

Université Mohamed Khider de Biskra

Matière: Microbiologie Générale

Chapitre 2 :

LA CELLULE BACTÉRIENNE

-LES COMPOSANTS OBLIGATOIRES

8. Paroi Bactérienne

8. Paroi

- Enveloppe caractéristique des procaryotes
- Présente chez toutes les espèces bactériennes

Sauf les mycoplasmes.

- Entoure la bactérie : **exosquelette**
- Constitue la structure constante la plus externe.

Selon la composition et la structure on peut distinguer deux types de paroi :

1) les parois épaisses et denses (Gram positif)

2) les parois minces et lâches (Gram négatif)

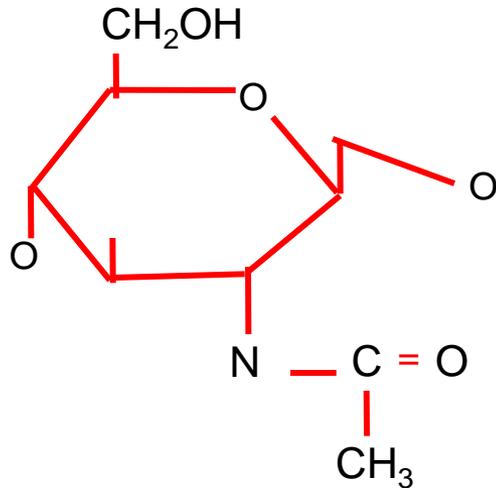
Composition chimique

Les éléments de la paroi :

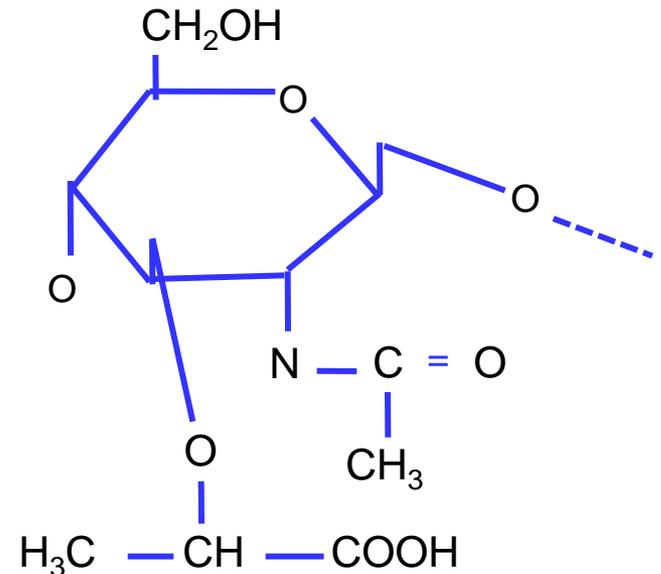
- 1) Osamines
- 2) Acides aminés
- 3) Acides technoïques
- 4) Oses
- 5) lipides

1. Osamines (sucres aminés)

1. N-acétylglucosamine : NAG



2. N-acétylmurannique : NAM



3. Parfois, on trouve du galactosamine.

2. Acides aminés

Quatre acides aminés courants :

1. D-Alanine,
2. L-Alanine
3. Acide D-glutamique
4. L-Lysine

Ou

Acide diamino-pimélique (structure analogue à la lysine mais possède une fonction $-COOH$ sur le dernier carbone).

3. Acides techoïques

Uniquement chez les bactéries Gram+

Ils sont inclus dans le peptidoglycane par le carbone N° 6 de la NAM.

4. Oses

Ils sont nombreux à être mis évidence : Glucose, Galactose, Mannose, Fucose, etc.

5. Lipides

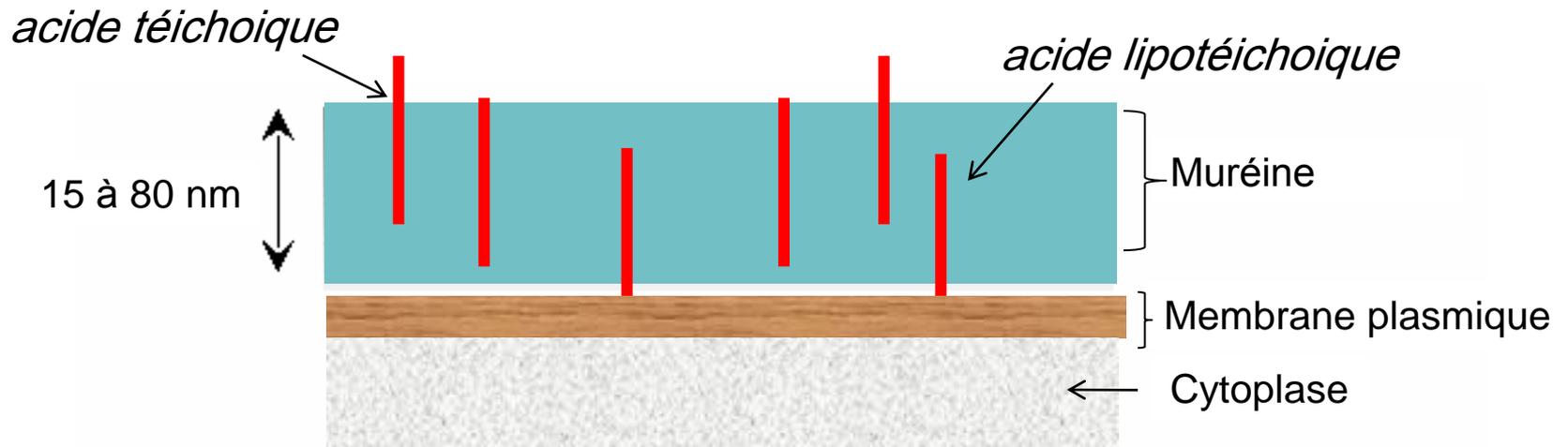
Ils sont en faible quantité et quasiment absents chez les bactéries à Gram +

Comparaison de la composition chimique globale de la paroi chez les bactéries Gram+ et les bactéries Gram-

Éléments de la paroi	Gram +	Gram –
1. Osamines	++	+
2. Acides aminés	24 – 35 %	≈ 50 %
Nombre	4 à 10	16 à 17
Acide diamino-pimélique	+++ Exclut la lysine	– N'exclut pas la Lysine
3. Acides teichoïques	+++	–
4. Oses	20-60 %	20-60 %
5. Lipides	1-2.5 %	10 – 22 %

Structure

Paroi Gram positive



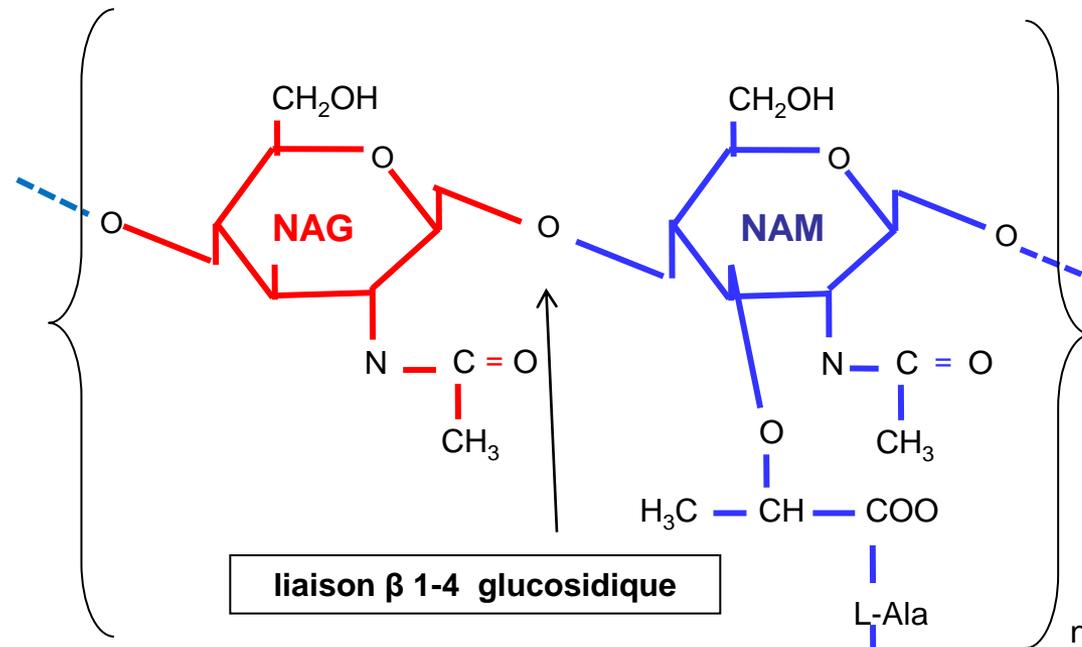
- Épaisse
- Ne laisse pas passer l'éthanol

Peptidoglycane

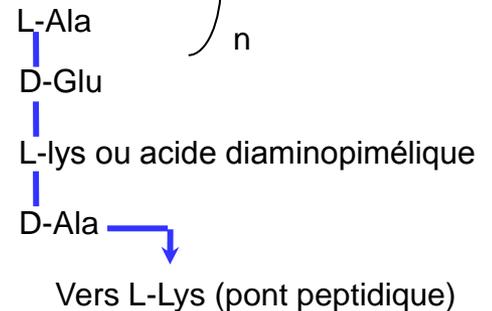
Muréine, mucocomplexe ou mucopeptide

Est constitué:

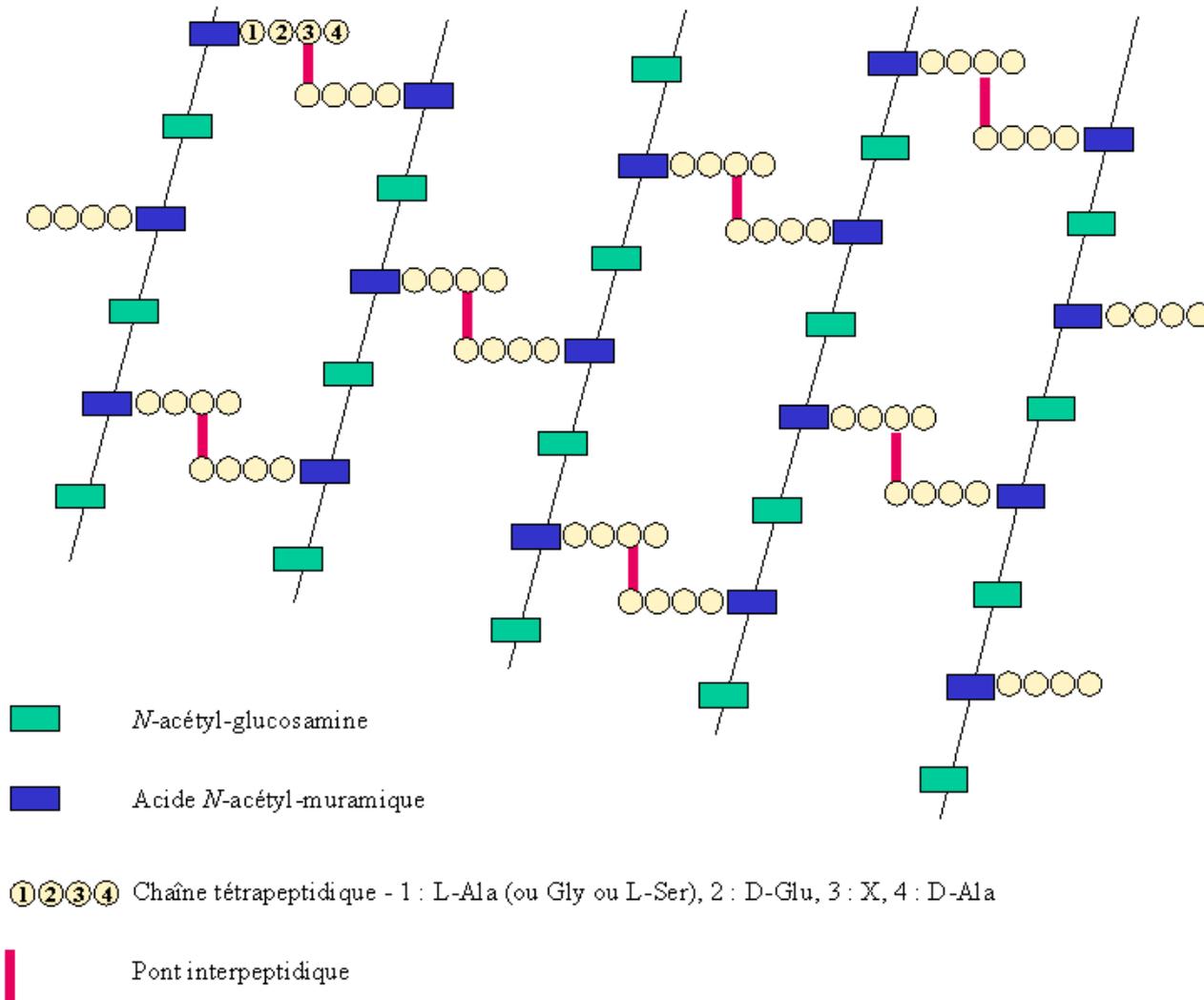
1. **Partie glucidique** : alternance de NAG et de NAM reliés par des liaisons β 1-4 glucosidiques.



2. **partie peptidique** : 4 acides aminés qui sont reliés par une liaison amidique au niveau de la fonction acide carboxylique du résidu pyruvate du NAM.



- Le peptidoglycane est formé par de longues chaînes répétitives montrant une alternance NAG-NAM
- Les macromolécules ainsi formées sont réunies au niveau des tétrapeptides pour former une structure solide



Bactéries Gram négatives



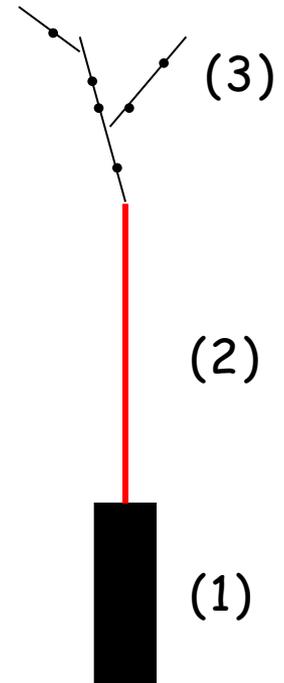
- Plus fine
- Présente une structure stratifiée plus complexe.
- Comprend trois structures polymériques:
 1. Peptidoglycane
 2. Couche phospholipidique : « membrane externe » (ce qui explique que l'alcool, liposoluble, passe à travers ce type de paroi)
 3. Lipopolysaccharide (LPS) représentant l'antigène O des entérobactéries ainsi que leur toxine.

Lipopolysaccharides

Sont des complexes macromoléculaires

LPS : trois parties

- 1) **lipide A** : c'est un glycophospholipide, et la partie la plus stable;
- 2) **Partie centrale ou core** : elle est commune à toutes les bactéries Gram - ;
- 3) **Partie périphérique** : appelée antigène O



Coloration de Gram

- La coloration de Gram a été mise au point par un médecin danois (Christian Gram) en 1884.
- **Objectifs:** double intérêt
 - 1) Morphologie (forme, taille, groupement...)
 - 2) le type de paroi.
- **Technique**

Il existe de nombreuses variantes

On choisi : « **Technique des minutes** » :

I. Préparation d'un frottis

II. Traitement de la préparation

Étapes	mode opératoire	Qu'est ce qui se passe ?	Etat des bactéries à cette étape
Coloration au violet de Gentiane	Recouvrir la lame de violet de gentiane	Le violet de gentiane colore les bactéries qu'elles soient Gram + ou Gram -	Toutes les bactéries sont colorées en violet
Laisser agir 1 minute			
Mordançage au lugol	Recouvrir la lame de lugol	Le lugol et le violet de gentiane forment un complexe qui renforce la coloration	Toutes les bactéries sont colorées en violet
Laisser agir 20 secondes puis renouveler le mordançage 2 fois			
Essai de décoloration par l'éthanol	Incliner la lame puis laisser couler de l'éthanol (95 °GL) durant 4 secondes. Attention : cette étape est délicate !	La paroi des bactéries à Gram + ne laisse pas passer l'éthanol qui ne peut dissoudre le violet de gentiane. La paroi des bactéries à Gram - laisse passer l'alcool qui dissout le violet de gentiane.	Les bactéries à Gram + restent colorées en violet. Les bactéries à Gram - ne sont plus colorées.
Rincer à l'eau distillé			
Recoloration à la fuschine	Recouvrir la lame de d'eau et ajouter quelques gouttes de fuschine de Zeihl	La fuschine colore alors les bactéries non colorées	Les bactéries à Gram + restent colorées en violet. Les bactéries à Gram - sont colorées en rose.
Laisser agir 30 secondes à 1 minute puis rincer à l'eau distillé .			

Coloration de Gram

Gram+

Gram+

1. Fixation



2. Violet de Gentiane



3. Lugol



4. Ethanol



5. Fuschine



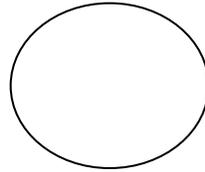
Action du lysozyme

Expérience 1

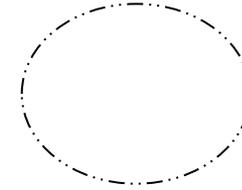


Bactérie G⁺

Eau distillée
+Lysozyme
dégrade la paroi



Protoplaste



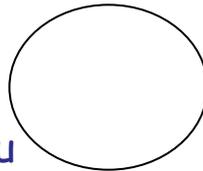
Eclatement

Expérience 2



Bactérie G⁺

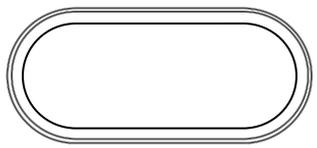
+Lysozyme
+Saccharose (milieu
isotonique)



Protoplaste

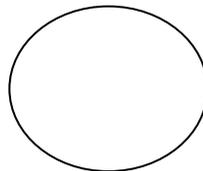
Survie limité en présence de saccharose

Expérience 3



Bactérie G⁻

+Lysozyme
+Saccharose
+EDTA



Protoplaste + petits
bouts de parois
= Spheroplaste

Peut survivre et reconstituer sa parois

REVERSION

Protoplaste: Cellule bactérienne libérée de sa paroi mucopolysaccharidique

Spheroplastes: Protoplaste isolé des cellules bactériennes Gram-

Fonction

- ✓ Contre les chocs osmotiques
- ✓ Responsable de l'intégrité structurale et de la forme des bactéries
- ✓ Élément essentiel de l'identification.
- ✓ L'origine de la formation du septum de division cellulaire des bactéries
- ✓ Rôle significatif dans la répartition du matériel génétique aux deux cellules filles.