

## Notions générales sur les cellules bactériennes

### Objectifs :

- Décrire la composition de la paroi bactérienne
- Principes de la coloration Gram
- Comparaison entre les bactéries Gram+ et Gram-



En 1838, apparait le mot <bactérie>.  
**Christian Gottfried Ehrenberg.**  
 Biologiste allemand  
 (le mot bactérie a été repris par **COHN**  
 en 1857)

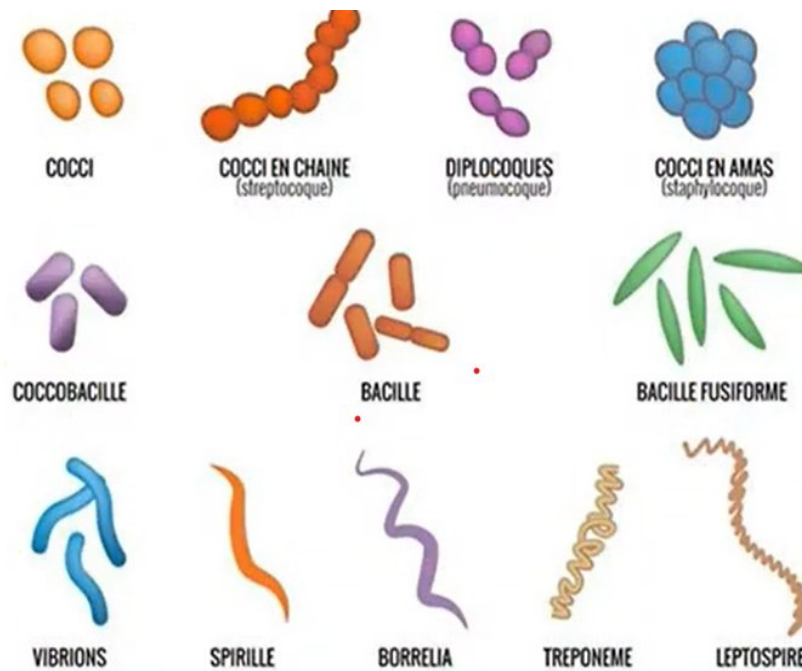
### 1. Propriétés générales

#### 1.1 Propriétés structurales et classification

Une bactérie est un être unicellulaire procaryote, de petite taille, de morphologie variable qui présente des caractéristiques propres. La taille d'une bactérie varie entre 1 à 10  $\mu\text{m}$ . Le poids d'une bactérie est d'environ 10-12 g. Elle contient 70% d'eau. Rapporté au poids sec, une bactérie est constituée de protéines (55%), de lipides (10%), de lipopolysaccharides (3%), de peptidoglycane (3%), de ribosomes (40%), d'ARN (20%) et d'ADN (3%). Dans le **TD1**, comparaison entre eucaryotes et procaryotes, nous avons décrit les caractéristiques structurales des cellules bactériennes. Nous avons mis en évidence l'importance physiologique de la membrane plasmique. (**Revoir le TD1**).

Les bactéries sont classées en groupes selon quatre critères biologiques :

- la forme de la cellule bactérienne (fig.1). la forme est observée au MO, à l'état frais, coloration, fond noir, contraste de phase (**techniques de microscopies. TDs me Allaoui, 1<sup>er</sup> semestre**) . la microscopie permet aussi d'observer l'aspect des colonies.
- l'utilisation de l'oxygène
- la paroi (présente chez toutes les bactéries sauf les mycoplasmes). Coloration Gram, et Ziehl Neelsen pour les mycoplasmes.
- Critères biochimiques



**Fig1** : classification des bactéries selon leurs formes.




## 1.2 Propriétés d'adaptation



Les bactéries sont caractérisées par leur extrême diversité métabolique, qui leur donne un pouvoir d'adaptation importante, qui leur permet d'être présents dans tous les types d'écosystème :

- Respiration en milieu aérobie anaérobie ou Aero anaérobie.
- Culture dans des conditions physicochimiques naturelles variées (température, pH, pression osmotique).

l'utilisation ou la tolérance vis-à-vis de l'O<sub>2</sub> détermine différents types respiratoires chez les bactéries : aérobie strict- micro aérophile – anaérobie strict – anaérobie aéro tolérant .

Tableau 1 : les différents types respiratoires chez les bactéries.

Type Respiratoire	Tolérance vis-à-vis de l'O <sub>2</sub>
<p>aérobic strict : <b>obligate aerobes</b></p> <p>les bactéries ne peuvent survivre qu'en surface, proche de l'O<sub>2</sub>. Chez ces bactéries, l'accepteur final dans la chaîne respiratoire est l'O<sub>2</sub>.</p>	 <p>Effet de l'O<sub>2</sub> exigé</p>
<p>anaérobic aéro tolérant : <b>aérotolérant anaérobic</b></p> <p>les bactéries peuvent survivre sans ou avec l'O<sub>2</sub></p>	 <p>Effet de l'O<sub>2</sub> non exigé, mais utilisé lorsqu'il est disponible</p>
<p>micro aérophilic : <b>micoaerophilic</b></p> <p>les bactéries peuvent survivre mais à des niveaux bas de l'O<sub>2</sub></p>	 <p>niveau bas d'O<sub>2</sub> ,</p>

<p>anaérobie strict : <b>obligate anaerobes</b></p> <p>les bactéries ne peuvent survivre qu'en absence d'oxygène.</p> <p>Respiration par fermentation.</p>	 <p>l'O2 entrave la survie des bactéries.</p>
<p>Anaérobie facultatif : facultative anaerobes</p> <p>Respiration par fermentation. L'ajout de l'O2 dans le milieu, va suspendre la fermentation au profit d'une respiration oxydative aérobie .</p>	 <p>l'O2 est utilisé lorsqu'il est présent .</p>

Chez les bactéries (**aéro**)**anaérobies** , leurs chaines respiratoires peuvent utiliser d'autres molécules (en tant qu'accepteur terminal d'électrons). Certaines bactéries peuvent ainsi respirer du fer ( $Fe^{3+}$ ), des nitrates ( $NO_3^-$ ) ou diverses molécules organiques.

### 1.3 Pouvoir pathogène

Les espèces bactériennes sont très variées : certaines espèces peuvent vivre indépendantes et assurer leurs propres besoins, ce sont les bactéries autotrophes, d'autres, sont hétérotrophes et ont besoin d'apports exogènes. C'est parmi elles que se trouvent les pathogènes. Le pouvoir pathogène peut être déterminé par la présence dans la cellule bactérienne des structures :

- La capsule : joue un rôle dans la virulence, car elle inhibe la phagocytose.
- La paroi, le Flagelle : éléments de diagnostic.
- Les pili et fimbriae : permettent l'attachement des bactéries sur des cellules hôtes, une étape importante dans la pathogénie. Les pili sexuels permettent le transfert des plasmides.
- Les spores : différenciation de la forme végétative en spore, une forme de survie, hautement résistante a la chaleur.

### 2. La paroi

L'identification courante bactérienne fait appel à des méthodes biochimiques et immunologiques, mais la structure de la paroi des bactéries permet, après coloration de GRAM de les classer avant l'identification en deux catégories : les Gram +, et les Gram -.

2.1 Ultrastructure de la paroi

Plus des deux tiers des espèces bactériennes (selon la classification BERGEY) sont des Gram- c'est-à-dire qu'ils possèdent une paroi. Bien moins nombreuses, les bactéries Gram+, se caractérisent aussi par la présence d'une paroi cellulaire externe, mais elle est de structure différente de celle des bactéries à Gram-. La paroi est une enveloppe rigide, qui assure l'intégrité de la bactérie, lui donne sa forme et la protège de pression osmotique. Les deux figure 2 et 3 , montrent la structure de la membrane cellulaire chez les bactéries Gram+ et Gram-. Distinguez les différences structurales entre Gram+ et Gram-? Les peptidoglycanes sont-ils présents dans la cellule eucaryote ?

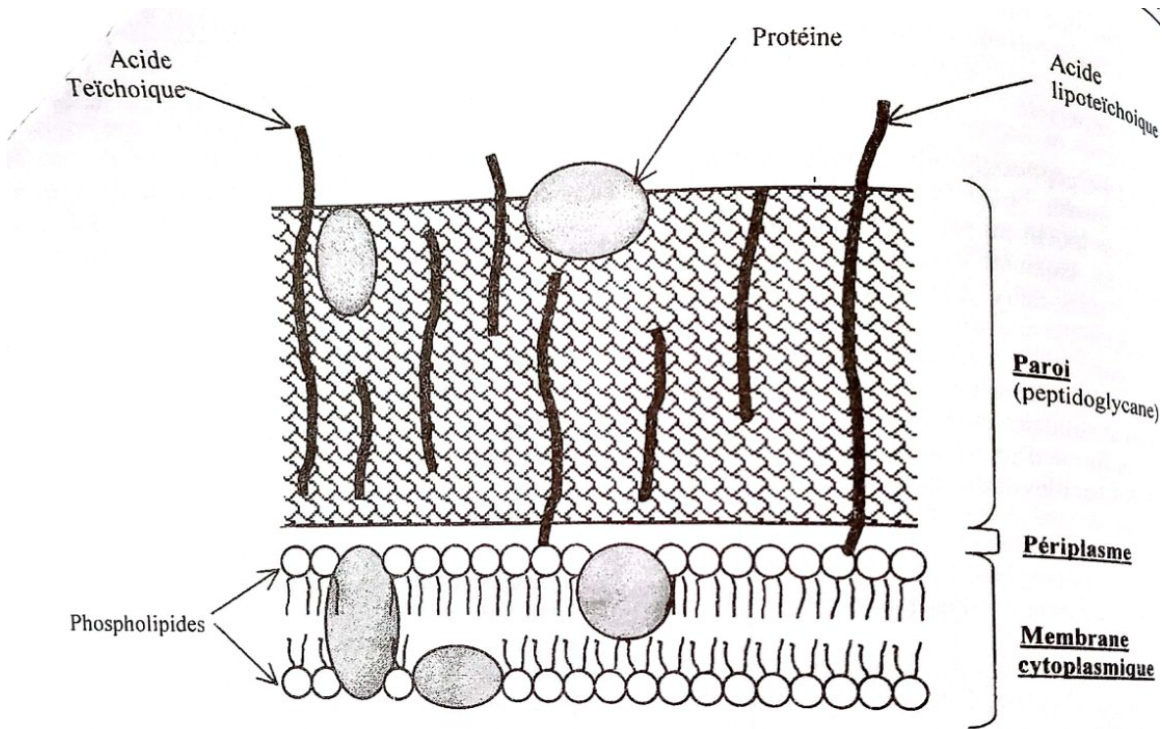


Fig 2. Paroi des Grm+

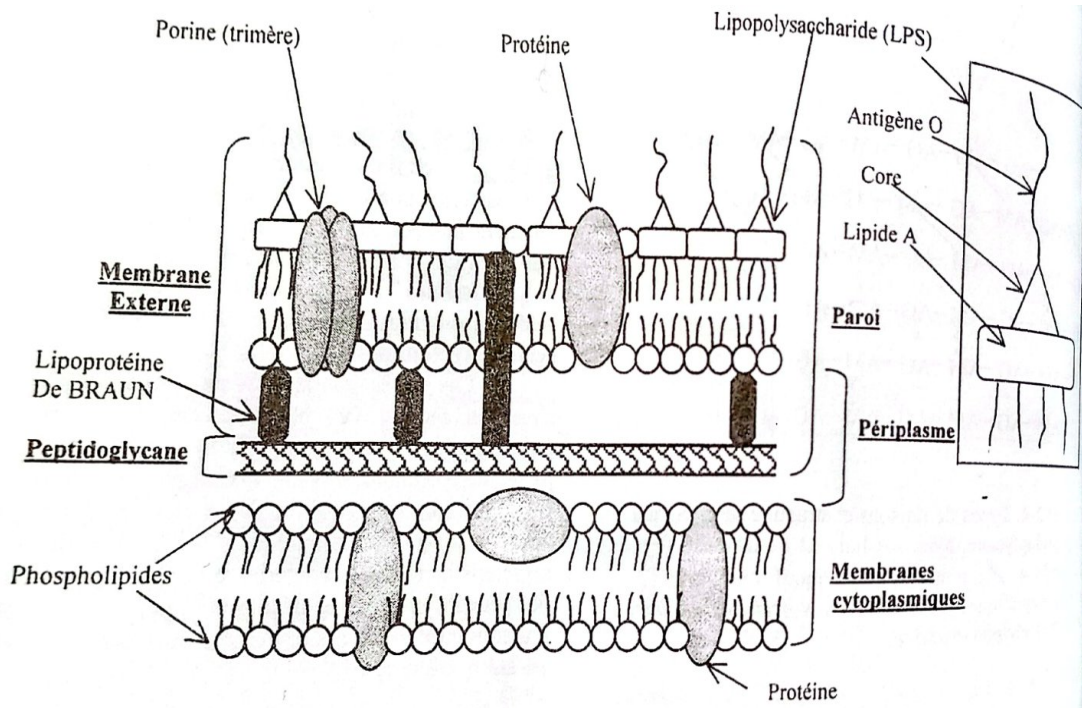


Fig. 3. Parois des Gram-.

## 2-2 Coloration Gram

### 2.2.1 Intérêt du test

La Coloration Gram est une coloration différentielle, permet de distinguer les deux groupes de bactéries Gram+ et Gram- . Christian Gram en 1884 découvrit de façon fortuite, qu'après leur coloration au cristal violet, certaines bactéries certaines bactéries sont décolorées par un traitement aux solvants organiques, alors que d'autres restent insensibles à cette décoloration. Ce comportement différent des bactéries vis-à-vis de la coloration Gram, s'est imposé dans le protocole d'identification des bactéries, comme un caractère taxonomique fondamental, permettant de classer les bactéries dans leur groupe approprié.



Hans Christian Johakim Gram

### 2.2.2 Principe de la méthode de coloration Gram (figure 2)

- Etalement et fixation du frottis (suspension bactérienne) : Les bactéries étalées sur une lame de verre, sont fixées par l'alcool ou par la chaleur.

-Coloration : Au violet de gentiane par la couverture totale pendant 1 mn , ensuite lavage a l'eau (sans éponger) . deuxième coloration par le lugol (même méthode ) . resultat1. resultat2

- Décoloration : On procède à une décoloration, on appliquant l'éthanol à 95° ou une association de l'alcool et l'acétone. Il est nécessaire d'agiter la lame pendant 30 secondes, puis laver a l'eau sans éponger. Resultat3

- Sur coloration ou contre-coloration : On utilise un colorant rouge come la fuschine de ziehl (diluée à 10%) , ou la surafine ( à 2,5% dans l'éthanol à 95°) pour contrecarrer la première coloration. Le temps de pause est de 20 à 30 secondes . Résultat 4

Q1 Interprétez les résultats obtenus par la méthode de coloration Gram.

Q2 expliquez le fait que les bactéries Gram- ne restent pas colorées après la décoloration à l'alcool comme les Gram+.

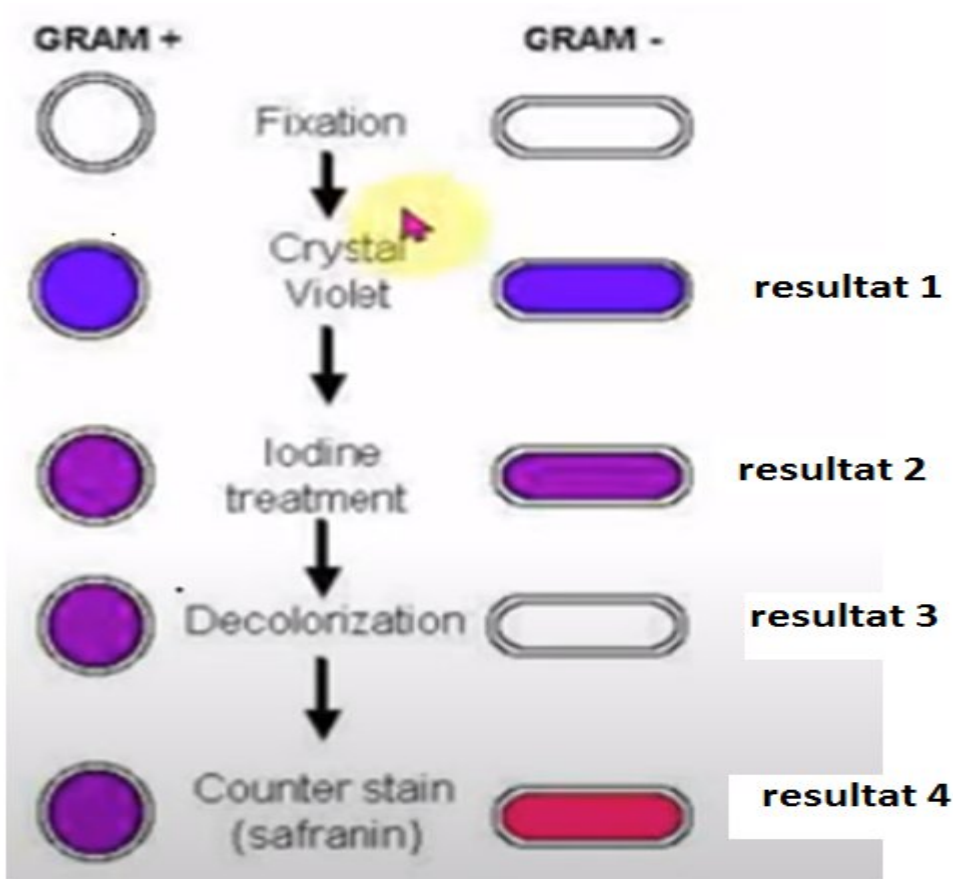


Figure 4 : Principe de la méthode de Gram

Au MO, les bactéries après coloration Gram, apparaissent en violet (Gram+) et en rouge clair ou rose (Gram-). Certaines bactéries possèdent une capsule, chez les Gram+, elle recouvre le peptidoglycane, et la membrane externe chez les Gram-. Au MO, elle est mise en évidence par la coloration à l'encre de chine. Figure4

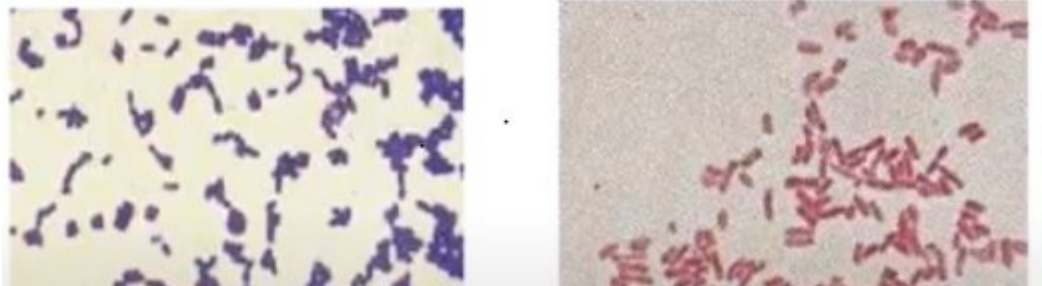


Figure 5 : les bactéries après coloration Gram .