

I- INTRODUCTION :

La découverte du monde microbien remonte à la fin du XVII^e siècle grâce à Anthonie Van Leeuwenhoek, un drapier qui en utilisant un microscope de sa fabrication a pu observer dans l'eau et les infusions de nombreux micro-organismes qu'il nomma « animalcules »

Ce n'est que deux siècles plus tard que la microbiologie a connu son vrai départ, grâce aux travaux de Louis Pasteur et Robert Koch.

Le terme de Bactérie (grec: petit bâton) a été donné par COHN en 1857.

Celui de microbe par Sédillot (un chirurgien) en 1878 et désigner tous les organismes microscopiques.

II- DEFINITION :

- ✓ Les bactéries = micro-organismes unicellulaires de petite taille de l'ordre du Micron (1 à 10 µm).
- ✓ Elles appartiennent au règne des protistes qui se subdivise en deux classes: *algues + photosynthèse*
- ✓ Les protistes supérieurs « Eucaryotes » (champignons, algues, protozoaires)
- ✓ Les protistes inférieurs « Procaryotes »: (bactéries et cyanophycées) se distinguent des eucaryotes par:
 - 1- L'absence de membrane nucléaire.
 - 2- Un chromosome unique et pas d'appareil mitotique.
 - 3- L'absence de mitochondries, d'appareil de Golgi et de réticulum endoplasmique.
 - 4- Et enfin la présence d'un constituant spécifique au niveau pariétal:
le peptidoglycane ou mureine ou mucopeptide.

III- MOYENS D'ETUDE DES BACTERIES :

1/- Microscopie optique: Comporte 2 temps:

➤ Examen à l'état frais: (entre lame et lamelle) permet d'observer la forme et la mobilité des bactéries. (1/2 liquide)

➤ Examen après coloration: (après fixation) permet de mieux apprécier la morphologie bactérienne.

On distingue:

- * Les colorations simples (bleu de méthylène)
- * Les colorations doubles (coloration de Gram la plus connue et celle de Ziehl-Nielsen)

2/- Microscopie électronique:

Permet une étude fine de la structure bactérienne ou l'anatomie bactérienne.

IV-ANATOMIE BACTERIENNE :

Dans une cellule bactérienne on distingue différents types de structure:

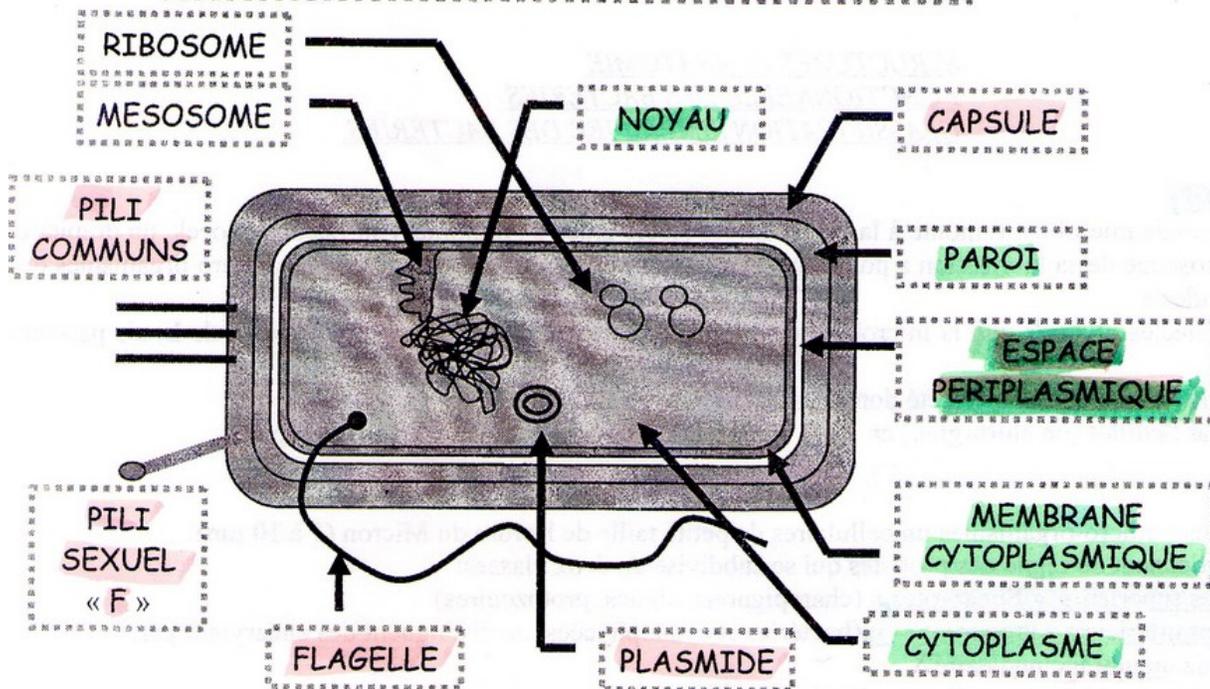
1/ Structures constantes: Retrouvées chez toutes les espèces bactériennes :

- ✓ Chromosome.
- ✓ Cytoplasme.
- ✓ Membrane cytoplasmique.
- ✓ Paroi (absente chez les Mycoplasmes).

2/ Structures facultatives: Présentes chez quelques espèces seulement ou certains individus (souches) d'une espèce:

- ✓ La spore.
- ✓ La capsule, glycocalyx.
- ✓ Les plasmides.
- ✓ Les cils ou flagelles.
- ✓ Les pili.

CELLULE BACTERIENNE



STRUCTURES CONSTANTES :

LA PAROI BACTERIENNE :

Enveloppe sous jacente à la capsule.

Elle assure à la bactérie sa rigidité, sa forme et sa résistance au milieu extérieur.

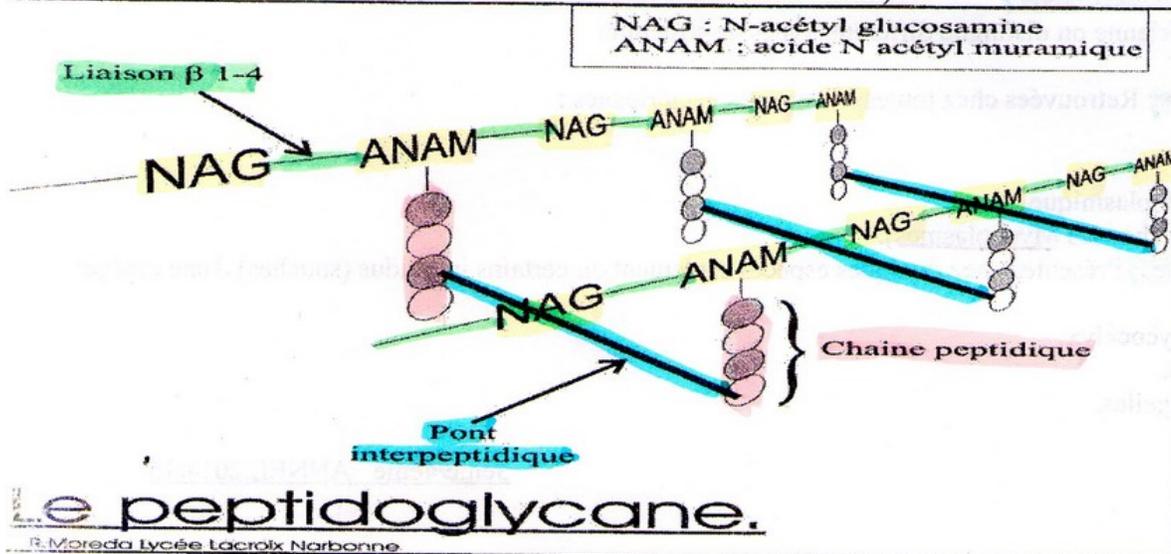
Sa structure diffère selon qu'il s'agit de bactéries à Gram (+) ou à Gram (-) mais les deux ont un élément commun: « Le peptidoglycane »

Le peptidoglycane :

C'est un polymère de chaînes linéaires formées par l'alternance de deux sucres aminés: NAG (N-Ac Glucosamine) et ANAM (N-Acétyle Muramique) unis par liaison disaccharidique.

Sur le ANAM sont fixées des chaînes tétra peptidiques dont la composition varie selon les espèces. (exemple: Alanine - D-Glutamique - L-Lysine - D-Alanine)

Ces tétra peptides sont reliés entre eux par des ponts inter-peptidique. (Penta glycine = 5 unité de Glycine) (et la Lysine d'une chaîne et la D alanine terminale d'une autre chaîne)

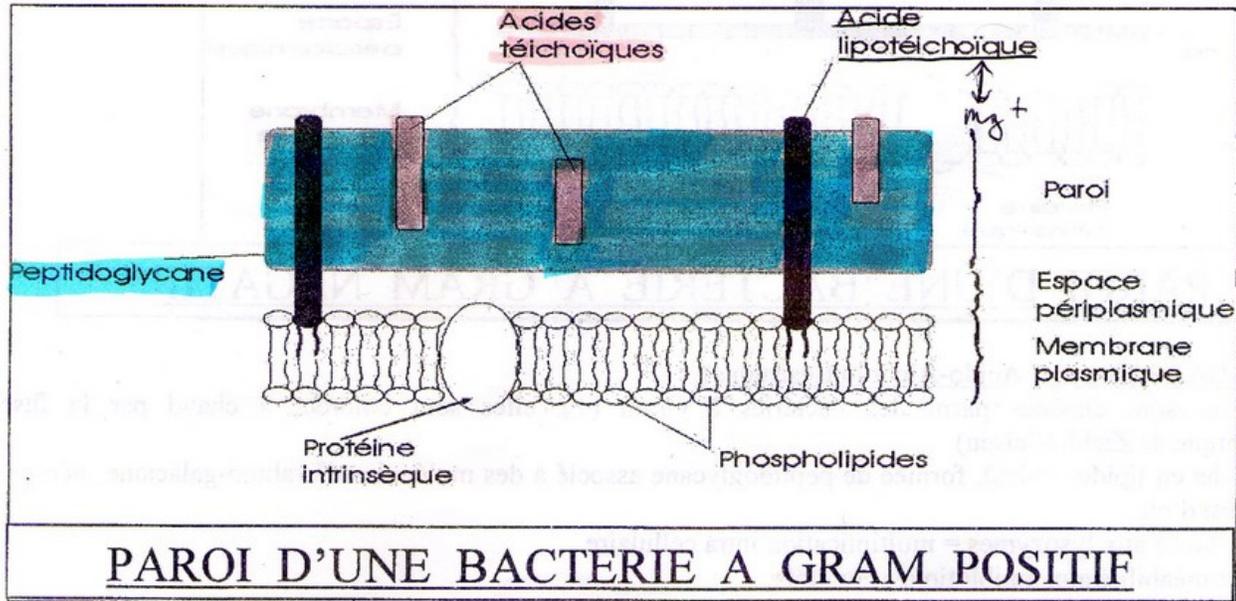


)- PAROI DE GRAM (+):

Elle est épaisse par rapport à celle des Gram (-), (20 à 80nm), homogène, constituée en grande partie de peptidoglycane uni à des acides teichoïques (2^e composant essentiel de la paroi= polymère de glycérol phosphate ou ribitol phosphates associés à un sucre) et lipoteichoïques.

Les acides teichoïques se combinent à des ions Mg⁺⁺ pour rendre la paroi plus compacte, ils contrôlent également les autolysines qui hydrolysent la paroi ancienne pour permettre l'insertion de nouveaux composants.

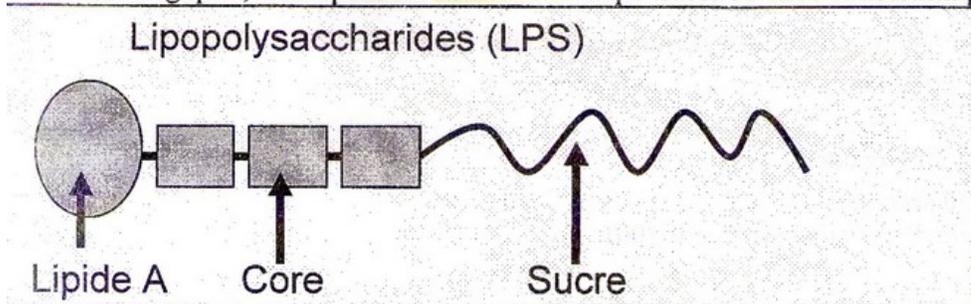
La paroi des Gram (+) est perméable aux antibiotiques.



)- PAROI DE GRAM (-):

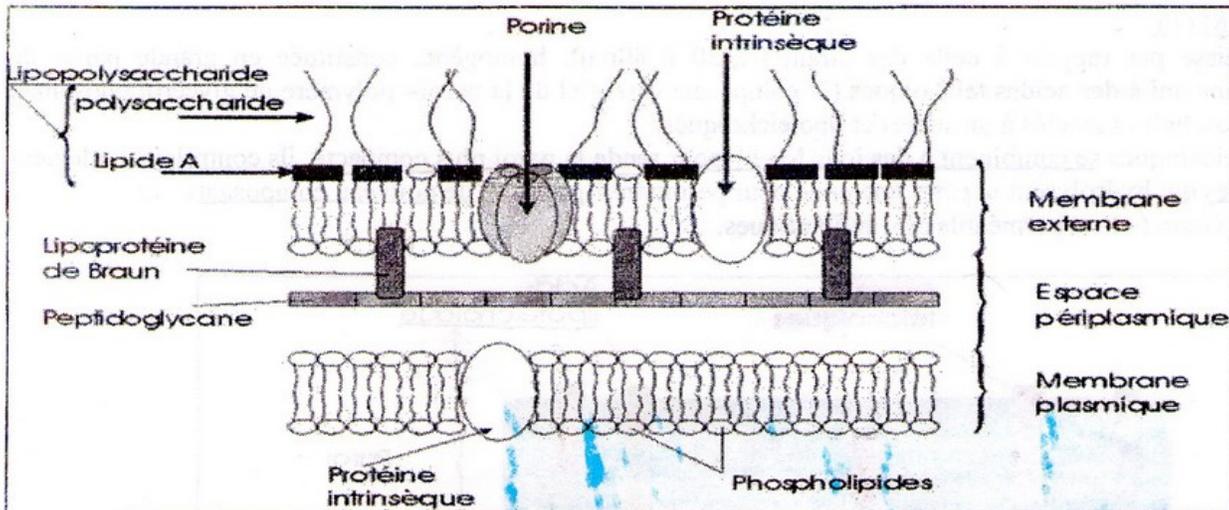
Structure plus complexe et plus fine que celle des Gram (+), constituée d'une fine couche de PG, recouverte d'une couche tri lamellaire appelée enveloppe externe formée de:

- ① Phospholipides (PL).
- ② Protéines (Porines).
- ③ Lipopolysaccharides (LPS) constitué de 3 parties :
 - Le lipide A toxique: enfuit dans la membrane.
 - Le polysaccharide central (core).
 - La chaîne latérale O : ou Ag O de nature oligosaccharidique (Ag de surface à la base des identifications sérologiques, correspond à l'endotoxine responsable du choc endotoxinique)



Les porines permettent le passage des substances et des antibiotiques selon leur diamètre et leur charge.

La paroi des Gram (-) est moins perméable aux antibiotiques et riche en lipides qui seront dissous par l'alcool d'où le caractère (-) au Gram.



PAROI D'UNE BACTERIE A GRAM NEGATIF

b)- PAROI DES BAAR (Bacilles Acido-Alcool Résistants):

Les mycobactéries sont classées parmi les bactéries à Gram (+), elles sont colorées à chaud par la fusc phéniquée. (technique de Ziehl-Nielsen)

Leur paroi est riche en lipides (60%), formée de peptidoglycane associé à des molécules d'arabino-galactane, liées à acides mycoliques, d'où :

- Résistance aux lysozymes = multiplication intra cellulaire.
- Imperméabilité aux antibiotiques courants.

→ SYNTHÈSE DE LA PAROI :

Se passe par 3 étapes :

- 1- Etape 1 cytoplasmique : synthèse d'un monomère appelé le nucléotide de PARK formé du NAM + chaîne peptidiques.
- 2- Etape 2 : Ce nucléotide est transporté par un transporteur lipidique à travers la membrane cytoplasmique et s'additionner au NAG.
- 3- Etape 3 : transfert de cette nouvelle sous unité au point de croissance du peptidoglycane de la paroi et formation d'une chaîne peptidique (transpeptidation).

→ FONCTIONS DE LA PAROI :

A/ Paroi et coloration de Gram:

Basée sur la perméabilité ou non de la paroi à l'alcool. Elle se déroule en 3 étapes (après fixation du frottis):

- Coloration au Violet de gentiane pdt 1 mn.
- fixation par le Lugol pdt 1 mn.
- Décoloration par l'alcool pdt 40 à 50 secondes.
- Contre coloration par la fushine 30 secondes.

Examen au microscopique optique à l'huile d'immersion (objectif 100) :

Bactéries Gram (+): Colorées au violet.

Bactéries Gram (-): Colorées en rose.

B/ Forme des bactéries:

- ✓ Forme sphérique: cocci
- ✓ Forme en bâtonnet: Bacille.
- ✓ Bâtonnet incurvé: Vibrion.
- ✓ Forme spiralée.
- ✓ Bacilles fusiforme.
- ✓ Forme en Coccobacilles.

MORPHOLOGIE BACTERIENNE

Formes sphériques : coques	Formes allongées
<p>*Forme ronde : ● Ex. : <i>Staphylococcus</i></p> <p>*Forme ovale (ovoïde) : ● Ex. : <i>Streptococcus</i></p>	<p>* Formes droites :</p> <p>court ■ Long ■</p> <p>épais ■ fin —</p> <p>Bouts ronds ● bouts carrés ■</p> <p>Coccobaccille ● Fusiforme ●</p> <p>* Formes particulières :</p> <p>➤ Forme incurvée  ex : <i>Vibrio</i></p> <p>➤ Forme spiralée  ex : <i>Treponema</i></p>
<p>*Mode de groupement :</p> <p>➤ isolé ●●</p> <p>➤ par deux (diplocoques) ●●</p> <p>➤ En flamme de bougie ●● ex. : <i>Streptococcus pneumoniae</i></p> <p>➤ En grain de café ●● ex. : <i>Neisseria</i></p> <p>➤ Par quatre : tétrade ●●●● ex : <i>Micrococcus</i></p> <p>➤ En amas ●●●●●●●●</p> <p>➤ En chaînette ●●●●●●●●</p>	<p>* Modes de groupement :</p> <p>➤ isolés ■■■</p> <p>➤ diplobacille ■■</p> <p>➤ En amas ■■■</p> <p>➤ En chaînette ■■■■■■■■</p> <p>➤ En palissade ■■■ ■■■ ■■■</p>

C/ Résistance: Protège la bactérie contre les agressions physicochimiques et les variations de pression osmotique

D/ Echanges: Contrôle la diffusion des molécules en fonction de leur taille, degré d'hydrophobicité... : rôle de membrane semi-perméable.

E/ Rôle important dans la division cellulaire.

F/ Site de nombreux déterminants antigéniques.

G/ Paroi et antibiotiques: La paroi est le site d'action de nombreux antibiotiques dont :

* La Fosfomycine : agit au niveau du cytoplasme lors de la formation du monomère.

* Les Bétalactamines : agissent sur la transpeptidation en se liant aux transpeptidases (PLP = protéines liants pénicillines) qui se trouvent à l'extérieur de la membrane cytoplasmique, par suite d'une configuration voisine avec le dipeptide D-ala-D-ala

* Les Glycopeptides (Vancomycine et Teicoplanine) : agissent sur l'étape finale de la synthèse de la paroi, à l'extérieur de la bactérie en se fixant sur la D-alanine terminale empêchant l'élongation de la paroi par encombrement stérique.

H/ Protoplaste, sphéroplaste (forme L):

- o Protoplaste = Bactérie sphérique, enveloppée uniquement avec la membrane cytoplasmique (obtenu par action de lysozyme en milieu hypertonique sur 1 bactérie à Gram (+))
- o Sphéroplaste = Bactérie globuleuse, enveloppée avec l'enveloppe externe et la membrane cytoplasmique (obtenu par action de la Pénicilline sur une bactérie à Gram (-))

APPLICATION AU LABORATOIRE :

Le diagnostic bactériologique repose sur :

1- L'examen microscopique :

a/- Examen à l'état frais : visualise la forme et la mobilité des bactéries.

Exp :- *Pseudomonas aeruginosa* est mobile.

- *Klebsiella* est immobile.

b/- Examen après coloration :

- Bleu de Méthylène : mise en évidence de la forme, disposition et situation intra ou extra cellulaire.

- Coloration de Gram : permet de distinguer les bactéries Gram (+) des Gram (-), la disposition permet donc d'orienter le traitement antibiotique de 1^{er} intention et d'orienter l'isolement et l'identification du germe responsable.

- Coloration de Ziehl-Nielsen : Permet par exemple la mise en évidence de BAAR dans les prélèvements de crachats et de poser le diagnostic de tuberculose pulmonaire

2- LA MEMBRANE CYTOPLASMIQUE :

- Se trouve sous la paroi et délimite le cytoplasme.
- Formée d'une double couche de phospholipides ou s'insère des protéines enzymatiques: (perméases, enzymes impliquées dans la synthèse du peptidoglycane...)
- Renferme les enzymes respiratoires (équivalent fonctionnel des mitochondries chez les cellules eucaryotes)
- C'est une membrane semi-perméable à travers laquelle les métabolites pénètrent soit par diffusion simple soit par transport actif par les perméases.
- Rôle dans la synthèse de Bactériocines.
- Présente des invaginations « mésosomes », site d'attachement du chromosome (participent à la régulation de la multiplication bactérienne qui se fait par scissiparité binaire)
- Au niveau de la membrane cytoplasmique agissent les polypeptides.

3- L'ESPACE PERIPLASMIQUE :

Se trouve entre la membrane cytoplasmique et le peptidoglycane. Quand la pression osmotique externe augmente, il s'élargit et fait tampon, il contient les PLP et des enzymes (protéases et lipases)

4- LE CYTOPLASME : Contient:

- 1)-Des enzymes.
- 2)-De nombreux ribosomes.
- 3)-Des vésicules de stockage.

5- LE NOYAU : (chromosome)

- 1)-Une seule molécule de DNA bicaténaire, circulaire et pelotonné sur elle même.
- 2)-Attaché à un point de la membrane cytoplasmique.
- 3)-Ne possède pas de membrane nucléaire, d'où un transfert rapide de l'information.
- 4)-Se réplique et est transmis aux cellules filles, il peut muter ou être transféré à d'autres cellules.

→ La réplication :

- Se fait selon un mode semi conservateur ; un brin d'ADN est coupé par une endonucléase d'où déroulement du DNA.
- Une DNA gyrase complète le relâchement des super enroulements.
- Séparation des 2 brins et formation de la fourchette de réplication : La réplication se fait de 5' à 3' et on aura grâce à une ADN polymérase la synthèse d'un brin complémentaire.
- On obtient deux ADN doubles brin.

➤ C'est le site d'action des :

* Quinolones et fluoroquinolones : DNA gyrase.

* La Rifampicine : Se lie à l'ARN polymérase bactérien arrêtant l'initiation de la transcription.

* Sulfamides et Bactrim : inhibent la synthèse de bases puriques et pyrimidiques

APPLICATIONS: ✳

1- DNA recombinant :

- On peut couper le DNA bactérien à l'aide d'enzymes de restriction.

- On coupe un DNA étranger et celui d'un plasmide vecteur après mélange, on obtient un DNA étranger intégré dans le plasmide

- On transfère ce DNA vecteur dans une bactérie ou levures Exp : Synthèse de l'interféron.

2- Le DNA comme marqueur épidémiologique :

a/- Electrophorèse de l'ADN :

Extraction de l'ADN.

Le couper à l'aide d'enzymes de restriction.

Faire migrer ces fragments en gel d'agarose selon leur poids moléculaire.

On obtient un profil de restriction spécifique à chaque souche.

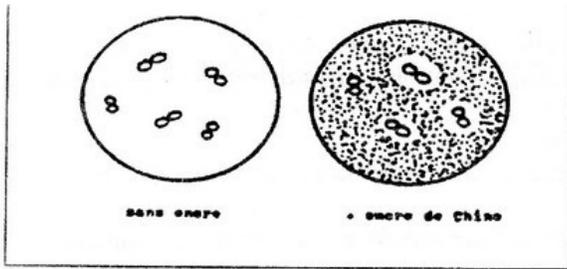
b/- La PCR (polymérase Chain réaction) (détection du génome ou charge virale)

On peut amplifier des milliers de fois un fragment d'ADN en présence de DNA polymérase, de nucléotides et d'amorces.

B/- STRUCTURES FACULTATIVES :

1- LA CAPSULE:

- 1)-Enveloppe la plus superficielle de nature:
- 2)-Se trouve à l'extérieur pour les G(+) et à l'extérieur de la membrane externe pour les G(-)
 - le plus souvent polysaccharidique: pneumocoque, méningocoque...
 - parfois protéique: bacille du charbon.
- 3)-Mise en évidence par la méthode à l'ancre de chine.



✓ Rôle:

- 1)-Facteur de virulence car protège la bactérie de la phagocytose.
- 2)-Donne aux colonies un aspect muqueux.
- Support Antigénique: de certains vaccins « pneumocoque » et un élément d'identification « Ag solubles » Méningocoque — (A, C, B et W135).

➔ STRUCTURES APPARENTÉES :

❖ Glycocalyx et Bio films :

- 1)-Feutrage de polysaccharides et de protéines qui entoure la bactérie.
- 2)-Visible seulement en microscopie électronique.
- 3)-Permet l'adhérence aux supports naturels = élaboration de la plaque dentaire.
- 4)-Adhérence sur les surfaces inertes ou cellulaires.

2- PLASMIDES :

- 1)-Petites molécules d'ADN bicaténaire, circulaire, surenroulé, ayant une réplication indépendante de celle du chromosome
- 2)-Capables de se transmettre aux cellules filles après division cellulaire.
- 3)-Capables de se propager d'une bactérie ou d'une espèce à une autre par un processus de conjugaison ou de transformation.
- 4)-Peuvent porter des gènes de virulence ou de résistance aux antibiotiques/antiseptiques.

3- LES FLAGELLES (CILS) :

- 1)-Structures rigides, ondulées qui naissent de la membrane cytoplasmique.
- 2)-Constituées de sous unités de protéines assemblées appelée flagelline.
- 3)-Permettent la mobilité des bactéries.
- 4)-Ils sont antigéniques et sont à ce titre des éléments d'identification (Salmonelles).

Plusieurs dispositions possibles :

- 1 seul flagelle polaire = Ciliature monotriche.
- 1 touffe de flagelles polaires = Ciliature lophotriche (Pseudomonas)
- 1 flagelle à chaque pôle = Ciliature amphitriche.
- Des flagelles entourant la bactérie = Ciliature péritriche. (Entérobactéries)
- les spirochètes ont un flagelle interne = Filament axial.

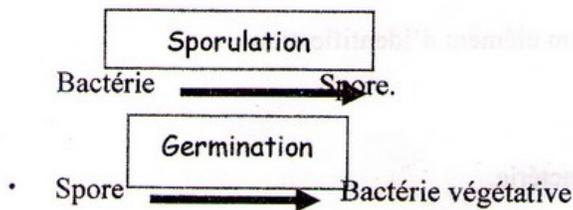
4- LES PILI :

- 1)-Structures allongées de nature protéique (formées de sous unités de piline) disposés régulièrement sur la surface bactérienne.
 - 2)-Spécifiques aux bactéries à Gram (-) rarement Gram (+).
 - 3)-On distingue 2 catégories:
 - a. pili communs ou fimbriae: Favorisent l'adhésion de certaines bactéries aux muqueuses (*E. coli* et muqueuse vésicale) = facteurs de virulence
 - b. Les pili sexuels: plus longs.
 - *Les bactéries qui en produisent sont nommées bactéries « mâles » à l'opposé des bactéries « femelles ».
 - *Permettent l'attachement des bactéries entre elles lors de la conjugaison.
- NB:** Les gènes qui codent pour les pili sont portés par des plasmides (F+).

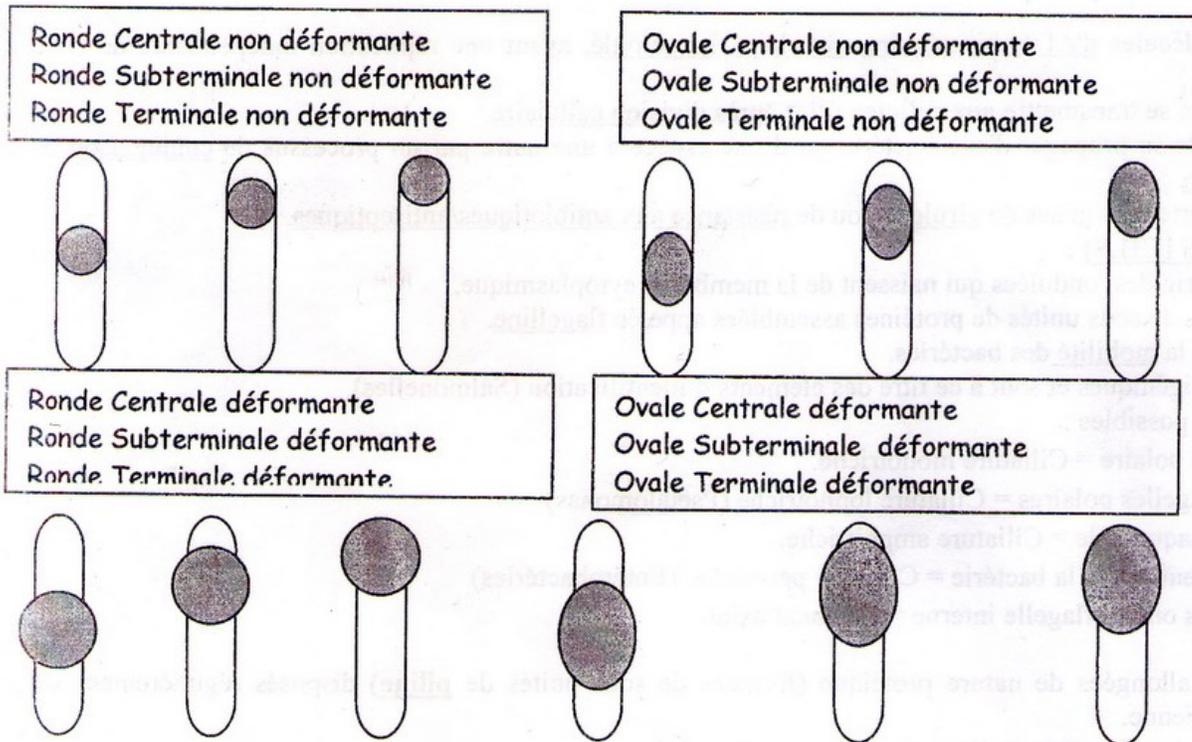
5- LA SPORE :

- 1)-Forme de bactérie à métabolisme ralenti qui lui permet de survivre dans des conditions très défavorables (manque de nutriments, température trop élevée, salinité, accumulation de substances toxiques....) « Spore = bactérie au repos »
- 2)-Produite par des bacilles Gram+ essentiellement.
- 3)-La spore comporte plusieurs couches qui sont de l'intérieur à l'extérieur:
 - Le peptidoglycane

- 5)-Le cortex: comporte du Dipicolinate de Ca^{++} (synthétisé lors de la sporulation) responsable de la thermo-résistance de 80° à $100^{\circ}C$.
- 6)-Les tuniques externes: Formées de Kératine ce qui lui confère une résistance aux solvants organiques.
- 7)-Durant la sporulation l' H_2O sort lentement de la spore. Cette déshydratation permet de résister aux enzymes à qui l' H_2O est nécessaire à leur action.
- 8)-Les spores sont détruites par autoclavage à $120^{\circ}C$ durant 15mn.
- 9)-Les spores posent un problème dans l'industrie alimentaire car les conserves ne subissent qu'une courte cuisson ne permettant pas d'éliminer les spores.
- 10)-Les contaminations redoutables sont celles des spores de *Clostridium botulinum* et *perfringens* qui germent en milieu anaerobies et libèrent des toxines qui peuvent être mortelles.



Classification des spores: Selon la forme et la position dans la bactérie.



in.