

LA SPORE BACTERIENNE

Bibliographie: Microbiologie générale; Leclerc, Gaillard, Simonet; Brock; Pelmont

Introduction

Diverses espèces bactériennes ont la faculté de former des cellules spécialisées montrant une résistance accrue à des facteurs d'environnement défavorables, notamment à une température élevée, à l'absence d'éléments nutritifs ou à la dessiccation.

Un vocabulaire particulier désigne les différentes formes de cellules résistantes, résumées dans le tableau ci-dessous.

	Endospores	Exospores	Cystes	Conidies
Thermorésistance	Forte	Modérée	néant	limitée
Cortex	Présent	non	non	non
Ac dipicolinique	Présent	non	non	non
Nombre/cellule	1	1 - 4	1	n (chaîne)
Exemples	<i>Bacillus</i> <i>Clostridium</i> <i>Desulfomaculum</i> <i>Sporosarcina</i> <i>Thermoactinomyces</i>	<i>Methylosinus</i> <i>Rhodomicrobium</i>	<i>Azotobacter</i> <i>Myxococcus</i> <i>Sporocytophaga</i>	<i>Actinomyces</i> <i>Micromonospora</i> <i>Nocardia</i> <i>Streptomyces</i>

Ce tableau ne mentionne pas les formes de résistances spéciales rencontrées chez les cyanobactéries, qui forment des cystes spécialisés ou hétérocystes (dévolus à la fixation de l'azote atmosphérique dans les milieux carences en N). Les formes les plus spectaculaires sont les endospores des genres *Bacillus* et *Clostridium* et vont être développées ci-dessous.

La sporulation est un processus de différenciation cellulaire qui conduit de la cellule végétative (capable de se multiplier) à la cellule sporale (métabolisme réduit, incapable de se multiplier).

Les spores bactériennes sont très différentes des spores de champignons :

- elles se forment à l'intérieur des cellules bactériennes, d'où le nom d'endospores,
- elles apparaissent lorsque la bactérie se trouve en conditions défavorables,
- ce ne sont pas des formes de dissémination mais des formes de résistance.

Il ne se forme qu'une seule spore par cellule végétative. Lorsque les conditions redeviennent favorables, la spore peut germer et donner une nouvelle cellule végétative.

1. La sporulation

1) Les différentes phases :

La sporulation intervient lorsque les conditions deviennent défavorables à la croissance (carence en nutriments, en sels minéraux, manque d'eau). Les bactéries sporulantes entrent alors dans le stade 1.

- Au stade 1, l'ADN s'est dupliqué et se condense en formant un filament axial.

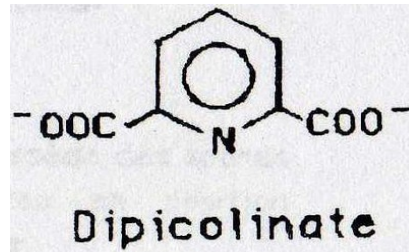
- Au stade 2, il y a formation d'un septum qui individualise deux compartiments de tailles inégales. Le filament axial d'ADN s'est fragmenté pour donner 2 molécules.

- Au stade 3, la membrane de la grosse cellule englobe la petite cellule qui est finalement endocytée. La petite cellule est appelée préspore, elle est entourée d'une double membrane. L'ensemble est le sporange.

A ce niveau, le processus de sporulation est devenu irréversible. Les stades 4, 5 et 6 correspondent à la maturation de la spore :

- Au stade 4, la cellule mère produit des composants proches du peptidoglycane qui viennent s'accumuler entre les 2 membranes pour former le cortex. Chez certaines espèces, une autre couche protéique plus externe est synthétisée, c'est l'exosporium (structure facultative).

- Au stade 5, la formation du cortex et de l'exosporium se poursuit. On observe également l'accumulation d'acide dipicolinique (DPA) et de calcium dans le cytoplasme. Cette accumulation s'accompagne d'une déshydratation de la spore, et de la production de SASPs (Small Acide Soluble spore Proteins).

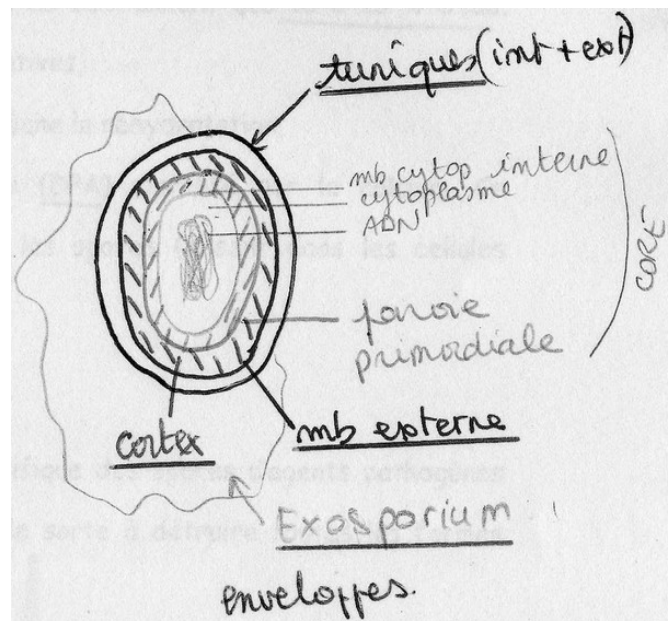
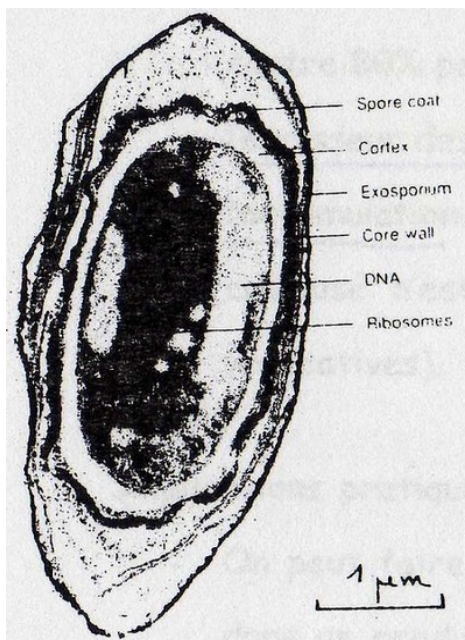


- Au stade VI, la maturation de la spore s'achève par la synthèse de nouvelles enveloppes protéiques : les tuniques qui s'insèrent entre le cortex et l'exosporium. Les tuniques sont composées de protéines riches en cystéines (\Rightarrow possibilité de formation de ponts di-sulfures qui stabilisent les structures).
- Au stade VII, la cellule mère (ou sporange) est lysée sous l'effet des enzymes lytiques. Elle libère la spore mûre.

L'ensemble du phénomène dure environ 7 à 10 heures.

C'est un mécanisme de différenciation cellulaire qui fait intervenir plus d'une cinquantaine de gènes qui sont tous soumis aux mêmes facteurs transcritionnels : σ^K dans la cellule mère et σ^G dans la préspore.

2) Structure de la spore mûre :



2. Les propriétés de la spore mûre

1) Caractéristiques lors de l'observation microscopique :

Lors d'une observation à l'état frais, les spores apparaissent comme des éléments réfringents. L'étude de mutants sans cortex montre que c'est cette enveloppe qui induit la réfringence de la spore.

Les spores ne prennent pas la coloration de Gram car leur paroi est trop épaisse. Elles seront donc invisibles si elles sont libres dans le milieu ou apparaîtront comme des tâches incolores si elles se trouvent encore à l'intérieur des bacilles. Pour colorer les spores, il faut forcer l'entrée du colorant par chauffage.

Ex:

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

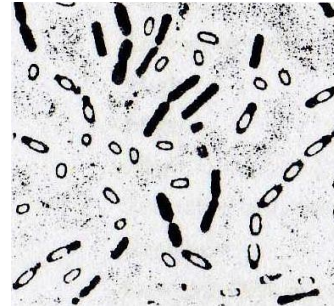
Remarque :

La présence de spores, leur forme (ovoïde ou ronde), leur localisation dans la cellule (centrale, sub-terminale ou terminale) et leur impact sur la forme de la cellule (spore déformante ou non) sont des

critères importants lors de l'identification des bacilles Gram (+).

Ex:

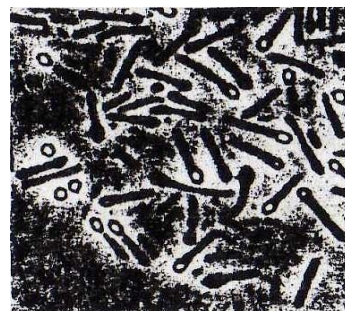
Groupe 1 des *Bacillus* possède des spores ovales, non déformantes en position centrale ou sub-terminale, (*B. anthracis*, *B. cereus*)



Groupe 2 des *Bacillus* possède des spores ovales, déformantes en position centrale ou sub-terminale, (*B. polymyxa*)



Groupe 3 des *Bacillus* possède des spores rondes, déformantes en position terminale, (*B. pasteurii*)



2) Thermorésistance :

Après leur lente maturation, les spores sont libérées par auto-lyse de la cellule mère. Les spores ne manifestent aucune activité métabolique décelable et présentent une résistance très élevée à la chaleur. Elles peuvent résister plus de 10 minutes à 80°C alors que les cellules végétatives sont détruites.

Plusieurs paramètres semblent importants pour la thermorésistance :

- le faible taux en eau : les spores ne contiennent que 10 à 15 % d'eau, contre 80% pour les cellules végétatives,
- l'épaisseur des enveloppes, qui empêche la réhydratation,
- l'accumulation d'acide dipicolinique (DPA) stabilisé par le calcium. Ce composé n'est présent que dans les spores (absent dans les cellules végétatives).

Implications pratiques :

- On peut faire une recherche spécifique des spores d'agents pathogènes dans un produit en le chauffant de sorte à détruire toutes les formes végétatives.

Par exemple, les *Clostridium* sulfite-réducteurs sont considérés comme des témoins de contamination fécale ancienne. On recherche la présence de leurs spores dans l'eau de boisson en chauffant les échantillons pendant 10 minutes à 80°C, puis en ensemencant un milieu contenant des sulfites (TSN : Tryptone, Sulfite, Néomycine)

- La thermorésistance des spores complique l'élimination des contaminations par *Bacillus*. Les procédés de stérilisation ne sont pas satisfaisants à moins de chauffer longtemps et à très haute température. Pour les produits fragiles, on a développé le procédé de tyndallisation qui consiste à alterner des périodes de chauffe modérée (60°C) qui permettent de détruire les formes végétatives, avec des périodes de refroidissement à température ambiante. Ceci provoque la germination des spores et rend

possible leur élimination lors du cycle de chauffe suivant.

3) **Autres propriétés :**

Les spores présentent une très bonne résistance à divers agents physiques ou chimiques comme les radiations, la pression, les antibiotiques ...

Les spores présentent également une très bonne résistance au temps (ex : spores sur momie, dans de l'ambre ...) mais les limites sont impossibles à fixer.

Tableau récapitulatif des différences entre endospores et cellules végétatives

Characteristic	Végétative cell	Endospore
Structure	Typical gram-positive cell	Thick spore cortex Spore coat Exosporium
Microscopic appearance	Nonrefractile	Refractile
Calcium content	Low	High
Dipicolinic acid	Absent	Present
Enzymatic activity	High	Low
Metabolism (O ₂ uptake)	High	Low or absent
Macromolecular synthesis	Present	Absent
mRNA	Present	Low or absent
Heat resistance	Low	High
Radiation resistance	Low	High
Resistance to chemicals (for example H ₂ O ₂) and acids	Low	High
Stainability by dyes	Stainable	Stainable only with special methods
Action of lysozyme	Sensitive	Resistant
Water content	High, 80-10%	Low, 10 - 25% in core
Small acid-soluble proteins (products of <i>ssp</i> genes)	Absent	Present
Cytoplasmic pH	About pH 7	About pH 5,5 – 6,0 in core

3. **La germination des spores**

Lorsque la spore est placée dans des conditions favorables de croissance, elle subit une série de transformations progressives et devient une nouvelle cellule végétative.

Ce processus comprend 3 étapes :

- l'activation,
- l'initiation,
- l'émergence.



1) **Activation :**

Pour pouvoir germer, la spore doit être activée par un agent capable de léser les multiples enveloppes sporales. Cet agent peut être de nature :

- mécanique : choc, phénomène d'abrasion...
- physique : chaleur (Cf procédé de tyndallisation)
- chimique : acidité.

2) Initiation :

L'initiation n'intervient qu'en conditions favorables :

- forte teneur en eau,
- milieu riche contenant des métabolites effecteurs (adénine, adénosine, Mg^{2+}).

Ces éléments pénètrent à travers les enveloppes endommagées et déclenchent un processus autolytique avec dégradation du peptidoglycane du cortex et libération de l'acide dipicolinique. Alors la spore se gonfle d'eau et perd ses caractéristiques.

3) Emergence :

Après sa réhydratation, la spore donne une nouvelle cellule végétative qui entre en phase active de biosynthèses : la synthèse de l'ADN reprend, la cellule double son volume, elle devient à nouveau capable de se multiplier.

Conclusion :

Au cours de la sporulation, la cellule végétative bactérienne passe d'une forme active, douée d'un métabolisme riche, à une forme latente, sans activité métabolique décelable, mais capable de résister aux conditions défavorables du milieu.