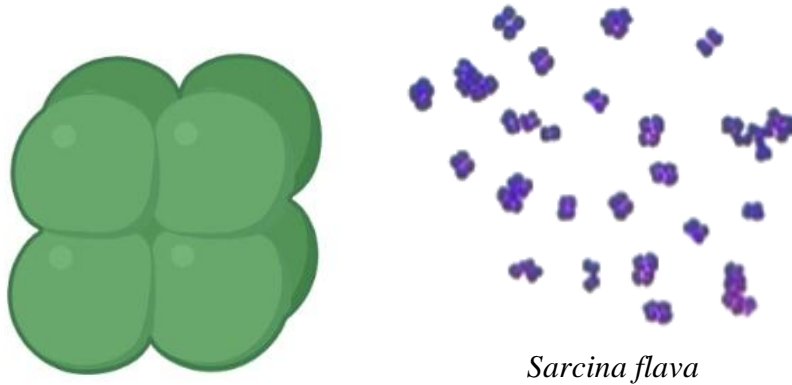


Figure II.2. 6 : Schéma et observation microscopique de la forme sarcina

II.2.4.5. Streptocoques

Les bactéries sont disposées en longues chaînes. Ces bactéries sont présentes dans la famille des Streptococcaceae, caractérisée par un manque de motilité et des bactéries à Gram positif.

Exemples : *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumonia*, *Streptococcus mutans* .

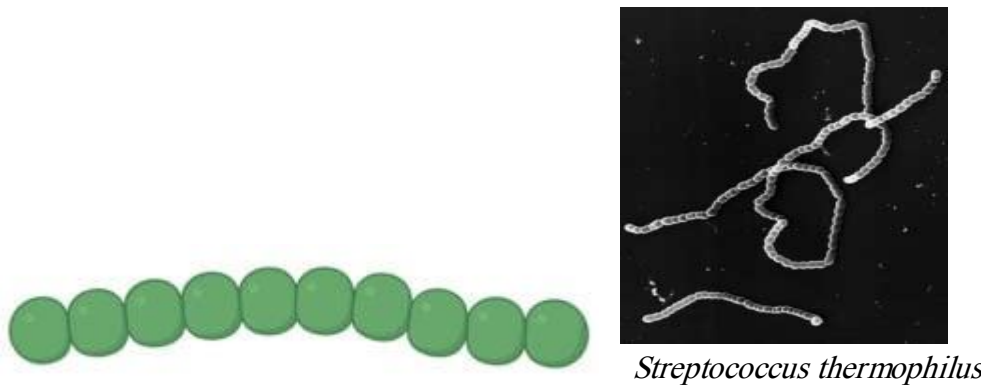


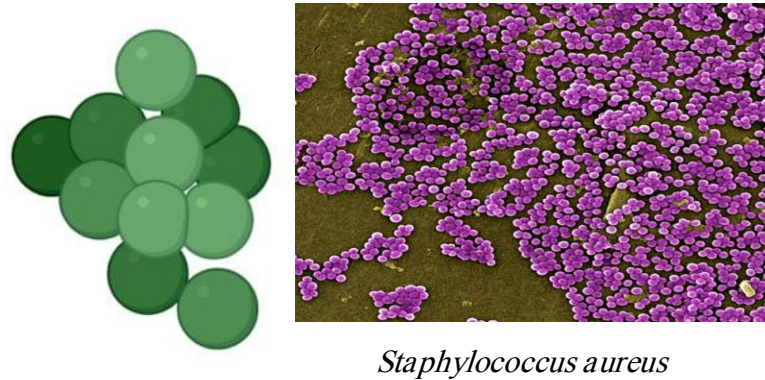
Figure II.2. 7 : Schéma et observation microscopique de la forme streptocoque

II.2.4.6. Staphylocoques

Ce type comprend des bactéries disposées en grappes ressemblant à des raisins.

Cela résulte de la division cellulaire dans les deux plans et est caractérisé par des organismes immobiles et Gram-positifs.

Exemples : *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus capitis*.



Staphylococcus aureus

Figure II.2. 8 : Schéma et observation microscopique de la forme staphylocoque

II.2.5. L'influence la division cellulaire sur la forme et le mode de groupement des cocci

Chez les bactéries, les cocci (formes sphériques) se regroupent selon le plan de division et l'adhérence des cellules filles. Une division dans un plan produit des diplocoques ou streptocoques, dans deux plans des tétrades, dans trois plans des sarcines, et une division irrégulière en plusieurs plans des staphylocoques en amas.

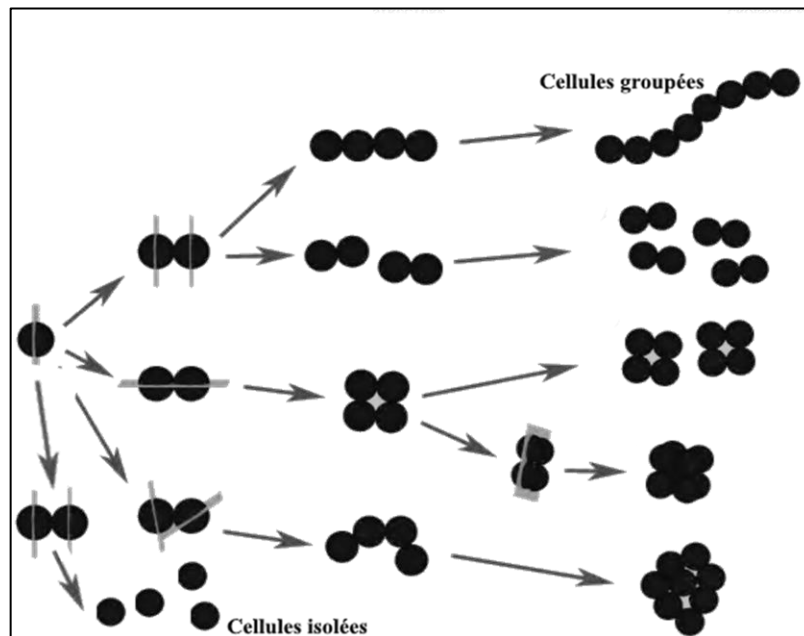


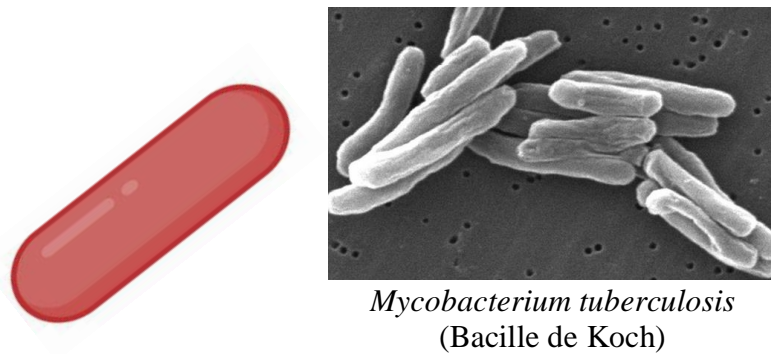
Figure II.2. 9 : Les formes morphologiques et les modes d'arrangement des cocci

II.2.6. Arrangements des bacilles

II.2.6.1. Bacille

Les bacilles sont des bactéries en forme de bâtonnet et présentes sous forme de cellules uniques.

Exemples : *Salmonella enterica subsp*, *Bacillus cereus* et *Salmonella choleraesuis*.



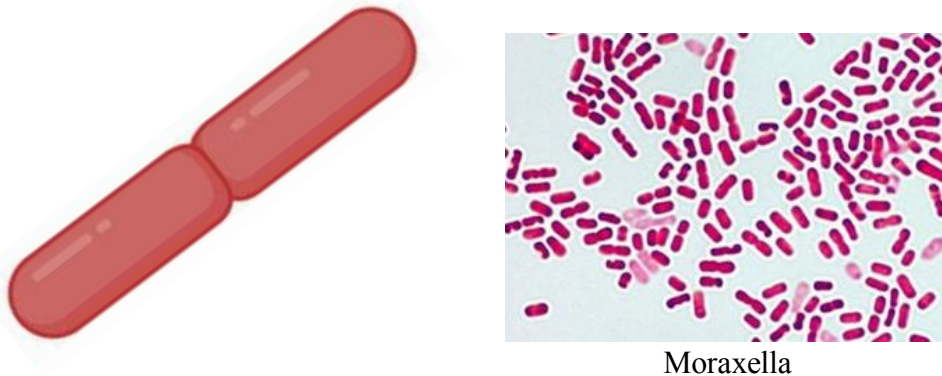
Mycobacterium tuberculosis
(Bacille de Koch)

Figure II.2. 10 : Schéma et observation microscopique de la forme bacille isolé

II.2.6.2. Diplobacilles

Comme les diplocoques, les diplobacilles existent également par paires. Après la division cellulaire, les deux cellules nouvelles restent attachées, formant une paire

Exemples : *Coxiella burnetii*, *Klebsiella rhinoscleromatis*, *Moraxella bovis*.



Moraxella

Figure II.2. 11 : Schéma et observation microscopique de la forme diplobacille

II.2.6.3. Streptobacilles

Dans ce groupe, les bactéries sont disposées en chaînes. Cela résulte de la division cellulaire en une seule chaîne.

Exemples : *Streptobacillus moniliformis*, *Streptobacillus Levaditi*, *Streptobacillus felis*, *Streptobacillus hongkongensis*.



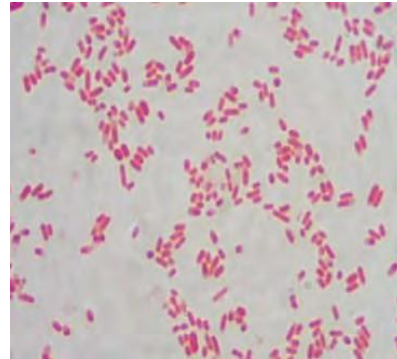
Bacillus thuringiensis

Figure II.2. 12 : Schéma et observation microscopique de la forme streptobacille

II.2.6.4. Coccobacilles

Comme leur nom l'indique, les coccobacilles ressemblent à la fois aux coques et aux bacilles. Ceux-ci sont plus petits et semblent donc trapus.

Exemples : *Chlamydia trachomatis*, *Haemophilus influenza*, *Gardnerella vaginalis*.



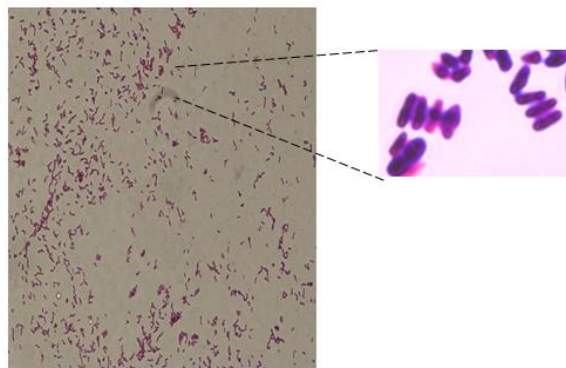
Escherichia coli

Figure II.2. 13 : Schéma et observation microscopique de la forme coccobacille

II.2.6.5. Palissades

Les palissades sont le type de bacilles qui ressemblent à une structure de palissade en raison de la courbure au point de division pendant la division cellulaire. Elles ressemblent aux lettres chinoises.

Exemple : *Corynebacterium diphtheriae* qui provoque la diphtérie



Corynebacterium striatum

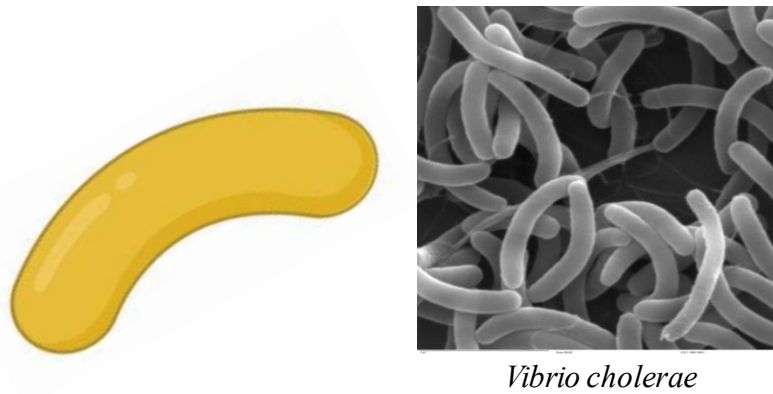
. Figure II.2. 14 : Schéma et observation microscopique de la forme palissade (paquet)

II.2.7. Disposition de la spirale

II.2.7.1. Vibrio

Ce sont des bactéries légèrement incurvées ressemblant à une forme de virgule.

Exemples : *Vibrio mytili*, *Vibrio anguillarum*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholera*.



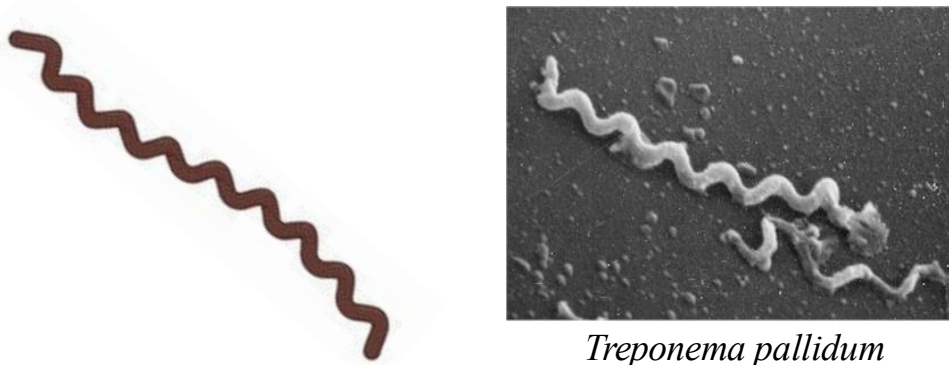
Vibrio cholerae

Figure II.2. 15 : Schéma et observation microscopique de la forme incurvé (spirale)

II.2.7.2. Spirochètes

Les spirochètes sont des bactéries spirales ayant une forme hélicoïdale. Ceux-ci sont flexibles et possèdent un filament axial qui facilite la motilité. Ces filaments constituent un caractère distinctif essentiel entre les spirochètes et les autres bactéries.

Exemples : espèces de *Leptospira* (*Leptospira interrogans*), *Treponema pallidum*, *Borrelia recurrentis*.



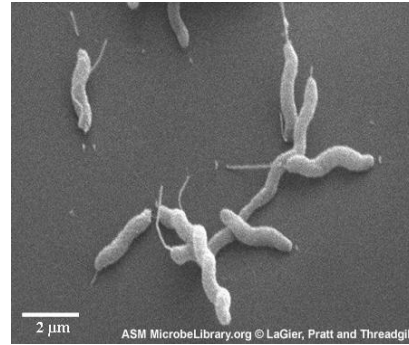
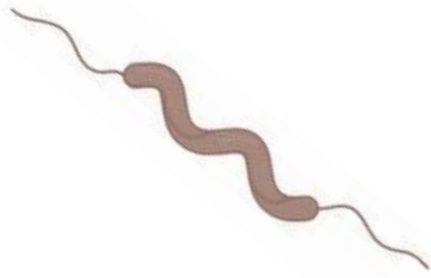
Treponema pallidum

Figure II.2. 16 : Schéma et observation microscopique de la forme spirochète

II.2.7.3. Spirilla (forme hélicoïdale/tire-bouchon)

Ces bactéries ont une structure similaire à celle des spirochètes mais sont plus rigides. Eux aussi ont un flagelle mais n'ont pas d'endoflagelle comme chez les spirochètes.

Exemples : *Campylobacter jejuni*, *Helicobacter pylori* , *Spirillum winogradskyi*.



Campylobacter jejuni

Figure II.2. 17 : Schéma et observation microscopique de la forme hélicoïdale

Autres formes et arrangements

II.2.7.4. Bactéries appendices

Les bactéries qui produisent une structure unique comme les pillules ou les fimbriae sont appelées bactéries appendices.

Exemple : *Neisseria gonorrhoeae*, l'agent de la gonorrhée.

II.2.7.5. Bactéries en forme de boîte/rectangulaire

Les bactéries en forme de boîte sont de forme rectangulaire et ressemblent à une boîte.

Exemple : *Haloarcula marismortui*.

II.2.7.6. Bactéries filamenteuses

Ce sont des bactéries longues, fines et en forme de filament. Ils se divisent parfois pour former des branches ressemblant à des mèches de cheveux ou à des spaghettis appelées mycélium.

Exemple : Actinomycètes.

II.2.7.7. Bactéries en forme d'étoile

Les bactéries qui ressemblent à des étoiles ou sont en forme d'étoile font partie de ce groupe.

Exemples : *Stella humosa*.

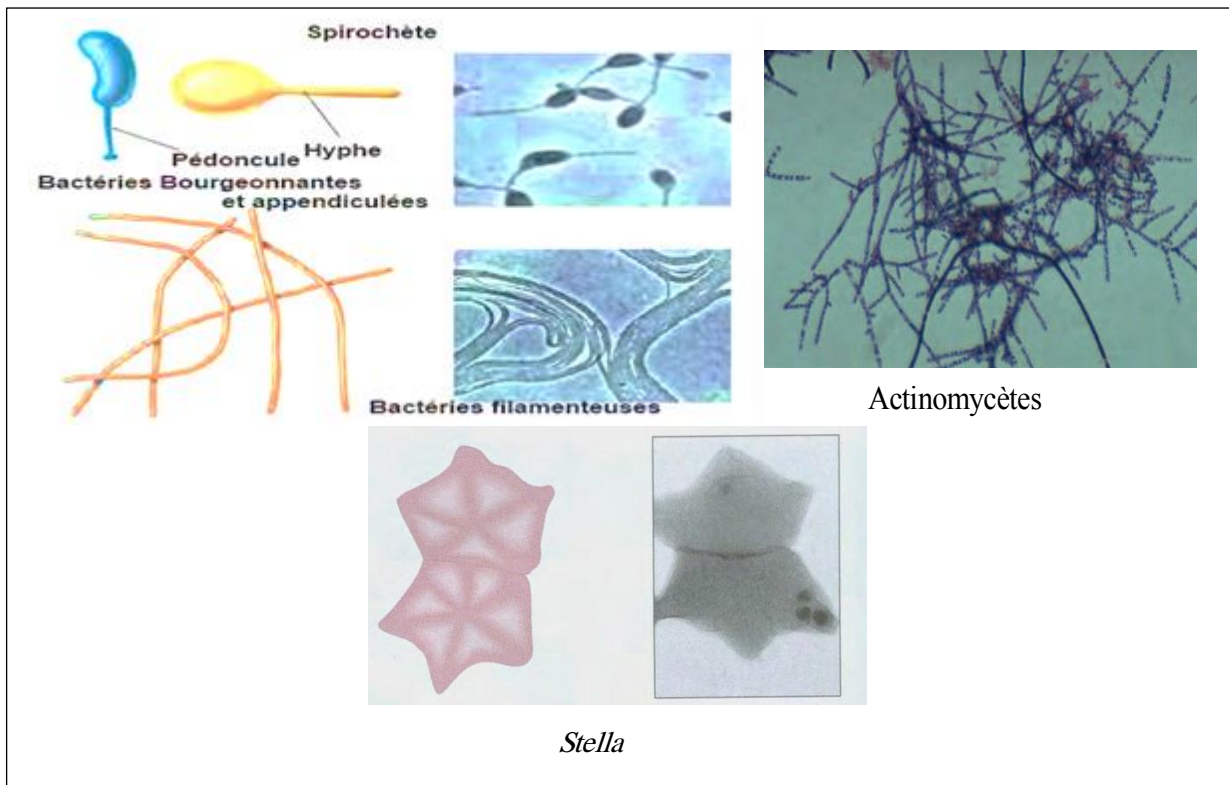


Figure II.2. 18 : les autres formes (bourgeonnante, appendoncule, filamenteuse et stellaire)

II.3.La paroi

La paroi est un élément essentiel de la structure bactérienne présente chez la plupart des bactéries (absente chez les mycoplasmes et quelques archéobactéries).

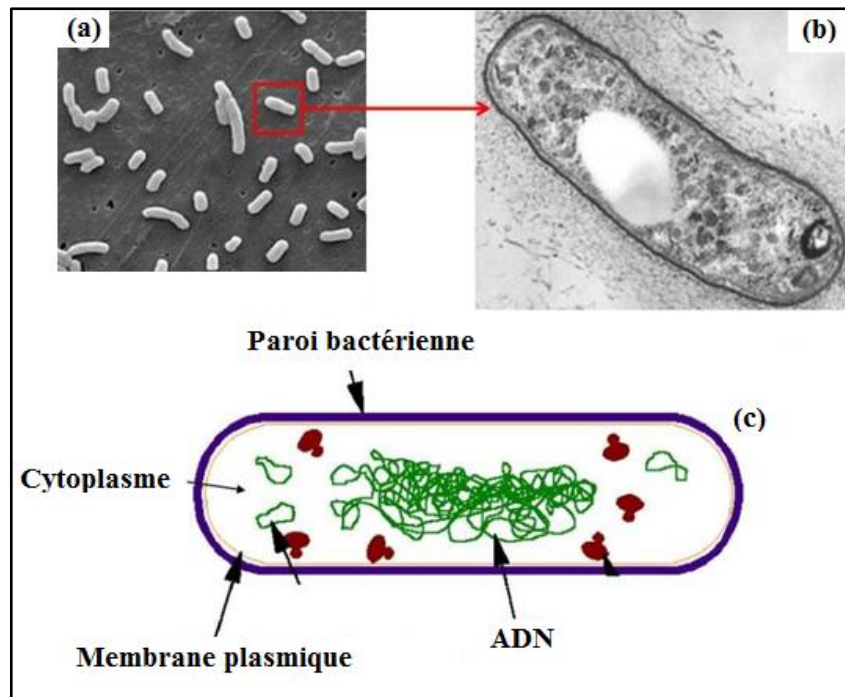
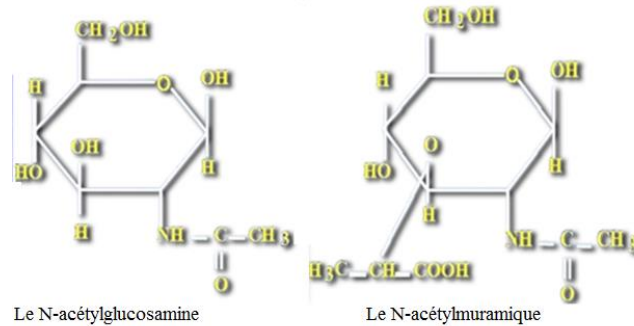


Figure II.3. 1 : Schéma et observation microscopique de la paroi bactérienne
 (a) Bactéries observées au microscope(MEB) x5000. (b) Bactérie observée au microscope(MET) x20000. (c) Schéma d’une bacterie.

II.3.1. Composition chimique :

II.3.1.1. Les osamines (sucres aminés) :

Ce sont des sucres aminés, composés de molécules de sucre qui ont un groupe amine (-NH₂) attaché à elles. Chez certaines espèces présence de galactosamine en faible quantité



II.3.1.2. Les acides aminés :

Les acides aminés sont les unités de base des protéines, constitués d'un groupe amine (-NH₂), d'un groupe carboxyle (-COOH) et d'une chaîne latérale R variable. Dans le peptidoglycane bactérien, on retrouve principalement la L-Alanine, la D-Alanine, l'acide D-Glutamique ainsi que la L-Lysine ou l'acide Diamino-Pimélique (DAP).

Selon les espèces, d'autres acides aminés peuvent être présents, comme la glycine chez *Staphylococcus aureus* ou l'acide aspartique chez *Lactobacillus acidophilus*.

Deux particularités caractérisent ces acides aminés : la présence de formes D, inhabituelles dans les protéines classiques, et la présence du DAP, un acide aminé non protéogène spécifique de la paroi bactérienne

II.3.1.3. Les oses simples :

Ce sont des glucides simples ou monosaccharides, qui sont les unités de base des polysaccharides comme : Glucose, galactose, mannose.....

Certains sont spécifiques (exemple: rhamnose chez les streptocoques du groupe A). La nature et l'enchaînement des sucres déterminent la spécificité antigénique de la paroi.

II.3.1.4. Les lipides :

Ce sont des molécules organiques qui sont insolubles dans l'eau mais solubles dans les solvants organiques tels que l'éther et le chloroforme. Représentent de 10 à 22 % chez les bactéries à Gram -. Presque absents chez les bactéries à Gram +

II.3.1.5. Les acides téichoïques :

Les acides téichoïques sont des polymères de glycérol-phosphate ou de ribitol-phosphate reliés par des liaisons phosphodiester. Ils sont présents exclusivement chez les bactéries à Gram positif, où ils

peuvent représenter jusqu'à 50 % de la masse de la paroi. On distingue les acides téichoïques pariétaux (liés au peptidoglycane) et les acides lipotéichoïques (ancrés dans la membrane cytoplasmique)

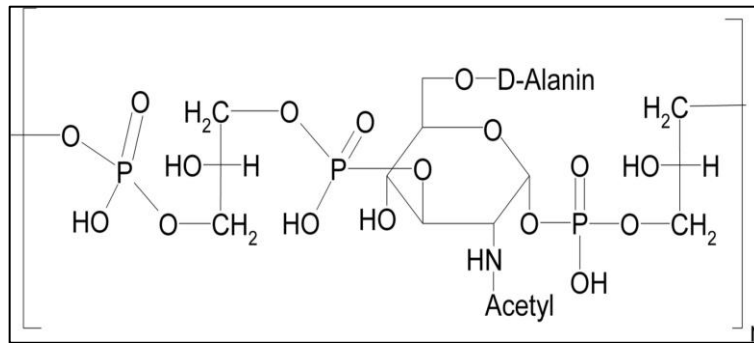


Figure II.3. 2 : Les acides téichoïques

II.3.1.6. Les acides mycoliques :

Ce sont des acides gras très longs chaînes (60C) et ramifiés présents dans la paroi cellulaire des mycobactéries. Présents chez certaines bactéries particulières (les mycobactéries).

II.3.2. Structure moléculaire

Le peptidoglycane, aussi appelé muréine (Peptidoglycane = Mucopéptide = Muréine = Mucocomplexe), est un polymère complexe qui constitue l'élément structural essentiel de la paroi bactérienne. Il assure à la fois la rigidité, la protection mécanique et la forme de la cellule. On le retrouve chez la majorité des bactéries, mais avec des variations structurales importantes entre Gram positif et Gram négatif.

Le peptidoglycane est constitué de chaînes polysaccharidiques formées par l'alternance de deux sucres aminés : N-acétylglucosamine (NAG) et N-acétylmuramique (NAM)

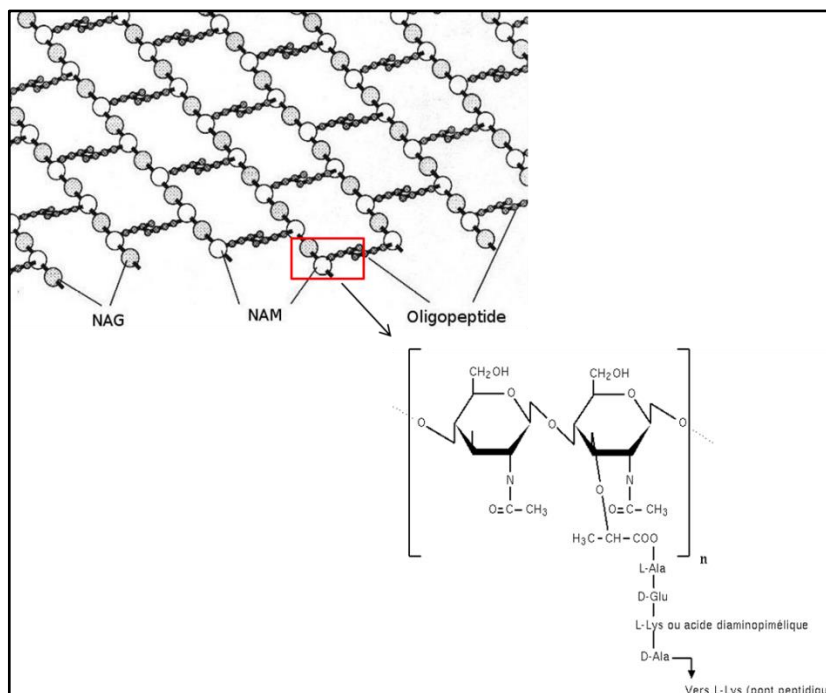


Figure II.3. 3 : Structure générale de peptidoglycane

Ces unités sont reliées par des liaisons β -(1,4) glycosidiques. Sur chaque résidu de NAM est fixé un court peptide (souvent térapeptide) contenant des acides aminés inhabituels comme le D-glutamate ou la méso-diaminopimélate. Ces peptides s'associent entre eux par des pontages peptidiques, ce qui forme un réseau tridimensionnel rigide. L'unité structurale du peptidoglycane, un glucosaminopeptide : Glycane

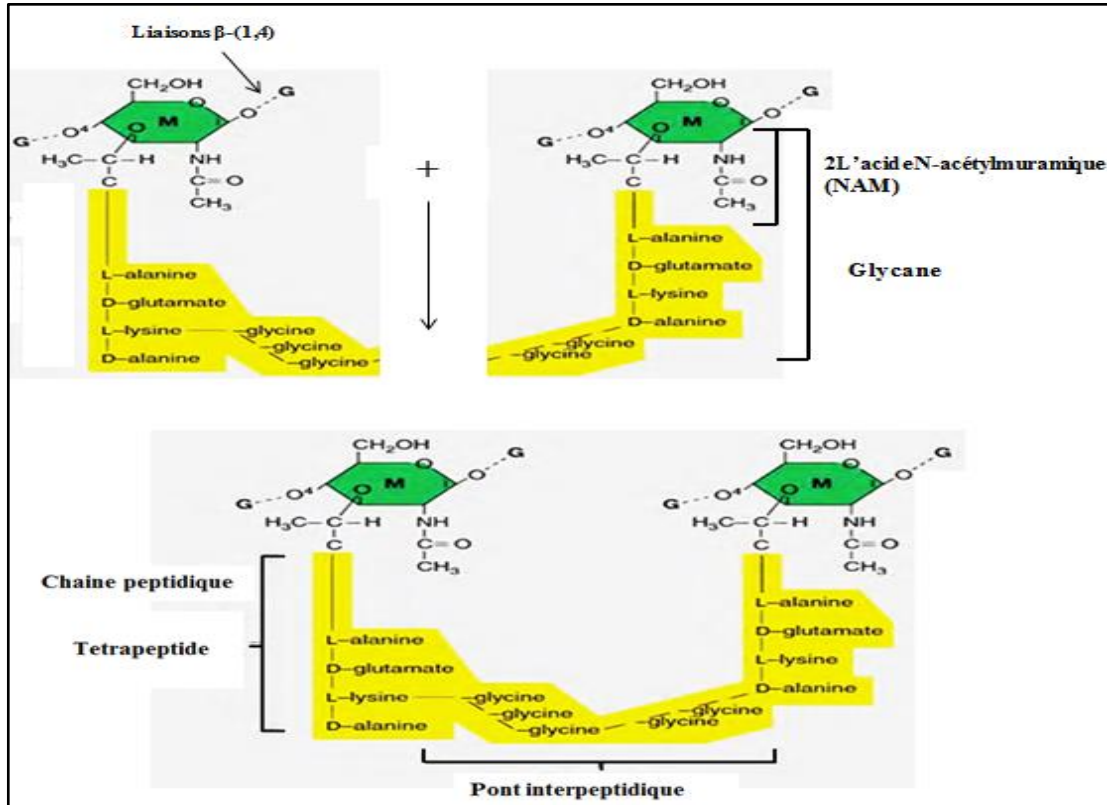


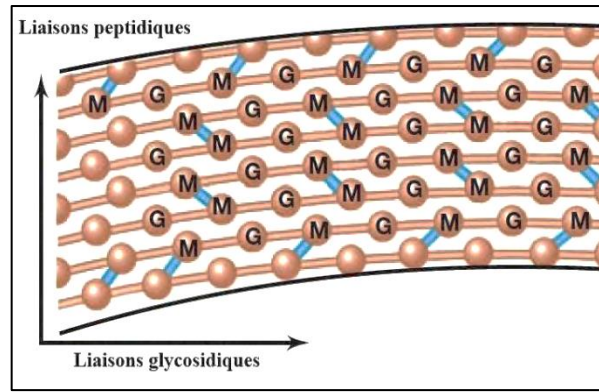
Figure II.3. 4 : Formation de pont interpeptidique entre les glycanes des chaînes adjacentes

II.3.2.1. Caractéristiques structurales du peptidoglycane

La structure en réseau tridimensionnel du peptidoglycane, qui confère à la cellule bactérienne sa rigidité et sa résistance mécanique, repose sur plusieurs éléments fondamentaux :

a. Les liaisons glycosidiques β -(1,4) :

Elles unissent l'acide N-acétylmuramique (NAM) au N-acétylglucosamine (NAG), constituant l'ossature polysaccharidique linéaire. Cette liaison est sensible à l'action de la lysozyme, une enzyme hydrolysant spécifiquement les ponts NAM–NAG.



G: N-acétylglucosamine (NAG) + M: l'acide N-acétylmuramique (NAM) (la chaîne glycane)

Figure II.3. 5 : les liaisons glycosidiques horizontales et les liaisons peptidiques verticales

b. L'ordre invariable du térapeptide :

Sur chaque résidu de NAM est attaché un térapeptide qui suit une organisation conservée, comprenant souvent : L-alanine ; D-glutamate ; Acide mésodiaminopimélique (DAP) ou L-lysine (selon l'espèce bactérienne) ; D-alanine (terminaison).

Cette composition en D-acides aminés est atypique et contribue à la résistance du peptidoglycane vis-à-vis des protéases classiques.

c. Les pontages peptidiques :

La rigidité du réseau provient des liaisons covalentes établies entre le groupement carboxyle de la D-alanine terminale d'un térapeptide et le groupement amine de la L-lysine ou du DAP d'une chaîne voisine.

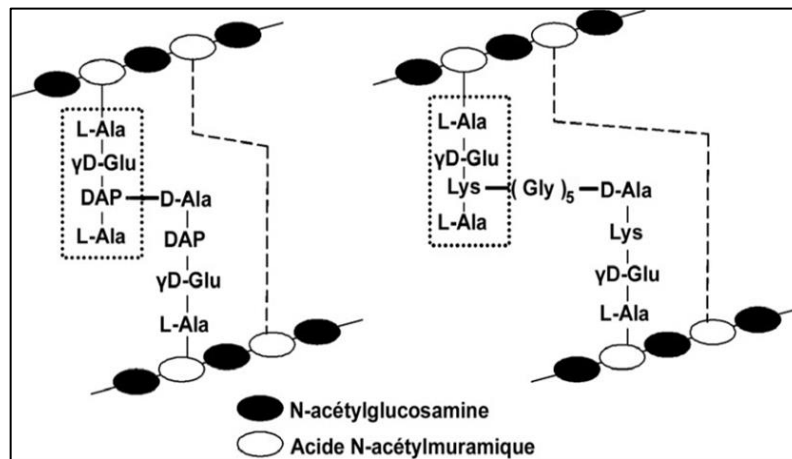


Figure II.3. 6 : Le pontage peptidique

Ces pontages varient selon les espèces :

- Directs (ex. *Escherichia coli*)
- Indirects via un pont peptidique intercalé (ex. *Staphylococcus aureus* avec une pentaglycine).

L'association avec les acides teichoïques (chez les Gram positifs) :

Dans les bactéries Gram positif, le peptidoglycane est étroitement lié à des acides teichoïques et lipoteichoïques. Ces polymères anioniques sont fixés par des liaisons β -glucosidiques au résidu N-acétylglucosamine (NAG) du squelette polysaccharidique. Ils participent à la charge négative de la paroi et au rôle d'ancrage de protéines de surface

II.3.3. Observation microscopique et organisation de la paroi bactérienne

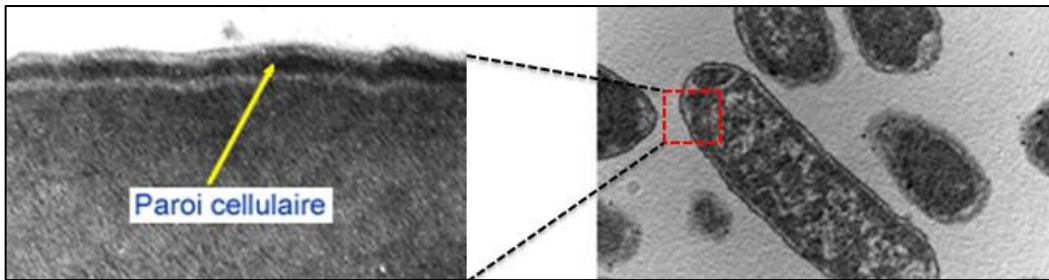
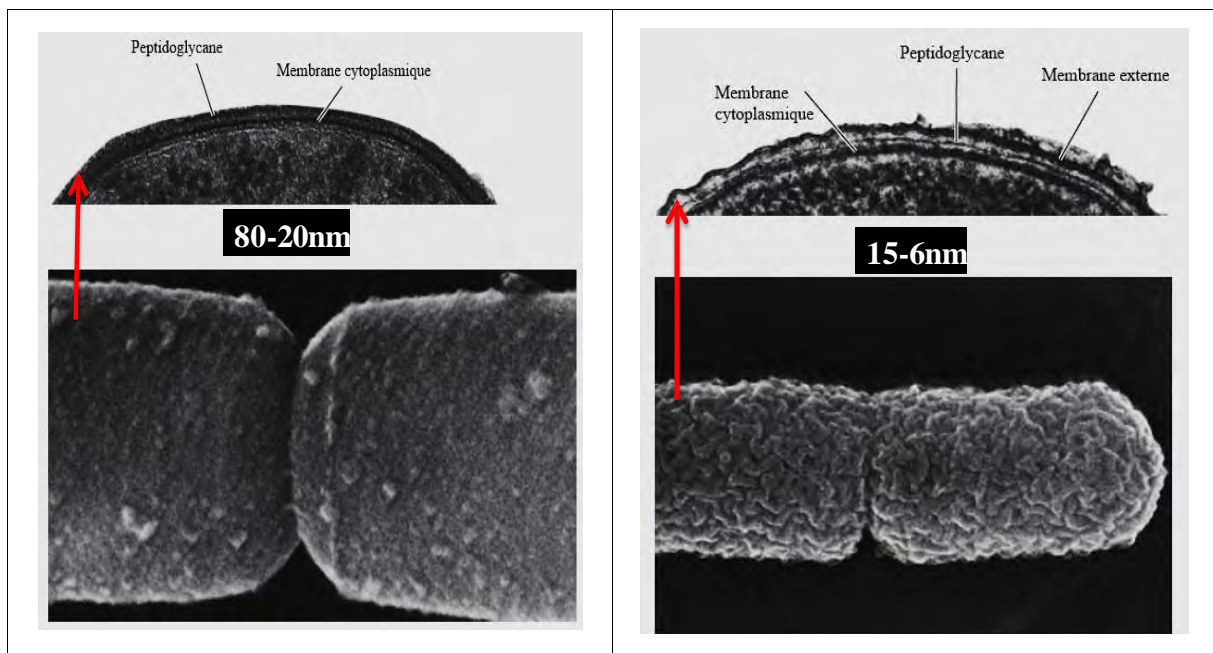


Figure II.3. 7 : La paroi bactérienne observée au microscope électronique à transmission (MET)

La paroi bactérienne constitue une structure essentielle qui confère forme, rigidité et protection aux cellules bactériennes. Chez les bactéries Gram positif image à droite, la paroi est caractérisée par une épaisse couche de peptidoglycane (20–80 nm) représentant jusqu'à 90 % de la masse de l'enveloppe. Cette couche unique entoure directement la membrane cytoplasmique, assurant une forte résistance mécanique et une protection contre la lyse osmotique. L'absence de membrane externe distingue les Gram positif.

À l'inverse, les bactéries Gram négatif présentent une organisation plus complexe. Leur paroi est constituée d'une fine couche de peptidoglycane (2–7 nm), nettement plus mince que celle des Gram positif, située dans un espace périplasmique entre deux membranes. La membrane cytoplasmique interne est recouverte par une membrane externe spécifique, composée de phospholipides.



<p>Structure de la paroi de bactérie à Gram positif observé par microscope électronique à transmission en haut. Image de microscopie électronique à balayage (MEB) représentant deux bactéries en contact en bas.</p>	<p>Structure de la paroi de bactérie à Gram négatif observé par microscope électronique à transmission en haut. Image de microscopie électronique à balayage (MEB) représentant une bactérie bacillaire en cours de division en bas.</p>
---	--

Figure II.3. 8 : Comparaison microscopique de la paroi bactérienne à Gram positif et à Gram négatif

II.3.3.1. Présentation comparée de la paroi bactérienne Gram positif et Gram négatif

La paroi bactérienne assure forme, rigidité et protection. Chez les Gram-positifs, elle se compose d'une épaisse couche de peptidoglycane (20–80 nm), représentant jusqu'à 90 % de l'enveloppe, entourant directement la membrane cytoplasmique. Elle confère résistance mécanique, protection contre la lyse osmotique et facilite la pénétration de certains antibiotiques. Les acides teichoïques et lipoteichoïques participent à l'ancrage et à la régulation ionique.

Chez les Gram-négatifs, la paroi est plus complexe : une fine couche de peptidoglycane (2–7 nm) se situe dans l'espace périplasmique entre deux membranes. La membrane externe, composée de phospholipides et de lipopolysaccharides (LPS), constitue une barrière contre les agents toxiques et les antibiotiques et contribue à la pathogénicité.

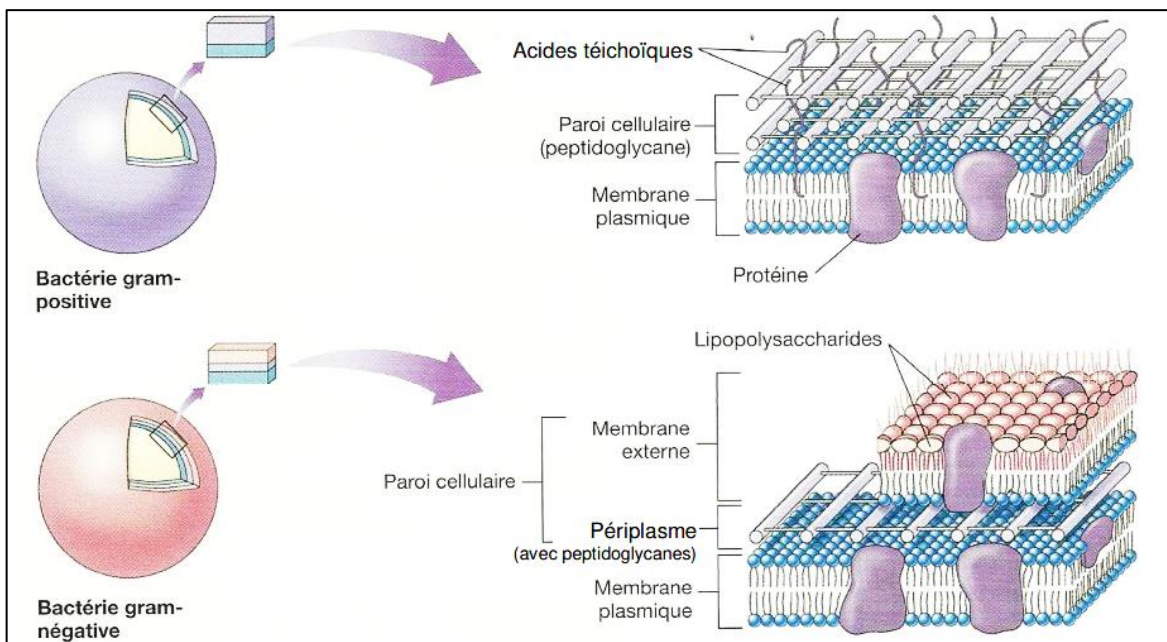


Figure II.3. 9 : Comparaison structurale de la paroi bactérienne à Gram positif et à Gram négatif

II.3.4. Fonctions de la paroi

Ses fonctions sont multiples et stratégiques pour la survie des bactéries :

II.3.4.1. **Maintien de la forme et rigidité**

La paroi détermine la morphologie des bactéries (cocci, bacilles, spirilles) et empêche leur effondrement. Le peptidoglycane, grâce à son réseau tridimensionnel, agit comme une armature mécanique qui confère rigidité et résistance.

II.3.4.2. **Protection contre la pression osmotique**

Les bactéries vivent souvent dans des milieux hypotonique, où l'eau tend à pénétrer dans la cellule. La paroi empêche l'éclatement de la cellule (lyse osmotique) en supportant des pressions internes très élevées (jusqu'à 20 atm) .

II.3.4.3. **Barrière de perméabilité sélective**

Chez les bactéries Gram négatif, la présence d'une membrane externe confère une protection supplémentaire contre les antibiotiques, détergents et sels biliaires. Les protéines de porine permettent néanmoins le passage de petites molécules hydrophiles, assurant un contrôle sélectif des échanges.

II.3.4.4. **Interaction avec l'hôte et pathogénicité**

Chez les Gram positif, les acides teichoïques interviennent dans l'adhésion aux surfaces et dans la modulation de la réponse immunitaire. Chez les Gram négatif, les lipopolysaccharides (LPS) de la membrane externe jouent un rôle central dans la virulence et peuvent agir comme endotoxines, déclenchant une forte réponse inflammatoire chez l'hôte.

II.3.4.5. **Propriétés antigéniques:**

Les bactéries possèdent différents antigènes: (support) qu'elles soient Gram-positives ou Gram-négatives, possèdent différents antigènes ,

II.3.4.5.1. **Bactéries Gram-positives :**

- a) **Antigène de la paroi cellulaire** : Composé principalement de peptidoglycane, cet antigène est caractéristique des bactéries Gram-positives.
- b) **Antigène K (capsulaire)** : Présent dans la capsule externe de certaines bactéries Gram-positives, il peut jouer un rôle dans la virulence de ces bactéries.

II.3.4.5.2. **Bactéries Gram-négatives :**

- a) **Antigène O (ou somatique)** : Situé dans la partie externe du lipopolysaccharide (LPS), il est caractéristique des bactéries Gram-négatives.
- b) **Antigène H (ou flagellaire)** : Composé de protéines flagellaires, il est associé aux flagelles de certaines bactéries Gram-négatives.
- c) **Antigène R** : Associé aux polysaccharides de la capsule externe de certaines bactéries Gram-négatives, il peut influencer leur virulence et leur capacité à échapper au système immunitaire de l'hôte.

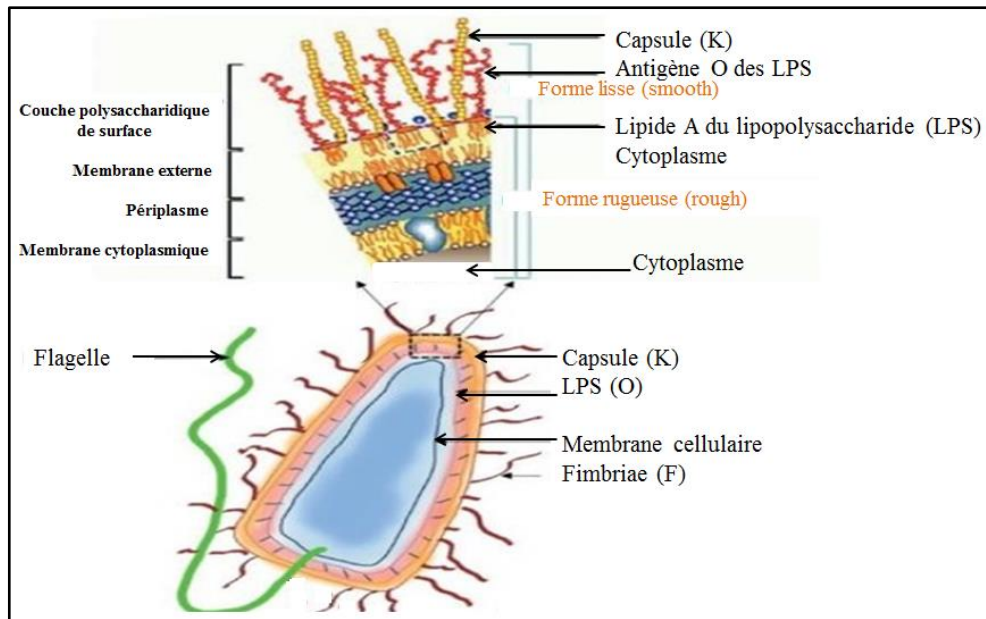


Figure II.3. 10 : Le support structural et antigénique de la paroi bactérienne

II.3.4.6. Fixation des bactériophages

La paroi bactérienne assure non seulement protection et structure, mais sert aussi de site de fixation pour les bactériophages. Chez les Gram-négatifs, les phages se fixent principalement sur des protéines de la membrane externe comme les porines. Chez les Gram-positifs, les récepteurs sont souvent les acides teichoïques et lipoteichoïques de la paroi, qui interagissent spécifiquement avec les phages.

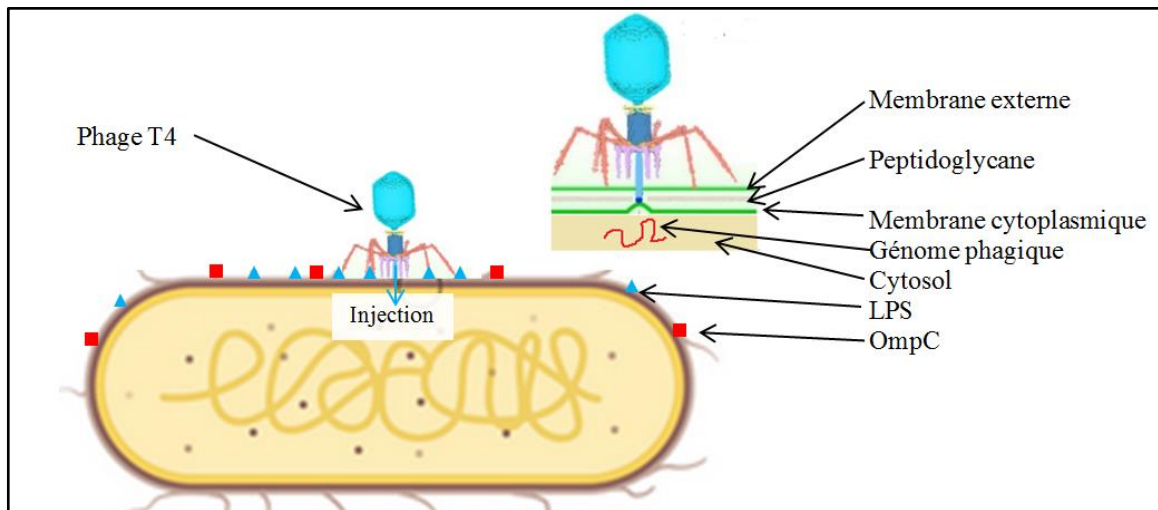


Figure II.3. 11 : Infection d'Escherichia coli par le phage T4 par des récepteurs LPS et OmpC

II.3.4.7. Division de la cellule bactérienne

La paroi bactérienne est impliquée dans la division cellulaire par la formation du septum de division.

La bactérie initie la division en formant un septum de division, une structure en forme de cloison composée de nouveaux composants de la paroi cellulaire. Les protéines et les enzymes responsables de la synthèse de ces composants se concentrent activement au site de formation du septum.

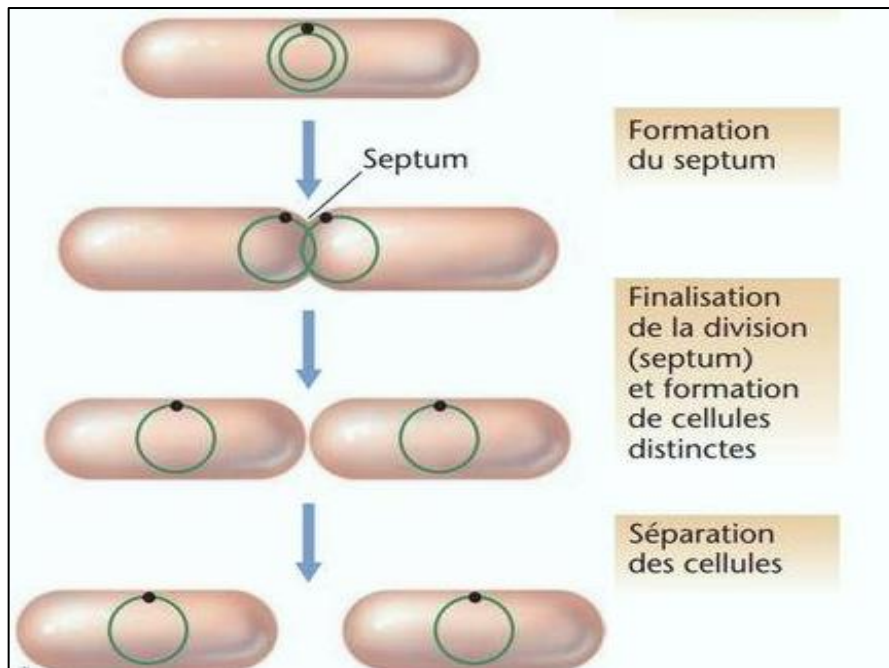


Figure II.3. 12 : Rôle de la paroi cellulaire dans la région du septum pendant la division bactérienne

II.3.4.8. La classification

La classification des bactéries repose en grande partie sur la composition et l’architecture de leur paroi cellulaire. Cette structure représente un critère fondamental pour distinguer les principaux groupes bactériens, notamment grâce à la coloration de Gram. En effet, selon la nature du peptidoglycane et la présence ou l’absence de membrane externe, les bactéries se divisent classiquement en Gram positif et Gram négatif .



II.3.5. Coloration de Gram

La coloration de Gram, développée par Hans Christian Gram en 1884, demeure l’une des techniques les plus fondamentales en microbiologie pour différencier les bactéries selon la structure de leur paroi cellulaire. Elle permet de distinguer deux grands groupes : les bactéries Gram positif et les bactéries Gram négatif.



II.3.5.1. Principe

La méthode repose sur la capacité des bactéries à retenir le complexe colorant cristal violet–lugol. Les bactéries Gram positif, possédant une épaisse couche de peptidoglycane, retiennent ce complexe après l’étape de décoloration à l’alcool-acétone, et apparaissent alors violettes. En revanche, les Gram négatif, dont la paroi est mince et entourée d’une membrane externe riche en lipopolysaccharides, perdent le colorant primaire après décoloration et se colorent en rose grâce à la safranine .

II.3.5.2. Étapes principales

1. Coloration primaire : application du cristal violet, qui pénètre toutes les bactéries.
2. Fixateur (lugol) : formation d’un complexe insoluble avec le cristal violet.

3. Décoloration : utilisation d'alcool ou d'alcool-acétone, qui élimine le colorant chez les Gram négatif.
4. Contre-coloration : application de safranine ou fuchsine basique, colorant secondaire absorbé uniquement par les Gram négatif.

II.3.5.3. Interprétation

Gram positif : cellules violettes (peptidoglycane épais).

Gram négatif : cellules roses/rouges (paroi mince + membrane externe).

Gram variables : certaines bactéries (par ex. Clostridium, Mycobacterium) peuvent donner des résultats intermédiaires selon leur état physiologique ou la méthode utilisée.

II.4. La membrane plasmique

La cellule, unité fondamentale de la vie, repose sur une organisation structurée qui lui permet de maintenir son intégrité, de communiquer avec son environnement, et d'assurer ses fonctions vitales. L'un des éléments clés de cette organisation est la membrane plasmique, aussi appelée membrane cellulaire.

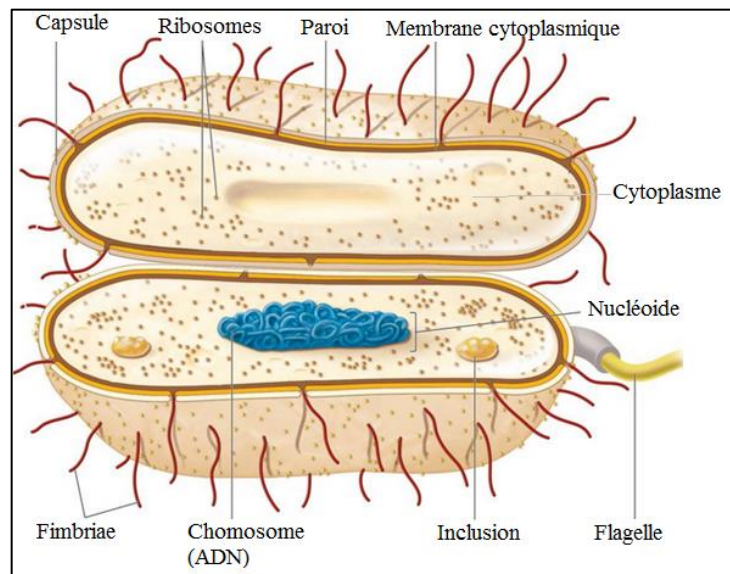


Figure II.4. 1 : Schéma général d'une cellule microbienne montrant la membrane plasmique.

La membrane plasmique des bactéries est dotée des fonctions supplémentaires. Elle y joue alors un rôle équivalent à celui de plusieurs organites eucaryotes, en assurant la respiration cellulaire, la photosynthèse (chez certaines bactéries), ou la synthèse des lipides.

II.4.1. Structure et composition chimique générale de la membrane plasmique

La membrane plasmique est une structure souple, fine et dynamique qui délimite la cellule vivante. Elle est constituée principalement de lipides, de protéines et, chez certains micro-organismes, de glucides associés. Son architecture est fondée sur le modèle de la mosaïque fluide, proposé par Singer et Nicolson en 1972, qui reste encore aujourd'hui un modèle de référence, bien que des raffinements y aient été apportés.

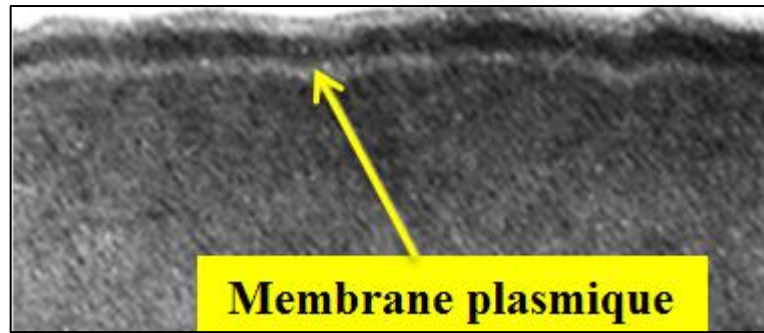


Figure II.4. 2 : Membrane plasmique d'une bactérie

II.4.1.1. La bicouche lipidique

Au cœur de la membrane plasmique se trouve une bicouche lipidique formée essentiellement de phospholipides. Ces molécules amphiphiles possèdent une tête hydrophile (polaire) orientée vers l'extérieur de la membrane et deux queues hydrophobes (non polaires) dirigées vers l'intérieur. Cette organisation permet la formation spontanée d'une double couche stable dans un environnement aqueux.

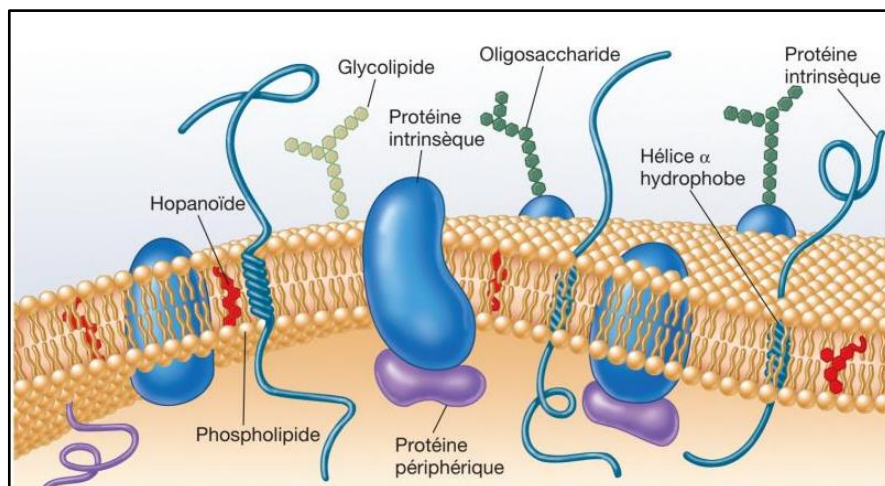


Figure II.4. 3 : Structure de la membrane plasmique.

Chez les bactéries, les lipides membranaires sont généralement composés de phosphatidyléthanolamine, phosphatidylglycérol, et parfois de cardiolipine. À la différence des archées, leurs lipides sont des esters de glycérol-3-phosphate, tandis que ceux des archées sont des éthers de glycérol-1-phosphate, conférant une meilleure stabilité thermique et chimique.

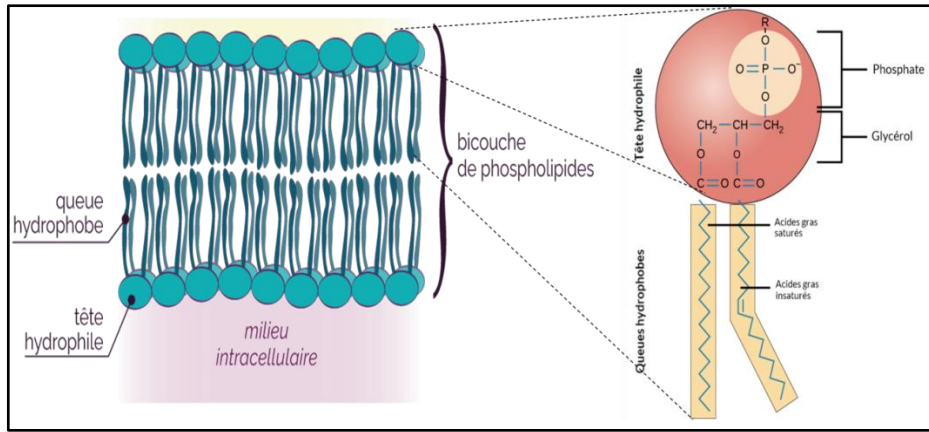


Figure II.4. 4 : Structure schématique des phospholipides

II.4.1.2. Les protéines membranaires

Les protéines membranaires sont classées en deux catégories principales :

- Protéines intrinsèques (ou intégrales) : elles traversent la bicouche lipidique ou y sont profondément insérées. Certaines servent de canaux, transporteurs, récepteurs ou enzymes.
- Protéines périphériques : elles sont associées à la surface de la membrane, souvent via des interactions électrostatiques avec les lipides ou d'autres protéines.

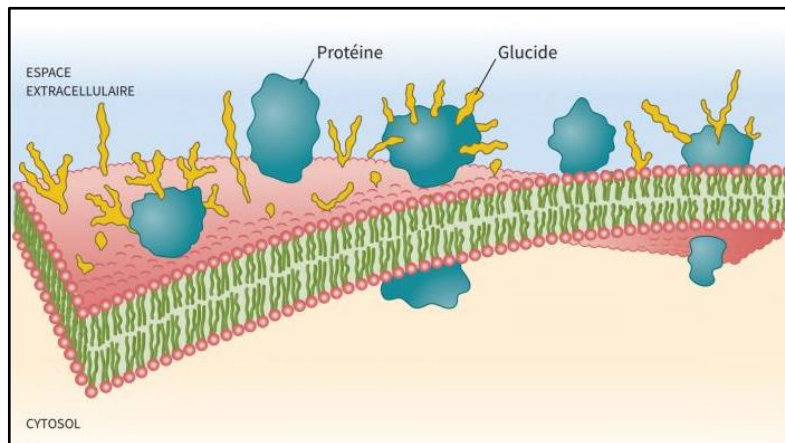


Figure II.4. 5 : Représentation du modèle de la mosaïque fluide: disposition des lipides et des protéines dans la membrane.

II.4.1.3. Glucides membranaires

Chez les bactéries, les glucides membranaires sont principalement localisés sur la face externe de la membrane plasmique, mais leur organisation et leur importance varient selon les types bactériens (Gram-positives, Gram-négatives, mycobactéries, etc.).

a. Nature des glucides membranaires bactériens

On trouve de nombreux glycolipides et glycoprotéines, les bactéries ont des structures plus spécifiques :

- Peptidoglycane (muramine) : Ce polymère (N-acétylglucosamine et acide N-acétylmuramique) n'est pas directement dans la membrane plasmique, mais ancré à celle-ci (surtout chez les Gram+).
- Acides teichoïques et lipoteichoïques (chez les Gram+), certains liés à la membrane par un ancrage lipidique (lipoteichoïque).
- Lipopolysaccharides (LPS) (chez les Gram-) : Ces macromolécules composées d'un lipide A, d'un cœur oligosaccharidique et d'un antigène O sont insérées dans la membrane externe, pas directement dans la membrane plasmique interne, mais elles sont des composants clés de la surface bactérienne.
- Glycolipides spécifiques : Certaines bactéries, comme les mycobactéries, possèdent des glycolipides complexes (lipoarabinomannanes, trehalose dimycolates) intégrés dans leur enveloppe.
- Capsules et glycocalyx : Structures polysaccharidiques extracellulaires attachées à la membrane plasmique ou à la paroi.

b. Fonctions des glucides membranaires

- Protection : Les polysaccharides (ex. capsules) protègent la bactérie contre la dessiccation et les défenses immunitaires.
- Reconnaissance et interaction avec l'hôte : Les antigènes O des LPS ou les glycolipides des mycobactéries sont des déterminants antigéniques importants.
- Adhésion : Les polysaccharides membranaires participent à la formation de biofilms et à l'adhésion aux surfaces.
- Rôle structural : Certains glucides, comme les acides teichoïques, stabilisent l'enveloppe bactérienne.
- Régulation de la perméabilité : Les LPS chez les Gram- régulent le passage de certaines molécules.

II.4.1.4. Fluidité et dynamique membranaire

La membrane plasmique n'est pas une structure figée. Les composants lipidiques et protéiques peuvent se diffuser latéralement, ce qui confère à la membrane une grande flexibilité et une capacité d'adaptation rapide aux changements environnementaux (pH, température, stress osmotique...).

Chez les bactéries thermophiles, la composition lipidique est ajustée pour maintenir une fluidité membranaire adéquate à haute température, par exemple en augmentant la proportion de chaînes lipidiques saturées ou ramifiées.

II.4.2. Fonctions biologiques de la membrane plasmique

La membrane plasmique ne constitue pas seulement une barrière physique ; elle est également essentielle à la survie et à l'adaptation des micro-organismes.

II.4.2.1. Délimitation et compartimentation

La première fonction fondamentale de la membrane plasmique est de délimiter le contenu cellulaire, séparant le cytoplasme du milieu extérieur. Cette délimitation permet la compartimentation biochimique, essentielle pour maintenir un environnement intracellulaire stable (homéostasie) malgré les variations extérieures.

II.4.2.2. Transport des substances

La membrane plasmique régule avec précision les échanges de substances entre la cellule et son environnement grâce à des mécanismes de transport passif et actif.

- Transport passif : diffusion simple (ex. : O_2 , CO_2) ou facilitée via des protéines de canal (aquaporines...).
- Transport actif : nécessite de l'énergie (souvent sous forme d'ATP ou gradient de protons) pour faire entrer ou sortir des ions, des nutriments ou des déchets.

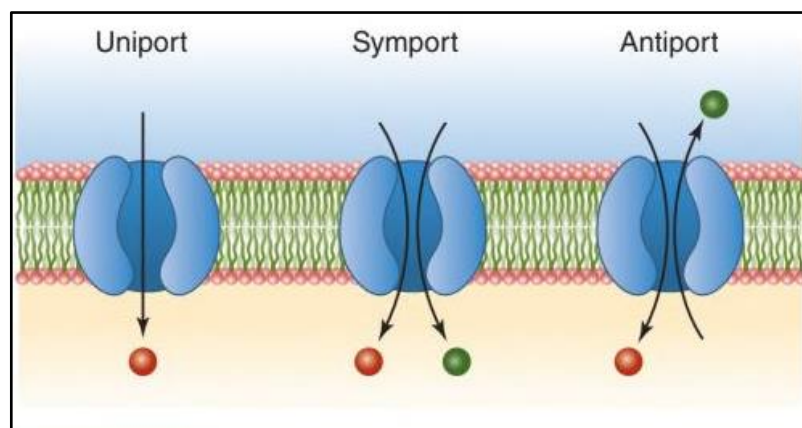


Figure II.4. 6 : L'intérêt des protéines de transport membranaire : diffusion, symport, antiport.

Les bactéries disposent de pompes d'efflux, très importantes pour résister aux antibiotiques, en expulsant activement les molécules toxiques hors de la cellule.

II.4.2.3. Transduction de signaux

La membrane plasmique agit comme un centre de réception et de transmission de signaux. Elle contient des récepteurs membranaires capables de détecter des signaux chimiques (nutriments, toxines, molécules de l'hôte) et de déclencher des réponses cellulaires. Chez les bactéries, on retrouve par exemple les systèmes à deux composants (histidine kinase + régulateur de réponse) qui permettent à la cellule d'ajuster son comportement (métabolisme, motilité, sporulation) selon les conditions du milieu.

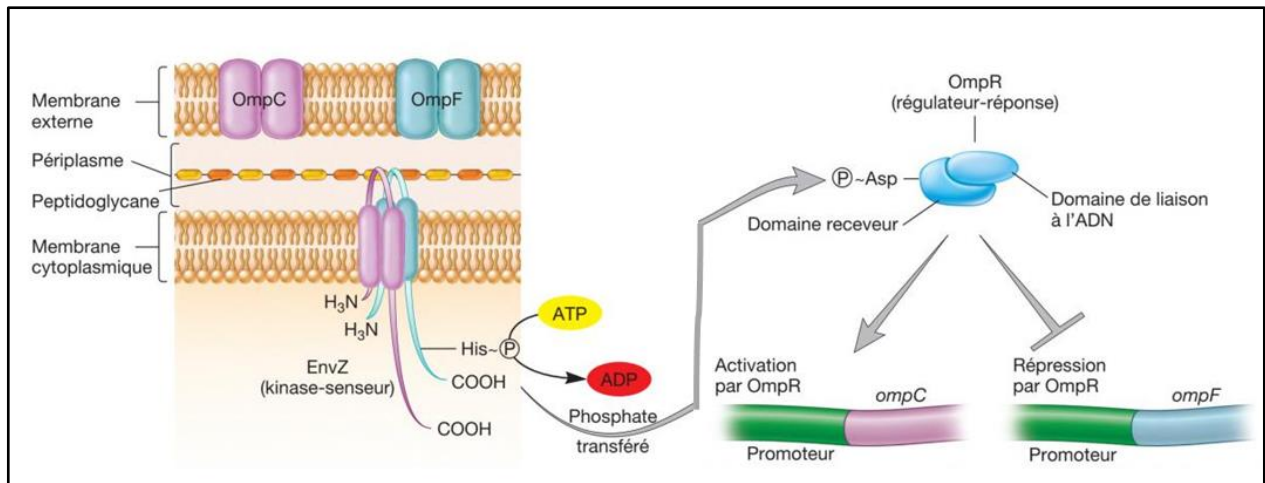


Figure II.4. 7 : Exemple d'un système à deux composants bactérien.

La transduction de signaux permet aux bactéries de percevoir leur environnement et d'adapter leur réponse. Dans le système EnvZ/OmpR d'*Escherichia coli*, la membrane plasmique héberge la kinase-senseur EnvZ, qui détecte l'osmolarité. En condition hyperosmotique, EnvZ s'autophosphoryle puis active le régulateur OmpR, lequel module l'expression des gènes *ompC* et *ompF*. Ainsi, la cellule ajuste la proportion des porines OmpC (canal étroit, protecteur) et OmpF (canal large, favorable à l'entrée de nutriments). La membrane plasmique apparaît donc comme une plateforme de signalisation essentielle à l'adaptation et à la survie bactérienne.

II.4.2.4. Ancrage des structures cellulaires

La membrane plasmique sert aussi d'ancrage à diverses structures : pili, flagelles, fimbriae chez les bactéries, et parfois des structures de mobilité ou d'adhésion chez les eucaryotes.

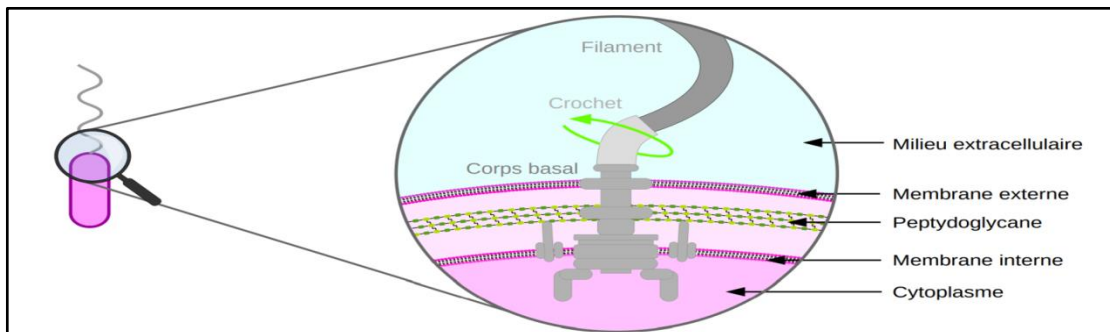


Figure II.4. 8 : Ancrage des flagelles cellulaires dans le membrane

II.4.2.5. Rôle métabolique

Chez les bactéries, en l'absence d'organites intracellulaires, la membrane plasmique abrite :

Les protéines de la chaîne respiratoire (transport d'électrons), des enzymes de biosynthèse lipidique ou de l'ADN, et parfois des systèmes de photosynthèse (chez les cyanobactéries par exemple). Chez les bactéries aérobies ou anaérobies facultatives, la membrane est le siège de la chaîne de transport d'électrons et de la synthèse d'ATP par l'ATP synthase. Elle joue un rôle fonctionnel équivalent aux mitochondries des eucaryotes.

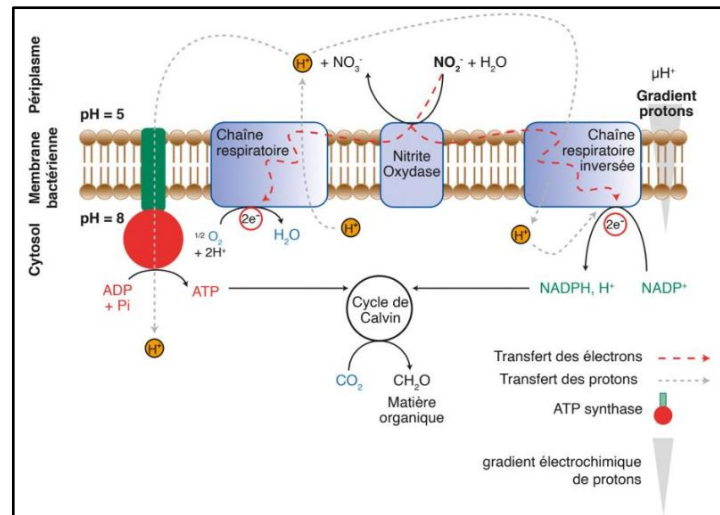


Figure II.4. 9 : Organisation fonctionnelle de la chaîne respiratoire dans la membrane transductrice d'énergie de la bactérie *Nitrobacter*

II.4.2.6. Fonction immunologique et adaptation

Chez les micro-organismes pathogènes, la membrane plasmique et ses structures associées jouent un rôle clé dans l'évasion immunitaire. Les bactéries à Gram négatif présentent des lipopolysaccharides (LPS) à la surface de leur membrane externe, pouvant déclencher une forte réponse immunitaire.

II.4.2.7. Communication intercellulaire (quorum sensing)

Certaines bactéries utilisent leur membrane pour détecter des signaux chimiques produits par d'autres cellules de leur espèce. Ce phénomène, appelé quorum sensing (système de communication bactérienne dépendant de la densité cellulaire), permet une coordination collective des comportements : formation de biofilms, production de toxines, ou bioluminescence.

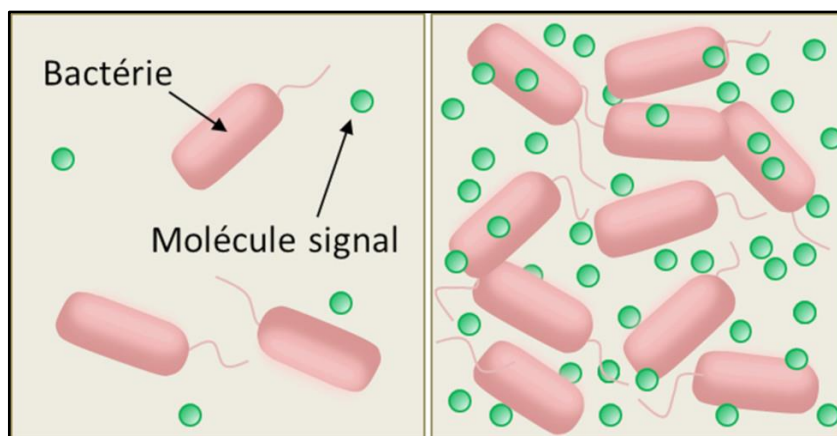


Figure II.4. 10 : Schéma simplifié du mécanisme de quorum sensing bactérien.

II.4.2.8. Cible des antibiotiques

La membrane plasmique constitue une cible stratégique pour certains antibiotiques :
 Polymyxines : interagissent avec les phospholipides de la membrane des Gram-négatives, causant des fuites ioniques.
 Daptomycine : cible les membranes riches en phosphatidylglycérol des Gram-positives.

Inhibiteurs de la biosynthèse lipidique : comme le triclosan.

II.4.2.9. Cas particuliers de membranes bactériennes

a. Mycoplasmes

Ces bactéries dépourvues de paroi cellulaire possèdent une membrane plasmique renforcée en stérols qu'elles obtiennent de leur environnement. Cela leur confère une certaine souplesse, mais aussi une grande sensibilité osmotique.

b. Cyanobactéries

Elles possèdent des thylakoïdes internes, dérivés de la membrane plasmique, qui portent les systèmes photosynthétiques.

c. Bactéries extrêmophiles

Les membranes des bactéries vivant à haute température ou dans des milieux acides/salés sont enrichies en acides gras ramifiés ou saturés, ce qui augmente leur résistance thermique et chimique.

II.5. Le cytoplasme

II.5.1. Le cytoplasme

Le cytoplasme bactérien, souvent réduit à un simple « gel cellulaire », est en réalité un compartiment hautement dynamique assurant des fonctions métaboliques, structurales et génétiques essentielles à la survie de la cellule.

II.5.1.1. Organisation du cytoplasme :

Autrefois considéré comme désorganisé à cause de l'absence de cytosquelette classique, le cytoplasme bactérien est aujourd'hui reconnu comme structuré. Des protéines analogues au cytosquelette (FtsZ, MreB...) organisent son espace interne.

Le cytoplasme est compartimenté :

- Zones riches en ribosomes, avec traduction intense.
- Zones contenant des granules énergétiques (polyphosphate, glycogène).
- Le nucléoïde, non membrané, occupe un espace distinct, souvent central ou polarisé.

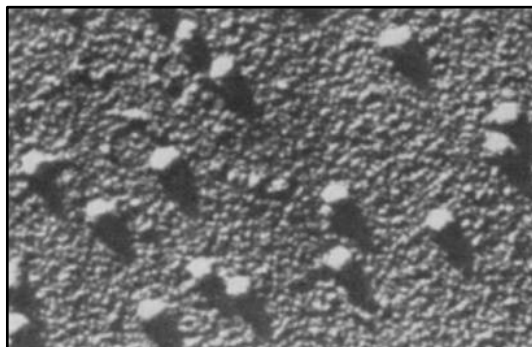


Figure II.5. 1 : Visualisation par microscopie électronique à balayage de ribosomes dispersés dans le cytoplasme bactérien.

II.5.1.2. Rôle fonctionnel global

Le cytoplasme est le centre du métabolisme bactérien : glycolyse, cycle de Krebs (chez certaines bactéries aérobies), biosynthèse des acides aminés, nucléotides et lipides s’y déroulent.

Il abrite également les protéines chaperonnes, les métabolites secondaires et les systèmes régulant l’expression génique.

Le cytoplasme participe à la réponse adaptative, par exemple via la formation de corps d’inclusion (polyhydroxyalcanoates) en conditions de carence ou de stress.

II.5.2. Les ribosomes chez les bactéries

Les ribosomes sont des machines moléculaires essentielles à la vie bactérienne. Ils sont responsables de la traduction de l'information génétique portée par l'ARN messager (ARNm) en protéines fonctionnelles.

II.5.2.1. Structure des ribosomes bactériens

Les ribosomes bactériens sont plus petits que ceux des eucaryotes. Ils ont une taille de 70S (unité Svedberg), composée de deux sous-unités. Sous-unité petite (30S) et Sous-unité grande (50S)

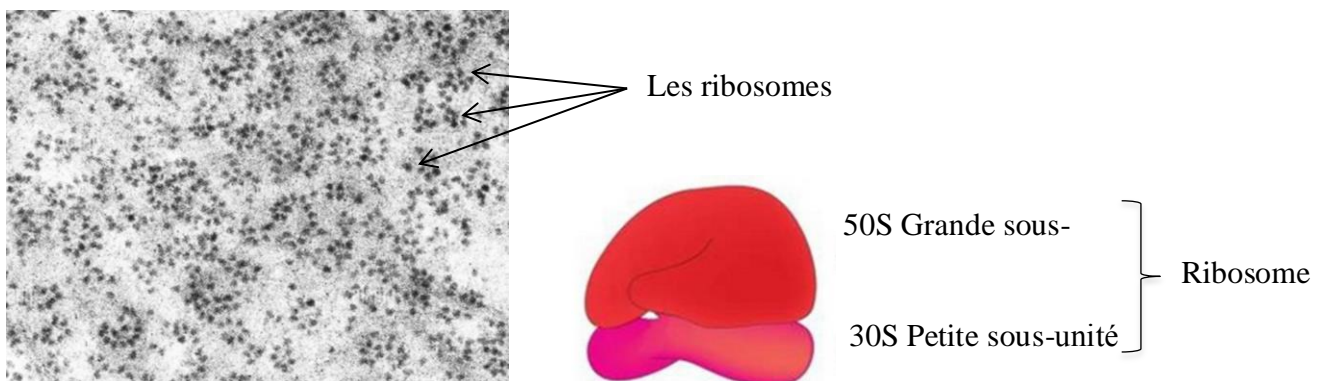


Figure II.5. 2: La structure des ribosomes observée par microscopie électronique à transmission

La sous-unité 50S renferme deux ARN ribosomiques, le 23S rRNA (environ 2900 nucléotides) et le 5S rRNA (environ 120 nucléotides), associés à environ 31 protéines ribosomiques. De son côté, la sous-unité 30S contient le 16S rRNA (environ 1500 nucléotides) et environ 21 protéines

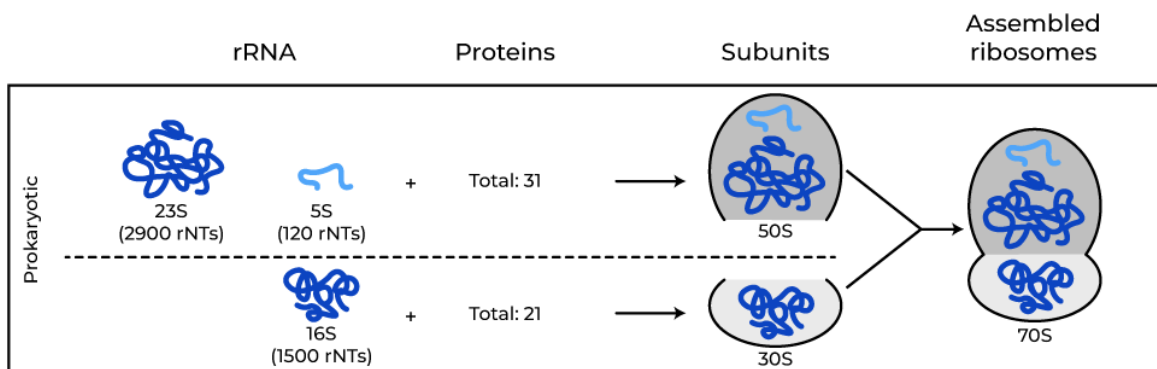


Figure II.5. 3: Schéma comparatif d’un ribosome bactérien 70S montrant les deux sous-unités et leurs composants ARN et protéiques.

II.5.2.2. Localisation et dynamique dans le cytoplasme

Contrairement aux ribosomes des cellules eucaryotes souvent attachés au réticulum endoplasmique, les ribosomes bactériens flottent librement dans le cytoplasme ou sont associés à la face externe du nucléoïde. Leur positionnement spatial est non aléatoire :

- En période de croissance active, ils forment des zones denses en traduction autour du nucléoïde.
- En conditions de stress ou repos (famine, chaleur), certains ribosomes entrent dans un état inactif (ribosomes dormants ou 100S dimères chez *E. coli*).

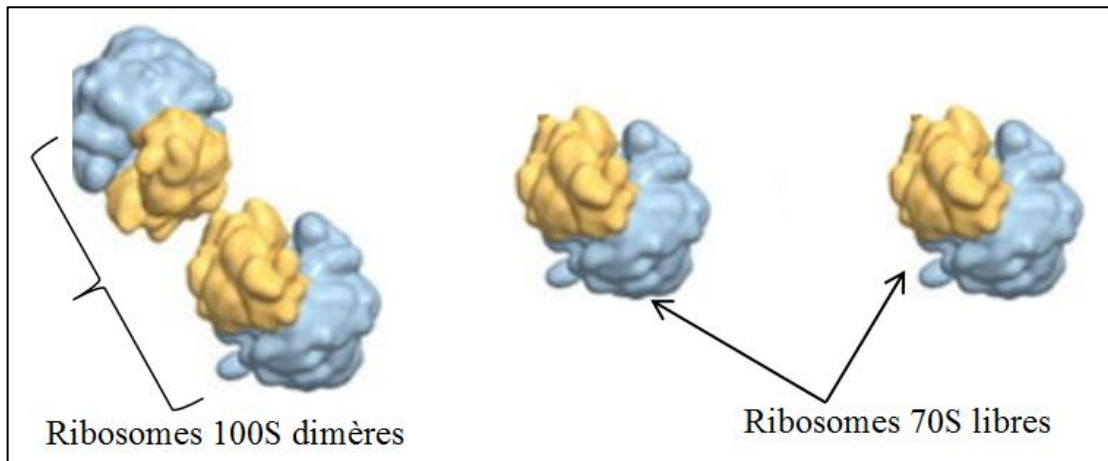


Figure II.5. 4: Localisation de ribosomes dispersés dans le cytoplasme bactérien.

II.5.2.3. Fonction : synthèse des protéines

La traduction est le processus central assuré par les ribosomes. Elle comprend trois étapes :

Initiation : liaison de l'ARNm à la petite sous-unité, recrutement de l'ARNt initiateur.

Élongation : lecture du codon, appariement avec l'ARNt, formation de la liaison peptidique.

Terminaison : libération de la protéine et dissociation du complexe.

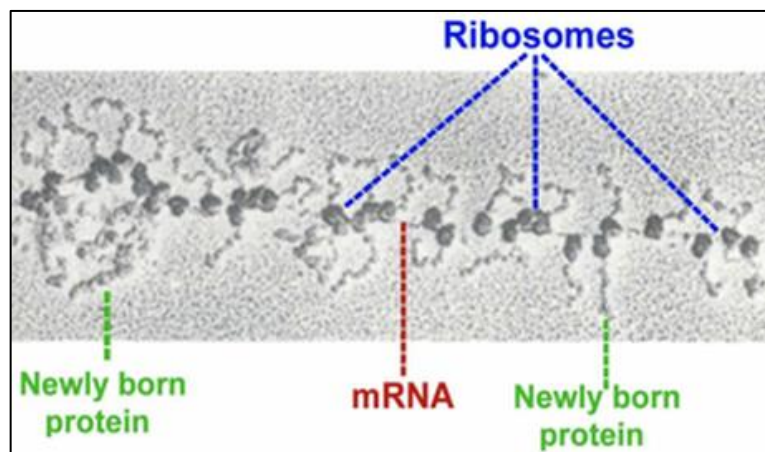


Figure II.5. 5: Les ribosomes dans la synthèse des protéines

II.5.3. Les substances de réserve chez les bactéries

Dans leur environnement naturel, les bactéries sont souvent confrontées à des variations brutales des conditions nutritives. Pour survivre à ces fluctuations, elles ont développé des stratégies d'adaptation, notamment l'accumulation intracellulaire de substances de réserve.

II.5.3.1. Nature des substances de réserve

Les principales substances de réserve bactériennes sont :

a. Les polyhydroxyalcanoates (PHA) :

notamment le polyhydroxybutyrate (PHB), polymère lipidique d'aspect granulaire.

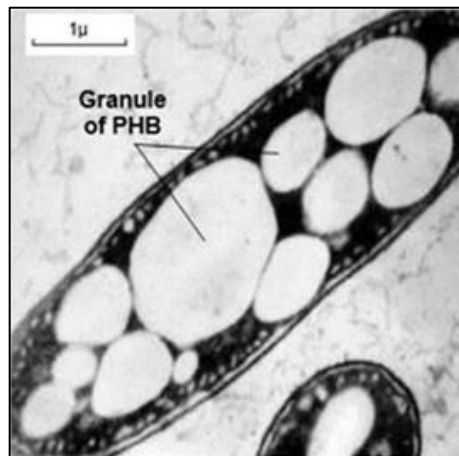


Figure II.5. 6: Granules d'accumulation de PHB dans la cellule de la bactérie Azotobacter

b. Le glycogène :

polysaccharide ramifié analogue à celui des cellules animales.

c. Le soufre élémentaire (S) :

chez certaines bactéries sulfureuses.

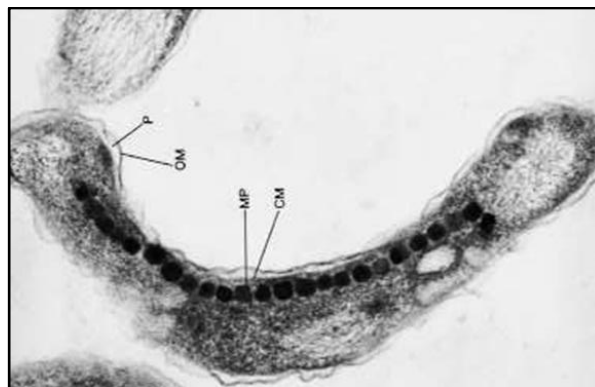


Figure II.5. 7: Le soufre élémentaire

d. Les polyphosphates (polyP) :

polymères de phosphate inorganique.

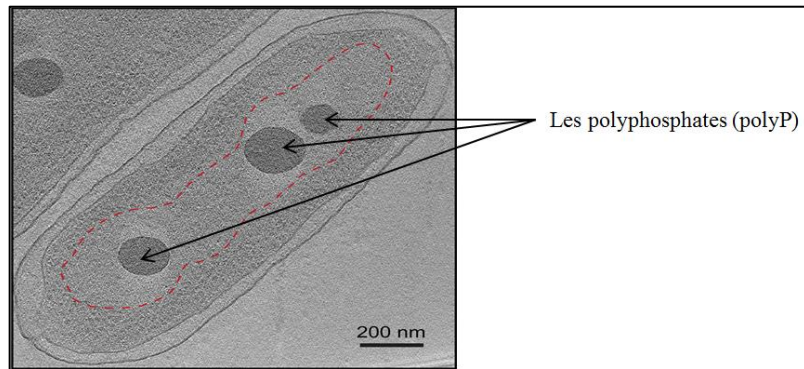


Figure II.5. 8: Les polyphosphates

e. Les inclusions lipidiques :

principalement des triglycérides.

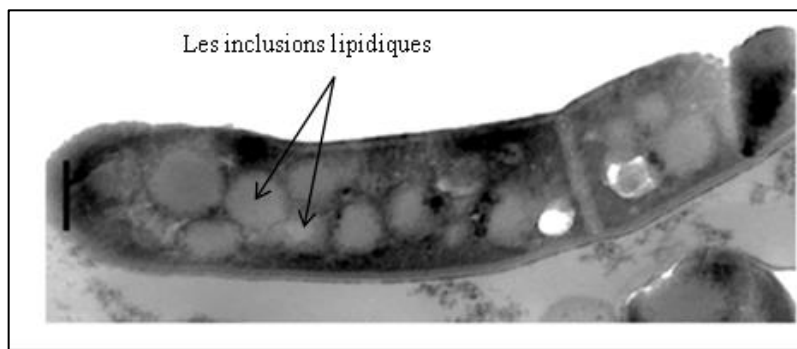


Figure II.5. 9: *M. tuberculosis* contenant des inclusions lipidiques intracytoplasmiques.

f. Les réserves d'azote :

Comme les cyanophycines chez certaines bactéries cyanobactériennes.

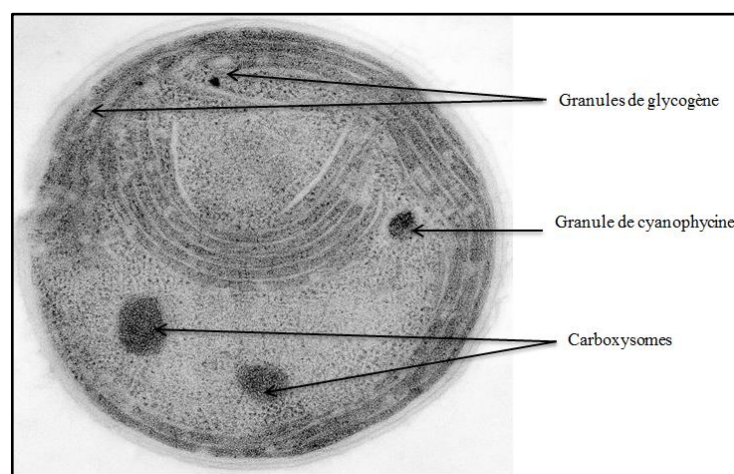


Figure II.5. 10: les principales substances de réserve bactériennes

II.5.3.2. Granules cytoplasmiques : caractéristiques et visualisation

Ces substances sont stockées sous forme de granules cytoplasmiques visibles en microscopie optique ou électronique après coloration spécifique (coloration au noir Soudan pour les lipides, bleu de méthylène pour le polyphosphate, etc.). Ces granules ne sont pas entourés d'une membrane mais sont stabilisés par des protéines associées.

II.5.3.3. Fonctions biologiques

Les substances de réserve remplissent divers rôles :

- Rôle énergétique : libération de substrats (glucose, acides gras) lors des phases de carence.
- Rôle structural : participation à la synthèse des composants de la paroi ou de la membrane.
- Rôle osmotique : régulation de la pression osmotique interne.
- Rôle adaptatif : certaines réserves (comme les polyphosphates) interviennent dans la résistance au stress oxydatif, à la chaleur, ou à la sécheresse.

II.6. Le chromosome

Le monde bactérien, bien qu'unicellulaire, repose sur une organisation génétique extraordinairement efficace.

II.6.1. Morphologie et structure du chromosome bactérien

II.6.1.1. Un chromosome sans noyau : une organisation unique

Chez les bactéries, le chromosome est libre dans le cytoplasme, bien que spatialement organisé. Ce territoire génomique, appelé nucléoïde, n'est pas limité par une membrane, mais reste distinct du reste du cytoplasme par sa densité moléculaire et son encombrement macromoléculaire.

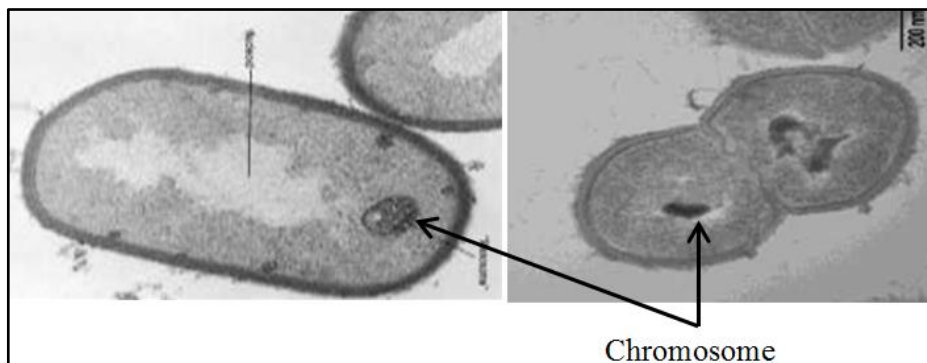


Figure II.6. 1 : Localisation de chromosome dans la cellule

II.6.1.2. Taille et contenu génomique

La taille du chromosome varie en fonction des espèces bactériennes, généralement entre 0,6 à 10 millions de paires de bases (Mbp). Par exemple :

- *Mycoplasma genitalium* : ~580 000 pb (génomme minimal)

- *Escherichia coli* : ~4,6 Mbp
- *Pseudomonas aeruginosa* : ~6,3 Mbp

L'ADN d'une bactérie comme *E. coli*, s'il était entièrement déroulé, mesurerait environ 1,5 mm, soit près de 1000 fois la longueur de la cellule (environ 1-2 µm). Pour loger cette molécule dans un espace si réduit, l'ADN est hautement compacté, tout en restant accessible aux enzymes.

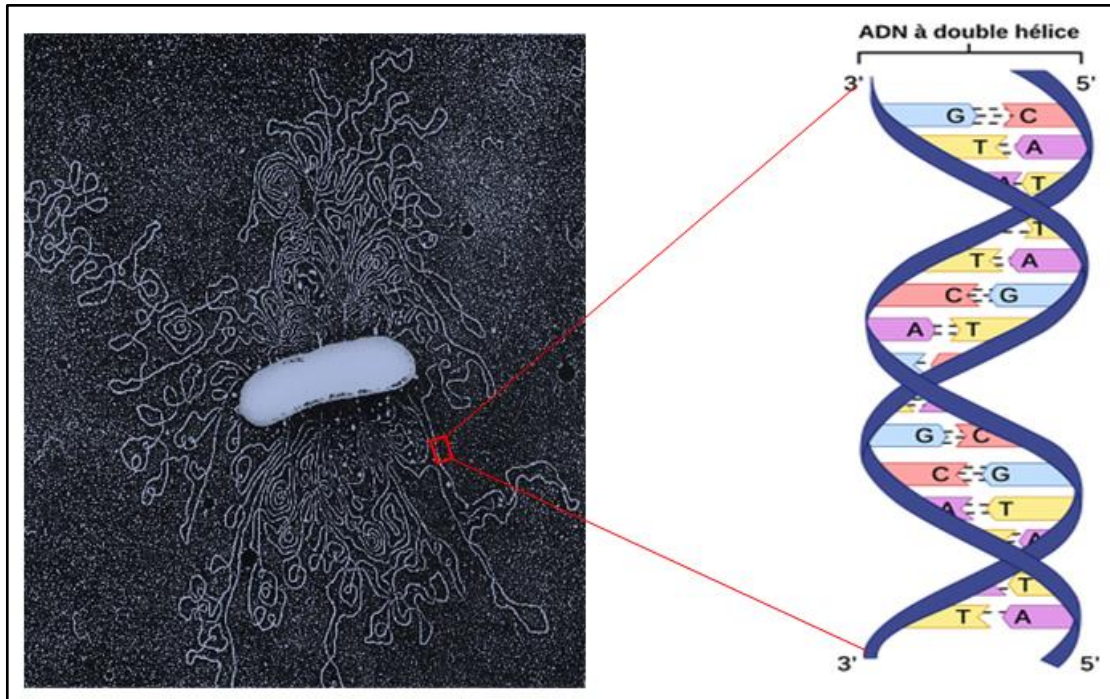


Figure II.6. 2 : La taille du chromosome en dehors de la cellule

II.6.1.3. Structure physique du chromosome bactérien

Bien que circulaire chez la majorité des bactéries, le chromosome peut aussi être linéaire chez certaines espèces (ex. : *Borrelia burgdorferi*). Il est superenroulé (supercoiled) pour faciliter son empaquetage dans la cellule. Ce compactage est réalisé grâce à :

- des protéines associées à l'ADN (comme HU, IHF, Fis, H-NS),
- l'activité des topoisomérases qui régulent le degré de superenroulement.

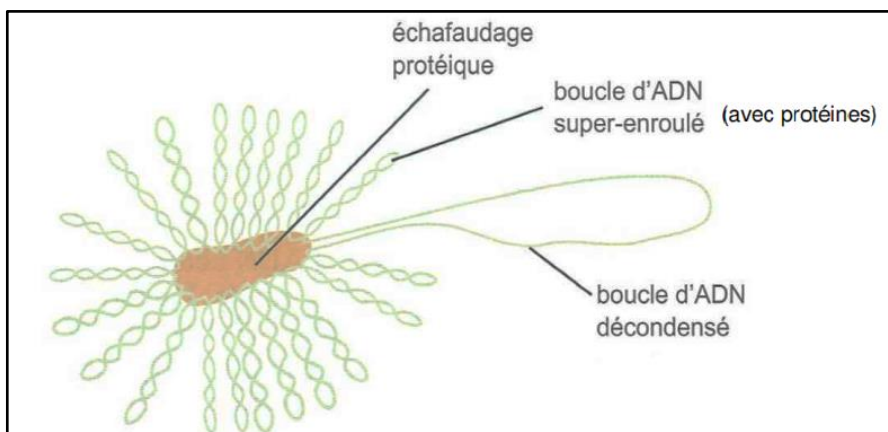


Figure II.6. 3 : Représentation schématique du chromosome bactérien enroulé dans la région du nucléoïde.

II.6.1.4. Le nucléoïde : organisation spatiale

Le nucléoïde est le territoire intracellulaire où se situe le chromosome bactérien. Il n'est pas entouré d'une membrane, mais sa densité en ADN et protéines le rend visuellement distinct du reste du cytoplasme.

En microscopie, le nucléoïde apparaît comme une masse fibrillaire et irrégulière.

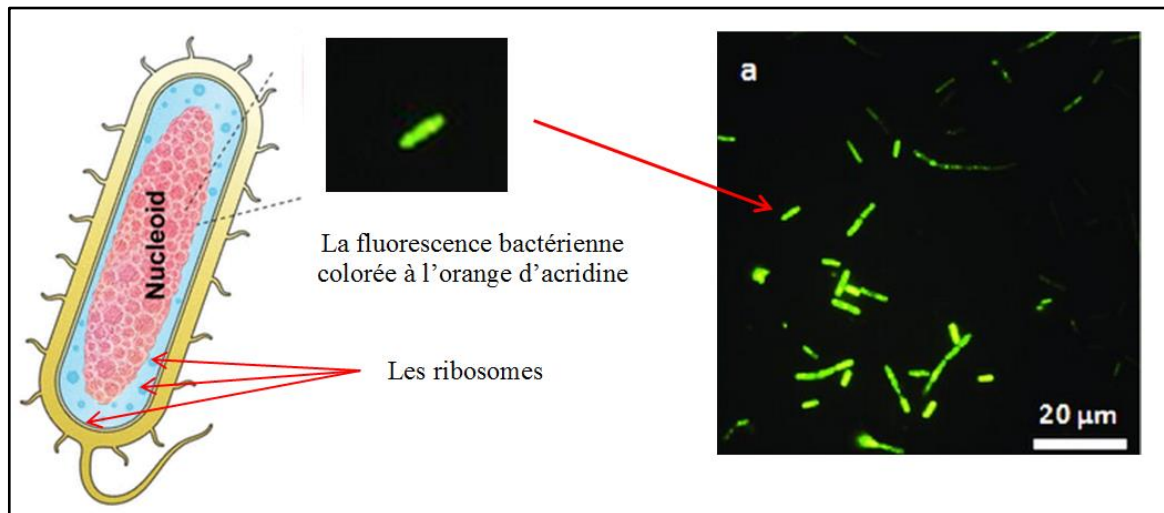


Figure II.6. 4 : Observation d'un nucléoïde par coloration à l'acridine orange (fluorescence) et comparaison avec les zones riches en ribosomes.

II.6.1.5. Particularités du chromosome bactérien

- Le chromosome bactérien est généralement haploïde (présent en une seule copie), bien qu'il puisse être multipartite (plusieurs chromosomes) chez certaines espèces.
- Il est continuellement accessible à la transcription et à la traduction (pas de séparation spatio-temporelle).
- L'absence d'introns dans la majorité des gènes bactériens simplifie l'expression génétique.

II.6.1.6. Un chromosome dynamique

Le chromosome bactérien n'est pas figé. Il subit des réarrangements, se replie et se dépie selon l'activité transcriptionnelle ou la progression de la réplication. Des boucles d'ADN, appelées domaines topologiques, permettent une organisation fonctionnelle du génome.

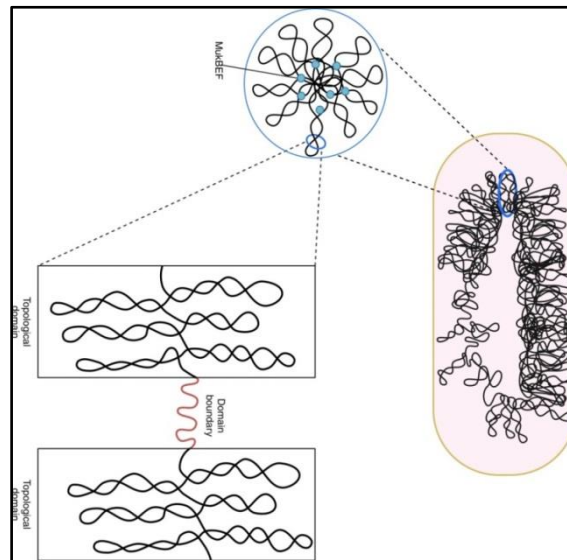
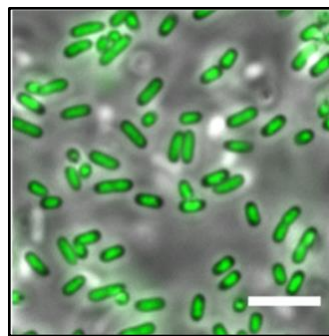


Figure II.6. 5 : Organisation topologique du chromosome d'*E. coli* : domaines en boucle et zones actives/inactives.

II.6.1.7. Visualisation du chromosome bactérien

En microscopie électronique ou par coloration à l'acridine orange, on peut visualiser le nucléoïde comme une zone dense et fibreuse dans le cytoplasme, distincte des régions ribosomiques. Les techniques modernes, comme la microscopie à fluorescence avec marquage de l'ADN (ex. DAPI), ont permis de mieux comprendre l'organisation spatiale du chromosome à différents stades du cycle cellulaire. Le nucléoïde d'*E. coli* occupe moins de 25 % du volume cellulaire et est distribué sous forme de structures distinctes à l'intérieur de la cellule vivante.



La localisation de la fluorescence au niveau des nucléoïdes chez E.coli

Figure II.6. 6 : Observation d'un nucléoïde bactérien par fluorescence (DAPI) et par microscopie électronique.

II.6.2. Composition chimique du chromosome bactérien

Le chromosome bactérien, bien qu'apparaissant comme un simple filament d'ADN, est en réalité un complexe macromoléculaire composé d'acides nucléiques, de protéines associées et d'ions.

II.6.2.1. ADN bicaténaire : base de l'information

Le matériau principal du chromosome bactérien est l'ADN double brin (bicaténaire), constitué de nucléotides formés de :

- un groupement phosphate,
- un sucre (désoxyribose),
- une base azotée (adénine - A, thymine - T, cytosine - C, guanine - G).

Les liaisons A–T (2 liaisons hydrogène) et C–G (3 liaisons hydrogène) confèrent à l’ADN sa stabilité et sa capacité de réplication fidèle.

Le pourcentage de GC (guanine + cytosine) est un paramètre important. Il varie entre 25 % et 75 % selon les espèces, influençant : la stabilité thermique de l’ADN, la densité de l’ADN et le profil de codons préférentiels.

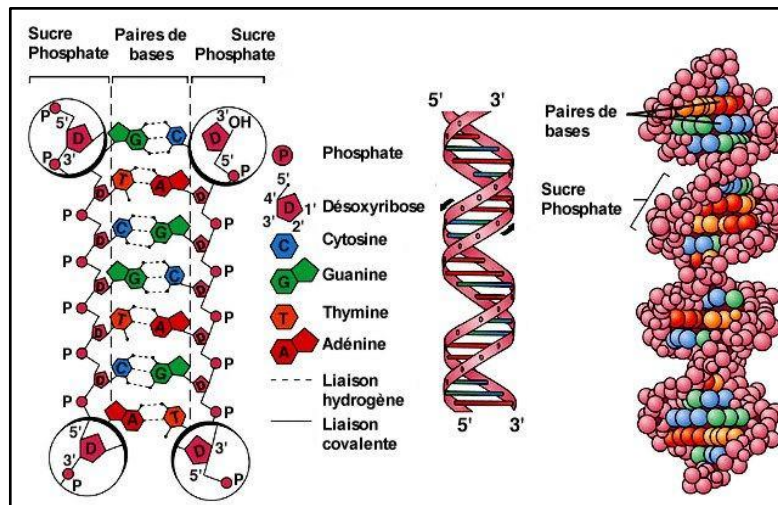


Figure II.6. 7 : Représentation schématique de la structure de l’ADN bicaténaire, avec mise en évidence des paires de bases.

II.6.3. Réplication chimique du chromosome bactérien

Le chromosome peut atteindre une taille allant de 0,5 à 10 Mb selon les espèces, et contient l’ensemble des gènes essentiels à la vie de la cellule.

La réplication de l’ADN bactérien est un processus hautement contrôlé, qui commence à une séquence spécifique appelée origine de réplication (OriC). La réplication est bidirectionnelle et se termine à un site opposé appelé terminus (Ter).

II.6.3.1. Origine de réplication (OriC)

Chez les bactéries, la réplication de l’ADN débute toujours à une séquence spécifique appelée OriC. C’est le point de départ unique de la réplication, hautement conservé entre espèces mais avec des particularités propres.

Chez *E. coli*, OriC mesure environ 245 pb et contient :

- une région riche en A-T, facilitant l’ouverture locale de la double hélice ;
- des sites GATC, cibles de la méthylation par l’enzyme Dam, qui régule le timing de la réplication en empêchant sa réinitiation prématurée.

- Ainsi, OriC assure un contrôle précis et unique du déclenchement de la réplication, garantissant la stabilité génétique de la bactérie

II.6.3.2. Déroulement de la réplication de l'ADN bactérien

1. Initiation

L'initiation de la réplication est fortement régulée pour se produire une seule fois par cycle cellulaire.

Activation de l'OriC : la protéine DnaA-ATP se fixe aux boîtes DnaA, ouvrant la région riche en A-T. L'hélicase DnaB est chargée par DnaC, formant la bulle de réplication.

Formation du primosome : la primase DnaG synthétise des amorces ARN, permettant à l'ADN polymérase III de commencer la synthèse des brins directeur et retardé.

2. Élongation

La réplication progresse bidirectionnellement depuis OriC, générant deux fourches opposées.

ADN polymérase III : catalyse l'allongement 5'→3' et possède une activité de relecture 3'→5'.

Synthèse asymétrique :

Brin directeur : synthèse continue.

Brin retardé : synthèse discontinue en fragments d'Okazaki, amorces ARN remplacées par l'ADN polymérase I, reliés par l'ADN ligase.

3. Terminaison

La réplication se termine à la région Ter, opposée à OriC.

Sites Ter et protéine Tus : bloquent les fourches directionnellement, évitant les collisions.

Achèvement : les fourches se rejoignent, le génome est dupliqué, puis la topoisomérase IV sépare les chromosomes filles (décaténation).

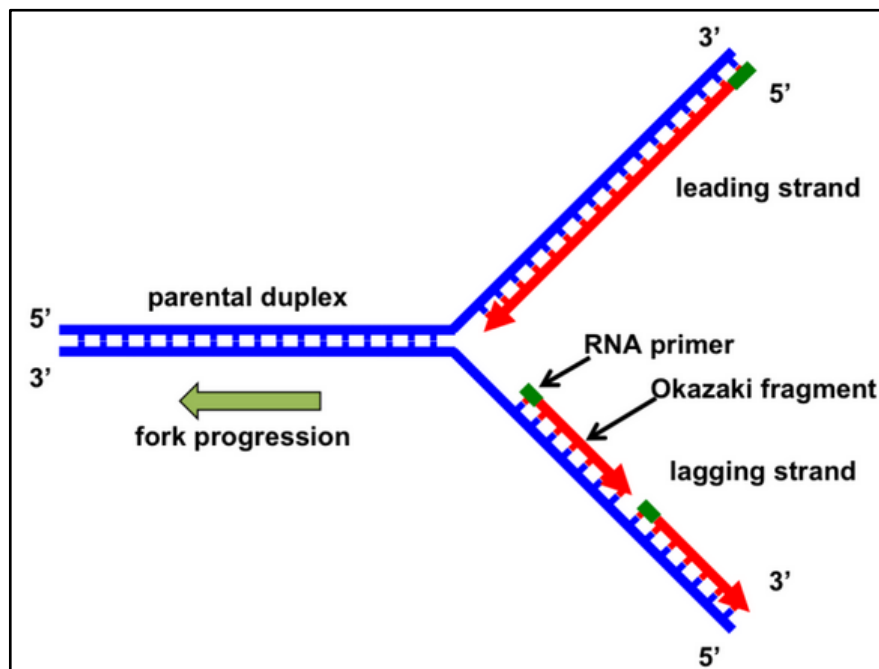


Figure II.6. 8 : Réplication bidirectionnelle du chromosome

II.7. Les plasmides

II.7.1. Structure des plasmides bactériens

Les plasmides sont des molécules d'ADN double brin, extrachromosomiques, généralement circulaires, qui existent en dehors du chromosome principal chez de nombreuses bactéries. Ils jouent un rôle important dans la survie, l'adaptation et l'évolution des microorganismes.

II.7.1.1. Nature et forme

Les plasmides sont le plus souvent circulaires, bien qu'on trouve aussi des plasmides linéaires chez certaines espèces comme *Borrelia* ou *Streptomyces*. Leur taille varie considérablement, de 1 à plus de 500 kb, et ils peuvent porter de quelques gènes à plusieurs centaines.

Ils sont répliqués indépendamment du chromosome bactérien et peuvent être présents en une ou plusieurs copies selon leur nature.

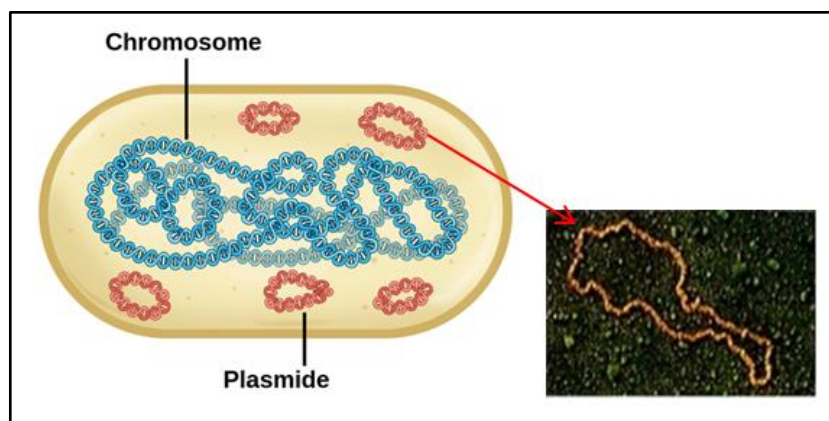


Figure II.7. 1 : Schéma comparatif entre un chromosome bactérien (nucléotide) et des plasmides circulaires.

II.7.1.2. Éléments fonctionnels

Un plasmide typique contient :

- Une origine de répllication (OriV) : nécessaire pour initier sa duplication.
- Des gènes codants (souvent non essentiels mais conférant un avantage).
- Parfois une origine de transfert (OriT) : pour le transfert par conjugaison.
- Des régions de contrôle du nombre de copies et de la stabilité.

II.7.1.3. Types de plasmides

On peut classer les plasmides selon leur fonction principale :

- Plasmides de résistance (R) : gènes de résistance aux antibiotiques.
- Plasmides de virulence : codent pour des toxines, adhésines ou systèmes de sécrétion.
- Plasmides métaboliques : permettent la dégradation de substrats spécifiques (ex. hydrocarbures).
- Plasmides conjugatifs : contiennent les gènes nécessaires au transfert horizontal.

- Plasmides cryptiques : ne semblent pas conférer d'avantage identifiable.

Tableau II. 7. 1: Types v et fonction de plasmides

Type de plasmide	Fonction principale	Exemples
Plasmides de résistance (R)	Portent des gènes qui confèrent une résistance aux antibiotiques ou métaux lourds.	gène bla (β -lactamase), tetA (tétracycline)
Plasmides de virulence	Codent des facteurs de virulence : toxines, adhésines, systèmes de sécrétion.	plasmide pXO1 de Bacillus anthracis
Plasmides métaboliques	Permettent la dégradation de composés inhabituels ou toxiques.	dégradation du toluène, du camphre, etc.
Plasmides conjugatifs	Codent les systèmes nécessaires au transfert par conjugaison (pilus, tra genes).	plasmide F chez E. coli
Plasmides cryptiques	Ne présentent aucune fonction connue identifiable. Ils peuvent être inactifs ou en attente de rôle.	souvent trouvés lors de séquençages

II.7.2. Réplication des plasmides

Les plasmides doivent pouvoir se répliquer de manière autonome pour être transmis aux cellules filles lors ou en dehors de la division cellulaire.

II.7.2.1. Mécanismes de répllication

Deux mécanismes principaux sont observés :

a. Réplication en θ

La répllication de certains plasmides est semblable à celle du chromosome bactérien. Elle débute à une origine spécifique appelée OriV, qui est reconnue par une protéine initiatrice (Rep). À partir de ce site, deux fourches de répllication se forment et progressent en sens opposé autour du plasmide. Ce mode de répllication est typique de plasmides bien connus tels que F, pBR322 et R1.

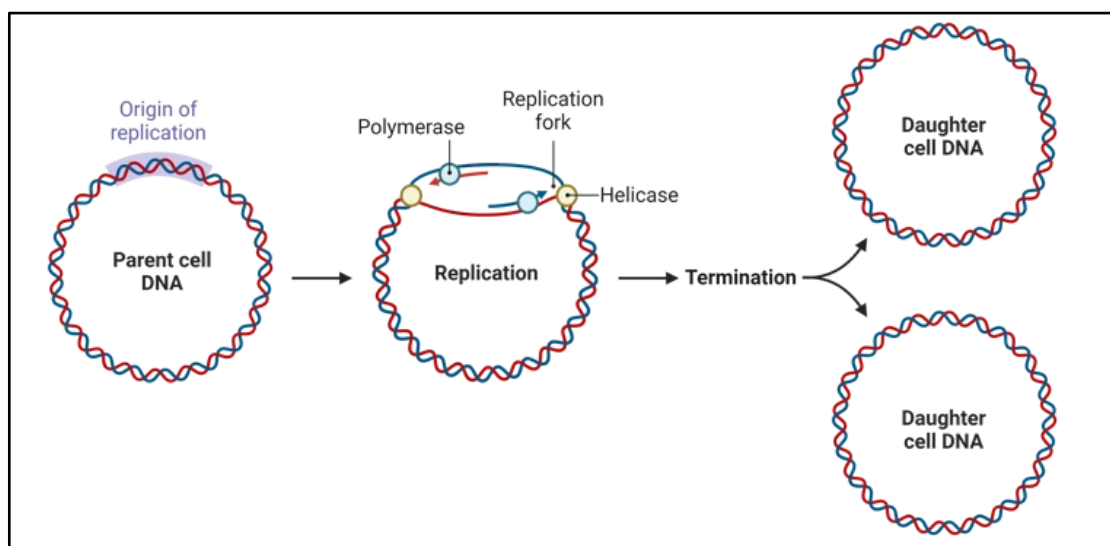


Figure II.7. 2 : Schéma de répllication plasmidique θ .

b. Réplication en cercle roulant (rolling circle)

Un autre mode de réplication plasmidique repose sur une coupure effectuée sur un seul brin d'ADN. Ce brin est ensuite déroulé et copié, permettant la synthèse du brin complémentaire. Ce mécanisme est typique des petits plasmides de bactéries Gram positif (par exemple pT181) ainsi que de certains phages

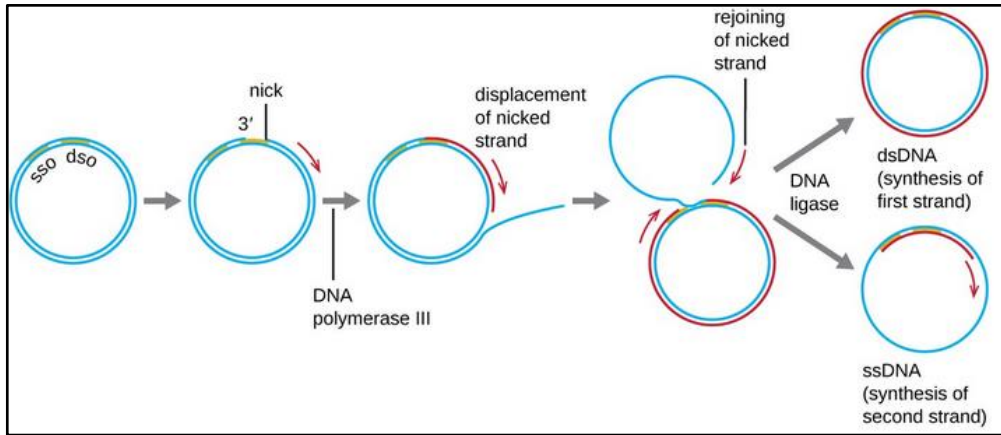


Figure II.7. 3: Schéma de réplication plasmidique rolling circle.

II.7.3. Propriétés des plasmides bactériens

Les plasmides, bien qu'accessoire, confèrent à la bactérie des capacités supplémentaires, souvent décisives pour sa survie et sa compétitivité dans des environnements variables.

II.7.3.1. Résistance aux antibiotiques

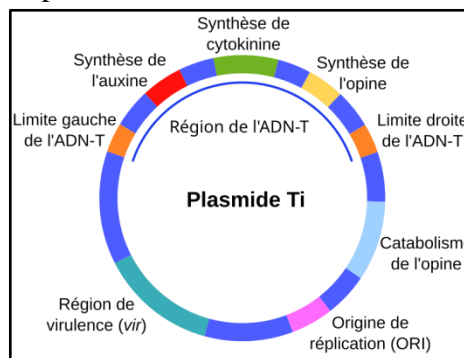
Les plasmides R sont responsables de l'épidémie mondiale de résistances multiples : β -lactamases (bla, TEM, SHV, CTX-M), Résistance aux aminosides (aadA), Gènes de résistance à la colistine (mcr-1).

Ces gènes peuvent être accumulés sur un même plasmide et transférés en bloc.

II.7.3.2. Virulence et pathogénicité

De nombreux plasmides portent des facteurs de virulence :

- *Yersinia pestis* : plasmide pYV (système de sécrétion type III),
- *E. coli entérohémorragique* : toxine Shiga,
- *Shigella flexneri* : invasion épithéliale.



Le plasmide Ti : vecteur de pathogénicité d'*Agrobacterium tumefaciens*

Figure II.7. 4 : Exemples de facteurs de virulence codés sur des plasmides pathogènes.

II.7.3.3. Métabolisme spécialisé

Certains plasmides permettent :

- La dégradation de pesticides ou d'hydrocarbures (*Pseudomonas putida*),
- La tolérance à des métaux lourds (plomb, mercure),
- La production d'antibiotiques naturels (*Streptomyces*).

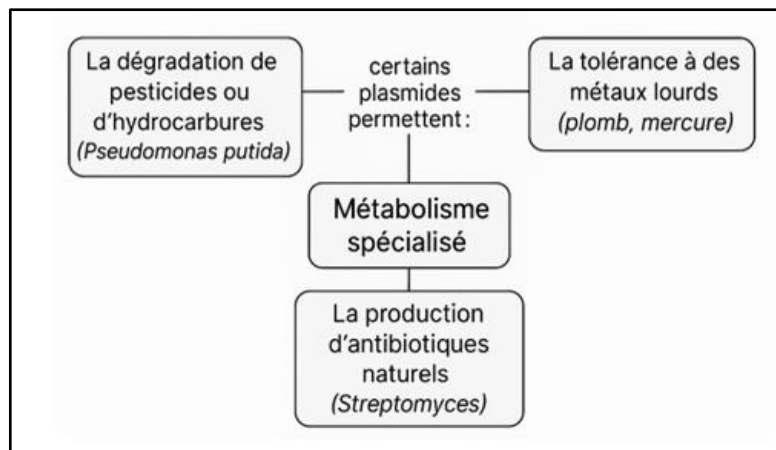


Figure II.7. 5 : Métabolisme spécialisé

II.8. Pili et fimbriae

II.8.1. Généralité

Les fimbriae et les pili sont des appendices filamenteux protéiques présents à la surface des cellules bactériennes, en particulier chez les bactéries à Gram négatif. Bien que les deux termes soient parfois utilisés de manière interchangeable, ils désignent deux structures distinctes par leur taille, nombre, fonction et génétique.

À ce jour, on distingue plusieurs types de pili et fimbriae bactériens, selon leur structure et leur fonction.

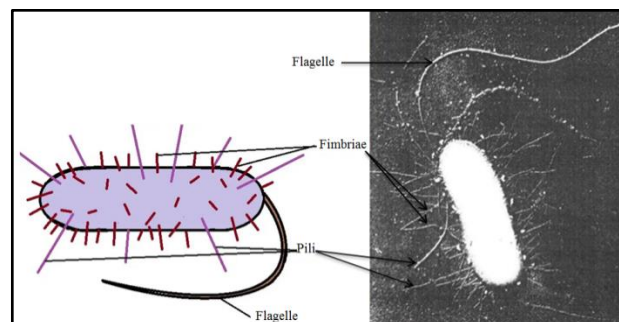


Figure II.8. 1 : Schéma et observation par microscope électronique des appendices filamenteux à la surface de cellule bactérienne

II.8.1.1. Fimbriae

Le terme fimbriae (du latin fimbria, signifiant « filament ») désigne des structures courtes, fines, rigides, mesurant environ 0,03 à 0,14 μm de long pour 3 à 10 nm de diamètre. Une cellule bactérienne peut en porter jusqu'à 1000, réparties de manière homogène sur sa surface.

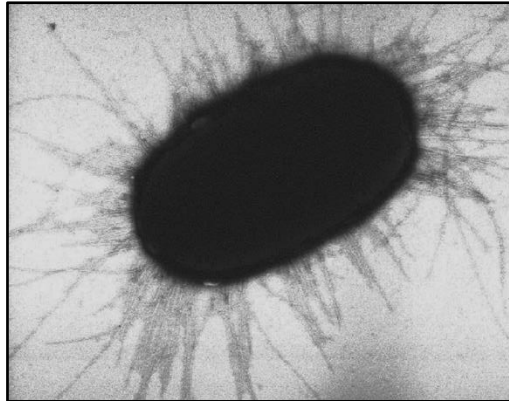


Figure II.8. 2 : des appendices filamenteux à la surface de cellule bactérienne *Escherichia coli*.

a. Structure

- Composés de fibrilline
- Assemblés de manière hélicoïdale
- Structures pleines (non tubulaires)

Les fimbriae (ou fimbriae de type I) sont de fines structures filamenteuses à la surface des bactéries Gram négatif comme *E. coli*. Leur rôle principal est l'adhésion aux surfaces, ce qui constitue la première étape d'une infection.

Le pilus de type I est une structure fibrillaire, rigide et pleine, composée principalement de sous-unités FimA assemblées selon une organisation hélicoïdale dense. Contrairement à certains pili creux, il ne présente aucun canal central. Cette architecture le rend parfaitement adapté à son rôle d'adhésion spécifique et stable aux cellules hôtes via la sous-unité terminale FimH, capable de reconnaître le mannose.

- Ils sont constitués d'un assemblage ordonné de protéines Fim :

- FimA : c'est la sous-unité principale, formant la majeure partie de la tige du fimbriae (des milliers de copies).
- FimF, FimG et FimH : ces sous-unités se trouvent à l'extrémité distale (sommet) du fimbriae.
- FimC : agit comme chaperon pour l'assemblage des autres sous-unités.
- FimH est la clé de l'adhésion :
 - Elle contient une lectine, une protéine qui reconnaît et se lie spécifiquement au sucre α -D-mannose, présent sur les glycoprotéines des cellules hôtes (par exemple les cellules de l'épithélium urinaire).

- Cette liaison est hautement spécifique et permet à la bactérie de s'accrocher solidement à la surface des tissus, même en présence de flux urinaires.

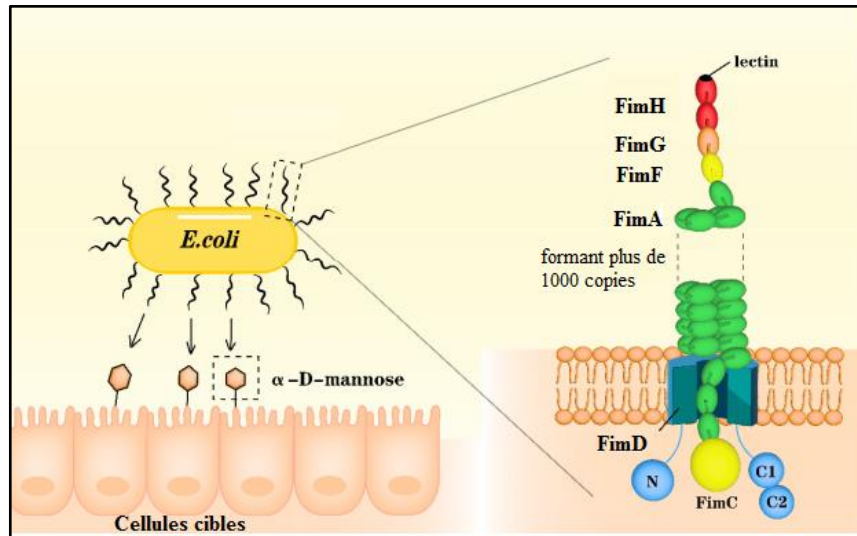


Figure II.8. 3 : Structure des fimbriae d'*Escherichia coli*

- **Observables uniquement au microscope électronique :**

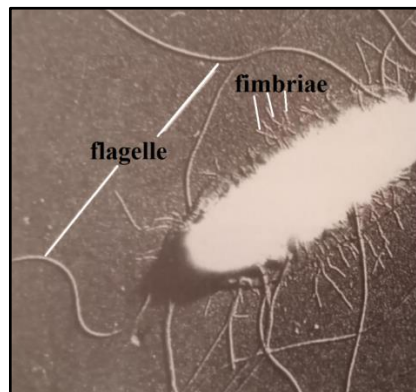


Figure II.8. 4 : Structure des fimbriae au microscope électronique

b. Fonctions

- **Adhésion aux cellules hôtes (via récepteurs au mannose) :**

Les fimbriae sont des structures filamenteuses à la surface des bactéries qui permettent une adhésion spécifique aux cellules hôtes, une étape essentielle dans l'établissement des infections. Ils reconnaissent des récepteurs particuliers, souvent de nature glycosylée, à la surface des cellules humaines.

Par exemple :

- Fimbriae de type I se lient aux résidus mannose sur les cellules urothéliales via la protéine FimH (*E. coli*).
- Fimbriae P ciblent les glycolipides rénaux, impliqués dans la pyélonéphrite.

- Curli se lie à des protéines comme la fibronectine, participant aussi à la réponse immunitaire.

Cette adhésion assure la colonisation, résiste aux forces mécaniques, et peut déclencher des réponses cellulaires ou favoriser l'invasion. C'est un facteur clé de virulence dans de nombreuses infections bactériennes.

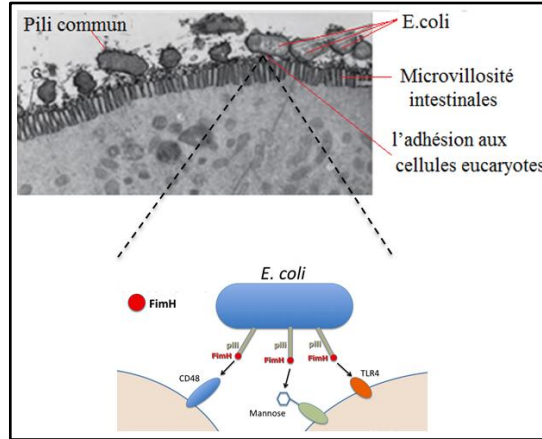
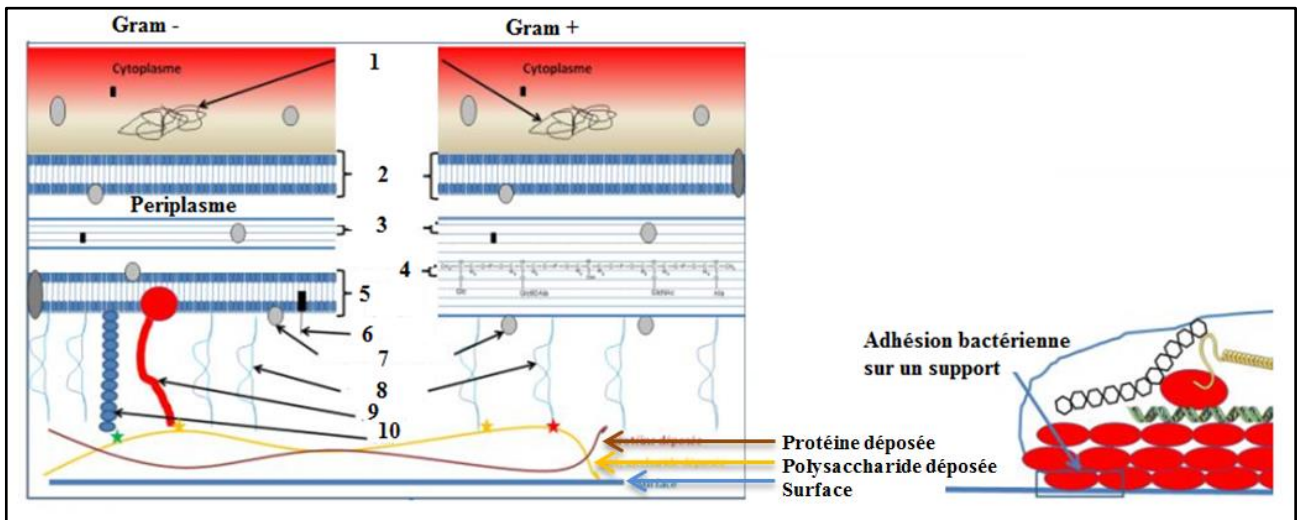


Figure II.8. 5 : Adhésion aux cellules hôtes des fimbriae

– **Fixation sur des surfaces inertes :**

L'adhésion d'une bactérie à une surface inerte dépend de diverses forces physiques et chimiques, qui peuvent être attractives (ioniques, électrostatiques, Van der Waals, liaisons hydrogène) ou répulsives (charges similaires). Ces interactions conditionnent l'étape initiale de l'attachement cellulaire et varient selon la nature des charges et des groupements présents sur la bactérie et la surface.



- | | | | |
|---|--------------------|----|---------------------------|
| 1 | Chromosome | 6 | Lipoprotéine |
| 2 | Bicouche lipidique | 7 | protéine capsulaire |
| 3 | Péptidoglycane | 8 | Polysaccharide capsulaire |
| 4 | acide teichoïc | 9 | Flagelle |
| 5 | Bicouche lipidique | 10 | Pilli protéin |

Figure II.8. 6 : Fixation de la bactérie sur des surfaces inertes via ses fimbriae

– **Formation de biofilms :**

Les fimbriae, également appelés adhésines fimbriales, sont des structures filamenteuses courtes et nombreuses présentes à la surface de nombreuses bactéries, en particulier les entérobactéries. Leur rôle principal est de médiatiser l'adhésion spécifique aux surfaces et aux cellules hôtes, une étape clé dans l'établissement des biofilms.

Une fois l'adhésion assurée par les fimbriae, les bactéries commencent à produire une matrice extracellulaire composée de polysaccharides, d'ADN extracellulaire et de protéines, consolidant la structure du biofilm. Les fimbriae facilitent également les interactions intercellulaires, favorisant la cohésion des communautés microbiennes.

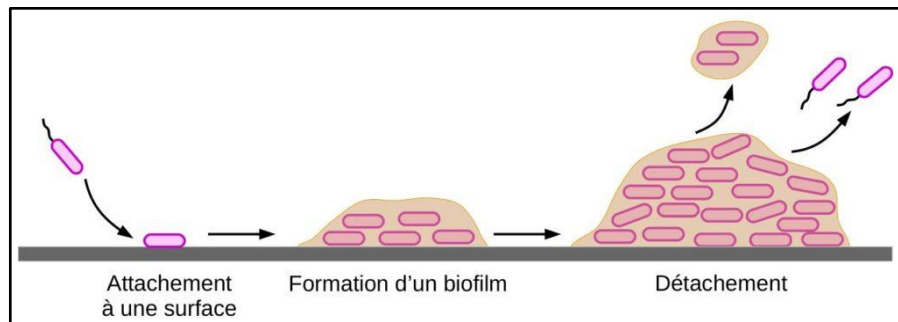


Figure II.8. 7 : Formation de biofilms

– **Facteur de virulence :**

Un facteur de virulence est toute molécule, structure ou mécanisme produit par une bactérie (ou autre micro-organisme pathogène) qui lui permet de coloniser l'hôte, d'échapper au système immunitaire, de causer des dommages ou de favoriser la dissémination.

Ces facteurs ne sont pas nécessaires à la survie de la bactérie dans l'environnement, mais ils sont essentiels pour sa pathogénicité, c'est-à-dire sa capacité à provoquer une maladie.

c. Types de fimbriae :

- Fimbriae de type I : largement présents chez les *Enterobacteriaceae*, notamment *E. coli*. Ils facilitent l'adhésion spécifique aux cellules de l'hôte via des glycoprotéines riches en mannose, jouant un rôle important dans l'infection des voies urinaires et la colonisation des surfaces muqueuses.
- Fimbriae de type III : présents chez *Klebsiella*, mesurant 0,5–2 µm de long et ~5 nm de diamètre. Leur assemblage, via la voie chaperon/usher, implique les sous-unités MrkA et le chaperon MrkB. Ils adhèrent principalement aux surfaces abiotiques et participent à la formation de biofilms, contribuant à la résistance bactérienne.
- Fimbriae Curli : spécifiques à *E. coli* et *Salmonella*, formés de curlines. Leur biogenèse est contrôlée par les opérons *csgBA* et *csgDEFG*. Ils favorisent l'adhésion aux surfaces, l'agrégation cellulaire et la formation de biofilms persistants, souvent résistants aux désinfectants.

II.8.1.2. Pili

Les pili (singulier : pilus) sont des appendices filamenteux à la surface de nombreuses bactéries Gram négatif et de certaines archées. Comparés aux fimbriae, ils sont généralement plus longs (0,5–20 μm), plus épais (5–7 nm), moins nombreux (1–10 par cellule) et souvent creux.

Deux types principaux de pili : Pili d'adhésion courts, assimilés aux fimbriae, facilitent l'adhésion aux cellules et surfaces. Et pili sexuels (ou pili F), plus longs, impliqués dans la conjugaison bactérienne.

Ils sont observables uniquement au microscope électronique et présentent une rigidité et une longueur adaptées à leur fonction spécifique.

a. Structure

- Tubulaires, creux
- Organisation hélicoïdale
- Codés souvent par des gènes plasmidiques (plasmide F)
Présents principalement chez les Gram négatif

b. Fonctions principales :

– Conjugaison (pili F) :

Le pilus F se fixe sur la cellule receveuse et rapproche les deux bactéries.

Un pont cytoplasmique se forme, permettant le transfert de l'ADN plasmidique.

Ce mécanisme contribue à la diversité génétique et à la diffusion de gènes de résistance aux antibiotiques.

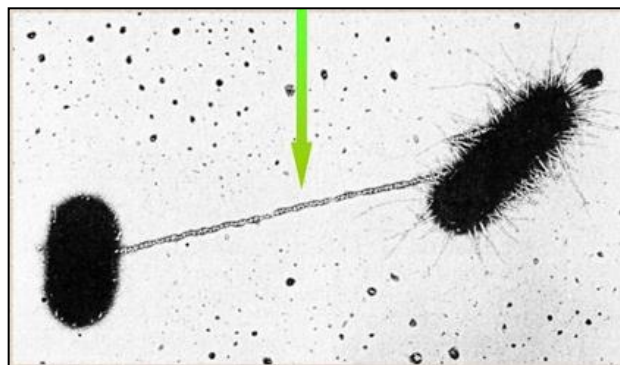


Figure II.8. 8 : Pont conjuguatif

– Motilité (pili de type IV) :

Les pili de type IV sont des structures filamenteuses dynamiques présentes à la surface de nombreuses bactéries Gram négatives. Ils participent à plusieurs fonctions essentielles :

- Motilité par saccades (twitching motility) : le pilus s'étend, se fixe à une surface, puis se rétracte grâce à l'ATPase PilT, tirant la bactérie vers l'avant.
- Formation de biofilms : favorisent l'adhésion initiale et la structuration des communautés microbiennes.
- Transformation génétique naturelle : capturent l'ADN exogène pour acquisition de nouveaux gènes.

Ce mécanisme est bien étudié chez *Pseudomonas aeruginosa*, *Neisseria gonorrhoeae* et *Myxococcus xanthus*. Les T4P sont donc des appendices multifonctionnels, essentiels à la motilité, à la colonisation, et à la pathogénicité bactérienne.

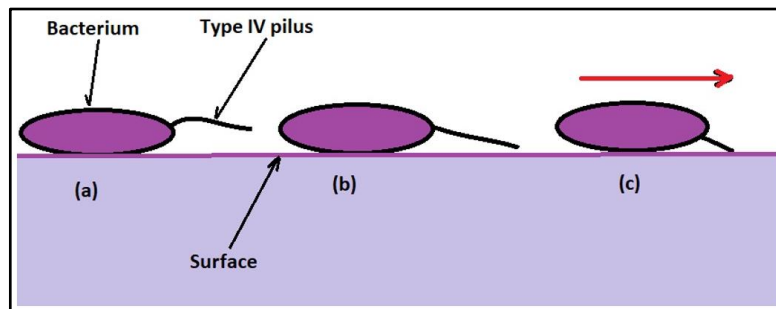


Figure II.8. 9 : Mobilité en discontinue par des pili de type IV (twitching motility)

- **Formation de biofilms :**

Les pili bactériens, en particulier les pili de type IV (T4P), sont essentiels à la formation des biofilms, des structures multicellulaires organisées qui protègent les bactéries dans des environnements hostiles.

- Les biofilms se forment sur des surfaces biotiques ou abiotiques et sont composés d'une matrice extracellulaire riche en exopolysaccharides, protéines et ADN.
- Les T4P facilitent l'adhésion initiale : ils s'étendent, se fixent à la surface, puis se rétractent, permettant une adhésion réversible qui devient irréversible sous l'influence de signaux intracellulaires.
- Ce mécanisme assure un ancrage stable, essentiel pour le développement de la microcolonie initiale et la maturation du biofilm.

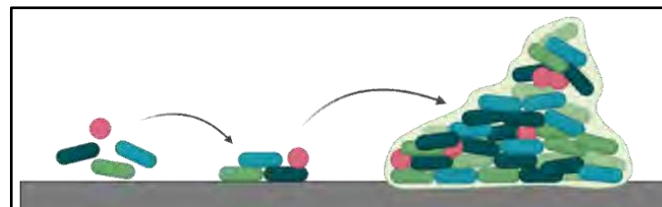


Figure II.8. 10 : Formation de biofilms

c. **Types de pili**

- Pili conjugatifs (pili F) : impliqués dans la conjugaison
- Pili de type IV : impliqués dans l'adhésion, la motilité et les biofilms

À retenir :

Les fimbriae désignent des structures rigides et non motiles, correspondant généralement aux pili de type I, III ou curli. Le terme pili est plus large : il inclut à la fois les fimbriae (adhésifs) et d'autres structures non fimbriales, comme les pili sexuels (ex. pilus F) ou les pili de type IV, qui sont dynamiques et impliqués dans la motilité ou la conjugaison.

II.9. La capsule

Parmi les structures extracellulaires les plus remarquables observées chez certaines bactéries figure la capsule, également appelée glycocalyx ou couche capsulaire.

II.9.1. Structure et morphologie des capsules bactériennes

II.9.1.1. Définition

La capsule est une structure externe amorphe, visqueuse, et bien organisée, adhérant fermement à la paroi bactérienne. Elle se distingue du slime layer (couche muqueuse lâche et peu organisée) par sa cohésion structurale et son attachement stable.

II.9.1.2. Localisation

Elle enveloppe complètement la cellule bactérienne, formant une couche protectrice qui peut atteindre plusieurs centaines de nanomètres d'épaisseur.

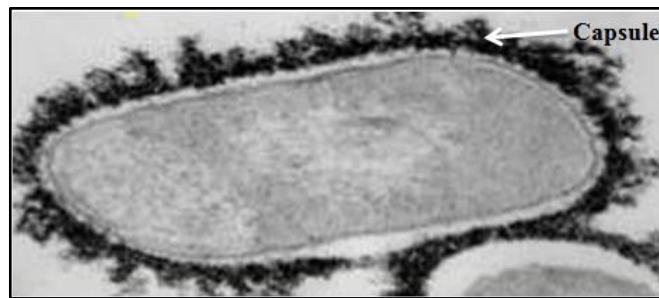


Figure II.9. 1 : Observation en microscopie électronique d'une capsule bactérienne (coloration négative au noir d'Inde)

II.9.1.3. Diversité morphologique

Type de capsule :

1) Capsule « vrai » (épaisses et régulières)

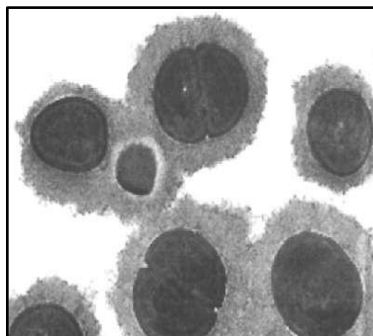


Figure II.9. 2 : Ex : *Streptococcus pneumoniae*

2) Capsule « diffuse » (minces et diffuses)

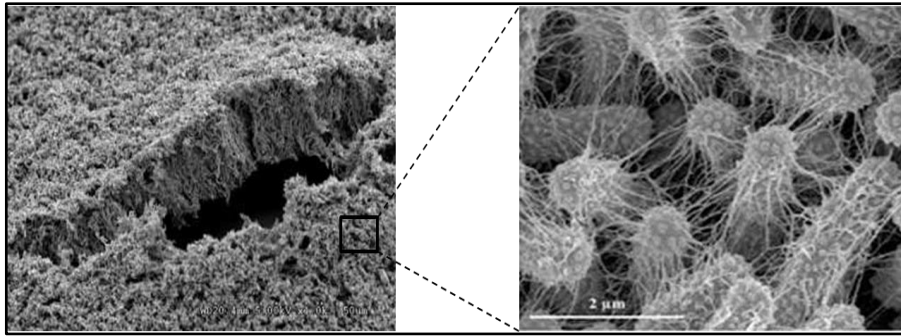


Figure II.9. 3 : Ex : *Staphylococcus epidermidis*

II.9.2. Composition chimique des capsules

II.9.2.1. Nature chimique

La majorité des capsules sont composées de polysaccharides (on parle alors de capsules polysaccharidiques). Certaines bactéries, toutefois, produisent des capsules polypeptidiques.

a. Capsules polysaccharidiques

- Constituées de polymères d'oses simples (glucose, galactose, mannose...) et/ou de dérivés uroniques, structure répétitive, parfois ramifiée. Hydrophiles, résistantes à la dessiccation.

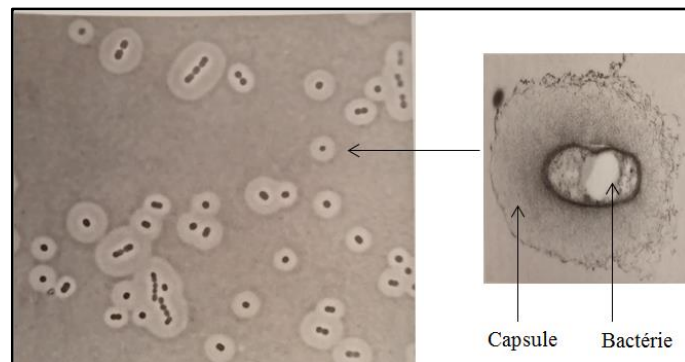


Figure II.9. 4 : La capsule bactérienne

b. Capsules polypeptidiques

- Moins fréquentes
- Exemple : capsule de *Bacillus anthracis*, composée de poly-D-glutamate

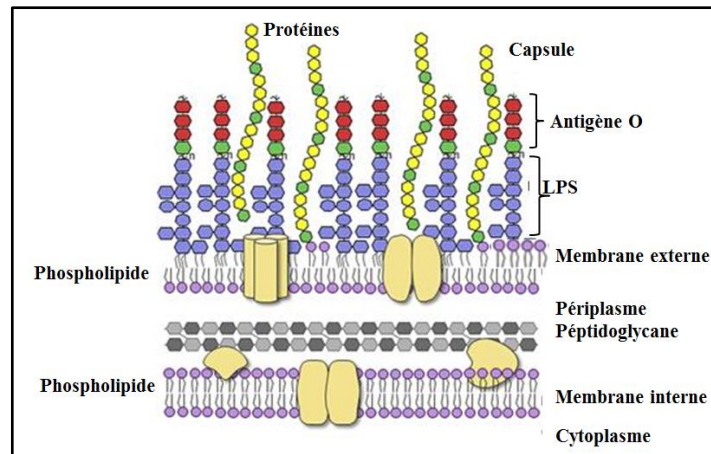


Figure II.9. 5 : Comparaison structurale entre une capsule polysaccharidique (chaîne d'oses) et une capsule polypeptidique (chaîne d'acides aminés)

II.9.3. Fonctions biologiques des capsules

II.9.3.1. Protection contre les agressions physiques et chimiques

La capsule agit comme barrière physique :

Limite la dessiccation (rétention d'eau) ; bloque certaines substances toxiques (antibiotiques, détergents) ; protège contre les UV et les agents oxydants

II.9.3.2. Résistance à la phagocytose

Elle constitue un mécanisme d'échappement immunitaire :

Empêche l'opsonisation par les anticorps et le complément ; inhibe la reconnaissance par les macrophages ; certains polysaccharides capsulaires imitent les composés du soi (ex. : acide sialique).

II.9.3.3. Rôle dans l'adhésion et la colonisation

Certaines capsules facilitent l'adhésion aux cellules épithéliales, aux tissus ou aux surfaces inertes, favorisant la formation de biofilms.

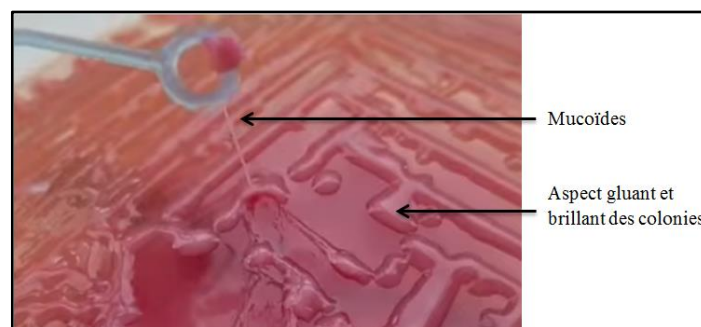


Figure II.9. 6 : *Klebsiella pneumoniae* sur milieu gélosé MacConkey : colonies mucoïdes (brillantes et visqueuses), de consistance gluantes, traduisant une forte production de capsule.

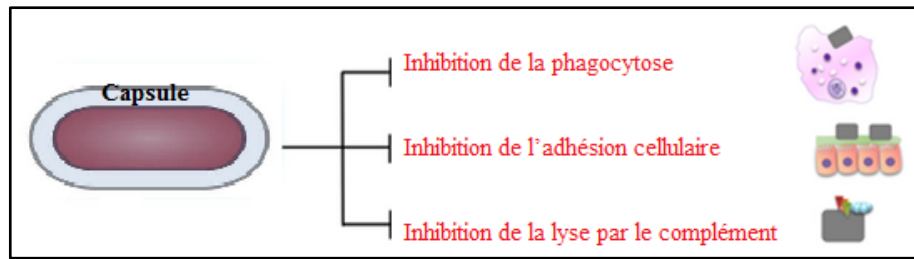


Figure II.9. 7 : Fonctions biologiques des capsules

II.10. Les cils et flagelles

II.10.1. Mise en évidence des flagelles bactériens

II.10.1.1. Découverte historique

Les flagelles ont été découverts à la fin du XIXe siècle, lorsqu'on observa au microscope des bactéries mobiles. Mais c'est l'essor de la microscopie électronique à transmission au XXe siècle qui permit de visualiser la structure fine des flagelles bactériens. Ces structures furent reconnues comme des éléments moteurs essentiels à la mobilité.

II.10.1.2. Méthodes de mise en évidence

a. Observation en microscopie optique

La microscopie à fond noir permet d'observer des flagelles vivants grâce aux effets de contraste lumineux. Cependant, leur finesse les rend difficiles à détecter sans traitements spécifiques.

b. Coloration des flagelles

Des techniques de coloration flagellaire ont été développées, notamment la méthode de Leifson, qui épaissit artificiellement les flagelles en les recouvrant de mordants métalliques.

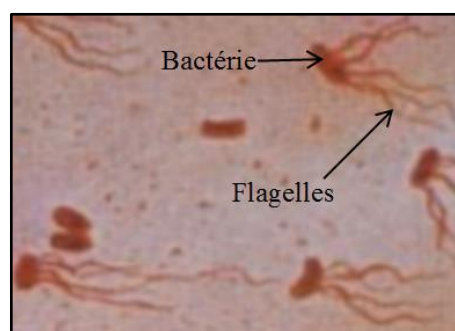


Figure II.10. 1 : Les flagelles de *Salmonella enterica*

c. Microscopie électronique

La microscopie électronique à transmission (MET) reste la méthode de référence pour l'étude des flagelles. Elle permet de visualiser leur structure hélicoïdale et leurs points d'ancrage.

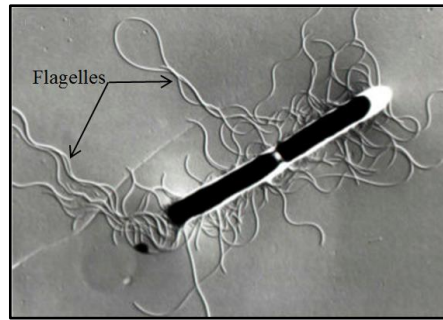


Figure II.10. 2 : Flagelles de *Bacillus subtilis* observés en microscopie électronique à transmission sur *Salmonella enterica*.

II.10.1.3. Observation de la mobilité

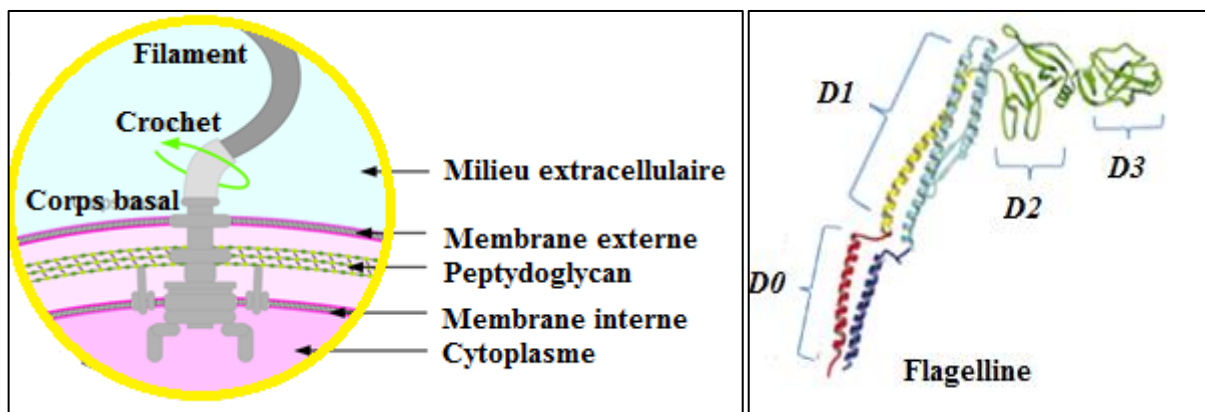
La mobilité bactérienne est un indice indirect de la présence de flagelles :

- Tests de mobilité sur gélose semi-solide (0,3 %) : les bactéries mobiles diffusent autour du point d'inoculation.
- Observation de cultures en milieu liquide : les bactéries mobiles nagent activement, parfois en essaims coordonnés.

II.10.2. Structure des flagelles bactériens

II.10.2.1. Vue d'ensemble

Les flagelles sont des appendices extracellulaires hélicoïdaux, fins (environ 20 nm de diamètre) et longs (jusqu'à 20 µm), responsables de la propulsion bactérienne. Leur architecture est divisée en trois grandes parties : le filament, le crochet et le corps basal.



La flagelline est constituée de quatre domaines connectés linéairement qui se replient en spirales et sont appelés D0, D1, D2 et D3. Le domaine D0 des flagellines forme la partie la plus interne du filament cylindrique et le domaine D3 la partie la plus externe, à la surface. La chaîne N-terminale part de D0, passe par D1, D2 et atteint D3, puis revient par D2 et D1. La chaîne C-terminale se termine en D0.

Figure II.10. 3 : Schéma général d'un flagelle bactérien montrant ses trois parties principales.

II.10.2.2. Le filament

C'est la partie la plus longue, formée d'une protéine unique appelée flagelline (FliC), assemblée en une structure hélicoïdale.

Il est hollow (creux), permettant le transport des sous-unités vers l'extrémité en croissance.

Il possède des propriétés mécaniques qui lui permettent de se tordre et de produire le mouvement hélicoïdal.

II.10.2.3. Le crochet

Il relie le filament au corps basal et agit comme une charnière flexible, permettant l'orientation du filament dans plusieurs directions.

Composé de protéines Hook, il mesure environ 50 nm.

II.10.2.4. Le corps basal

Il s'insère profondément dans l'enveloppe cellulaire :

- Anneaux protéiques (L, P, MS et C) stabilisent la structure dans la membrane externe, la paroi et la membrane cytoplasmique.
- Le moteur flagellaire repose sur des protéines motrices (MotA, MotB) utilisant le flux de protons (H^+) ou parfois de Na^+ pour générer une rotation.
- Chez les Gram négatifs : structure plus complexe avec anneaux L et P supplémentaires.

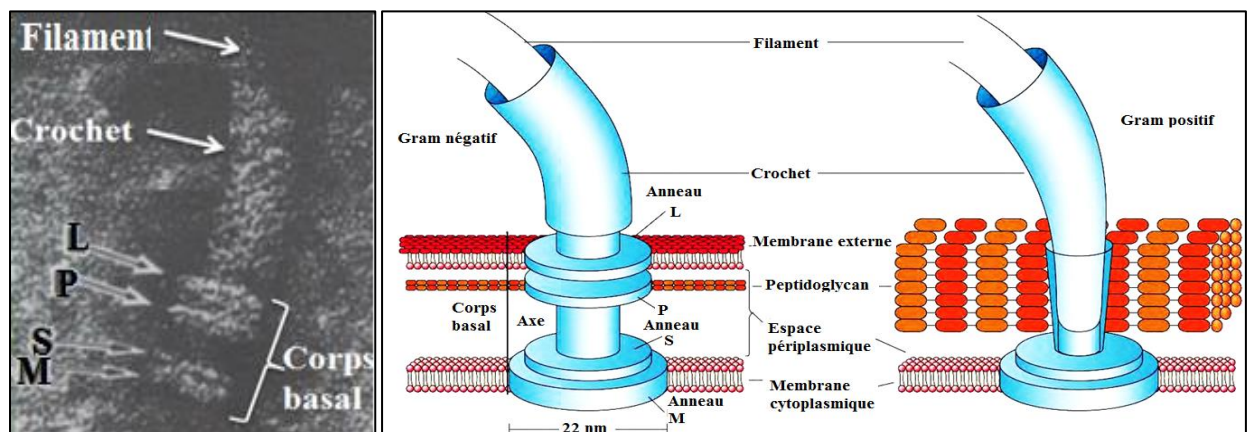
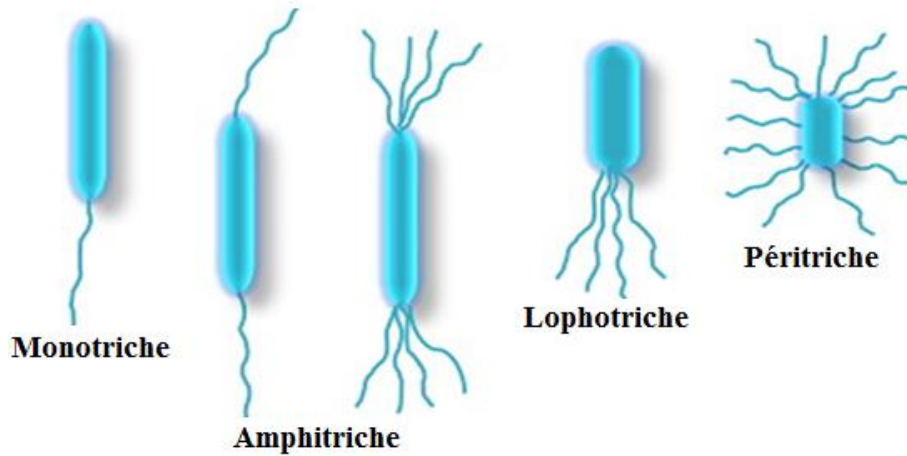


Figure II.10. 4 : Comparaison de l'ancrage flagellaire entre bactéries à Gram positif et Gram négatif.

II.10.3. Répartition des flagelles

La position des flagelles varie selon les espèces :



Monotriche : un seul flagelle.

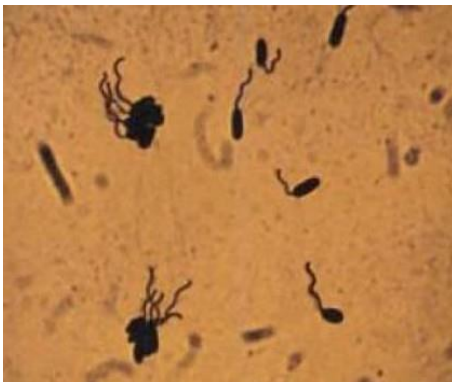


Figure II.10. 5 : Monotriche polaire *Pseudomonas*

Lophotriche : touffe de flagelles à un pôle.



Figure II.10. 6 : Lophotriche *Bacillus* sp

Amphitriche : flagelle à chaque pôle.



Figure II.10. 7 : Amphitriche *Spirillum* sp

Péritriche : flagelles tout autour de la cellule.



Figure II.10. 8 : Péritriche *Proteus vulgaris*

Flagelle des spirochètes :

Leur flagelle est interne, il est localisé dans l' espace compris entre le peptidoglycane et la membrane externe. Sa structure est classique mais il est entouré d'une gaine. Le corpuscule basal ne comprend que les disque M et S, il ressemble donc à celui des Gram+. Les flagelles sont insérés à chacune des extrémités de la cellule, ils sont entourés autour de la cellule et viennent éventuellement se chevaucher dans la partie médiane de la cellule.

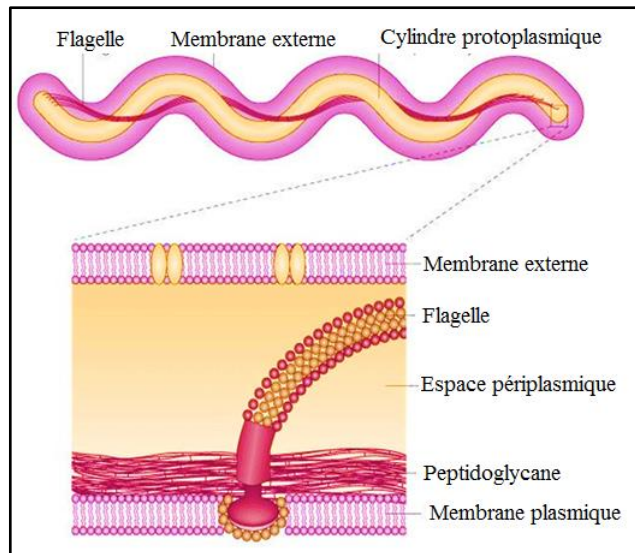


Figure II.10. 9 : Ultrastructure du flagelle des spirochètes

II.10.4. Fonctions des flagelles chez les bactéries

II.10.4.1. Motilité

La fonction principale du flagelle est la locomotion. Par la rotation du filament, la cellule est propulsée dans le milieu :

La rotation horaire (CW) ou antihoraire (CCW) détermine des comportements de course (run) ou de tumbling (changement de direction).

Ce mouvement est modulé par la chimilocalisation (chemotaxis), qui guide la bactérie vers ou contre des gradients chimiques.

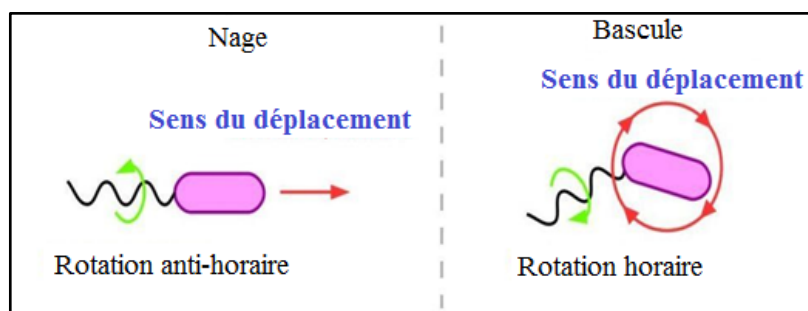


Figure II.10. 10 : Motilité bactérienne

Chez les bactéries flagellées comme *Escherichia coli*, la mobilité repose sur une alternance de phases de run, où les flagelles tournent en sens antihoraire et forment un faisceau propulsif permettant un déplacement rectiligne rapide, et de tumble, où la rotation horaire désorganise le faisceau et provoque un changement aléatoire d'orientation ; sans gradient chimique, ce cycle engendre une diffusion active non orientée, tandis qu'en présence d'un attractant les runs s'allongent et les tumbles se raréfient, et qu'en présence d'un répulsif les tumbles deviennent plus fréquents, assurant ainsi un déplacement adapté aux conditions environnementales.

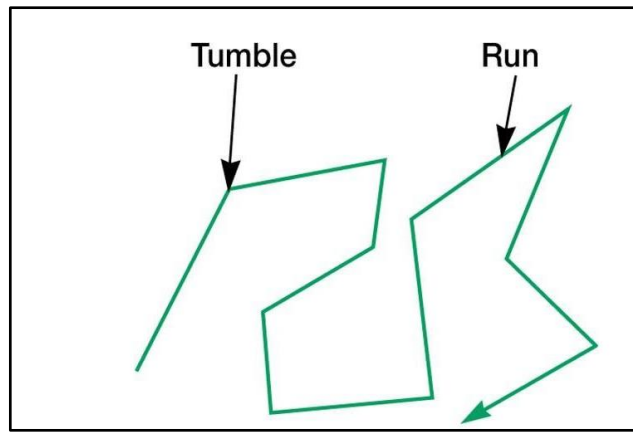
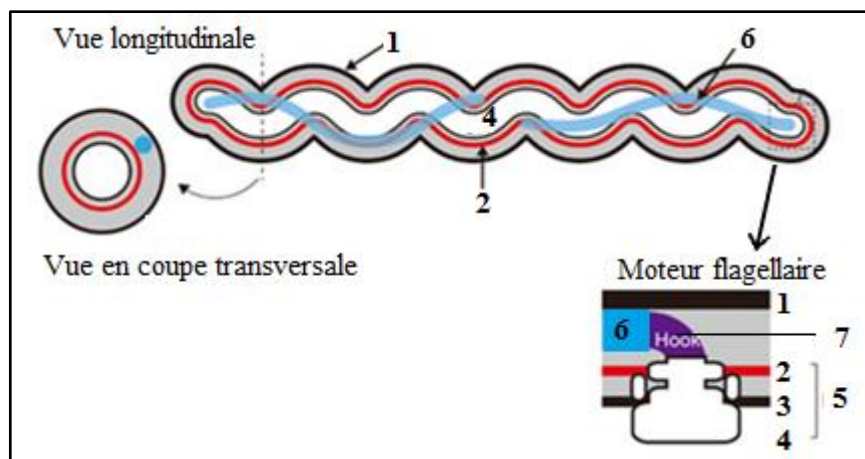


Figure II.10. 11 : Directions et mouvements alternés "run and tumble" bactérienne

a. Autres types de mobilité spirochètes :

Grâce à la rotation de leur flagelle (dont le sens de rotation peut s'inverser) les spirochètes sont doués de mouvements de translation, de rotation autour de l'axe longitudinal ou de flexion



1 Membrane externe ; 2 Peptidoglycane ; 3 Membrane interne ; 4 Cylindre cytoplasmique; 5 Cylindre protoplasmique ; 6 Flagelle périplasmique ; 7 Crochet

Figure II.10. 12 : Mouvements des spirochètes assurés par leurs flagelles périplasmiques

II.11. La spore

II.11.1. Morphologie

La spore bactérienne est une cellule différenciée, spécialisée dans la survie en milieu hostile. Contrairement aux formes végétatives, la spore n'est pas impliquée dans la reproduction mais dans la conservation du patrimoine génétique.

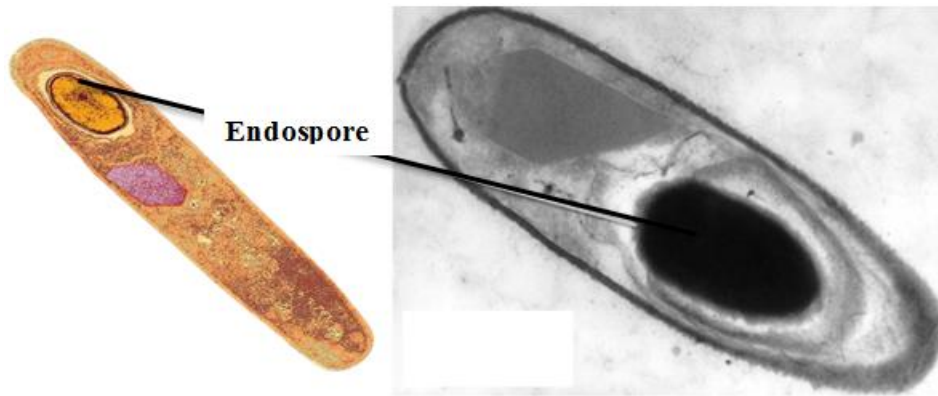


Figure II.11. 1 : La spore bactérienne

II.11.1.1. Variabilité morphologique

Les spores peuvent être :

- Sphériques : retrouvées par exemple chez *Clostridium perfringens* ;
- Ovale ou ellipsoïdes : caractéristiques des espèces du genre *Bacillus* ;
- Allongées : plus rares, observées dans certains milieux de culture.
- La position de la spore dans la cellule mère est un indicateur taxonomique :
 - Centrale : ex. *Bacillus megaterium*
 - Subterminale : ex. *Bacillus subtilis*
 - Terminale : ex. *Clostridium tetani*, donnant un aspect de massue à la cellule

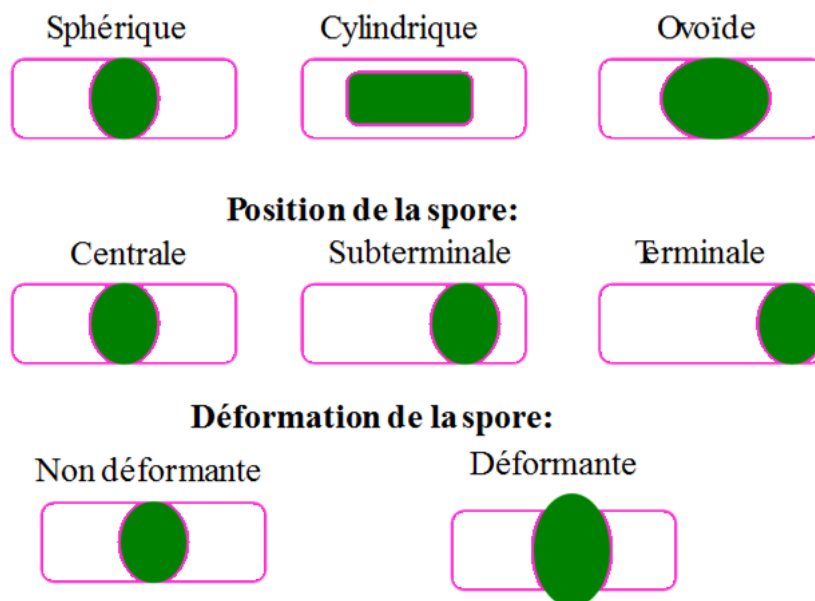


Figure II.11. 2 : Illustration des types morphologiques des spores selon leur forme et leur position.

II.11.1.2. Microscopie et coloration

Les spores sont visibles en microscopie optique après coloration spécifique (ex. méthode de Schaeffer-Fulton). Leur forte réfringence est due à leur structure dense et leur faible teneur en eau. À la coloration de Gram, elles apparaissent généralement incolores au sein d'une cellule colorée en violet ou rose, ce qui permet leur identification indirecte.

II.11.1.3. Structure

La spore est une entité hautement organisée et différenciée, constituée de plusieurs couches protectrices superposées qui lui confèrent sa résistance remarquable.

II.11.1.4. Organisation multicouche

a. Cœur (core) :

Contient l'ADN, l'ARN, les ribosomes, enzymes et ions essentiels à la future germination.

Faiblement hydraté (10 à 25 % d'eau), ce qui réduit considérablement l'activité enzymatique.

Présence de Ca-DPA (acide dipicolinique + calcium), qui joue un rôle fondamental dans la protection de l'ADN et la résistance thermique.

b. Membrane interne :

Barrière lipidique imperméable aux petites molécules hydrophiles.

Elle assure une sélectivité stricte des échanges pendant la dormance.

c. Paroi germinative :

Peptidoglycane particulier qui sera transformé en paroi cellulaire après germination.

d. Cortex :

Composé de peptidoglycane peu réticulé (moins de 3 % de pontage croisé).

Essentiel pour maintenir le cœur en état déshydraté et inactif.

e. Membrane externe :

Sépare le cortex du manteau ; son rôle est essentiellement structural.

f. Manteau (coat) :

Composé de protéines riches en cystéine et en acides aminés hydrophobes.

Multifonctionnel : résistance mécanique, chimique et enzymatique.

g. Exosporium (facultatif) :

Présent chez certaines espèces (ex : *Bacillus anthracis*), formé d'une couche de glycoprotéines et de lipides. Interagit avec l'environnement et peut jouer un rôle dans la virulence.

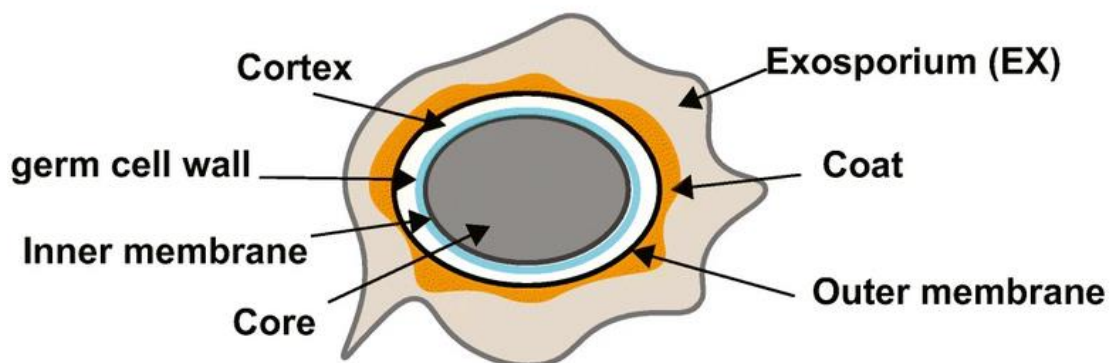
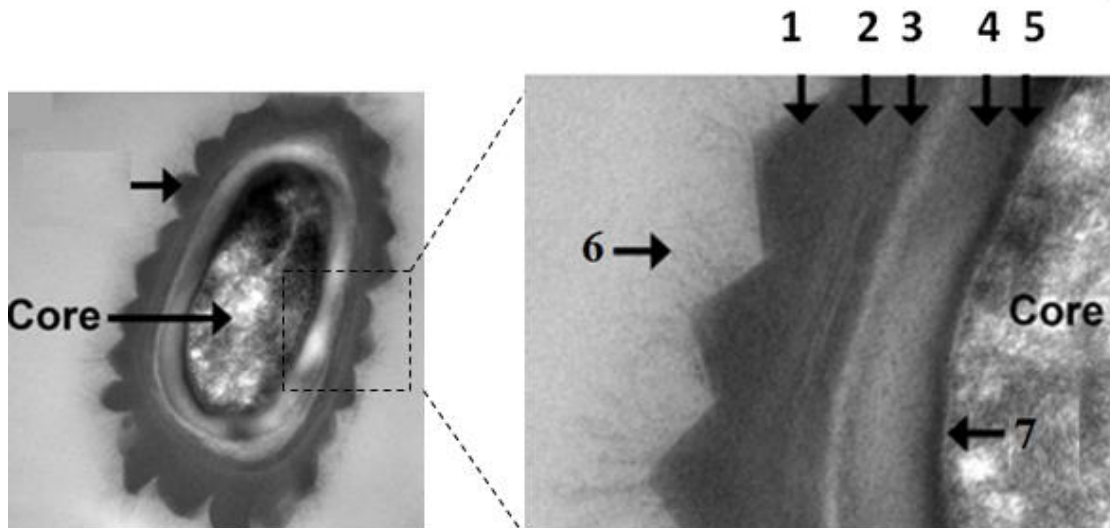


Figure II.11. 3 : Représentation schématique de la structure stratifiée d'une spore bactérienne.



1 : Exosporium. 2 : Enveloppe externe. 3 : Enveloppe interne. 4 : Cortex. 5 : Paroi germinale. 6 : Projections en forme de cheveux. 7 : Membrane interne.

Figure II.11. 4 : Spores de *Clostridioides difficile* observées par microscopie électronique en transmission (MET), à gauche vue générale d'une spore ; à droite zone agrandie de l'image adroite.

II.11.2. Phénomènes de sporulation

La sporulation est un processus adaptatif, morphologique et génétique, qui survient en réponse à des conditions de stress. Ce processus est particulièrement bien étudié chez *Bacillus subtilis*.

II.11.2.1. Déclenchement

Le stress nutritionnel (carence en azote, carbone, phosphate) active une cascade de phosphorylation menant à l'activation du facteur régulateur. Ce dernier est le maître régulateur de la sporulation.

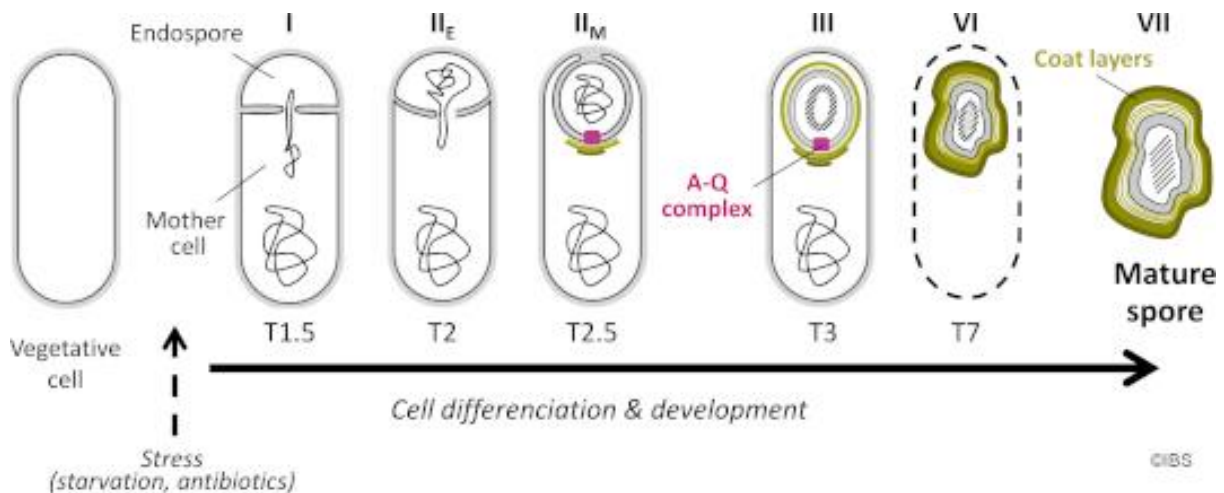


Figure II.11. 5 : Voie de signalisation conduisant à l'activation de Spo0A~P chez *Bacillus subtilis*.

II.11.2.2. Étapes morphogénétiques

- a. Septation asymétrique : division cellulaire donnant une grande cellule mère et une petite préspore.
- b. Englobement : la cellule mère entoure complètement la préspore, créant une structure à double membrane.
- c. Synthèse du cortex et du manteau : accumulation des couches protectrices.
- d. Incorporation du Ca-DPA et des SASPs : déshydratation du cœur.
- e. Maturation : développement de la résistance thermique et chimique.
- f. Lyse de la cellule mère : libération de la spore libre dans le milieu.

II.11.3. Propriétés

II.11.3.1. Résistance physique et chimique

Les spores sont réputées pour leur tolérance aux conditions létales pour les cellules végétatives :

Température : les spores peuvent résister à des températures supérieures à 120°C (autoclavage).

Déshydratation : grâce au cortex et au Ca-DPA.

Radiations : les SASPs protègent l'ADN contre les cassures induites par les UV et rayonnements ionisants.

Agents chimiques : résistantes aux désinfectants, solvants, enzymes et détergents.

II.11.3.2. Durabilité extrême

Des spores viables ont été retrouvées dans des échantillons fossiles, salins ou volcaniques datant de plusieurs milliers, voire millions d'années. Cette longévité est unique dans le monde vivant.

II.11.4. Phénomènes de germination

La germination représente le retour à l'état végétatif dès que l'environnement redevient favorable. Elle est rapide, irréversible et métaboliquement active.

II.11.4.1. Phases de la germination

a. Activation :

Réversible, nécessite une température sublétales (80°C) ou exposition à certains agents chimiques.

b. Germination proprement dite :

Initiée par la détection de signaux (acides aminés, sucres) par des récepteurs Ger-type.

Libération de Ca-DPA, réhydratation du cœur.

Dégradation enzymatique du cortex par Cwl (*Cell wall lytic enzyme J.*), SleB (*Spore lytic enzyme B.*).

c. Excroissance (Outgrowth) :

Reprise de la transcription, traduction, réplication.

Formation d'une cellule végétative fonctionnelle.

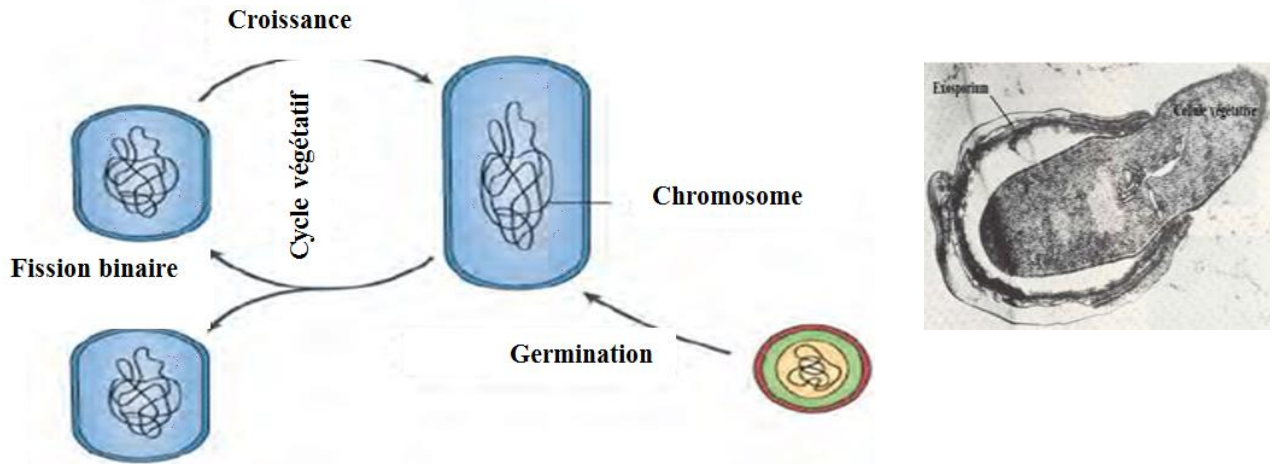


Figure II.11. 6 : Chronologie des événements de la germination bactérienne.

Conclusion

L'étude de la cellule bactérienne révèle son organisation structurale et fonctionnelle, essentielle pour comprendre la physiologie microbienne.

III. La Classification Bactérienne

La classification des bactéries est une composante essentielle de la microbiologie, permettant de regrouper, nommer et comprendre la diversité microbienne. Elle repose sur une analyse rigoureuse des caractéristiques des microorganismes afin de les organiser selon des critères objectifs.

III.1. La taxinomie

Taxinomie est constituée de 3 parties séparées mais reliées entre elles :

Classification: Arrangement des organismes en groupes ou taxons selon leur similitude et leur parenté évolutive.

Nomenclature: Consiste à donner des noms aux groupes taxinomiques selon les règles publiées.

Identification: Détermine qu'un isolat particulier appartient à un taxon connu.

Remarque

Une confusion existe entre taxinomie et systématique : la systématique étudie la diversité biologique et organise les taxons.

On distingue trois types de noms : informels, spécialisés et scientifiques.

Exemple : *colibacille* (informel), *E. coli O157* (spécialisé), *Escherichia coli* (scientifique, famille des Enterobacteriaceae).

III.1.1. Définition et principes de classification phénétique

La classification phénétique (ou numérique) repose sur la comparaison d'un grand nombre de caractères observables (morphologiques, biochimiques, physiologiques). Ces données sont traitées par des méthodes statistiques pour mesurer le degré de similarité entre organismes et établir des groupes. Elle reflète donc une ressemblance globale, mais sans nécessairement traduire les liens évolutifs réels entre espèces.

Tableau III. 1: Quelques aractères phénotypiques utilisés en classification des d'Entérobactéries

Bactérie	Mobilité	Lactose	ONPG	Mannitol	Citrate	Gaz en glucose	H2S	VP
<i>Salmonella typhimurium</i>	+	-	-	+	+	+	+	-
<i>Citrobacter freundii</i>	+	-/+	+	+	+	+	+	+
<i>Citrobacter koseri</i>	+	-/+	+	+	+	+	-	+
<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	+	-	+	-	-
<i>Shigella sonnei</i>	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>Enterobacter agglomerans</i>	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>Enterobacter cloacae</i>	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>Serratia liquefaciens</i>	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>Serratia marcescens</i>	+	-	+	+	+	+	-	+
<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	+	+	+	+	+	-	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	+	+	+	+	+	-	+

+ : Positif ; - : Négatif ; -/+ : Variable selon les souches

Classifications phénétiques (ou phénotypiques), basées sur la considération de caractères observables .Elles réunissent des groupes de bactéries sur des propriétés phénétiques commune. Mais ce type de taxonomie peut réunir des bactéries très hétérogènes et génétiquement différentes.

III.1.2. Observations macroscopiques et microscopiques

III.1.2.2. Observations et tests préliminaires

Coloration (Gram, bleu de méthylène, acido-alcool-résistante ...), Morphologie (bacille, coque..), Mobilité, Présence de spores (déformantes, terminales), Croissance en aérobiose ou en anaérobiose,

III.1.2.3. Tests

Test métaboliques : de l'oxydase, de l'uréase, de l'indole, Hydrolyse de l'esculine, Production d'H2S...etc,

Sérologie : le sérodiagnostic et le stéréotypage est basé sur la réaction spécifique antigène – anticorps. Cette méthode permet de différencier des espèces et même des souches au sein d'une même espèce. Les antigènes ciblés sont les Ag O chez les Gram négatives, les Ag H flagellaires et les Ag K capsulaires.

Test d'inhibition : on évalue la croissance des micro-organismes sur des milieux sélectifs, en présence d'antibiotiques (antibiogramme).

Milieux sélectifs, Antibiotiques...etc.

Chimiotaxonomie : on détermine le profil des acides gras des parois. Le profil des protéines totales par électrophorèse (séparation selon le pHi et le poids moléculaire).

Lysotypie : infection par des bactériophages et formation de plages de lyses. On définit le lysovar ou le lysotype.

- ➔ Malgré l'importance des caractères phénotypiques pour l'identification des microorganismes mais ils ne sont pas adaptés à certains types de bactéries comme les bactéries ayant une croissance lente ou difficile (*Chlamydia*, *Rickettsiae*) ou aux germes non cultivables (beaucoup d'espèces du sol et du microbiote intestinal humain et animal). Les caractères morphologiques sont utiles pour l'identification, mais ne peuvent pas démontrer à eux seuls les relations phylogénétiques.

III.1.3. Mesure de l'affinité entre les souches

SAB représente le coefficient de similitude entre deux souches A et B. Voici ce que représentent les termes de la formule :

- nS+ : Nombre de caractères similaires (positifs) entre les souches A et B.
- nd : Nombre de caractères différents entre les souches A et B.

Pour calculer l'indice de Jaccard, vous divisez le nombre de caractères similaires par la somme du nombre de caractères similaires et du nombre de caractères différents. Ensuite, vous multipliez ce résultat par 100 pour obtenir le pourcentage de similitude.

Voici la formule complète :
$$SAB = \left(\frac{nS+}{nS++nd} \right) \cdot 100$$

Cela donne une mesure de la similitude proportionnelle entre deux ensembles, où un score de 100 % indiquerait une similitude parfaite entre les ensembles A et B, et un score de 0 % indiquerait une absence totale de similitude.

III.1.4. La classification phénotypique présente plusieurs limitations, notamment :

1. **Dépendance à la culture** : Elle nécessite des cultures pures de bactéries, ce qui peut être difficile ou impossible pour certaines espèces bactériennes, notamment celles à croissance lente ou difficile, telles que *Chlamydia* et *Rickettsia*.
2. **Limitation du nombre de tests** : Même en utilisant un grand nombre de tests phénotypiques, cela ne couvre qu'une petite partie du potentiel génétique d'une bactérie. Par exemple, avec 400 tests, on n'évalue que 5 à 20 % des gènes d'une bactérie comme *E. coli*, qui en possède environ 3000.
3. **Variations intra-espèces** : Il existe des variations phénotypiques au sein d'une même espèce bactérienne. Cela peut rendre difficile la classification précise des bactéries uniquement en fonction de leurs caractéristiques phénotypiques.
4. **Incapacité à identifier certaines espèces** : Certaines bactéries ne peuvent pas être identifiées uniquement par des caractéristiques phénotypiques. Par exemple, les bactéries pour lesquelles nous ne disposons pas de techniques de culture appropriées ou qui ne peuvent pas être cultivées en laboratoire.

III.2. La Classification Phylogénétique

III.2.1. Fondements moléculaires

La classification phylogénétique repose sur l'analyse des relations évolutives entre les organismes, généralement par la comparaison des séquences d'acides nucléiques. L'introduction de la biologie moléculaire a révolutionné la systématique bactérienne, notamment grâce à la comparaison des gènes codant pour l'ARN ribosomique 16S (ARNr 16S), un marqueur universel chez les procaryotes.

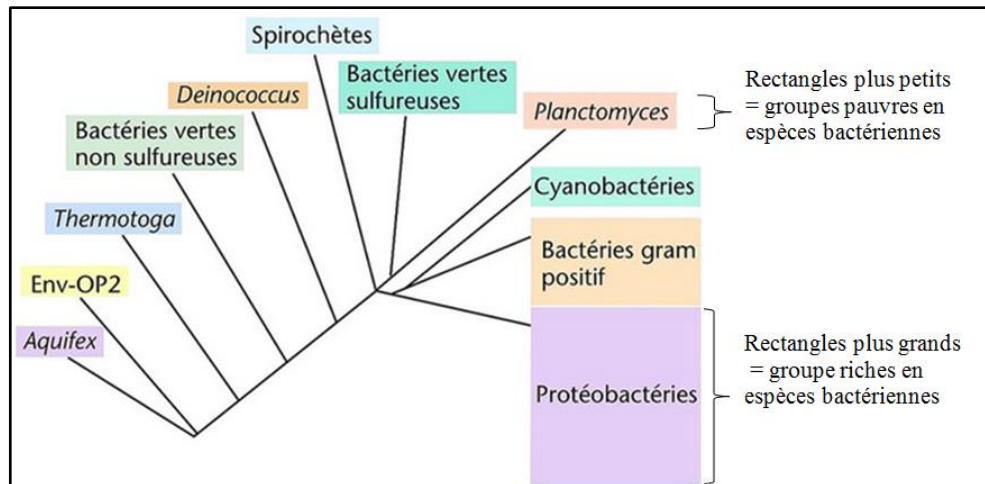


Figure III. 1 : Arbre phylogénétique basé sur la séquence de l'ARNr 16S

Cet arbre phylogénétique représente les relations génétiques entre les grands groupes bactériens, fondées sur le séquençage du gène de l'ARN ribosomique 16S (16S rRNA).

1. L'arbre ne comprend pas tous les groupes bactériens connus :
2. La taille de chaque rectangle coloré est proportionnelle au nombre relatif de genres et d'espèces connus au sein de chaque groupe :
3. Le groupe des Protéobactéries (Proteobacteria) est actuellement le plus représenté :
4. Le groupe désigné "Env" (environnemental) :

Il ne représente pas des espèces cultivées ou identifiées de manière classique, mais des séquences génétiques d'ARNr obtenues à partir d'échantillons environnementaux (ex. : sol, eau).

III.2.2. Techniques utilisées de la taxonomie génétique ou phylogénétique (naturelles)

La taxonomie génétique ou phylogénétique repose sur l'analyse de différents critères pour classer les organismes vivants. Voici une explication détaillée des critères recherchés :

III.2.2.1. Taille du génome :

La taille du génome peut varier selon les espèces ou les genres. Par exemple, les bactéries paratrophes (parasites, intracellulaires obligatoires) ont souvent un génome réduit.

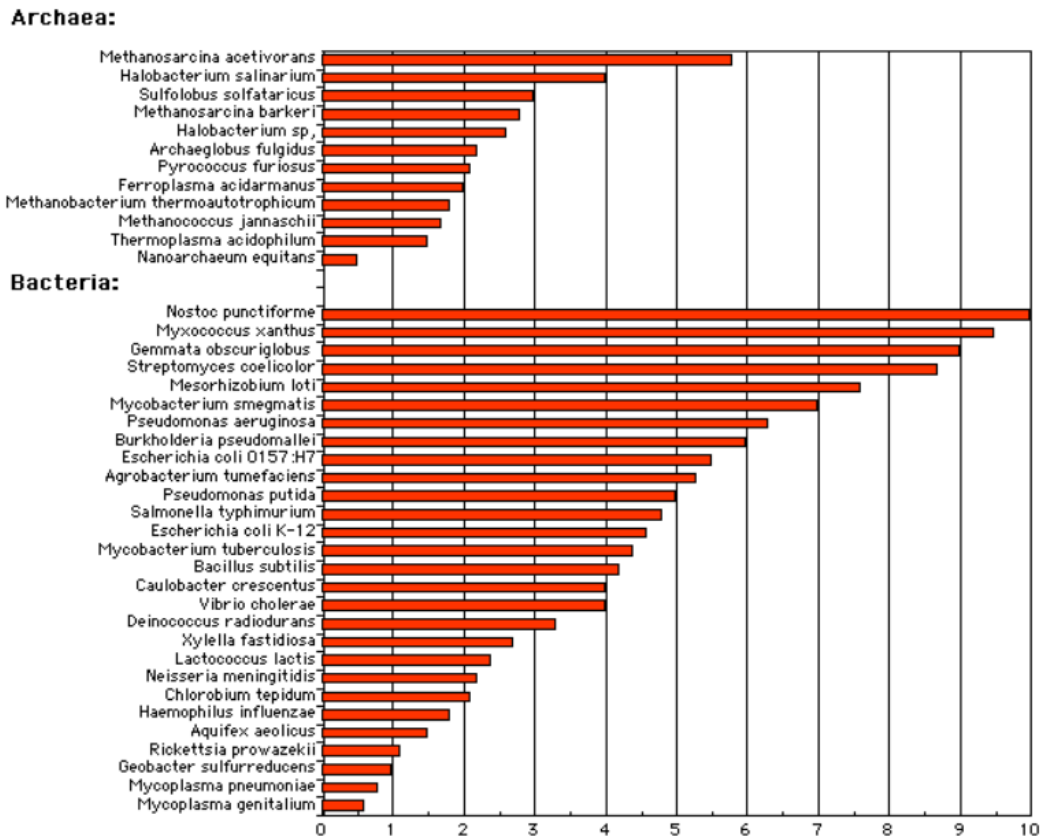


Figure III. 2 : La taille du génome de différentes espèces bactérienne

III.2.2.2. Composition en bases d'ADN (GC%) :

La composition en bases d'ADN, mesurée par le pourcentage de G+C dans l'ADN, est un critère important pour la classification. Ce coefficient de Chargaff varie selon l'espèce et peut être déterminé par différentes méthodes, y compris le séquençage et la spectrométrie ultraviolette. La température de fusion (Tm) de l'ADN est également influencée par le GC%, ce qui permet de distinguer les espèces.

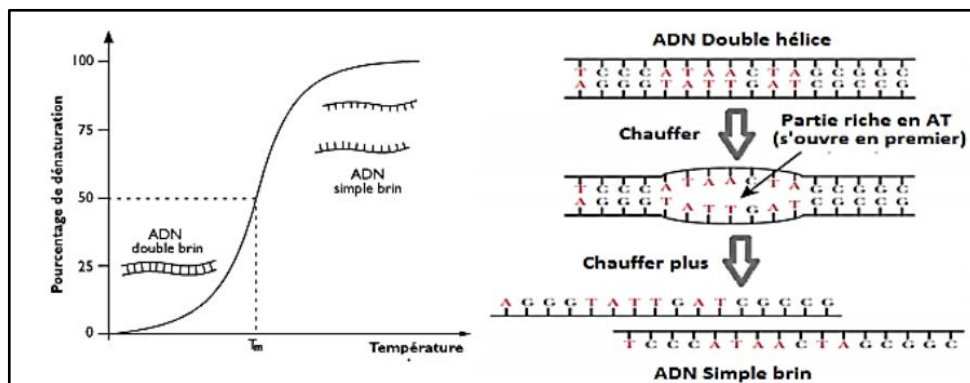


Figure III. 3 : Séparation des brins d'ADN en fonction de la température.

III.2.2.3. Hybridation ADN/ADN :

L'hybridation de l'ADN est utilisée pour déterminer les relations de parenté entre les espèces. Par exemple, elle a permis de montrer que *Shigella* et *Escherichia*, ainsi que *Salmonella* et *Arizona*, appartiennent génétiquement à la même espèce.

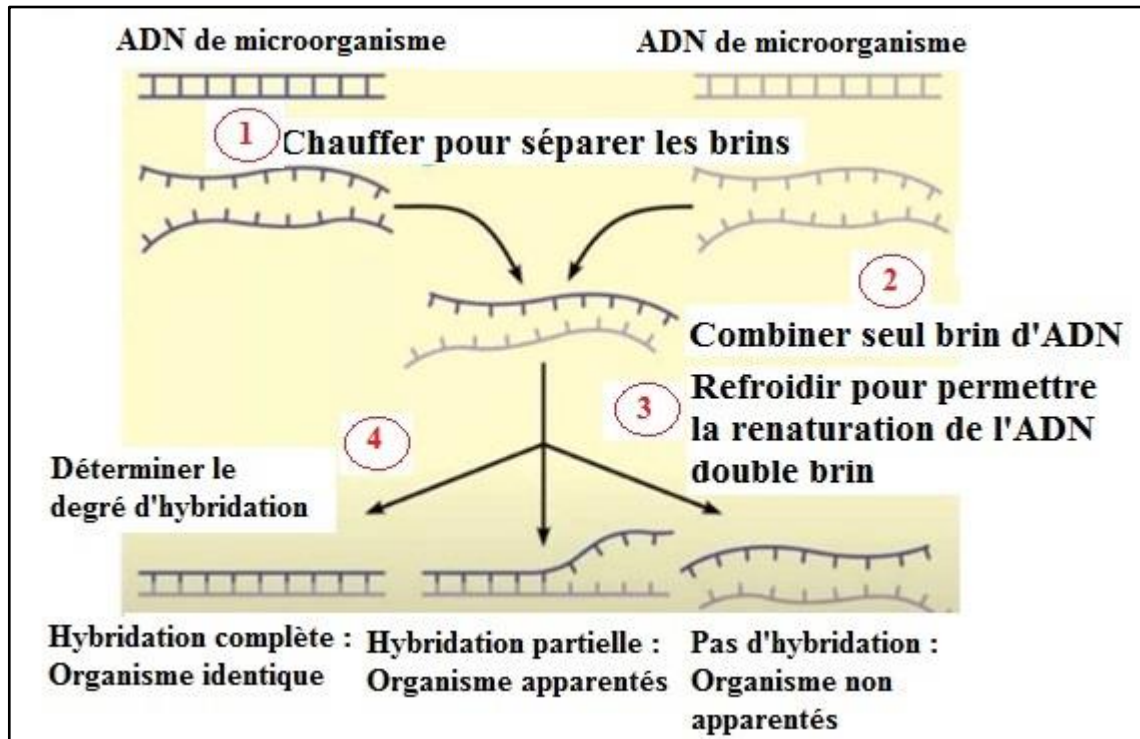


Figure III. 4 : Hybridation ADN/ADN

III.2.2.4. Séquençage des ARN ribosomiaux (ARNr) :

Selon Woese les ARNr sont utilisés comme marqueurs moléculaires pour la classification phylogénétique en raison de leur constance fonctionnelle, de leur répartition dans tous les organismes et de leur grande taille. Le séquençage de l'ARNr, en particulier de l'ARNr 16S, est largement utilisé pour établir des relations évolutives entre les organismes.

On distingue:

- ARNr 23S 2900 nucleotides (grand ARNr)
- ARNr 16S 1540 nucleotides (petit ARNr)
- ARN r 5S 120 nucleotides (très petit ARNr)

Les pourcentages d'homologie entre les séquences d'ARN 16S peuvent être utilisés pour évaluer la similarité entre les espèces bactériennes.

- ✓ Une homologie élevée (plus de 97,5 %) suggère que les séquences appartiennent au même genre bactérien.
- ✓ Entre 90 et 97,5 % d'homologie, les espèces sont généralement considérées comme appartenant au même genre, mais cela doit être confirmé par d'autres méthodes, telles que la chimiotaxonomie.
- ✓ En dessous de 90 % d'homologie, les espèces sont généralement considérées comme appartenant à des genres différents.

Les données de séquençage de l'ARN 16S peuvent être utilisées pour construire des arbres phylogénétiques, qui représentent les relations évolutives entre les différentes espèces bactériennes.

Tableau III. 2 : La résolution taxinomique des différentes techniques moléculaires

Famille	Genre	Espèce	Sous-espèce	Souche
Séquençage du génome				
Séquençage du 16S rDNA				
MOL % G+C				
hybridation ADN-ADN				

III.3. La Classification de Bergey

III.3.1. Historique et objectifs

Le Manuel de Bergey de systématique bactérienne (*Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*) est une œuvre collective de référence publiée pour la première fois en 1923. Révisée régulièrement jusqu'à aujourd'hui. Il vise à proposer une classification scientifique, pratique et évolutive des bactéries. Il est basé sur une combinaison de données phénotypiques, biochimiques et phylogénétiques.

III.3.2. Structure de la classification

Le manuel est divisé en plusieurs volumes, chacun regroupant les bactéries selon leur lignée phylogénétique majeure. Par exemple : Les bactéries à Gram négatif (Protéo- et Bactéroïdètes)

- Volume 2 : Les bactéries à Gram positif riches en G+C (Actinobacteria)
- Volume 3 : Les Firmicutes (Gram positif pauvres en G+C)
- Volume 4 : Diversité bactérienne (spirochètes, cyanobactéries, etc.)

La classification repose sur une approche hiérarchique : **domaine** → **phylum** → **classe** → **ordre** → **famille** → **genre** → **espèce**.

III.3.3. La Classification selon le manuel de Bergey

La classification des bactéries selon le Manuel de Bergey est une référence majeure dans le domaine de la microbiologie.

Bien qu'il n'existe pas de classification officielle des bactéries, celle établie par le Manuel de Bergey est largement acceptée et utilisée par les microbiologistes du monde entier.

Son objectif initial était le regroupement des informations phénotypiques disponibles pour l'identification des espèces bactériennes reconnues, afin de permettre l'identification de souches inconnues. C'est une classification de référence actuelle des bactéries, basée sur les données phylogénétiques.

Les premières éditions du Manuel de Bergey, dès 1936, se basaient sur plusieurs critères pour classer les bactéries :

1. **Morphologie microscopique** : Les bactéries étaient classées en fonction de leur forme microscopique, telles que cocci (coques), bacilli (bacilles), vibrions, et également selon leur arrangement, comme les cellules isolées, en paires, ou en chaînettes.

2. **Morphologie macroscopique** : La taille, la forme et la couleur des colonies bactériennes sur des milieux de culture gélosés étaient également prises en compte pour la classification.
3. **Mobilité** : La capacité des bactéries à se déplacer, généralement observée à une certaine température, était un critère important pour la classification.
4. **Formation de spores** : La présence ou l'absence de spores bactériennes, soit à l'état frais soit après coloration, était un autre critère utilisé.
5. **Coloration de Gram** : Les bactéries étaient classées comme Gram positif ou Gram négatif en fonction de leur réaction à la coloration de Gram, une méthode de coloration utilisée pour différencier les bactéries en fonction de la composition de leur paroi cellulaire.
6. **Température de croissance et besoins nutritionnels** : La capacité des bactéries à croître à différentes températures, leur type respiratoire, leurs besoins nutritionnels spécifiques, leur utilisation de certaines sources de carbone ou d'azote, étaient tous des critères utilisés pour la classification. Ces caractéristiques peuvent également être utilisées pour déterminer les biotypes ou biovars des bactéries.

Tableau III. 3: Exemple de classification taxonomique de quelques espèces de microorganismes

Taxon	Exemple 1	Exemple 2	Exemple 3
Domaine	Bacteria	Archaea	Eukaria
Règne	Bacteria	Archaea	Fungi
Phylum	Proteobacteria	Euryarchaeota	Ascomycota
Classe	Gammaproteobacteria	Thermococci	Saccharomycetes
Ordre	Enterobacteriales	Thermococcales	Saccharomycetales
Famille	Enterobacteriaceae	Thermococcaceae	Saccharomycetaceae
Genre	Escherichia	Pyrococcus	Saccharomyces
Espèce	Escherichia coli	Pyrococcus abyssi	Saccharomyces cerevisiae

Dans la classification bactérienne, l'espèce est l'unité fondamentale. Cependant, il existe des cas où les espèces peuvent être subdivisées en sous-espèces ou variantes appelées souches. Les souches peuvent présenter quelques caractères secondaires différents, mais elles partagent les caractéristiques de base de l'espèce à laquelle elles appartiennent.

III.3.3.1. La définition de l'espèce bactérienne :

Repose sur la caractérisation de cinq paramètres de nature génomique, comme décrit ci-dessous :

1. **Coefficient GC% (coefficient de Chargaff)** : Le coefficient GC% représente le pourcentage de bases guanine (G) et cytosine (C) par rapport au total des bases dans le génome bactérien. Il peut être calculé à partir de la formule $((G+C)/(A+T+G+C)) \times 100$.
2. **Taille du génome** : La taille du génome bactérien, mesurée en nombre de paires de bases (bp), est un autre paramètre important pour la caractérisation de l'espèce bactérienne. La taille du génome peut varier considérablement d'une espèce à l'autre.
3. **Homologie ADN/ADN à température optimum de renaturation (Tor)** : L'homologie ADN/ADN mesure la similarité entre les séquences d'ADN de différentes souches bactériennes. Elle est évaluée par la capacité des brins d'ADN à se réassocier (renaturer) lorsqu'ils sont chauffés puis refroidis. La température optimum de renaturation (Tor) est la température à laquelle la renaturation est la plus efficace.

4. **Sensibilité thermique des hybrides** : Ce paramètre fait référence à la sensibilité des hybrides d'ADN formés lors de la renaturation à des températures élevées. Il peut être utilisé comme indicateur de la similarité génétique entre les souches bactériennes.

5. **Homologie ADN/ADN à température restrictive de renaturation (Trr)** : Tout comme l'homologie à la température optimum de renaturation, cette mesure évalue la similarité entre les séquences d'ADN, mais à une température de renaturation plus restrictive.

Remarque :

Le genre : écrit en Italique. Avec sa première lettre en majuscule. Après sa citation le nom du genre est abrégé à sa première lettre. Ex : *Escherichia coli*, *Mycoplasma pneumoniae*.

L'espèce : écrite en Italique (ou souligné). Avec sa première lettre en minuscule.

La famille : Le nom est fondé sur un genre valide, il est féminin, pluriel et se termine par – **aceae**.

Tableau III. 4: Organisation hiérarchique des taxons dans le règne

Rang (niveau hiérarchique)	Organisation hiérarchique des taxons dans le règne	Exemple
Domaine		Bacteria
Phylum		Proteobacteria
Classe		γ-Proteobacteria
Ordre		Enterobacteriales
Famille		Enterobacteriaceae
Genre		Shigella
Espèce		S. dysenteriae

Tableau III. 5: Diversité taxonomique des Archaea et des Eubacteria

Domaines	2	Archaea	Eubacteria
Phylums	34	5	29
Classes	57	9	48
Sous-Classes	6	0	6
Ordres	119	15	104
Sous-ordres	20	0	20
Familles	292	26	266
Genres	2100 environ	108	2000 environ
Espèces	7300 environ	250 environ	7000 environ
Sous espèces	450 environ	0	450 environ

1. **Domaine** : Le plus haut niveau de classification, regroupant les organismes en fonction de caractéristiques fondamentales. Pour les bactéries, les deux principaux domaines sont les Bacteria et les Archaea.

2. **Phylum** (ou embranchement) : Un groupe d'organismes partageant des caractéristiques anatomiques, physiologiques ou génétiques similaires. C'est un niveau de classification en dessous du domaine.

3. **Classes** : Les phylums peuvent être divisés en classes, qui regroupent des organismes ayant des caractéristiques encore plus spécifiques en commun.

4. **Sous-Classes** : Parfois, les classes peuvent être subdivisées en sous-classes pour une classification plus détaillée.

5. **Ordres** : Les classes sont divisées en ordres, qui regroupent des familles d'organismes partageant des caractéristiques similaires plus spécifiques.
6. **Sous-ordres** : Il s'agit de divisions supplémentaires au sein des ordres, pour une classification plus précise.
7. **Familles** : Les ordres sont divisés en familles, qui regroupent des genres d'organismes partageant des similitudes plus étroites.
8. **Genres** : Les familles sont composées de genres, qui sont des groupes d'organismes très similaires mais pas nécessairement identiques. Les organismes d'un même genre partagent généralement des caractéristiques morphologiques, physiologiques et génétiques étroitement liées.
9. **Espèces** : Les genres sont subdivisés en espèces, qui sont des groupes d'individus capables de se reproduire entre eux et de produire une descendance fertile. Les membres d'une même espèce partagent des caractéristiques similaires et sont génétiquement très proches.
10. **Sous-espèces** : Dans certains cas, les espèces peuvent être divisées en sous-espèces, qui sont des populations distinctes au sein d'une espèce donnée, présentant des variations mineures mais cohérentes par rapport à l'espèce principale.

Tableau III. 6 : Classification taxonomique des principaux genres de Proteobacteria

Phylum	Proteobacteria			
Classe	Gammaproteobacteria			
Famille	Enterobacteriaceae	Pseudomonadaceae	Rhizobiaceae	Vibrionaceae
Ordre	Enterobacterales	Pseudomonadales	Rhizobiales	Vibrionales
Classe	Gammaproteobacteria	Gammaproteobacteria	Alphaproteobacteria	Gammaproteobacteria
Genre	Escherichia	Pseudomonas	Rhizobium	Vibrio
Espèces	<i>Escherichia coli</i>etc	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ...etc	<i>Rhizobium meliloti</i> ...etc	<i>Vibrio cholérique</i> ...etc

Conclusion

La classification bactérienne propose une vision phénotypique et phylogénétique de la diversité microbienne. L'approche génomique récente ouvre des perspectives pour une taxonomie plus précise et évolutive.

IV. Nutrition bactérienne

L'étude de la nutrition bactérienne implique l'analyse des besoins élémentaires, des molécules organiques ou inorganiques indispensables, des facteurs environnementaux ainsi que de la classification des différents types trophiques. Cette compréhension est essentielle pour le contrôle microbiologique, la mise au point de milieux de culture, la lutte contre les infections ou la conception de procédés industriels utilisant des microorganismes.

IV.1. Les besoins élémentaires des bactéries

Les besoins élémentaires correspondent aux substances chimiques indispensables à la constitution et au fonctionnement de la cellule. On distingue les macronutriments (présents en grandes quantités) et les micronutriments ou oligo-éléments (présents en traces).

IV.1.1. Les macronutriments

- Le carbone est l'élément principal des molécules organiques (glucides, lipides, protéines, acides nucléiques). Les bactéries hétérotrophes utilisent des composés organiques comme source de carbone, alors que les autotrophes utilisent le CO₂.
- L'azote est essentiel à la synthèse des bases azotées, des acides aminés, et de certains cofacteurs. Les sources peuvent être : NH₄⁺, NO₃⁻, N₂ (pour les diazotrophes), ou encore des acides aminés préformés.
- Hydrogène (H) et oxygène (O) Ils interviennent dans les réactions d'oxydo-réduction, la structure des molécules et la régulation du pH cellulaire.
- Phosphore (P) Constituant de l'ADN, de l'ARN, des phospholipides membranaires et de l'ATP. Il est assimilé sous forme de phosphate (PO₄³⁻).
- Soufre (S) Intégré dans la cystéine, la méthionine, le coenzyme A et des groupements prosthétiques. Il peut être fourni sous forme de SO₄²⁻, H₂S ou composés organiques soufrés.
- Le potassium, le magnésium, le calcium et le fer jouent des rôles structuraux et enzymatiques.

IV.1.2. Les micronutriments

Ces éléments interviennent souvent comme cofacteurs enzymatiques ou dans des réactions redox. Exemples : Mn, Zn, Co, Mo, Cu, Ni. Leur absence limite la croissance, même en très faibles concentrations.

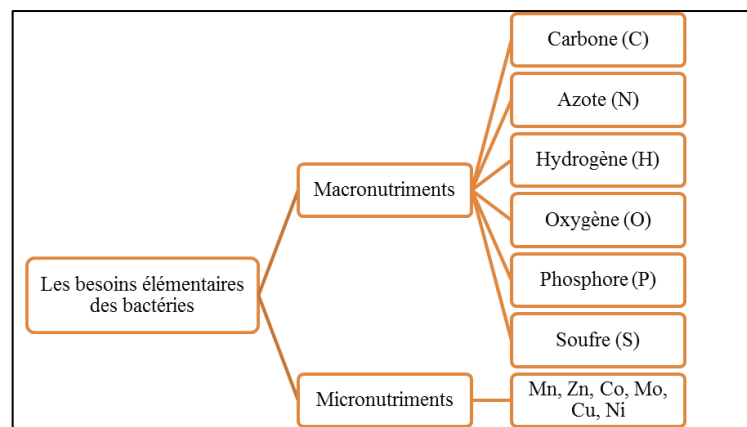


Figure IV. 1 : Schéma des besoins élémentaires majeurs dans la cellule bactérienne.

IV.2. Les facteurs de croissance

Les facteurs de croissance sont des composés organiques indispensables à la croissance de certaines bactéries incapables de les synthétiser. Leur nature et leur nombre varient selon les espèces et les souches.

IV.2.1. Principaux types

Vitamines : cofacteurs enzymatiques (ex : biotine, niacine, thiamine, acide folique)

Acides aminés : essentiels pour les mutants auxotrophes

Bases puriques et pyrimidiques : ADN et ARN

Acides gras : chez certaines bactéries fastidieuses

Tableau IV. 1 : Exemples de facteurs de croissance selon les genres bactériens

Facteur de croissance	Fonction biologique	Espèces bactériennes spécifiques
Vitamines (biotine, niacine, thiamine, acide folique...)	Cofacteurs enzymatiques	<i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i>
Acides aminés essentiels	Synthèse des protéines	<i>Haemophilus influenzae</i> (nécessite leucine, isoleucine), <i>E. coli auxotrophe</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i>
Bases puriques et pyrimidiques	Synthèse de l'ADN et de l'ARN	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Streptococcus faecalis</i> , <i>Bacteroides fragilis</i>
Acides gras	Composants des membranes	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> , <i>Mycoplasma hominis</i> , <i>Rickettsia prowazekii</i>

IV.3. Les types trophiques bactériens

La classification trophique repose sur la nature de la source de carbone et de la source d'énergie.

IV.3.1. Selon la source de carbone

Autotrophes : CO₂ comme seule source carbonée (ex : cyanobactéries, nitrifiantes)

Hétérotrophes : utilisent des composés organiques (la majorité des bactéries)

IV.3.2. Selon la source d'énergie

Phototrophes : énergie lumineuse

Chimiotrophes : énergie chimique (oxydation de substrats)

Tableau IV. 2 : Les types trophiques bactériens selon la source de carbone et d'énergie

Type	Carbone	Énergie	Exemples
Photoautotrophe	CO ₂	Lumière	Cyanobactéries
Photohétérotrophe	Organique	Lumière	Bactéries pourpres
Chimioautotrophe	CO ₂	Oxydation inorganique	Nitrobacter, Thiobacillus
Chimiohétérotrophe	Organique	Oxydation organique	Enterobacteriaceae

IV.4. Les paramètres physico-chimiques influençant la nutrition bactérienne

IV.4.1. Température

La température influe sur la fluidité membranaire, l'activité enzymatique et la vitesse du métabolisme.

Psychrophiles : optimum < 15°C

Psychrotrophes (ou psychrotolérants) : optimum 0–30°C

Mésophiles : optimum 20–45°C (pathogènes humains)

Thermophiles : optimum > 45°C

Hyperthermophiles : jusqu'à 110°C (ex : *Thermococcus*)

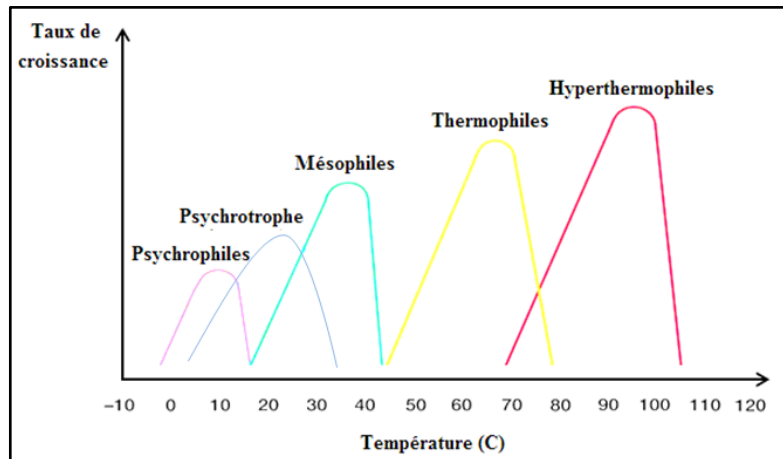


Figure IV. 2 : Courbe de croissance en fonction de la température.

IV.4.2. pH

Chaque bactérie a un pH optimal :

Acidophiles : pH < 5 (ex : *Acidithiobacillus*)

Neutrophiles : pH 6,5–7,5 (majorité)

Alcalinophiles : pH > 8 (ex : *Bacillus alcalophilus*)

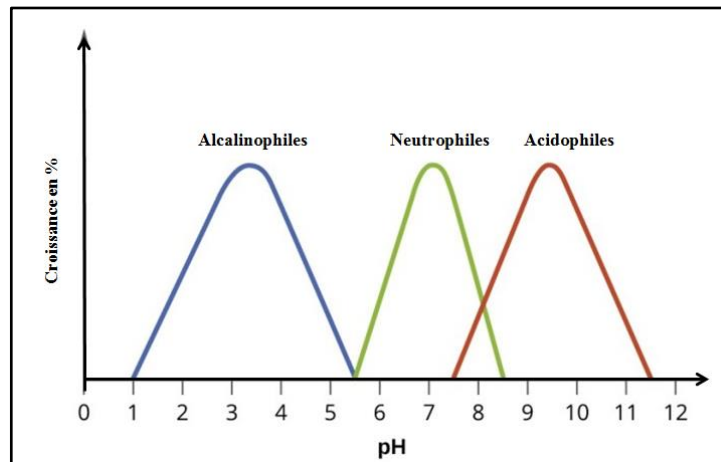


Figure IV. 3 : Courbe de croissance en fonction de pH

IV.4.3. Oxygène

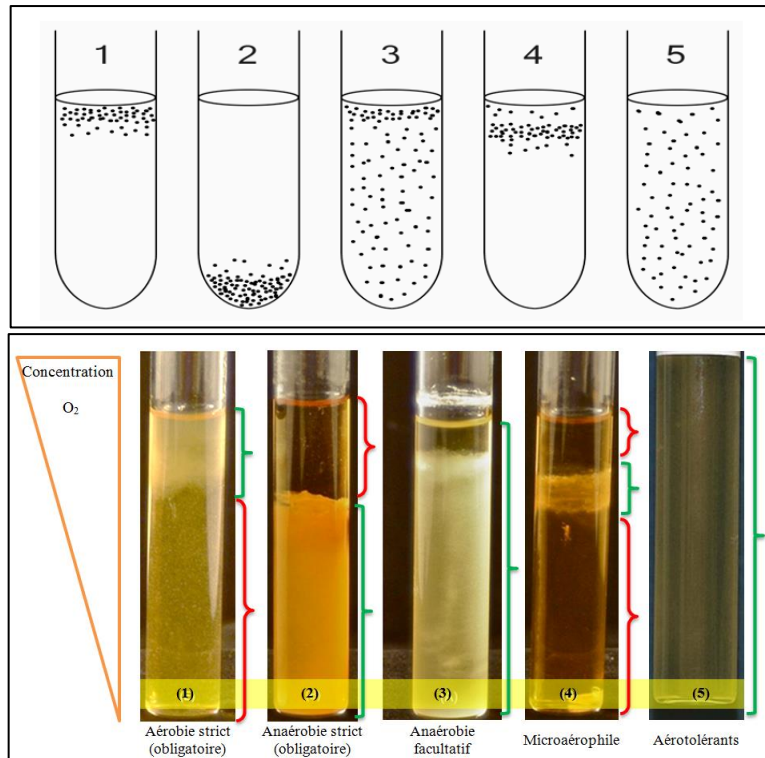
Aérobies stricts : besoin d'O₂ (ex : *Pseudomonas*)

Anaérobies stricts : O₂ toxique (ex : *Clostridium*)

Anaérobies facultatifs : adaptables (ex : *E. coli*)

Microaérophiles : O₂ à faible concentration

Aérotolérants : tolèrent O₂ sans l'utiliser



L'accolade rouge indique une absence de croissance bactérienne, tandis que l'accolade verte indique une croissance bactérienne.

Figure IV. 4 : Répartition des formes de croissance dans un tube thioglycolate.

- Les aérobies stricts ont besoin d'oxygène car ils ne peuvent ni fermenter ni respirer en anaérobie. Ils se regroupent en haut du tube, là où la concentration en oxygène est la plus élevée.
- Les anaérobies stricts sont intoxiqués par l'oxygène et se regroupent donc en bas du tube, là où la concentration en oxygène est la plus faible.
- Les anaérobies facultatifs peuvent se développer avec ou sans oxygène car ils peuvent métaboliser l'énergie en aérobie ou en anaérobie. Ils se regroupent principalement en haut, car la respiration aérobie génère plus d'ATP que la fermentation ou la respiration anaérobie.
- Les microaérophiles ont besoin d'oxygène car ils ne peuvent ni fermenter ni respirer en anaérobie. Cependant, ils sont intoxiqués par de fortes concentrations d'oxygène. Ils se regroupent dans la partie supérieure du tube à essai, mais pas tout en haut.
- Les organismes aérotolérants n'ont pas besoin d'oxygène car ils métabolisent l'énergie en anaérobie. Contrairement aux anaérobies stricts, ils ne sont cependant pas intoxiqués par l'oxygène. On peut les trouver répartis uniformément dans le tube à essai.

IV.4.4. Activité de l'eau (aW)

Bactéries communes : $aW > 0.91$

Halophiles : tolèrent ou requièrent des concentrations salines élevées

Osmotolérantes : survivent à faible aW

L'activité de l'eau affecte la perméabilité membranaire et la diffusion des nutriments.

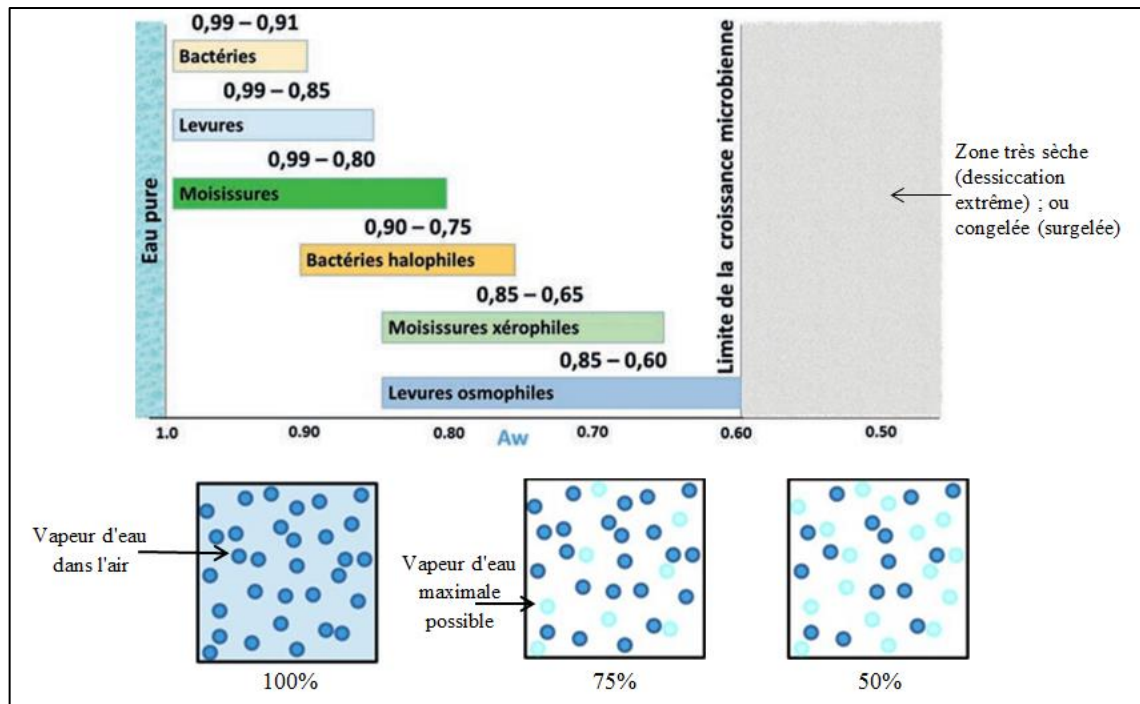


Figure IV. 5 : La roissance des microorganismes selon l'activité de l'eau

L'humidité relative correspond à la quantité de vapeur d'eau contenue dans l'air comparée à la quantité totale possible. Cette valeur est exprimée sous forme d'un pourcentage. Une humidité relative de 50 % signifie que l'air contient seulement la moitié de la vapeur d'eau possible à cette température.

Pour une humidité relative de 0 %, il n'y a pas de vapeur d'eau dans l'air. Lorsque l'humidité relative arrive à 100 %, l'air est saturé en vapeur d'eau. L'eau en trop précipite sous forme de gouttelettes.

IV.4.5. Bactéries & chlorure de sodium

Le lien entre bactéries et chlorure de sodium (NaCl) est très important en microbiologie, car la concentration en sel influence directement la croissance, la survie et le métabolisme bactérien.

IV.4.5.1. Effet osmotique du NaCl sur les bactéries

Le NaCl agit surtout par son effet osmotique.

- ▶ Quand la concentration en sel est faible à modérée :

La plupart des bactéries non spécialisées croissent normalement.

- ▶ Quand la concentration est élevée :

L'eau sort de la cellule par osmose, provoquant une plasmolyse (rétraction du cytoplasme), ce qui inhibe la croissance voire tue la bactérie.

IV.4.5.2. Catégories de bactéries selon leur tolérance au sel

Non halotolérantes : sensibles aux concentrations élevées de NaCl (ex. Escherichia coli).

Halotolérantes : supportent des concentrations modérées (jusqu'à ~10% NaCl).

Halophiles modérées : nécessitent du sel pour croître, optimum autour de 3–15% NaCl.

Halophiles extrêmes : vivent dans des environnements saturés en sel (20–30% NaCl), comme les Halobacterium (archées halophiles).

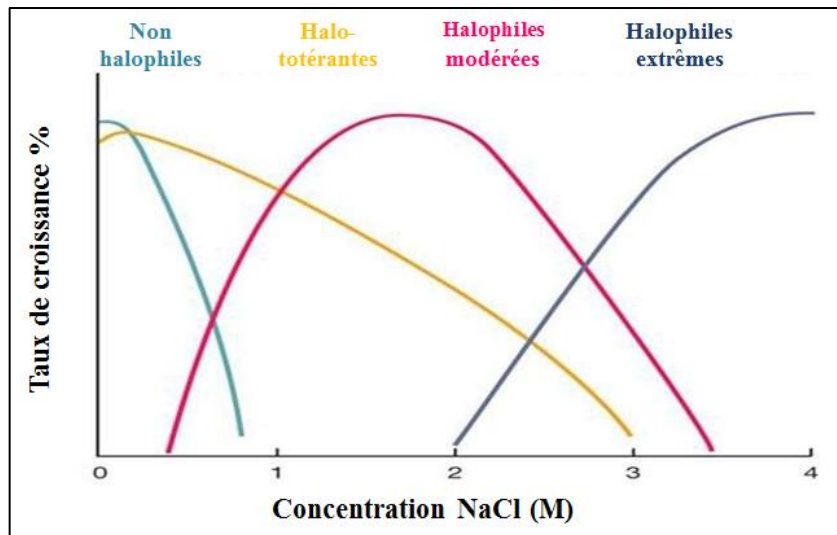


Figure IV. 6 : Courbe de croissance en fonction de différentes concentrations de NaCl

IV.4.6. La pression

- ▶ Organismes barotolérants : Affectés de façon défavorable par une augmentation de pression, mais pas autant que les bactéries non tolérantes.
- ▶ Organismes barophiles : Croissance plus rapide à des pressions élevées.

Conclusion

Ce chapitre décrit les besoins nutritifs et conditions de croissance bactérienne. Il souligne l'importance des milieux de culture et des paramètres physico-chimiques, invitant à explorer la microbiologie appliquée.

V. La Croissance Bactérienne

La croissance bactérienne est un processus fondamental qui reflète la capacité d'une cellule à se multiplier dans un environnement donné. Elle correspond à l'accroissement ordonné de tous les constituants bactériens, conduisant à une augmentation du nombre de cellules.

V.1. Cycle cellulaire bactérien

Chez les bactéries, organismes se reproduisant de façon asexuée, la multiplication se réalise par fission binaire (ou scissiparité), qui se déroule en trois étapes principales :

1. Allongement de la cellule ;
2. Duplication du matériel génétique et des constituants ;
3. Séparation en deux cellules filles identiques.

Cet accroissement s'accompagne de plusieurs phénomènes liés au métabolisme bactérien :

1. Appauvrissement du milieu en nutriments disponibles ;
2. Enrichissement en sous-produits du métabolisme ;

3. Modification des paramètres physico-chimiques (pH, potentiel d'oxydo-réduction, pression osmotique).

Ainsi, pour assurer une multiplication efficace, une bactérie doit être cultivée dans un milieu de culture adapté, apportant les nutriments essentiels et permettant de contrôler les conditions de croissance.

Un cycle cellulaire bactérien se décompose en trois étapes :

- ➡ L'initiation (A),
- ➡ La réplication de l'ADN chromosomique (B)
- ➡ La division cellulaire (C)

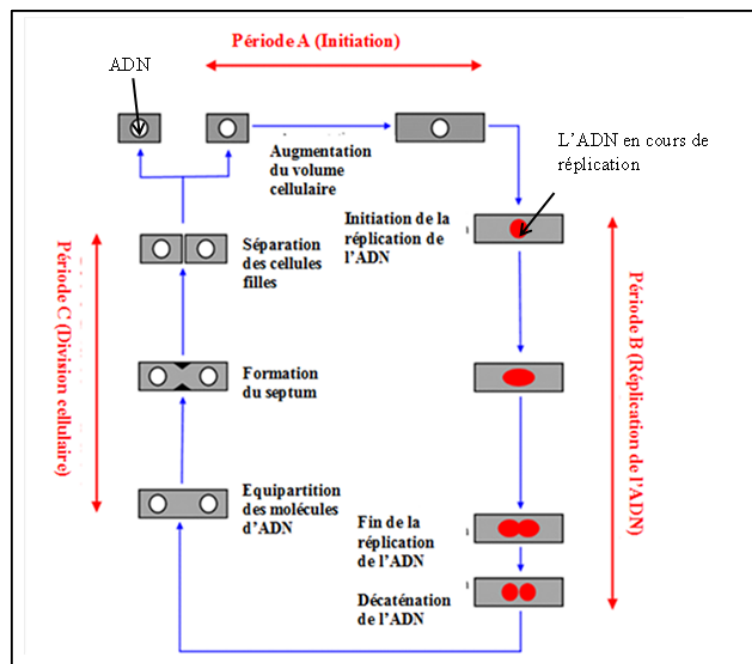


Figure V. 1 : Un cycle de division cellulaire bactérien

V.2. Mesure de la croissance bactérienne

La mesure de la croissance bactérienne permet de quantifier la prolifération des cellules au cours du temps. Il existe différentes approches pour évaluer cette croissance.

V.2.1. Mesure directe

V.2.1.1. Détermination du nombre de cellules

Décompte au microscope (chambre de Thoma ou de Petroff-Hausser) : permet d'estimer le nombre total de cellules vivantes et mortes.

Cytométrie en flux : technologie de pointe qui permet de distinguer les cellules vivantes des mortes grâce à des marqueurs fluorescents.

V.2.1.2. Numération sur milieu solide (CFU/mL)

Ensemencement en boîte (technique des dilutions en série) : méthode classique permettant de déterminer le nombre de colonies formant unité (CFU), représentant les bactéries viables.

Avantage : ne prend en compte que les cellules capables de former une colonie.

Inconvénient : long délai d'incubation, environ 24 à 48 h.

V.2.2. Mesure indirecte

V.2.2.1. Méthode turbidimétrique

Utilisation d'un spectrophotomètre pour mesurer la densité optique (DO) à 600 nm. La DO est proportionnelle à la concentration cellulaire jusqu'à une certaine limite.

Il existe une relation exponentielle entre la quantité de substance absorbant la lumière et la quantité de lumière absorbée.

La quantité de substance absorbante dépend de l'épaisseur de la solution traversée et de la concentration .

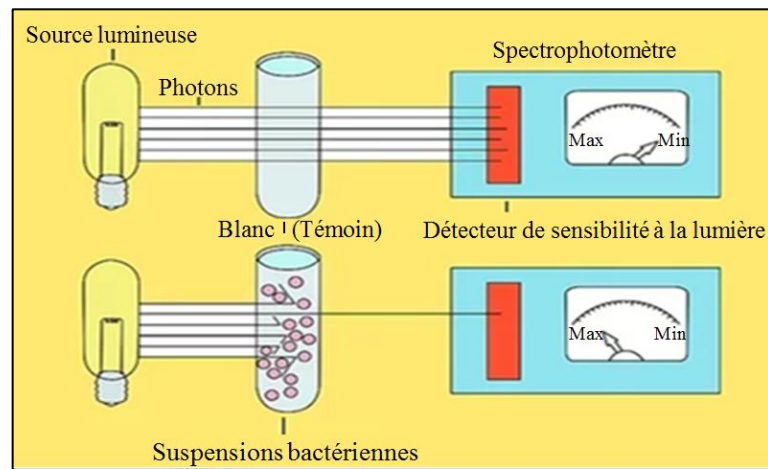


Figure V. 2 : Relation entre densité optique et concentration bactérienne

V.2.2.2. Dosage de constituants cellulaires

Mesure des protéines totales, ADN, ATP, ou azote cellulaire.

Ces méthodes nécessitent souvent une calibration préalable.

V.2.2.3. Poids sec

Les bactéries d'une suspension sont récoltées par centrifugation ou par filtration sur membrane.

Après le culot ou le filtre est desséché à 100-110°C jusqu'à poids constant et on fait une pesée

Le poids est généralement exprimé en grammes de matière sèche par litre

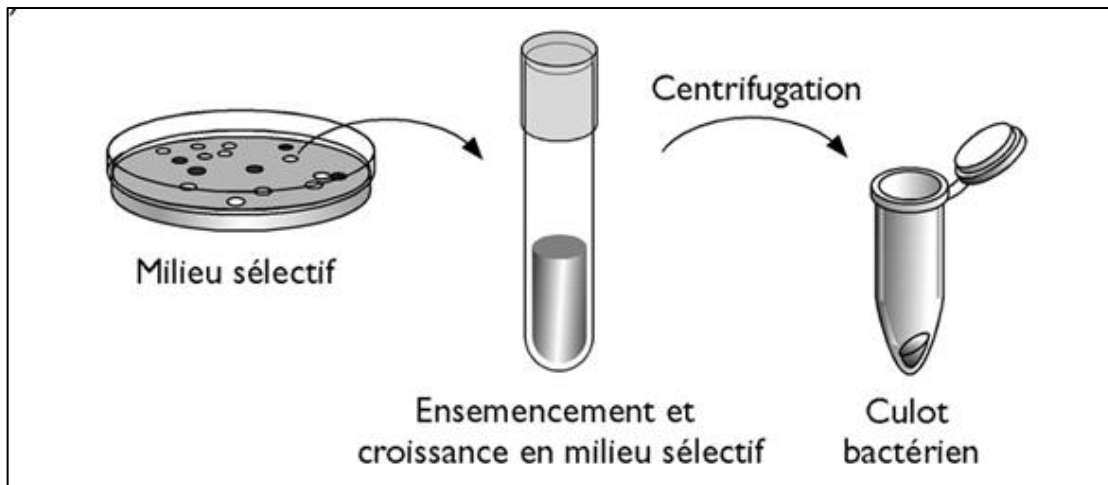


Figure V. 3 : Mesure indirecte d'un culot bactérien

V.3. Paramètres de la croissance bactérienne

La croissance bactérienne est fortement influencée par les conditions environnementales. Ces paramètres doivent être contrôlés et optimisés en culture. (Température, pH, disponibilité en oxygène, nutriments et facteurs de croissance). ([Voir chapitre IV. Nutrition bactérien](#))

V.4. Courbe de croissance bactérienne

V.4.1. Courbe de croissance bactérienne (culture discontinue) (culture batch ou fermé)

La culture discontinue est un système fermé dans lequel les bactéries sont cultivées dans un volume de milieu fixe, sans ajout ni retrait après l'inoculation. Ce système met en évidence les quatre phases caractéristiques de la croissance bactérienne.

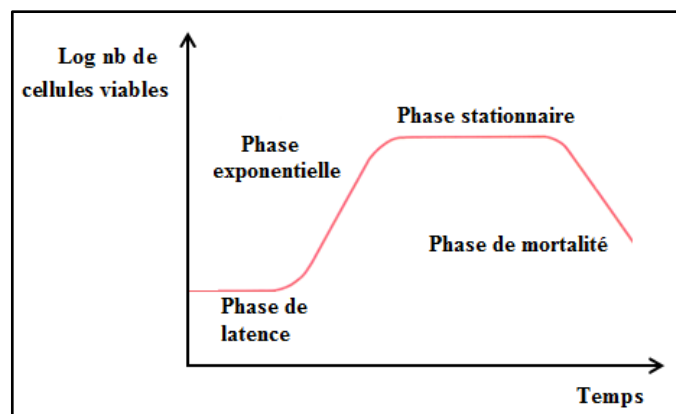


Figure V. 4 : Courbe de croissance bactérienne (culture discontinue)

V.4.1.1. Phase de latence (lag phase)

Période d'adaptation sans division cellulaire visible.

Les cellules synthétisent des enzymes nécessaires à l'utilisation du nouveau milieu.

V.4.1.2. Phase exponentielle (log phase)

Croissance maximale et constante.

Le temps de génération (durée pour que la population double) est minimal.

Exprimée par la formule :

$N=N_0 \times 2^n$ où N_0 est la population initiale, n le nombre de générations, N le nombre de cellules à un instant donné,

Exemple : *E. coli* peut doubler toutes les 20 minutes à 37 °C.

V.4.1.3. Phase stationnaire

Équilibre entre division cellulaire et mort cellulaire.

Les nutriments s'épuisent, les déchets s'accumulent.

- Certaines bactéries forment des spores ou activent des mécanismes de survie.

V.4.1.4. Phase de déclin (ou de mortalité)

Diminution progressive du nombre de cellules viables.

Les cellules peuvent se liser ou entrer en état viable mais non cultivable (VBNC).

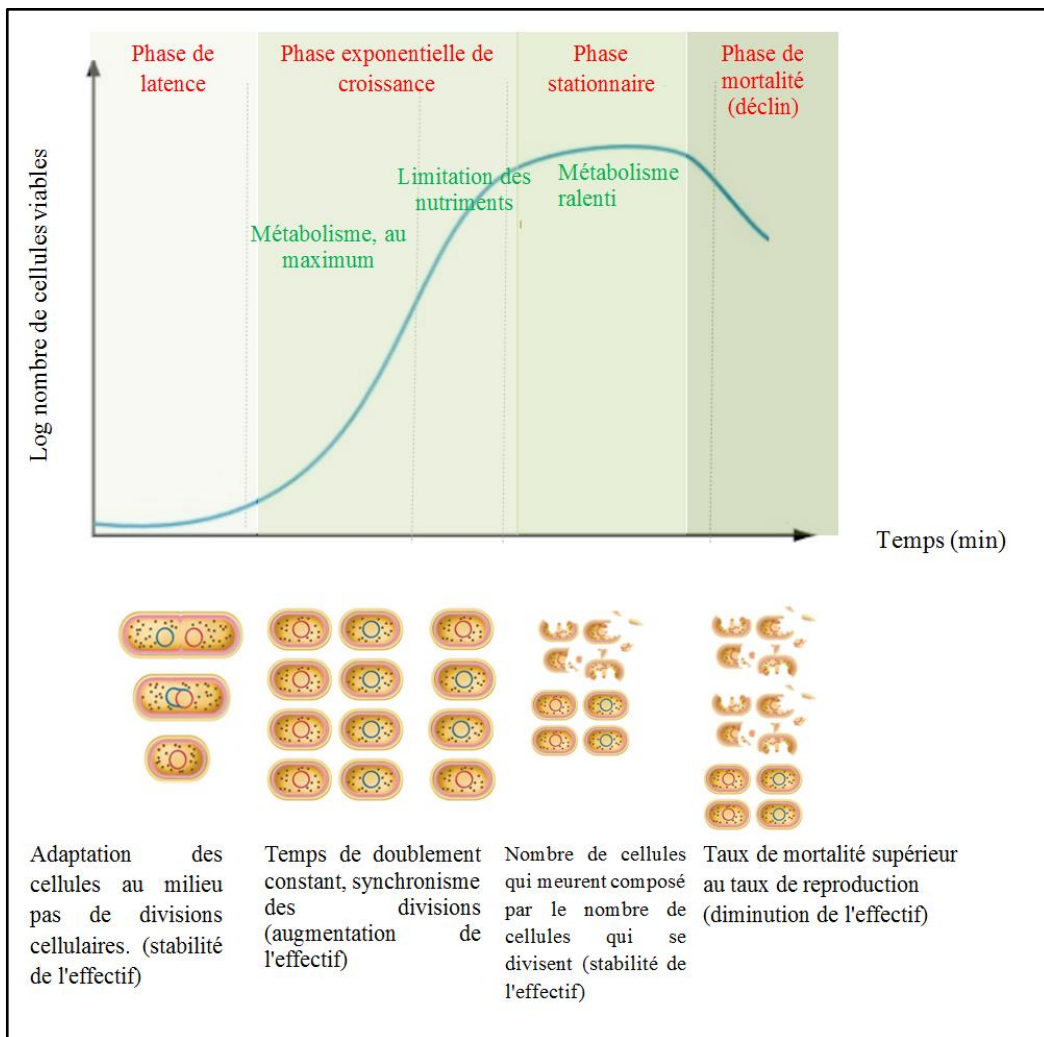


Figure V. 5 : Courbe semi-logarithmique de la croissance bactérienne

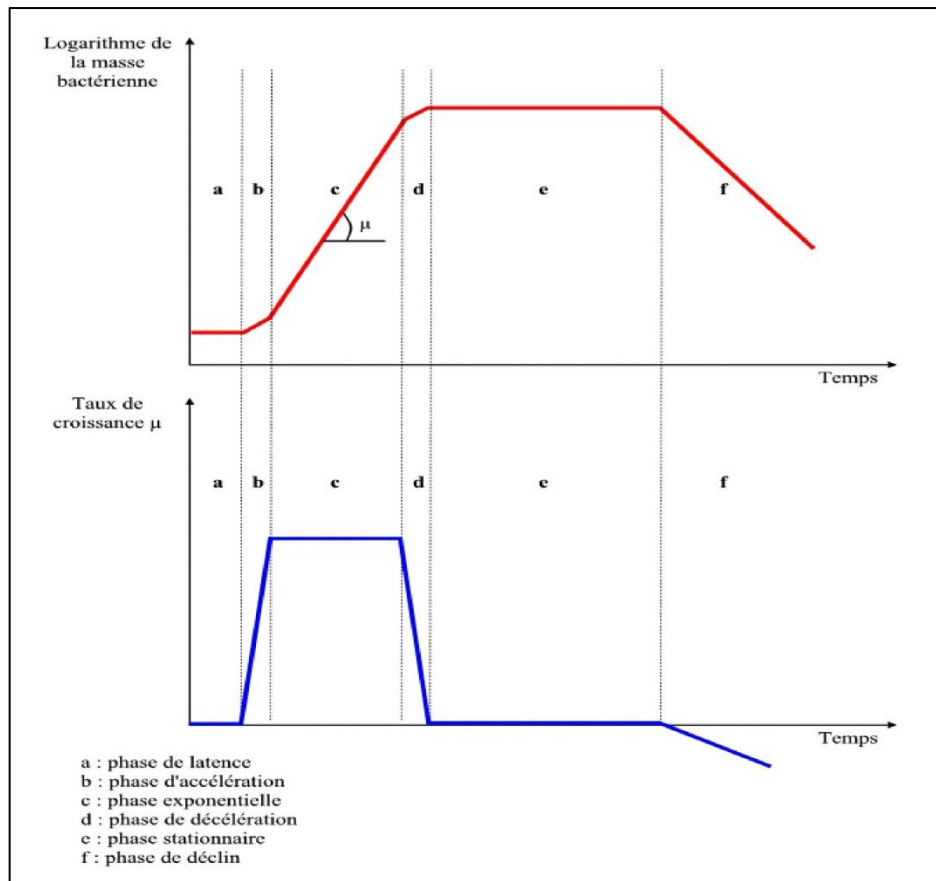


Figure V. 6 : Courbe de croissance (nombre de cellules et la vitesse de croissance) en milieu non renouvelé

V.4.2. Courbe de croissance continue (chemostat, turbidostat)

La culture continue, ou culture ouverte, se distingue de la culture discontinue par un apport permanent de nutriments et une élimination des déchets, ce qui maintient la population bactérienne en croissance stable sans passer par les quatre phases classiques (latence, exponentielle, stationnaire, déclin).

Dans le chemostat, la densité cellulaire est régulée par le débit d'entrée du milieu, alors que dans le turbidostat, elle est contrôlée par la turbidité mesurée en continu.

Un point essentiel est que les bactéries restent en phase exponentielle : la croissance se traduit par une courbe exponentielle sur échelle arithmétique et par une droite ascendante sur échelle logarithmique, facilitant ainsi l'étude quantitative.

- ➔ Sur une échelle arithmétique, cette croissance apparaît sous forme d'une courbe exponentielle courbée vers le haut, car la population double à intervalles réguliers (2, 4, 8, 16...).
- ➔ Sur une échelle logarithmique, cette même croissance est représentée par une droite ascendante, ce qui simplifie l'analyse mathématique et le calcul du temps de génération.

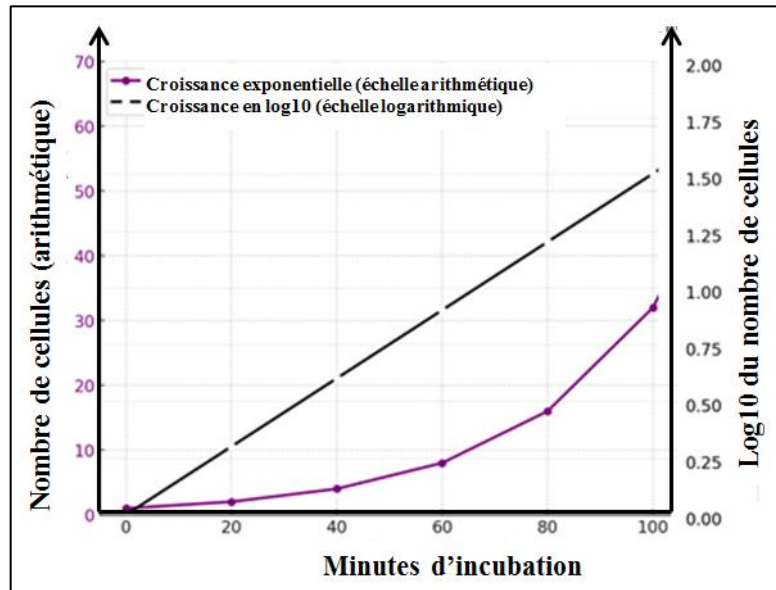


Figure V. 7 : Courbe de croissance bactérienne typique

V.5. La culture bactérienne

La culture bactérienne consiste à faire croître des bactéries dans un milieu nutritif adapté, afin de les observer, les identifier, les étudier ou les exploiter. Elle est essentielle en microbiologie médicale, industrielle, environnementale et en recherche fondamentale.

V.5.1. Types de cultures bactériennes

V.5.1.1. Culture en milieu liquide

Permet une croissance en masse. Utilisée pour des études de croissance, la production de biomasse ou de métabolites.

Exemples : bouillon nutritif, TSB (Tryptic Soy Broth).

V.5.1.2. Culture en milieu solide

Utilisation d'agar (1,5–2 %) pour solidifier les milieux.

Permet l'isolement de colonies pures.

Technique de striage ou d'ensemencement en profondeur.

V.5.1.3. Culture en milieu semi-solide

Agar à faible concentration (0,2–0,5 %).

Permet l'étude de la mobilité bactérienne.

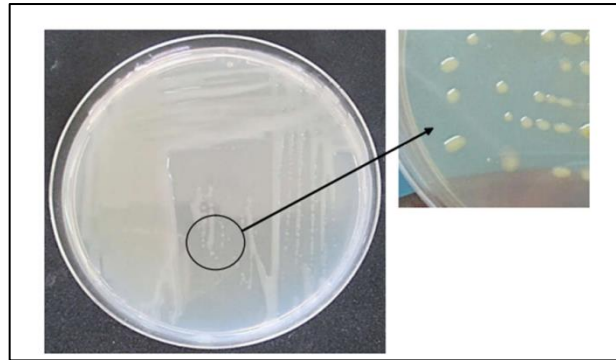


Figure V. 8 : Exemples de colonies bactériennes sur gélose nutritive

V.6. Types de milieux de culture

V.6.1. Définition et composition d'un milieu de culture

Les milieux de culture utilisés en bactériologie sont des milieux contenant les éléments nécessaires et en quantité suffisante à la survie et à la multiplication des bactéries.

V.6.2. Classification des milieux de culture

Il existe différentes classifications des milieux de culture :

V.6.2.1. Classification selon la composition

a) **Milieu complexe (empirique) (naturel) :** De composition mal définie. Leur origine est soit animale (extraits de viande, peptone), soit végétale (pomme de terre, levure). Exemple : milieu cœur cervelle

b) **Milieu semi-synthétique :** On ne connaît leur composition exacte que pour certains composants. Milieux synthétiques additionnés d'un produit nature

c) **Milieu synthétique :**

La composition est parfaitement définie tant en quantité qu'en qualité, Ce sont des milieux utilisés dans la mise en évidence d'une réaction enzymatique précise. Par exemple : on utilisera le milieu tryptophane pour révéler la présence de tryptophanase (une enzyme) par la production d'indole.

V.6.2.2. Classification selon la consistance

a) **Milieu liquide :** Exemple : Milieu de Bouillon nutritif.

b) **Milieu solide ou gélosé :** C'est un milieu liquide solidifié par addition d'Agar à une concentration de 1 à 1.7% Agar : Substance extraite d'algues marines et qui possède la propriété de fixer une grande quantité d'eau d'où la gélification. Exemple : Milieu de Chapman, TSI.

c) **Milieu semi-liquide, semi-solide, ou faiblement gélosé :** La concentration en Agar est plus faible que celle du milieu gélosé, elle est comprise entre 0,05- 0,075%
Exemple : Milieu Mannitol mobilité, MEVAG.

V.6.2.3. Classification selon l'utilisation

a) **Milieux usuels ou de base :** Permettent la culture de bactéries non exigeantes. Exemple : Gélose nutritive et bouillon nutritif.

b) Milieux enrichis : Ils contiennent, outre les composants de base, des composants indispensables aux bactéries, que celles-ci ne peuvent pas synthétiser. Ce sont des milieux utilisés pour l'obtention des bactéries dites exigeantes. Exemple : Gélose au sang simple, ou additionnée aux vitamines.

c) Milieux d'enrichissement : Permettent de favoriser une croissance bactérienne à partir du prélèvement paucibacillaire. Il s'agit de milieux liquides riches permettant le développement d'un maximum de bactéries, qui possède des agents sélectif du germe recherché et des inhibiteurs des autres. Exemple BGT (Bouillon Glucosé Tamponné).

d) Milieux sélectifs : Permettent la pousse d'un seul type bactérien, pour cela on utilise des inhibiteurs pour réprimer les autres genres, ex : Gélose Hektoen qui permet la culture des BGN, bacilles Gram négatifs non exigeants, la gélose contient la bile inhibitrice des BGP.

e) Milieux électifs : Permet la pousse favorable d'un genre bactérien par rapport aux autres sans leur destruction. Exemple : Eau peptonée alcaline (EPA), dont l'alcalinité favorise la pousse du vibrio.

f) Milieux d'identification : Permettent l'étude du métabolisme biochimique des bactéries. Exemple : TSI (Tri Sugar Iron.).

g) Milieux de conservation :

Selon leur composition, on peut conserver aussi bien les bactéries non exigeantes que les bactéries exigeantes :

- ➔ Pour les non exigeantes, on utilise un milieu solide qui est une gélose profonde en capillaires que l'on conserve à température ambiante.
- ➔ Pour les bactéries exigeantes, on utilise un milieu liquide qui est du BGT + Glycérol que l'on congèle à -80°C.

h) Milieux de transport : Il existe plusieurs types en fonction de la bactérie à transporter et de sa fragilité. Exemple : TGV (milieu de transport de germes vivants)

i) Milieux pour antibiogramme : Exemple : Mueller Hinton simple ou enrichi au sang, l'activité des antibiotiques in vitro.

V.6.2.4. Classification selon le mode de stérilisation

Il existe 02 types de milieux :

a) Milieux autoclavables : milieu de culture dont les composants ne sont pas détruits par la chaleur. Exemple : milieu gélose nutritive, Mueller Hinton en flacons.

b) Milieux non autoclavables : Milieux de culture qui contiennent des produits labiles pouvant être détruit par la chaleur.

V.6.3. Les agents antimicrobiens et leur effet sur la croissance bactérienne

Les agents antimicrobiens sont des substances capables d'inhiber la croissance bactérienne (bactériostatiques) ou de tuer les bactéries (bactéricides). Leur étude est essentielle pour contrôler les infections, prévenir la contamination et comprendre les mécanismes de résistance.

V.6.3.1. Agents physiques

- a) Température :** chaleur humide (autoclavage), chaleur sèche, pasteurisation.

- b) **Rayonnements** : UV (altération de l'ADN), rayons gamma (stérilisation).
- c) **Filtration** : utilisée pour les solutions thermosensibles.

V.6.3.2. Agents chimiques

- a) **Désinfectants** : alcool, eau de Javel, peroxyde d'hydrogène.
- b) **Antiseptiques** : pour tissus vivants (iode, chlorhexidine).

V.6.3.3. Antibiotiques

Les antibiotiques sont des substances naturelles ou semi-synthétiques produites principalement par des microorganismes (ex. : *Streptomyces*, *Penicillium*).

V.6.3.4. Modes d'action principaux

Les antibiotiques agissent en ciblant des structures essentielles de la cellule bactérienne.

Tableau V. 1 : Modes d'action des antibiotiques selon leurs cibles cellulaires

Cible	Mécanisme d'action	Exemples
Paroi cellulaire	Inhibition de la synthèse de peptidoglycane	Pénicillines, Céphalosporines
Membrane plasmique	Altération de la perméabilité	Polymyxines
Synthèse protéique	Inhibition des ribosomes	Tétracyclines, Macrolides
ADN/ARN	Inhibition des enzymes de réplication/transcription	Quinolones, Rifampicine
Voies métaboliques	Inhibition de la synthèse d'acide folique	Sulfamides, Triméthoprime

V.6.3.5. Impact des agents antimicrobiens sur la courbe de croissance

- Un antibiotique bactériostatique arrête la croissance sans tuer (phase stationnaire prolongée).
- Un antibiotique bactéricide réduit la population bactérienne (phase de déclin accélérée).

Conclusion

La croissance bactérienne obéit à des phases distinctes, influencées par divers facteurs. Sa compréhension est cruciale pour la recherche, la médecine et l'industrie, notamment pour le contrôle antimicrobien.

VI. Mycologie (Levures et Moisissures) et virologie

La mycologie est la science des champignons, organisme eucaryotes appartenant au règne Fungi. Longtemps considérés comme des plantes inférieures, les champignons se distinguent fondamentalement par leur mode de nutrition (hétérotrophie par absorption), leur paroi cellulaire à base de chitine et glucanes, et une organisation génétique et cellulaire unique. Leur diversité est immense : plus de 150 000 espèces sont décrites, mais les estimations récentes basées sur la métagénomique suggèrent entre 2,2 à 3,8 millions d'espèces potentielles.

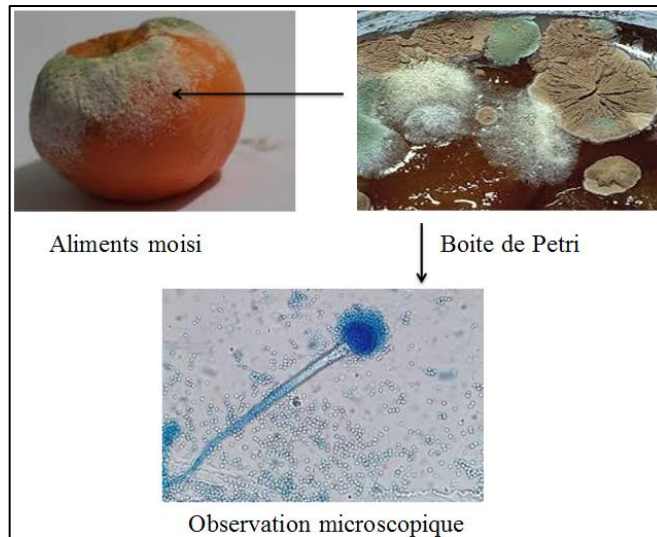


Figure VI. 1 : Aspect des champignons macroscopique et microscopique

Les champignons sont omniprésents dans les écosystèmes naturels où ils remplissent des fonctions essentielles :

- Décomposeurs (saprotrophes) du bois et de la litière organique
- Symbiotes (ex. mycorhizes, lichens)
- Pathogènes des plantes, animaux et humains
- Producteurs de métabolites secondaires (antibiotiques, enzymes, toxines)



Figure VI. 2 : Utilisations des champignons en industrie

VI.1. Taxonomie des levures et moisissures

VI.1.1. De la morphologie à la phylogénie

Historiquement, les champignons étaient classés selon des critères morphologiques : structure des spores, type de reproduction, pigmentation. Aujourd’hui, la phylogénie moléculaire basée sur le séquençage des gènes ribosomiques (18S, ITS1-ITS2, 28S) et de gènes conservés (EF-1 α , RPB1/2) a permis une classification monophylétique, mettant en évidence l’évolution convergente de nombreuses structures. Les champignons appartiennent tous au règne Fungi, dans le supergroupe des Opisthokontes, aux côtés des animaux.

VI.1.2. Principaux phyla de champignons

Tableau VI. 1: Principaux phyla de champignons

Phylum	Caractéristiques	Exemples
--------	------------------	----------

Ascomycota	Spores sexuelles = ascospores, dans un asque	Aspergillus, Candida, Saccharomyces
Basidiomycota	Spores = basidiospores portées par une baside	Cryptococcus, champignons supérieurs
Mucoromycota	Spores asexuées dans sporanges ; hyphes coenocytiques	Rhizopus, Mucor
Chytridiomycota	Zoospores flagellées (aquatiques)	Batrachochytrium dendrobatidis
Microsporidia	Parasites intracellulaires sans mitochondries classiques	Enterocytozoon bieneusi

VI.1.3. Classification

Le séquençage des régions ITS (Internal Transcribed Spacer) est aujourd’hui la méthode standard pour identifier les espèces fongiques à partir d’ADN environnemental ou clinique. Les bases de données UNITE, MycoBank, et NCBI permettent une annotation fiable.

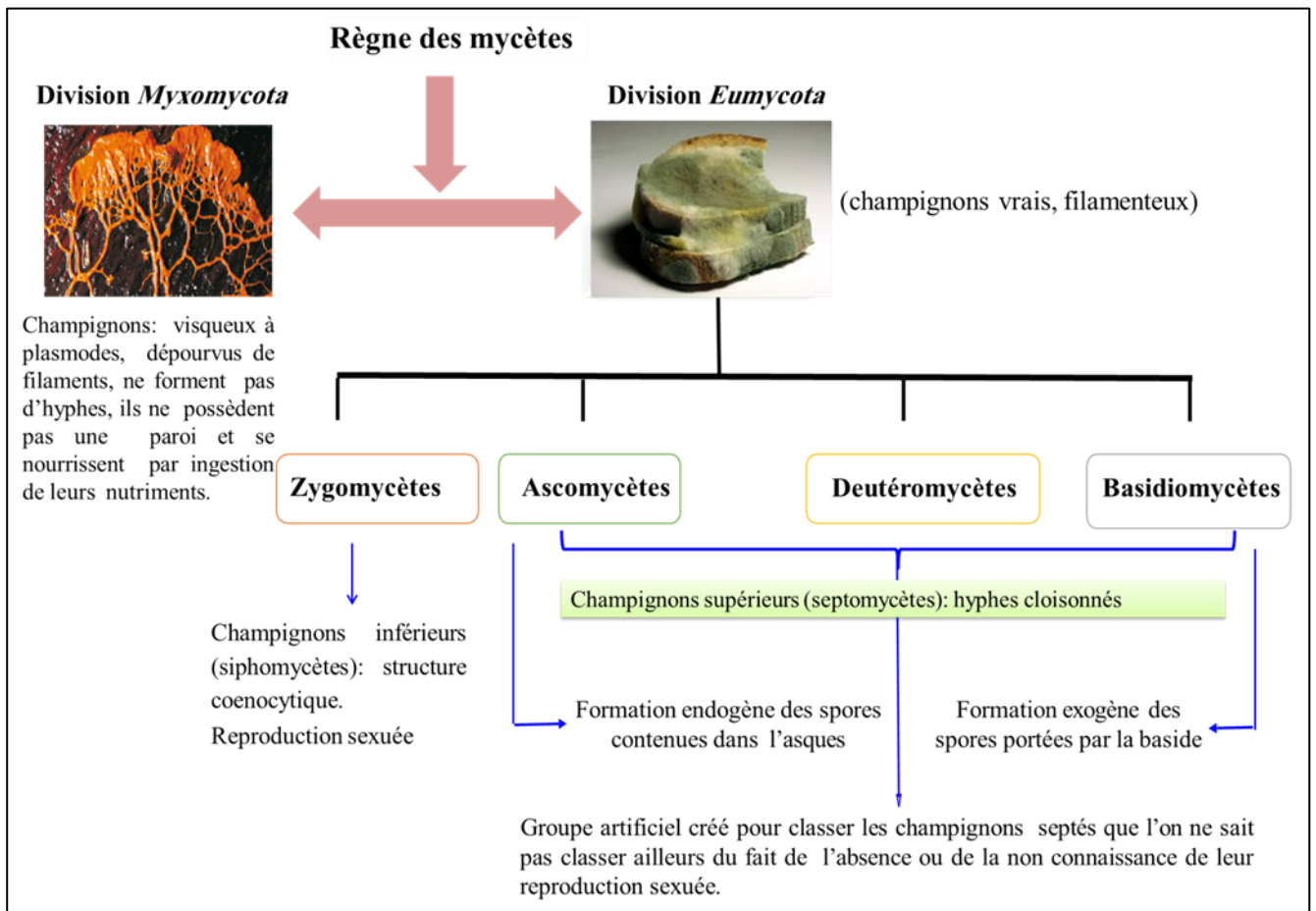


Figure VI. 3 : classification des champignons

VI.2. Morphologie : levures et moisissures

VI.2.1. Levures

VI.2.1.1. Les levures : champignons unicellulaires eucaryotes

Les levures représentent une forme morphologique particulière de champignons, caractérisée par leur unicellularité, bien qu’elles puissent former occasionnellement des structures pseudofilamenteuses ou

pseudohyphales. Contrairement aux champignons filamenteux (moisissures), les levures se développent principalement sous forme de cellules isolées, ovales ou sphériques, qui se multiplient par bourgeonnement ou, plus rarement, par fission.

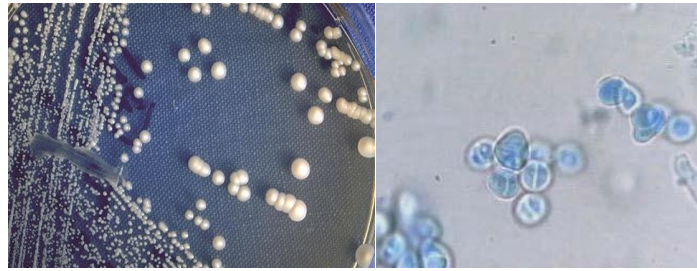
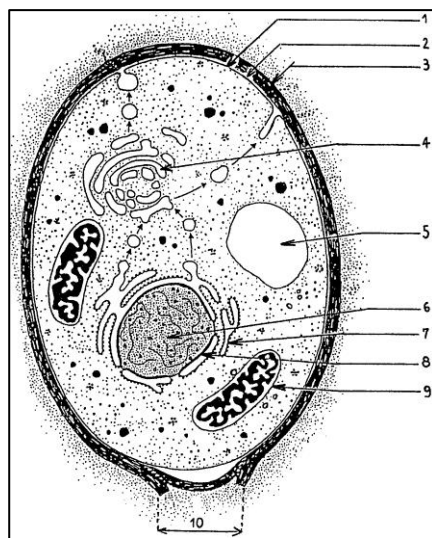


Figure VI. 4 : Aspect macroscopique et microscopique des levures

VI.2.1.2. Organisation cellulaire et structure de la paroi

Les levures sont des eucaryotes vrais, dotés de compartiments cellulaires bien différenciés. Leur taille varie en général de 3 à 10 μm , mais certaines espèces peuvent atteindre des dimensions supérieures (jusqu'à 20 μm en longueur pour *Candida tropicalis* par exemple). Chaque cellule de levure possède :

- un noyau avec une enveloppe nucléaire et un nucléole ;
- des mitochondries fonctionnelles nécessaires à la respiration aérobie ;
- une vacuole jouant un rôle dans l'homéostasie ionique et le stockage ;
- un appareil de Golgi et un réticulum endoplasmique bien développés.



- 1- membrane plasmique ; 2- périplasm ;
- 3- paroi ; 4- Dictyosome de l'appareil de Golgi ; 5- vacuole ; 6- chromatine avec ADN ; 7- Réticulum endoplasmique granulaire ; 8- membrane interne de l'enveloppe nucléaire ; 9- mitochondrie ;
- 10- cicatrice du bourgeon.

Figure VI. 5 : Schéma d'une cellule fongique

La paroi cellulaire, élément essentiel à l'intégrité structurale, est une structure dynamique composée majoritairement de :

- β -1,3-glucanes : squelette principal assurant la rigidité ;
- β -1,6-glucanes : connecteurs transversaux entre les autres composants ;
- mannoprotéines (ou mannanes) : protéines glycosylées ancrées à la membrane ;
- chitine : polymère d'acétylglucosamine, localisé principalement au niveau du septum de division.

Cette paroi est essentielle à la forme cellulaire, à la résistance osmotique, à la protection contre les stress environnementaux (pH, pression, agents oxydants) et constitue une cible majeure des antifongiques. En particulier, la membrane plasmique contient de l'ergostérol, un stérol spécifique aux champignons (absent chez l'Homme), cible des azolés (ex. fluconazole, itraconazole) et des polyènes (ex. amphotéricine B).

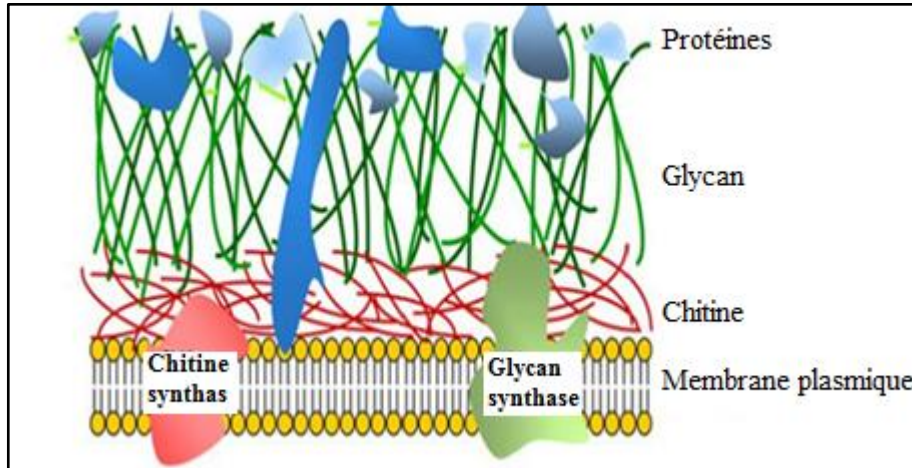


Figure VI. 6 : Structure cellulaire d'une levure avec indication des composants de la paroi et de la membrane plasmique

La membrane plasmique est doublée d'une paroi très riche en polysaccharides, elle renferme de la chitine, ergostérol

VI.2.1.3. Diversité phylogénétique des levures

Les levures ne constituent pas un groupe monophylétique mais apparaissent dans plusieurs phylums du règne fongique :

- **Ascomycètes** : espèces typiques comme *Saccharomyces cerevisiae* (modèle eucaryote en biologie moléculaire), *Candida albicans* (commensale et pathogène opportuniste), *Pichia pastoris* (utilisée en expression recombinante).
- **Basidiomycètes** : levures encapsulées comme *Cryptococcus neoformans*, agent de la cryptococcose chez les immunodéprimés (SIDA, greffes).

➡ *Saccharomyces cerevisiae* est le premier eucaryote dont le génome complet a été séquencé (1996). Il sert de modèle de référence pour l'étude de la division cellulaire, du métabolisme, de la génétique et de la signalisation intracellulaire.

VI.2.1.4. Dimorphisme morphologique et virulence

Certaines levures pathogènes présentent un dimorphisme morphologique, c'est-à-dire la capacité de modifier leur forme cellulaire en réponse à des signaux environnementaux ou physiopathologiques. Ce phénomène est particulièrement bien illustré chez *Candida albicans*, capable de transition entre plusieurs formes :

- levure unicellulaire (forme commensale) ;

- pseudohyphes (chaînes allongées de cellules bourgeonnantes restées partiellement attachées) ;
- véritables hyphes (structures tubulaires invasives).

Ces transitions morphologiques sont régulées par :

- la température (passage à 37 °C),
- le pH physiologique (6,5–7,2),
- la présence de CO₂ (exprimé dans les niches humaines),
- les signaux nutritionnels et hormonaux (ex. sérum, N-acétylglucosamine).

Ce dimorphisme joue un rôle important dans la virulence de *Candida albicans*, car il favorise :

- l'adhésion aux cellules épithéliales et aux surfaces biomédicales (cathéters) ;
- l'invasion tissulaire par les hyphes ;
- la formation de biofilms résistants aux antifongiques.

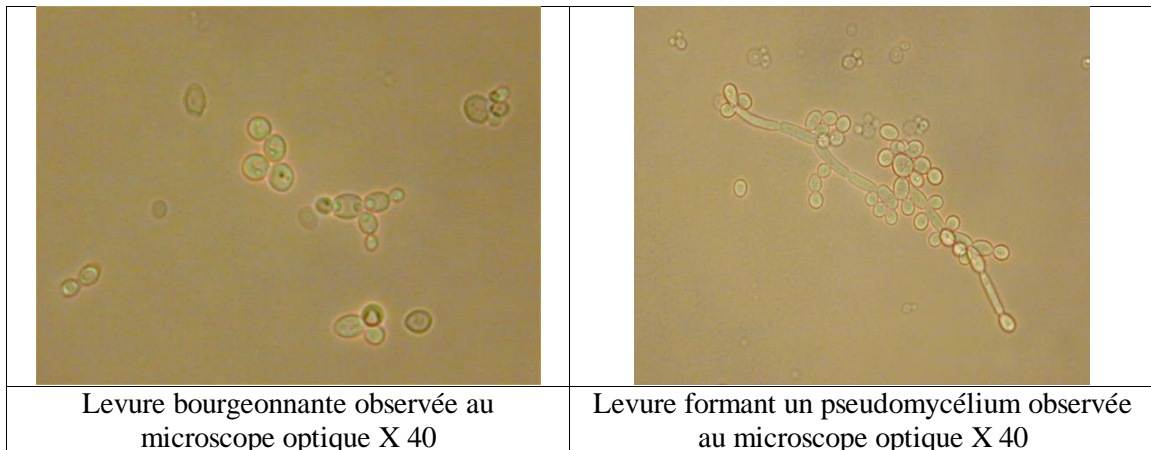


Figure VI. 7 : morphologie entre levures, pseudohyphes et hyphes

VI.2.2. Moisissures – Les champignons filamenteux

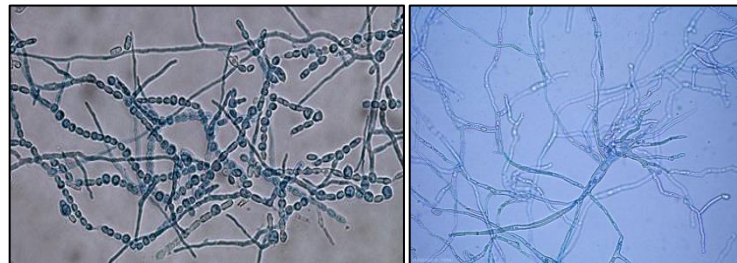


Figure VI. 8 : Aspect microscopique des champignons filamenteux

Les moisissures sont composées d'un réseau d'hyphes, filaments cylindriques ramifiés :

- Hyphes septés : Ascomycètes, Basidiomycètes
- Hyphes coenocytiques : Mucoromycètes

Les hyphes peuvent former un mycélium dense, visible macroscopiquement sous forme de colonies duveteuses.

Deux types de mycélium :

- Végétatif : croissance, digestion externe
- Aérien : reproduction, dissémination

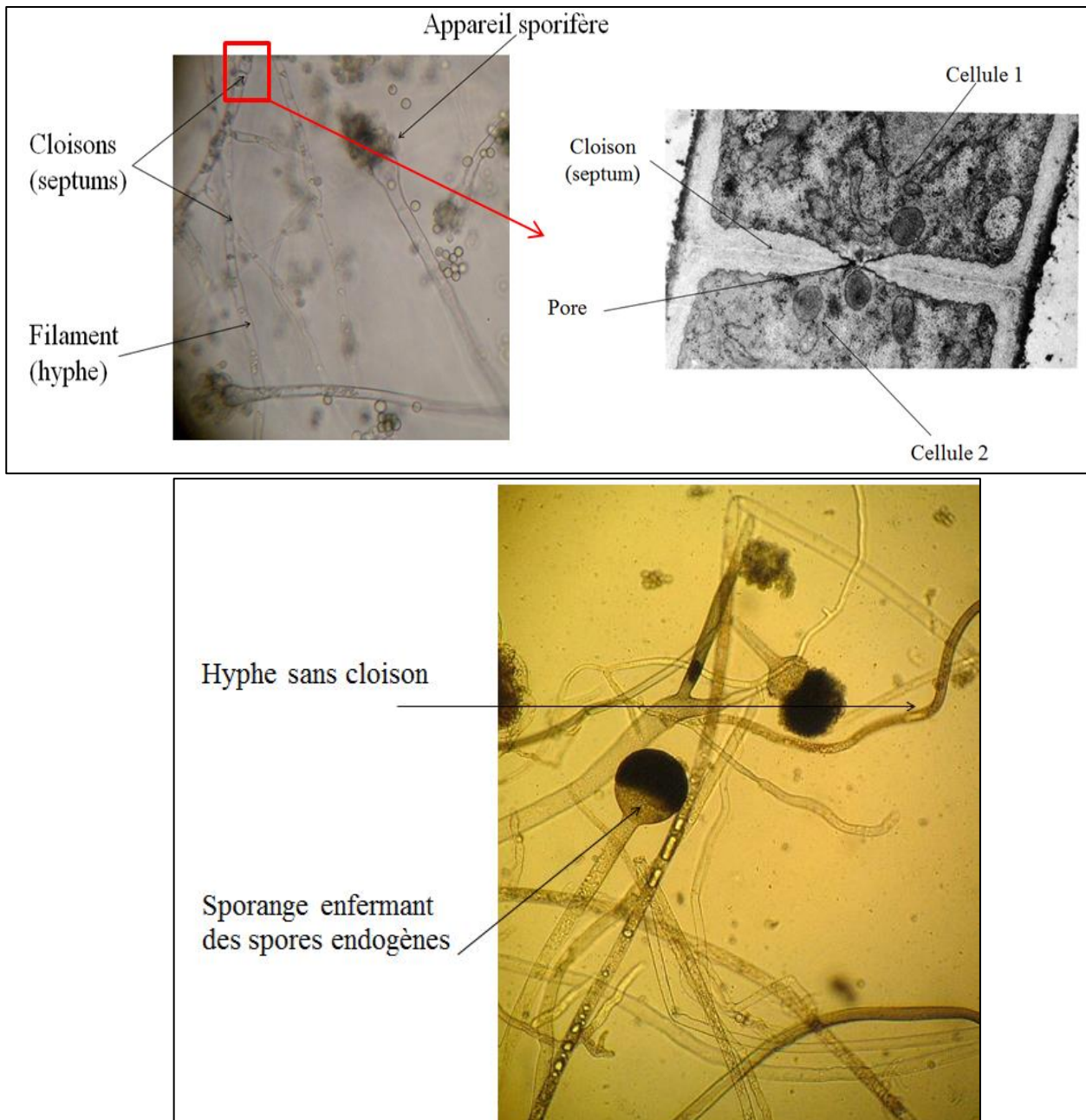


Figure VI. 9 : Hyphes fongiques au microscope

VI.3. Reproduction des levures et moisissures

VI.3.1. Modes de reproduction chez les levures

Les levures, champignons unicellulaires eucaryotes, possèdent une remarquable capacité de reproduction asexuée et parfois sexuée, en fonction de l'espèce et des conditions environnementales. La reproduction est un aspect fondamental de leur cycle de vie, influençant leur croissance, leur adaptation et, chez certaines espèces pathogènes, leur virulence.

VI.3.1.1. Reproduction asexuée

La forme la plus courante de reproduction chez les levures est asexuée, assurant une prolifération rapide par mitose, sans brassage génétique.

Deux mécanismes principaux sont observés :

1. Le bourgeonnement (budding)

Le bourgeonnement est le mode de reproduction asexuée le plus fréquent, notamment chez *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans* et la majorité des levures ascomycètes.

Il commence par la formation d'un petit renflement à la surface de la cellule mère, appelé blastospore ou bourgeon.

Ce bourgeon croît progressivement, pendant que le matériel génétique est répliqué et que le noyau migre.

Après division nucléaire, une cytokinèse asymétrique permet la séparation du bourgeon, qui devient une cellule fille.

Le processus est strictement régulé par un réseau complexe de protéines du cycle cellulaire, notamment les cyclines et les kinases dépendantes des cyclines (CDK).

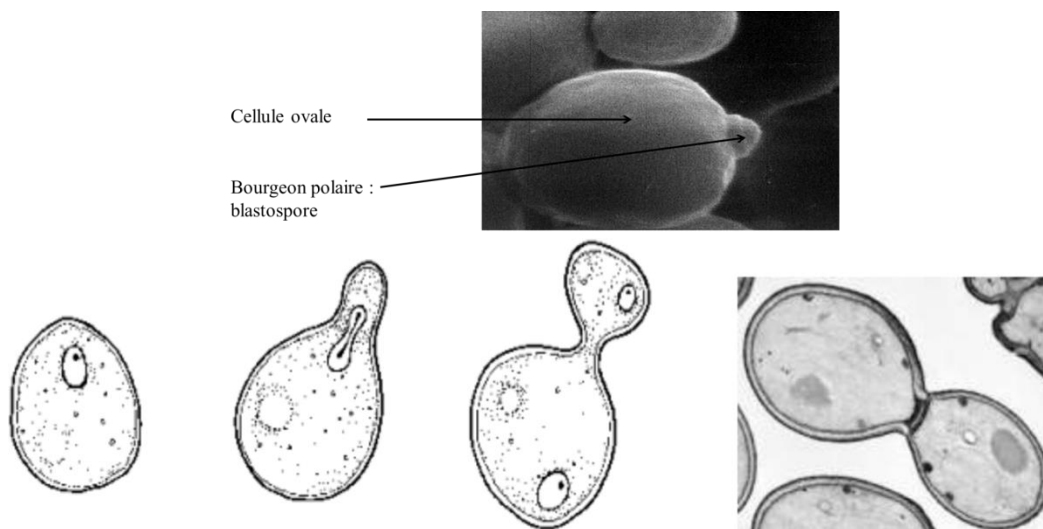


Figure VI. 10 : Schéma du bourgeonnement chez *Saccharomyces cerevisiae*

2. La fission (binary fission)

La fission, moins fréquente, est typique de levures comme *Schizosaccharomyces pombe* (levure de fission), une espèce modèle pour l'étude du cycle cellulaire.

La cellule s'allonge, puis le noyau se divise de manière équatoriale.

Une paroi transversale (septum) se forme au centre, entraînant une séparation symétrique en deux cellules filles identiques.

Contrairement au bourgeonnement, la fission ne laisse pas de cicatrice apparente.

Schizosaccharomyces pombe est un modèle en biologie cellulaire, car son cycle est analogue à celui des cellules animales (phase G2 prédominante).

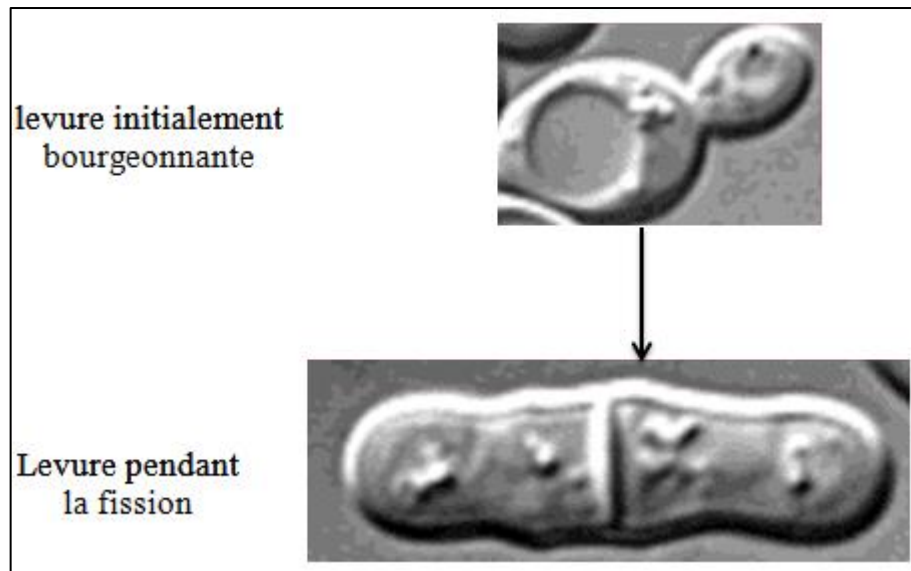


Figure VI. 11 : Reproduction par fission binaire chez *Schizosaccharomyces pombe*

VI.3.1.2. Reproduction sexuée (sporulation)

Certaines levures, principalement ascomycètes, sont capables d’entrer dans un cycle sexué lorsque les conditions deviennent défavorables (carence en azote, stress oxydatif, etc.).

Ce processus implique :

- La formation de cellules haploïdes de type sexuel opposé (a et α chez *S. cerevisiae*) ;
- Leur fusion (plasmogamie) puis caryogamie aboutissant à une cellule diploïde ;
- La sporulation (méiose), qui donne naissance à 4 spores haploïdes appelées ascospores, enfermées dans un ascus.

Ces spores sont résistantes aux conditions extrêmes et assurent la dispersion et la pérennité de l’espèce. Chez *Candida albicans*, la reproduction sexuée classique est rare, mais un cycle parasexué permet une recombinaison génétique sans méiose, contribuant à sa plasticité génomique et à l’émergence de résistances antifongiques.

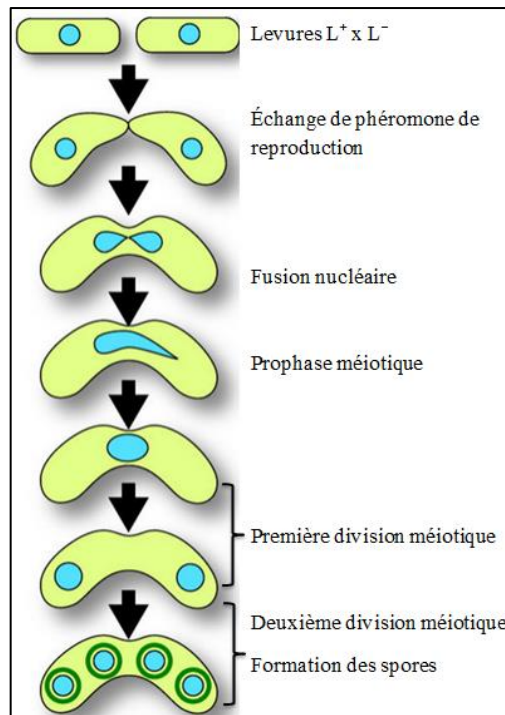


Figure VI. 12 : Cycle sexué de *Saccharomyces cerevisiae* avec formation d’ascospores

VI.3.2. Modes de reproduction chez les moisissures :

Les moisissures, champignons filamenteux pluricellulaires, se reproduisent majoritairement par voie asexuée, en produisant une large gamme de spores mitotiques. Ces spores assurent la dispersion, la colonisation rapide du substrat et la survie dans des environnements hostiles. Elles sont souvent à l’origine de la contamination fongique en milieu hospitalier ou domestique.

Les spores asexuées se forment généralement à partir des hyphes spécialisés appelés conidiophores ou sporangiophores, selon le type de spore produit.

VI.3.2.1. Les principaux types de spores asexuées

a. Conidies

Les conidies sont les spores asexuées les plus fréquentes chez les Ascomycètes et Deutéromycètes. Elles sont :

- exogènes (produites à l’extérieur de la cellule mère) ;
- non cloisonnées (ameroconidies) ou cloisonnées (phialoconidies, annelloconidies) ;
- produites par des structures spécialisées appelées conidiophores.

Elles peuvent être unicellulaires ou multicellulaires, et parfois pigmentées (mélanine), ce qui leur confère une résistance accrue aux UV et aux agents chimiques.

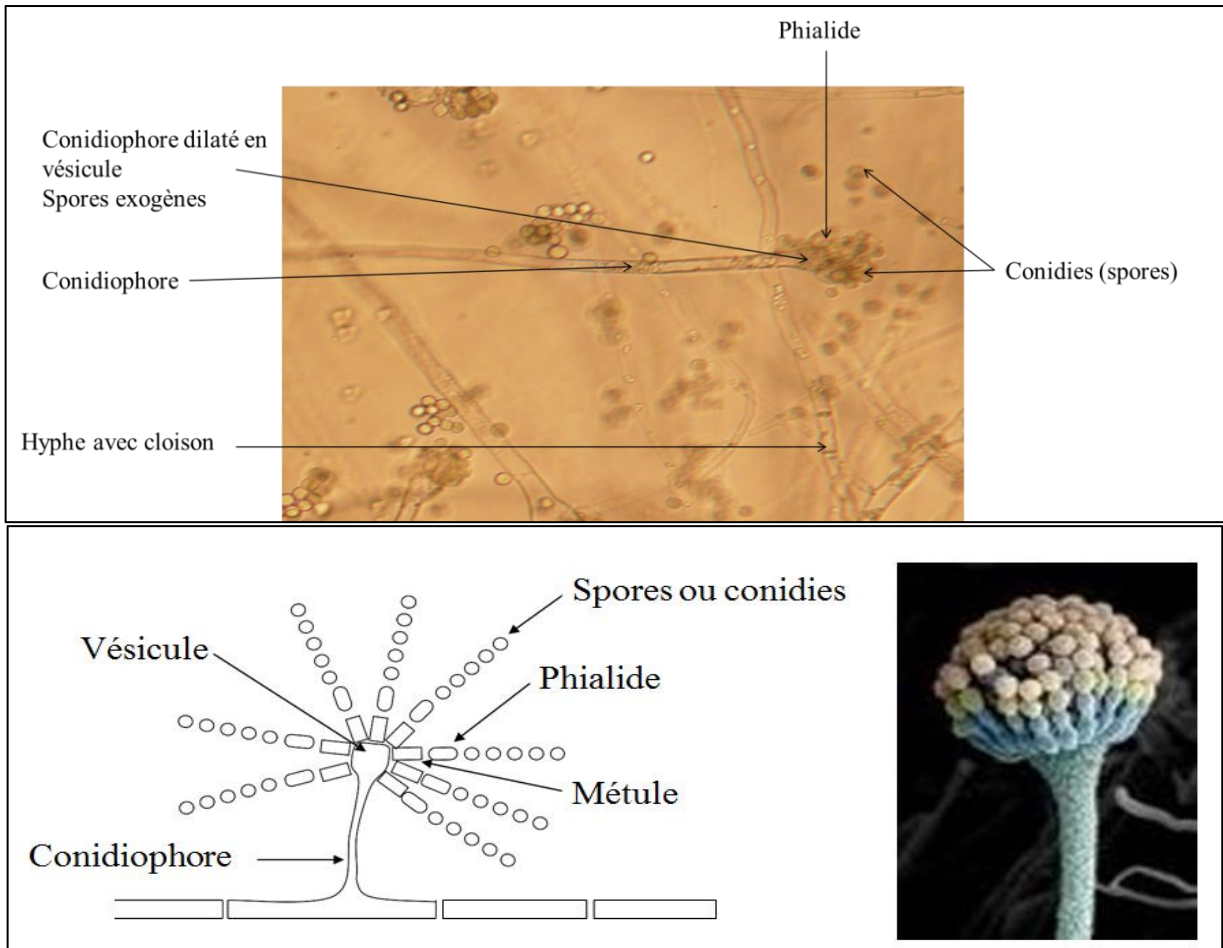


Figure VI. 13 : Aspect macroscopique et microscopique de la structure des conidies

Les conidies sont inhalables (taille < 5 µm), ce qui explique leur rôle majeur dans les pathologies respiratoires comme l'aspergillose invasive.

b. Sporangiospores

Les sporangiospores sont produites à l'intérieur de structures fermées appelées sporanges, portés par des sporangiophores. Elles sont caractéristiques des Zygomycètes, un groupe de champignons à croissance rapide sur substrats riches en sucres.

- Les sporangiospores sont libérées à maturité par déhiscence du sporange.
- Elles sont souvent mobiles passivement, disséminées par l'air, l'eau ou les animaux.

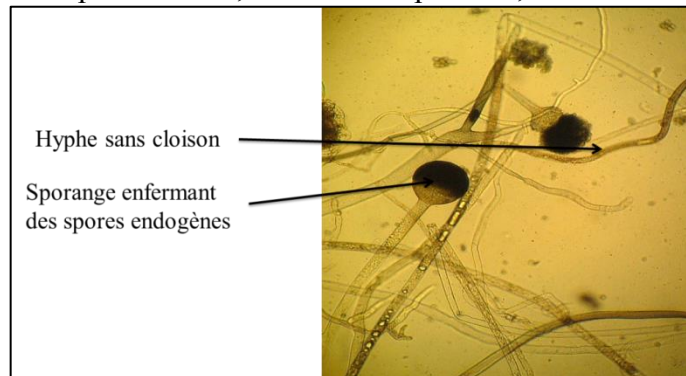


Figure VI. 14 : Structure d'un sporange avec sporangiospores chez *Rhizopus stolonifer*

c. Chlamydo-spores

Les chlamydo-spores sont des spores de survie formées par modification de cellules végétatives. Elles se caractérisent par :

- une paroi épaisse et résistante,
- une cytoplasme dense et riche en réserves (lipides, glycogène),
- leur formation intercalée (au sein du mycélium) ou terminale.

Elles permettent la persistance dans le sol ou l’hôte, notamment en cas de conditions défavorables (déshydratation, température extrême, carence nutritive).

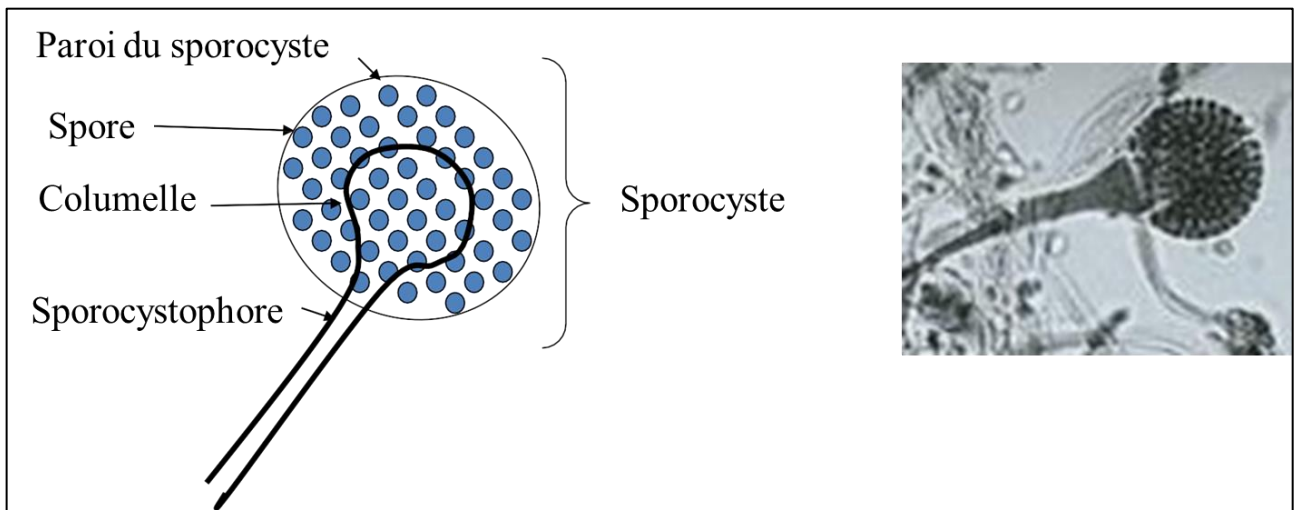


Figure VI. 15 : Aspect macroscopique et microscopique de la structure de Chlamydo-spore

d. Arthroconidies

Les arthroconidies (ou arthrospores) sont des spores issues de la fragmentation des hyphes septés, en unités individuelles viables.

- Ce sont des structures asexuées simples, produites par segmentation de cellules hyphales matures.
- Elles sont souvent rectangulaires ou carrées, facilement disséminables dans l’air.



Figure VI. 16 : Formation d’arthroconidies chez *Coccidioides immitis*

VI.3.2.2. Reproduction sexuée chez les moisissures

La reproduction sexuée est un processus fondamental chez les moisissures, bien que souvent plus rare que la reproduction asexuée. Elle est typiquement observée chez les champignons haploïdes ou hétérothalliques (nécessitant deux types sexuels compatibles), et permet un brassage génétique essentiel à la diversité, à l'adaptation environnementale et parfois à la pathogénicité.

⇒ Étapes clés de la reproduction sexuée

La reproduction sexuée se déroule en trois étapes successives et obligatoires, caractéristiques du règne fongique :

1. Plasmogamie

Fusion des cytoplasmes de deux cellules fongiques haploïdes de types sexuels opposés (\pm , $a/\alpha\dots$). Cette étape donne naissance à une cellule à deux noyaux haploïdes non fusionnés, appelée cellule dicaryotique ($n+n$).

2. Caryogamie

Fusion des noyaux haploïdes, produisant une cellule diploïde ($2n$). Chez les Ascomycètes et les Basidiomycètes, cette étape est retardée (dicaryophase prolongée), ce qui est une spécificité majeure de leur cycle.

3. Méiose

La cellule diploïde subit une méiose, donnant naissance à quatre noyaux haploïdes, qui se différencient en spores sexuées. Ces spores, génétiquement diverses, assureront la dissémination et la recolonisation du milieu.

a. Structures reproductrices sexuées selon les phyla fongiques

Selon la classification fongique, chaque grand phylum produit une structure sexuelle caractéristique, au sein de laquelle les spores sont formées par méiose :

b. Asques et Ascospores (Phylum : Ascomycota)

Les asques sont des sacs microscopiques allongés, généralement portés par des structures complexes appelées ascocarpes (ou périthèces, apothécies, cleistothèces selon leur morphologie). Chaque asque contient typiquement 8 ascospores haploïdes, issues de la méiose suivie d'une mitose.

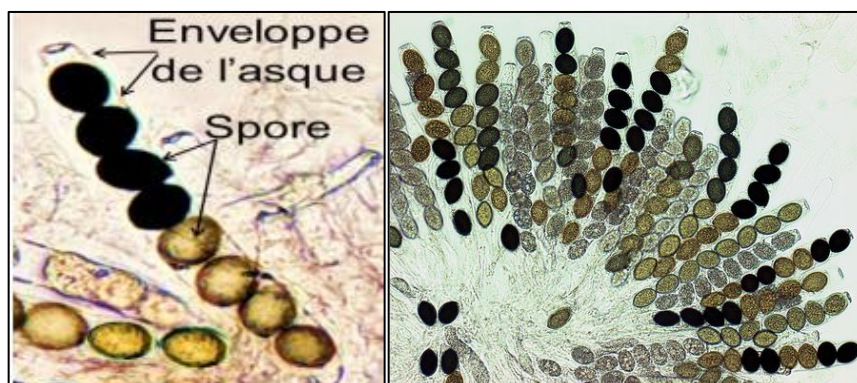


Figure VI. 17 : Coupe d'un ascocarpe montrant les asques contenant les ascospores

Les ascospores sont libérées dans l'air et assurent la dissémination.

Exemples d'Ascomycota :

Neurospora crassa (modèle génétique),

Aspergillus nidulans (forme parfaite de *Aspergillus fumigatus*),

Talaromyces marneffei (ancien *Penicillium marneffei*, pathogène opportuniste chez les immunodéprimés).

Chez plusieurs espèces d'intérêt médical (ex. *Candida albicans*), la reproduction sexuée est possible mais rarement observée en conditions naturelles.

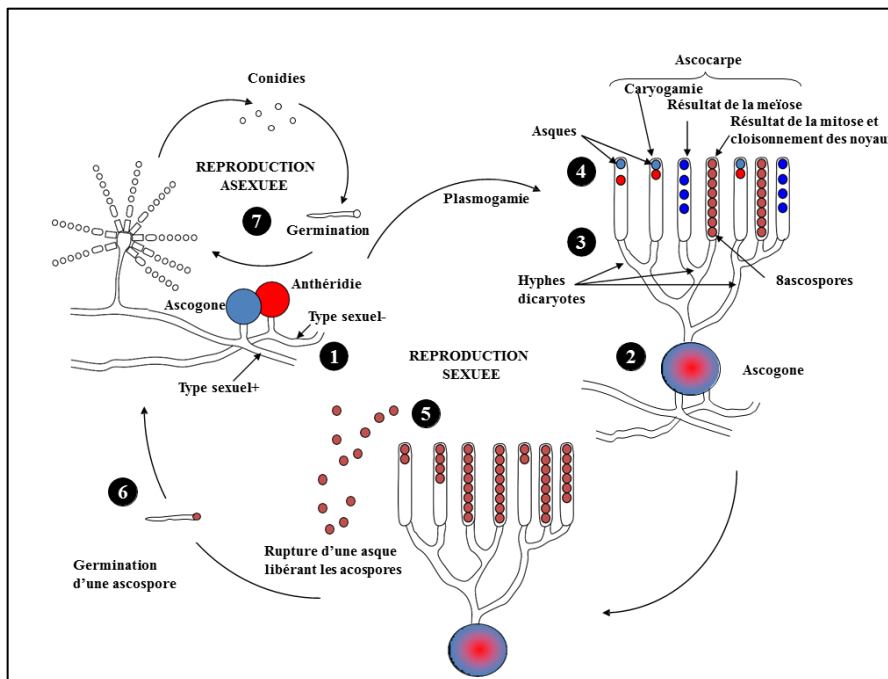


Figure VI. 18 : Cycle sexué schématisé des Ascomycètes

c. Basides et Basidiospores (Phylum : Basidiomycota)

Les basides sont des cellules terminales spécialisées, souvent portées sur des structures macroscopiques (chapeaux de champignons, cornes, croûtes).

Chaque baside produit typiquement 4 basidiospores haploïdes, disposées à son extrémité.

La formation des basides fait suite à une longue phase dicaryotique (n+n), caractéristique du phylum.

Exemples de Basidiomycota :

Cryptococcus neoformans (champignon encapsulé, pathogène du SNC),

Ustilago maydis (charbon du maïs, modèle de biologie moléculaire),

Agaricus bisporus (champignon de Paris comestible).

Chez *Cryptococcus*, la reproduction sexuée a été récemment observée in vitro, avec production de basidiospores infectieuses.

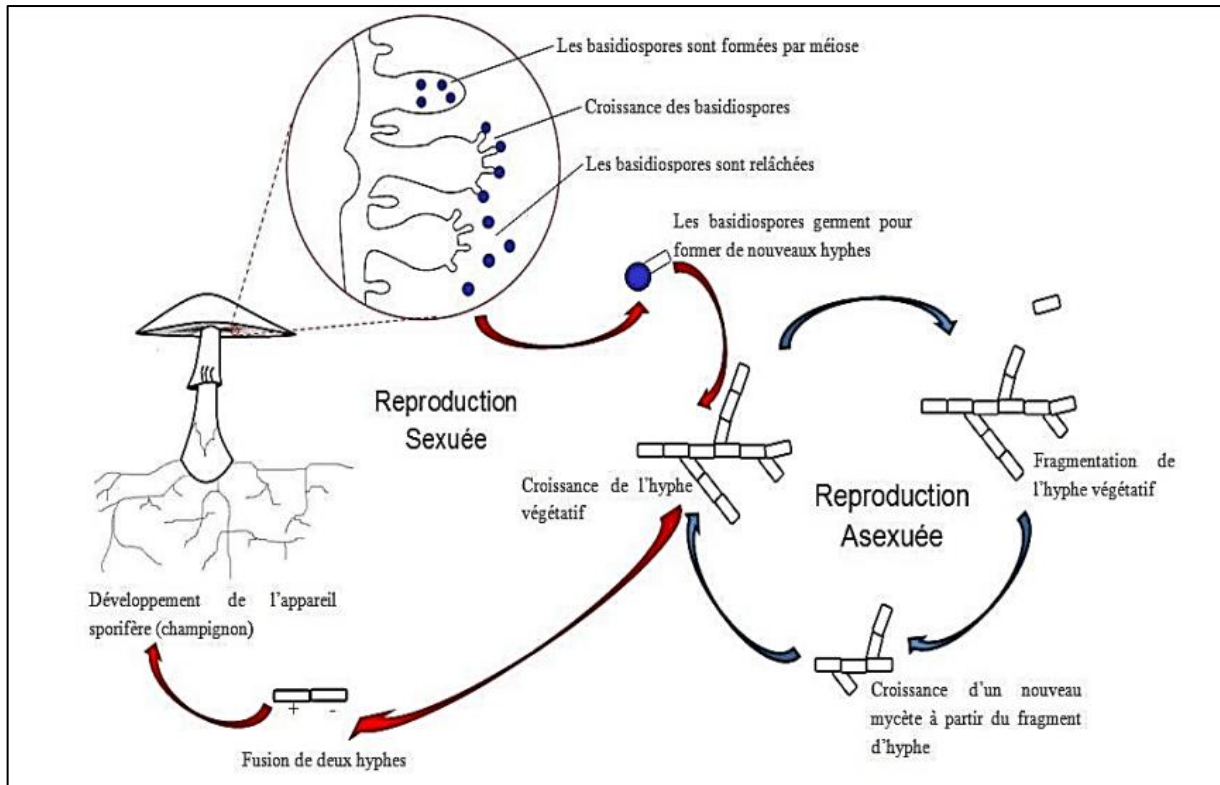


Figure VI. 19 : Cycle sexué schématique Basidiomycètes

d. Zygosporés (Phylum : Mucoromycota, ex-Zygomycota)

La reproduction sexuée chez les Mucoromycota (anciennement Zygomycètes) implique la formation de zygosporés, issues de la fusion de deux gamétanges (structures sexuelles haploïdes).

Les zygosporés sont des spores épaissiment entourées, de forme sphérique, contenant un zygote diploïde. Elles assurent une survie prolongée dans des conditions défavorables.

Exemples : *Rhizopus stolonifer*, *Mucor spp.*, agents de mucormycoses.

Les zygosporés peuvent rester dormantes pendant des mois, avant de germer et produire des sporangiosporés.

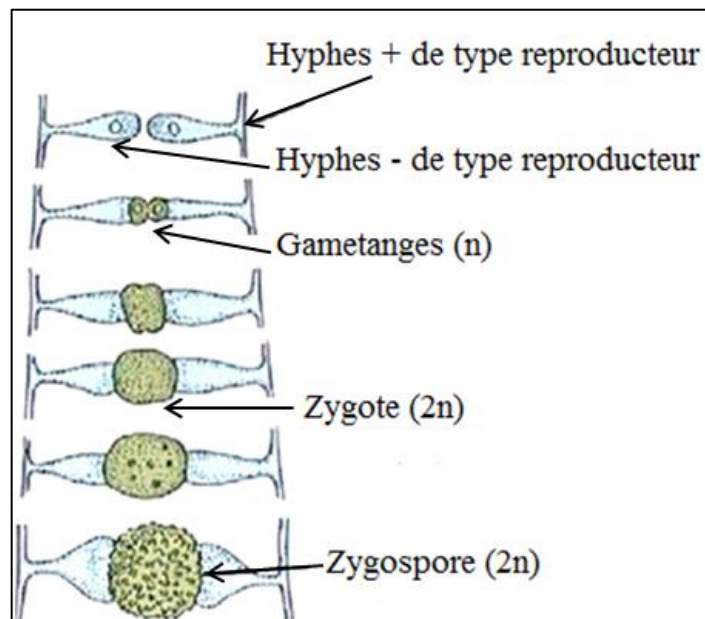


Figure VI. 20 : Cycle sexué schématique Zygomycètes

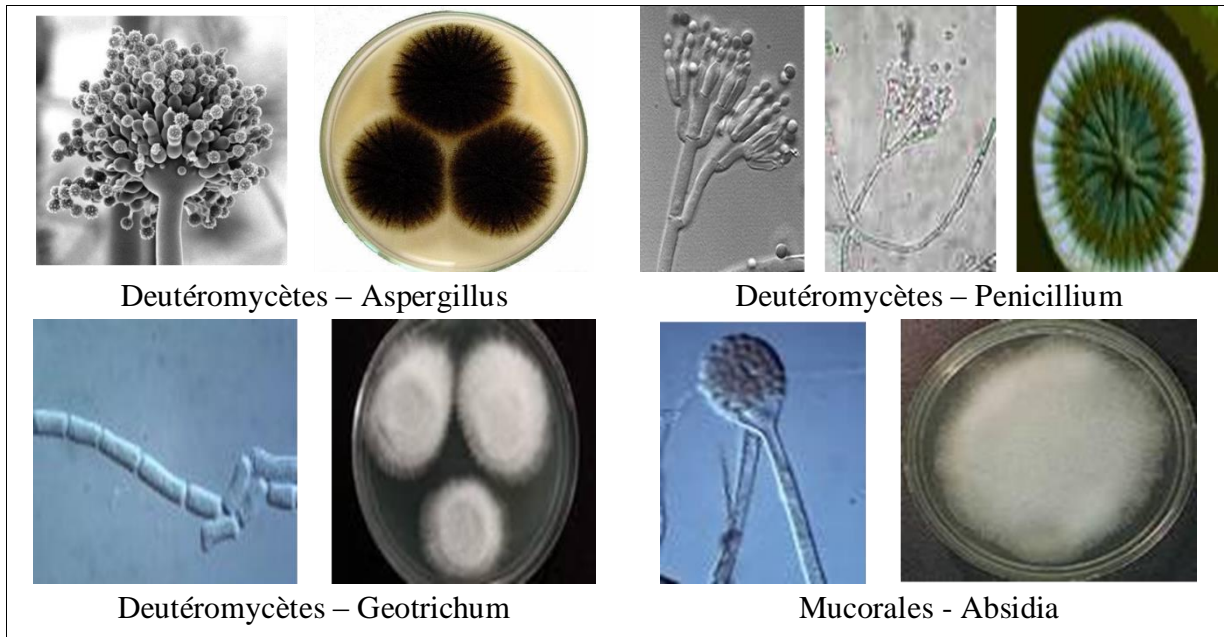


Figure VI. 21 : Aspect macroscopique et microscopique des champignons filamenteux

Conclusion

Ce chapitre met en évidence un explore la diversité, la morphologie et la reproduction des champignons microscopiques. Des études plus avancées sur la pathogénicité, la biotechnologie et l'écologie fongique sont recommandées.

VII. Virologie

La virologie est la branche de la microbiologie qui étudie les virus, entités biologiques particulières à la frontière du vivant. Les virus sont acellulaires, dépourvus de métabolisme propre, et obligatoirement intracellulaires : ils nécessitent une cellule hôte pour se multiplier. Leur étude est importante tant pour la compréhension des mécanismes infectieux que pour les applications biotechnologiques (vecteurs viraux, thérapies géniques, vaccins recombinants).

Les virus infectent tous les domaines du vivant : animaux, plantes, champignons, bactéries (bactériophages), et même archées. Ils sont extrêmement divers en taille, structure, génome et cycle de réplication, ce qui rend leur classification et leur compréhension complexes.

VII.1. Morphologie : capsid et enveloppe

VII.1.1. Capsid

La capsid est la structure protéique externe qui entoure et protège le génome viral. Elle est formée par l'assemblage de sous-unités protéiques appelées capsomères, selon une symétrie géométrique déterminée.

VII.1.1.1. Rôles de la capside :

Protection du génome viral contre la dégradation enzymatique ou les conditions environnementales.

Reconnaissance et interaction avec la cellule hôte (chez les virus nus).

Libération du génome dans la cellule cible.

VII.1.1.2. Types de symétrie capsidique :

a. Symétrie hélicoïdale :

La capside s'enroule autour du génome, souvent observée chez les virus à ARN monocaténaire (ex. virus de la mosaïque du tabac – *TMV*)

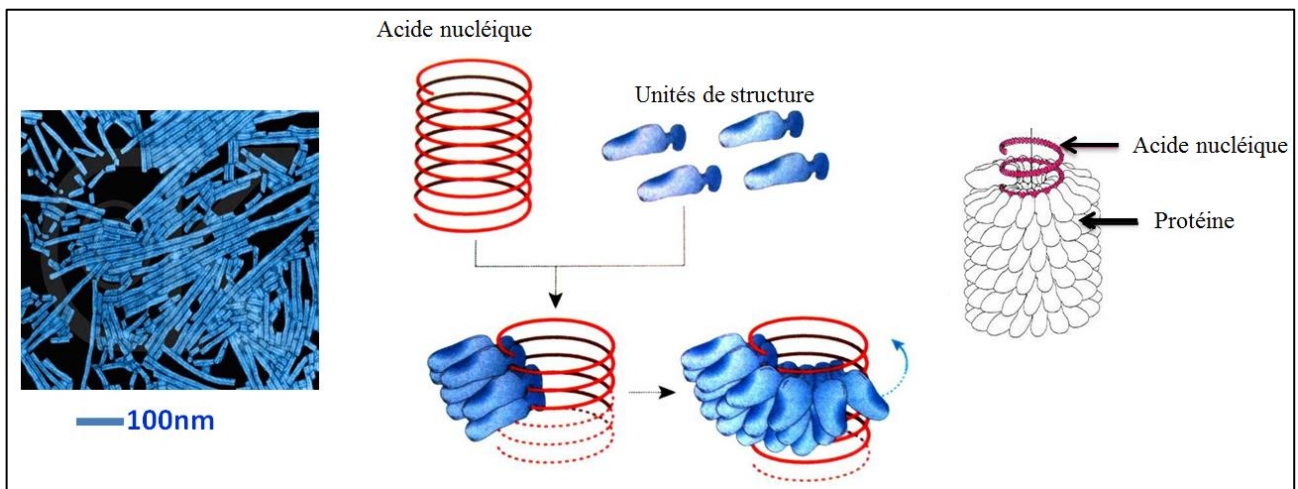


Figure VII. 1 : Virus à capside hélicoïdale

b. Symétrie icosaédrique :

Structure quasi-sphérique à 20 faces triangulaires, typique de nombreux virus animaux (ex. adénovirus, poliovirus)

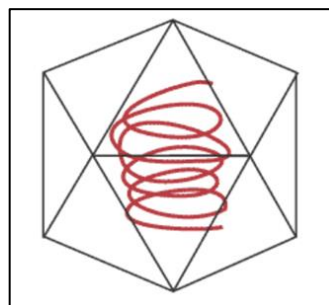


Figure VII. 2 : Schéma d'une capside icosaédrique

c. Symétrie complexe :

Forme non géométrique classique, souvent chez les bactériophages (ex. phage T4 avec tête icosaédrique + queue contractile). Les virus peuvent posséder des structures très organisées malgré leur taille nanométrique (20–300 nm).

VII.1.2. Enveloppe virale

Certains virus possèdent une enveloppe, membrane lipidique d'origine cellulaire, acquise lors du bourgeonnement hors de la cellule hôte. Cette enveloppe contient des glycoprotéines virales insérées, qui assurent l'attachement et/ou la fusion avec la cellule cible.

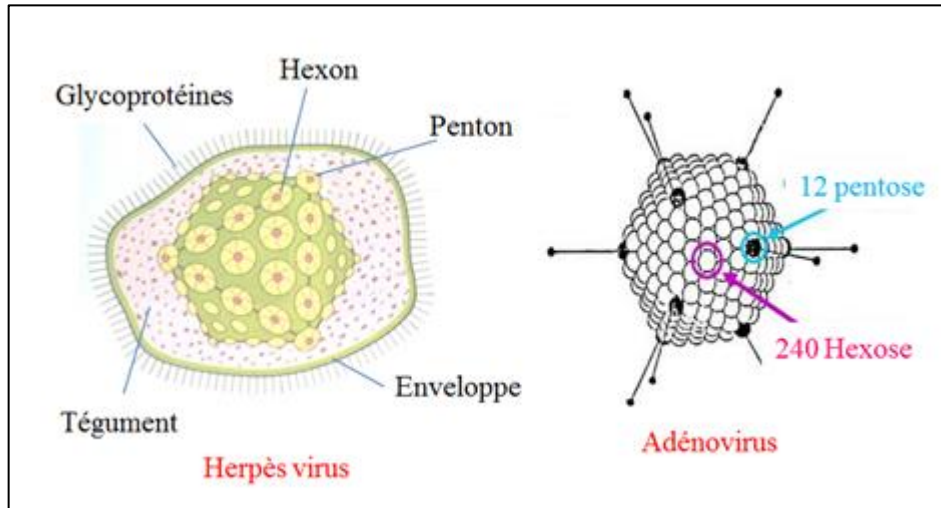


Figure VII. 3 : Structure et composants des virus

VII.1.2.1. Composition :

Bicouche lipidique (issue de la membrane plasmique, nucléaire ou Golgi de l'hôte)
 Glycoprotéines virales (ex. hémagglutinine du virus Influenza, protéine S du SARS-CoV-2)

VII.1.2.2. Fonctions de l'enveloppe :

Facilite l'entrée du virus par fusion membranaire ou endocytose.
 Permet d'échapper au système immunitaire (mimétisme membranaire).
 Rôle dans la tropisme cellulaire (spécificité d'infection).

Les virus enveloppés sont souvent plus fragiles que les virus nus (sensibles aux solvants lipidiques, détergents, chaleur).

Exemples :

Virus enveloppés : VIH, virus de la grippe, herpèsvirus.

Virus nus : adénovirus, papillomavirus, poliovirus.

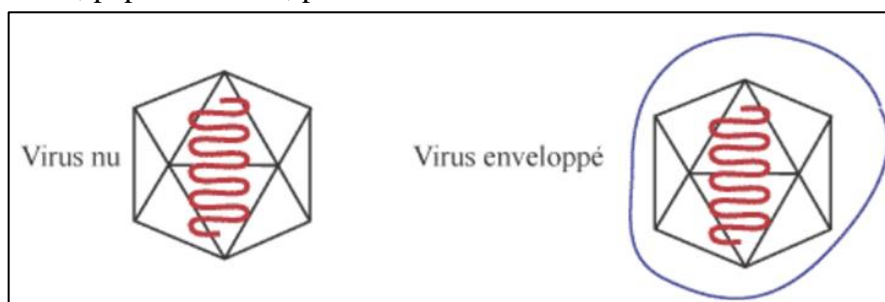


Figure VII. 4 : Comparaison d'un virus nu et d'un virus enveloppé

VII.2. Différents types de virus

La classification des virus repose sur plusieurs critères : type de génome, morphologie, présence ou non d'enveloppe, cycle de réplication, et hôte infecté. La classification la plus utilisée est celle du Comité International de Taxonomie des Virus (ICTV), ainsi que le système de Baltimore, basé sur le mode de réplication génomique.

VII.2.1. Selon le génome : classification de Baltimore

Le système de Baltimore classe les virus en 7 groupes en fonction :
De la nature de l'acide nucléique (ADN ou ARN),
Du nombre de brins (simple ou double),
ET de la polarité (brin positif ou négatif).

Tableau V II. 1 : Classification de Baltimore des virus selon le type de génome

Groupe	Type de génome	Exemples de virus
I	ADN double brin (dsDNA)	Herpèsvirus, Adénovirus
II	ADN simple brin (ssDNA)	Parvovirus
III	ARN double brin (dsRNA)	Rotavirus
IV	ARN simple brin + (ssRNA+)	Poliovirus, SARS-CoV-2
V	ARN simple brin – (ssRNA–)	Virus Influenza, Rage
VI	ARN simple brin +, rétrotranscrit	VIH (rétrovirus)
VII	ADN double brin, rétrotranscrit	Virus de l'hépatite B (HBV)

VII.2.2. Selon le tropisme cellulaire

Les virus sont souvent classés en fonction du type cellulaire ou tissulaire ciblé :

- Virus entériques : infectent le tube digestif (ex. rotavirus, norovirus).
- Virus respiratoires : infectent les voies respiratoires (grippe, coronavirus).
- Neurotropes : infectent le système nerveux (rage, poliovirus, herpèsvirus).
- Dermatotropes : provoquent des lésions cutanées (varicelle, papillomavirus).
- Hépatotropes : ciblent le foie (hépatites A à E).
- Immunotropes : ciblent les cellules immunitaires (VIH).

Le tropisme est déterminé par les récepteurs cellulaires et les glycoprotéines virales.

VII.2.3. Autres critères de classification

Taille du génome : de quelques milliers à plus d'un million de bases (ex. Mimivirus > 1 Mb).

Nombre de segments : certains virus sont monopartites (génome unique), d'autres segmentés (Influenza : 8 segments).

Type d'hôte :

- Bactériophages : infectent les bactéries.
- Archeoviridae : virus des archées.
- Mycovirus : virus fongiques.
- Phytovirus : virus des plantes.
- Virus zoonotiques : transmis entre animaux et humains (ex. virus Ebola, SARS-CoV-2).

Conclusion

La virologie expose la diversité structurale et fonctionnelle des virus.

Conclusion

La microbiologie constitue un domaine fondamental des sciences biologiques, en ce qu'elle éclaire la nature, la diversité et le rôle des micro-organismes dans les équilibres biologiques et pathologiques. Ce cours a permis de présenter les bases conceptuelles et expérimentales nécessaires à la compréhension de l'organisation cellulaire des procaryotes et eucaryotes microbiens, des mécanismes de croissance et de reproduction, ainsi que des principes de classification. L'accent a également été mis sur les méthodes d'observation, l'importance de la paroi et de la membrane plasmique, ainsi que sur les grandes étapes historiques qui ont façonné l'évolution de la discipline.

L'ensemble de ces connaissances offre aux étudiants une vision intégrée du monde microbien, tant sur le plan structural que fonctionnel, et constitue une préparation indispensable à l'étude des domaines appliqués, tels que la microbiologie médicale, alimentaire, industrielle et environnementale. Toutefois, certains aspects nécessitent un approfondissement ultérieur, notamment la génétique microbienne, les interactions hôte-pathogène, les mécanismes de résistance aux antimicrobiens et les applications biotechnologiques émergentes.

À ce titre, il est recommandé aux étudiants d'élargir leur lecture vers des ouvrages de référence classiques et récents tels que *Microbiologie* (Prescott et al., 2018) ou *Microbiologie* (Tortora, Funke & Case, 2021), qui offrent une couverture plus exhaustive et illustrée. La consultation d'articles scientifiques récents dans des revues spécialisées comme *Nature Reviews Microbiology*, *Journal of Bacteriology* ou *Clinical Microbiology Reviews* permettra également d'actualiser et de consolider les acquis.

Bibliographie scientifique

Ouvrages

- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., et al. (2015). *Molecular biology of the cell* (6th ed.). Garland Science.
- Lodish, H., Berk, A., Kaiser, C. A., et al. (2021). *Molecular cell biology* (9th ed.). W. H. Freeman.
- Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. H., Sattley, W. M., & Stahl, D. A. (2018/2021). *Brock biology of microorganisms* (15th–16th ed.). Pearson.
- Meyer, A., Deiana, J., & Bernard, A. (2004). *Cours de microbiologie générale : avec problèmes et exercices corrigés* (2^e éd.). Doin Éditeurs.
- Guezlane Tebibel, N., Kahlouche, B., & Athmani Guemouri, S. (2016). *Microbiologie TP* (2^{ème} année TCB et LMD) (Édition n°4973, 144 p.). OPU. ISBN 978-9961-0-1181-2
- Prescott, L. M., Willey, J. M., Sherwood, L. M., & Woolverton, C. J. (2018). *Microbiologie* (10^e éd.). De Boeck Supérieur.
- Ramdani, B., Bouguessa, N., Seghier, M., Belouni, R., & Benslimani, A. (2016). *Manuel de microbiologie : à l'usage des étudiants en 3^e année médecine*. Alger: Office des Publications Universitaires.
- Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C. L. (2020). *Microbiology: An introduction* (13th ed.). Pearson.

Articles et reviews scientifiques

- Anderson, A. J., & Dawes, E. A. (1990). Occurrence, metabolism, metabolic role, and industrial uses of bacterial polyhydroxyalkanoates. *Microbiological Reviews*, 54(4), 450–472.
- Baltimore, D. (1971). Expression of animal virus genomes. *Bacteriological Reviews*, 35(3), 235–241.
- Bardy, S. L., Ng, S. Y. M., & Jarrell, K. F. (2003). Prokaryotic motility structures. *Microbiology*, 149(2), 295–304.
- Basu, A., & Yap, M. N. F. (2016). Ribosome hibernation. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 51(5), 329–338.
- Berg, H. C. (2003). The rotary motor of bacterial flagella. *Annual Review of Biochemistry*, 72, 19–54.
- Dorman, C. J. (2004). H-NS: A universal regulator. *Nature Reviews Microbiology*, 2(5), 391–400.
- Errington, J. (2003). Regulation of endospore formation. *Nature Reviews Microbiology*, 1(2), 117–126.
- Frost, L. S., Leplae, R., Summers, A. O., & Toussaint, A. (2005). Mobile genetic elements. *Nature Reviews Microbiology*, 3(9), 722–732.
- Ghannoum, M. A., & Rice, L. B. (1999). Antifungal agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 501–517.
- Kaguni, J. M. (2006). DnaA: Initiation of bacterial DNA replication. *Annual Review of Microbiology*, 60, 351–375.
- Kornberg, A., Rao, N. N., & Ault-Riché, D. (1999). Inorganic polyphosphate. *Annual Review of Biochemistry*, 68, 89–125.
- Latgé, J.-P., & Chamilos, G. (2019). *Aspergillus fumigatus* and aspergillosis. *Clinical Microbiology Reviews*.
- Macnab, R. M. (2003). How bacteria assemble flagella. *Annual Review of Microbiology*, 57, 77–100.
- Mott, M. L., & Berger, J. M. (2007). DNA replication initiation. *Nature Reviews Microbiology*, 5(5), 343–354.
- Wang, X., Montero Llopis, P., & Rudner, D. Z. (2013). Chromosome segregation. *Nature Reviews Genetics*, 14(3), 191–203.
- Wilson, D. N. (2014). Ribosome-targeting antibiotics. *Nature Reviews Microbiology*, 12(1), 35–48.