

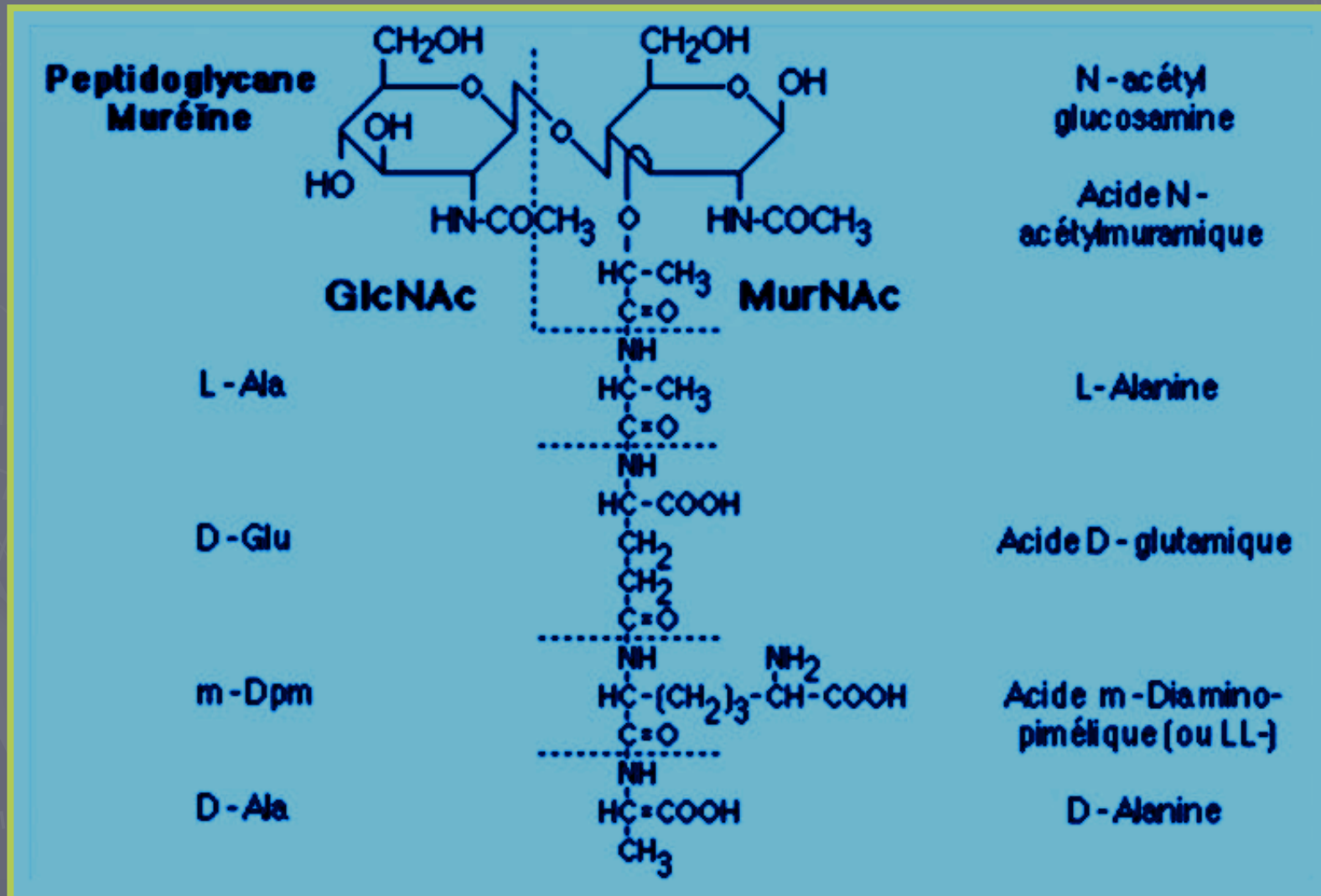


La paroi des bactéries

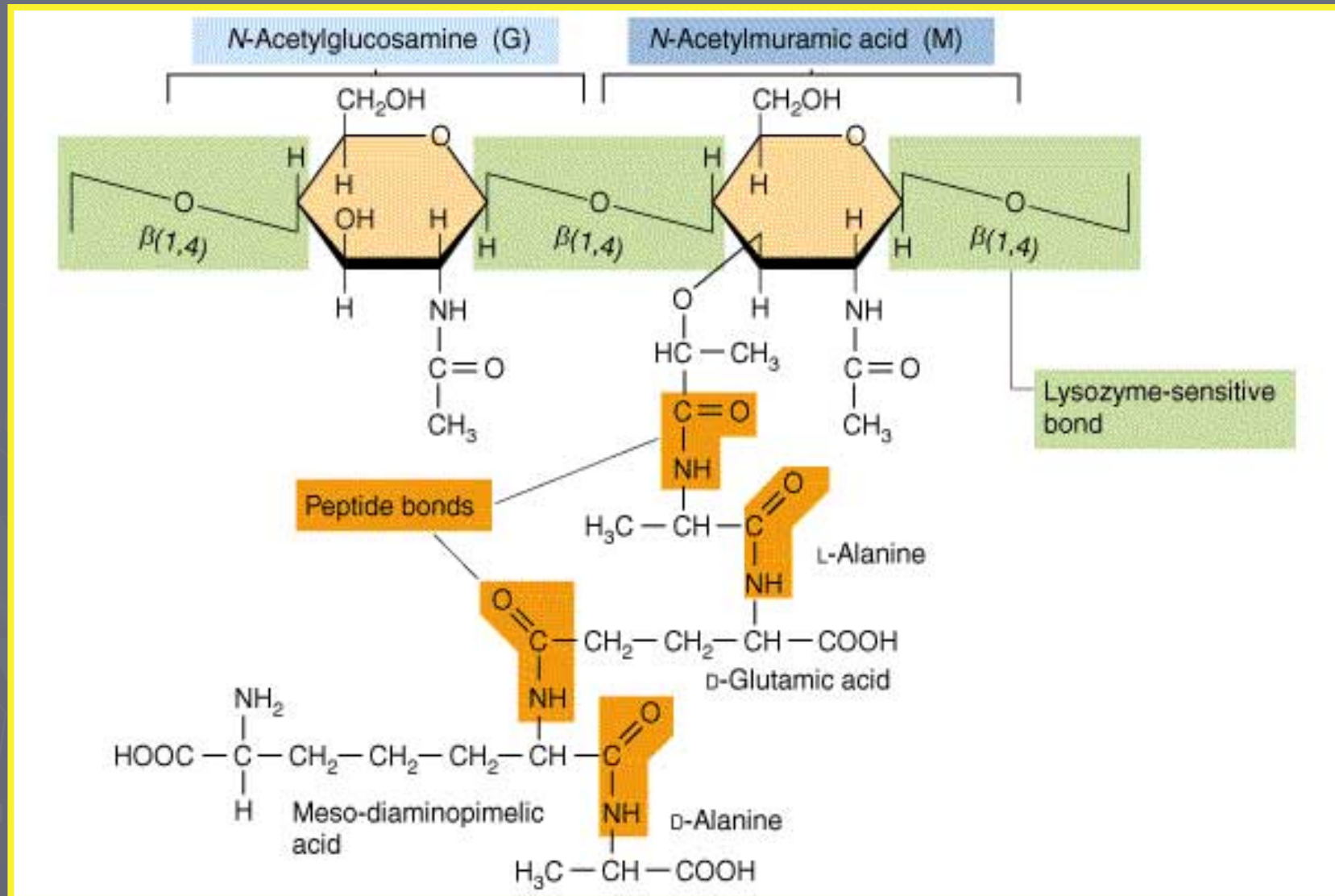
Cours proposé par
José Edmundo NAVA SAUCEDO
Aux étudiants du Master PVIA

Le **peptidoglycane** (ou **muréine**)
constituant important des parois
des **bactéries à Gram positif**, des
bactéries à Gram négatif et des
mycobactéries

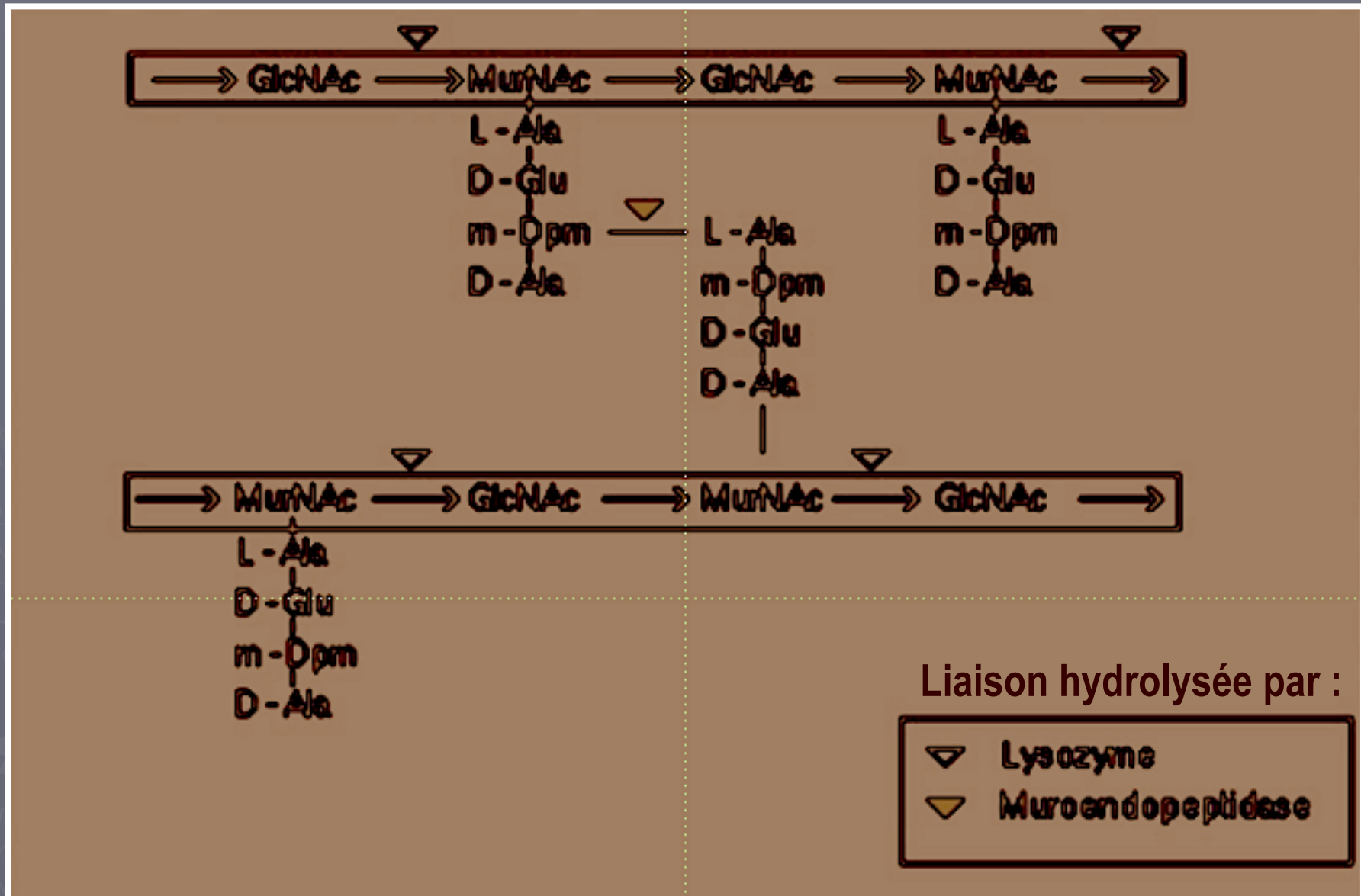
Peptidoglycane (ou muréine)



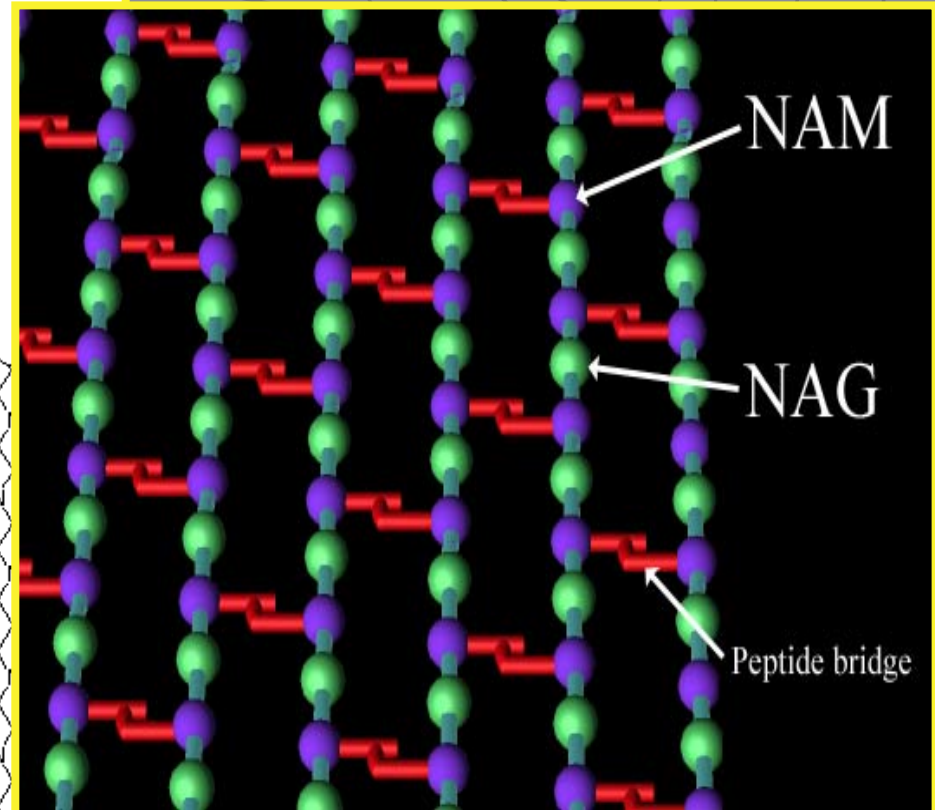
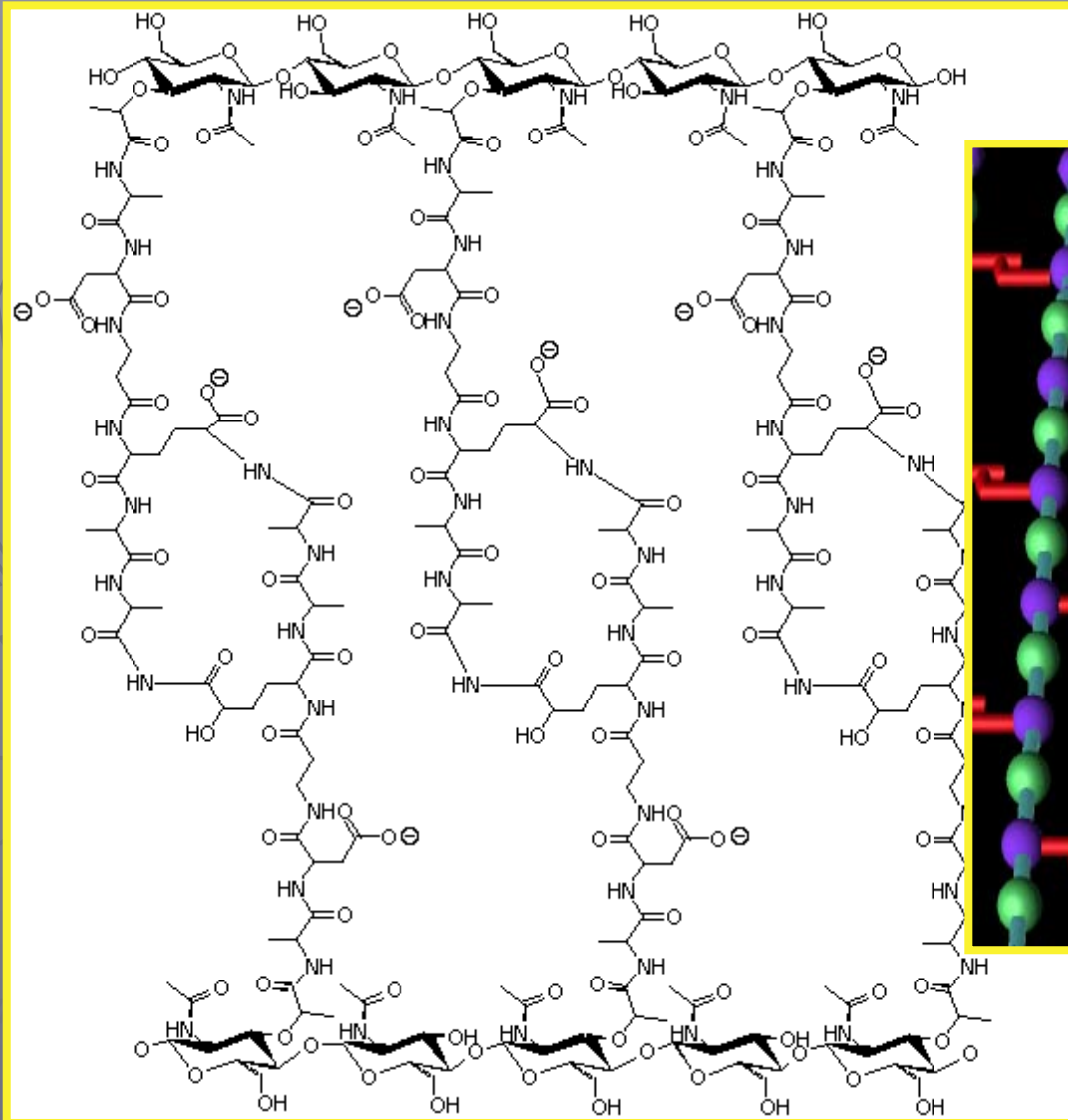
Peptidoglycane (ou muréine)



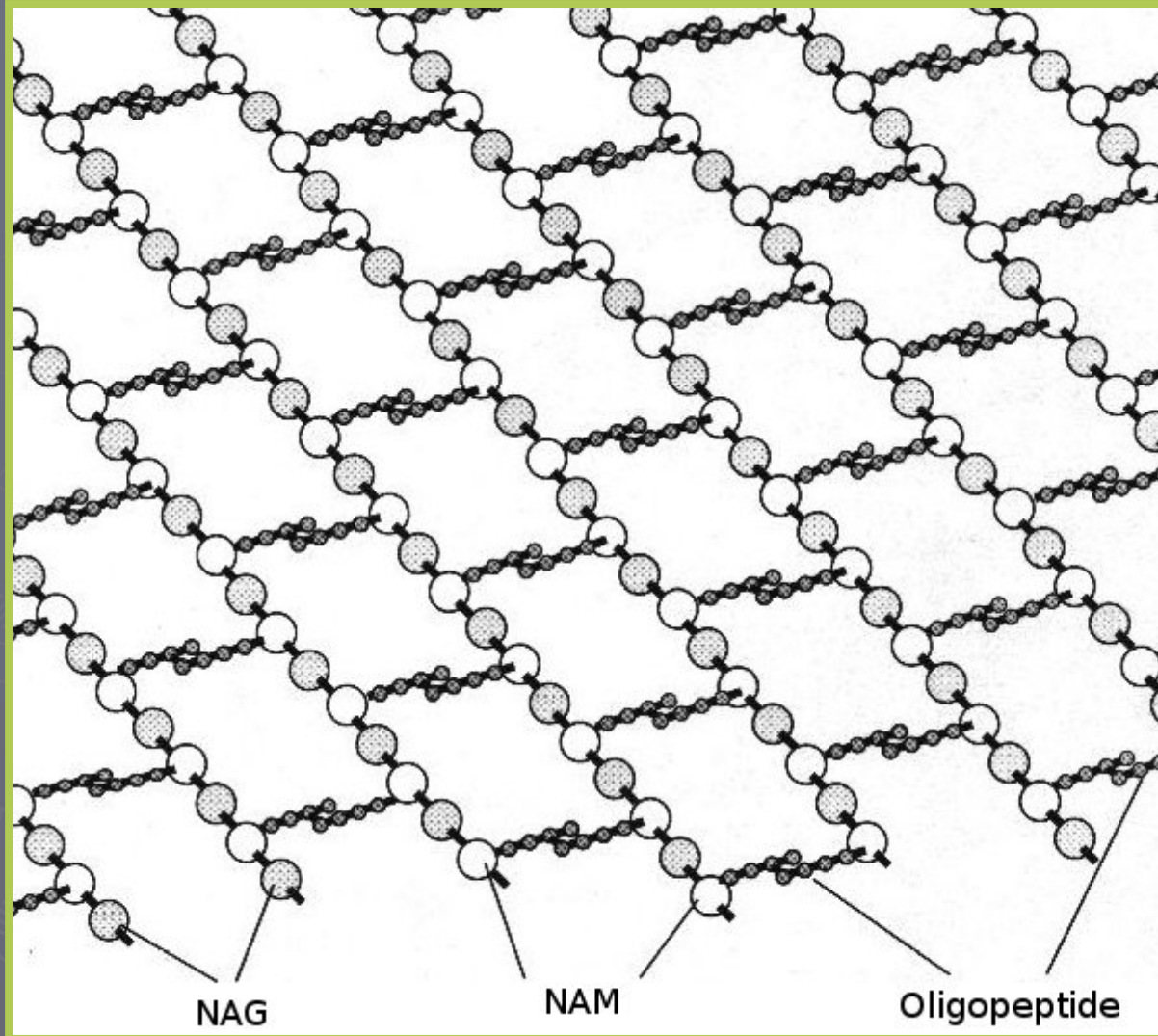
Peptidoglycane (ou muréine)



Le réseau de la muréine

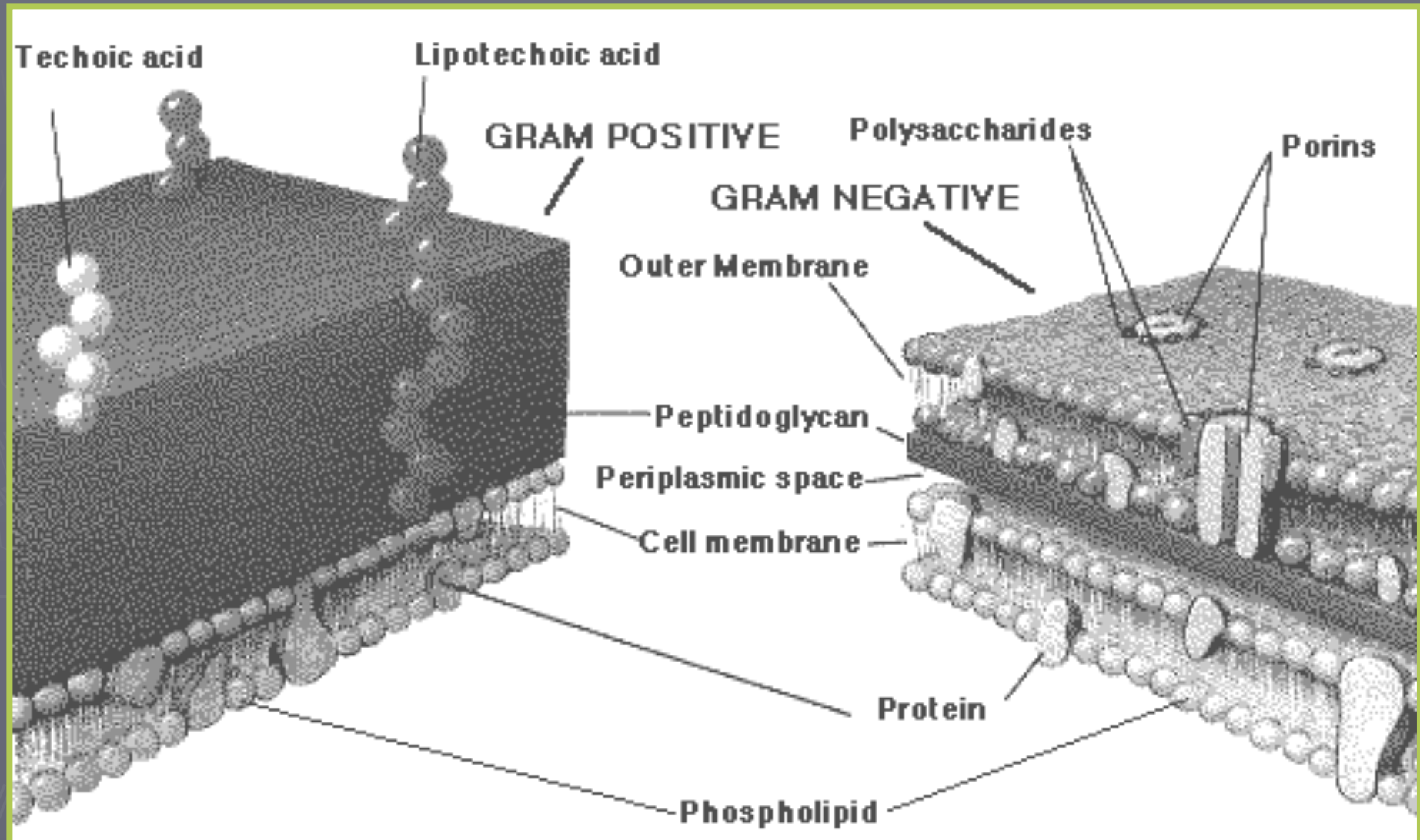


Le réseau de la muréine

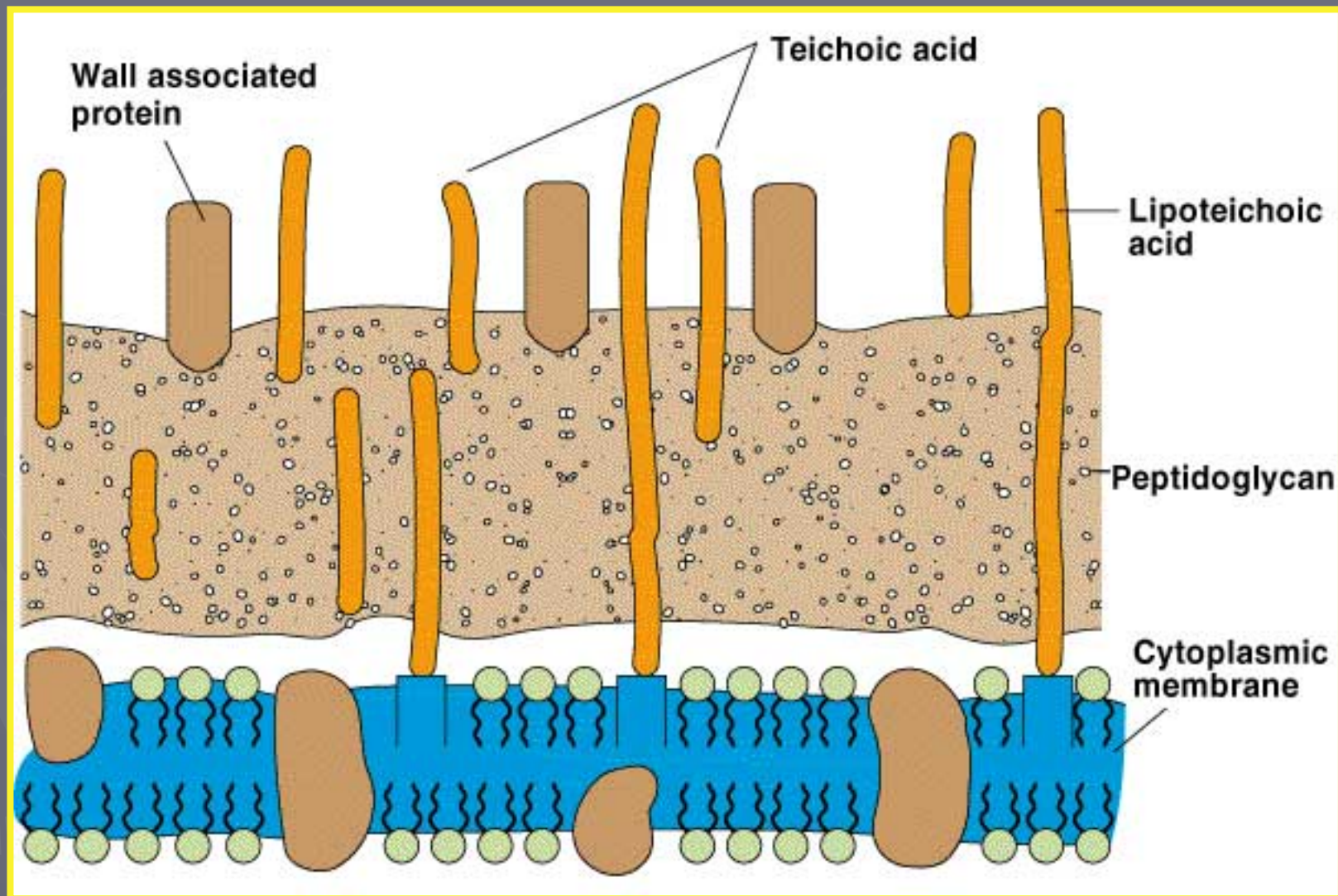


NAG = N-acétylglucosamine ; NAM = Acide N-acétylmuramique

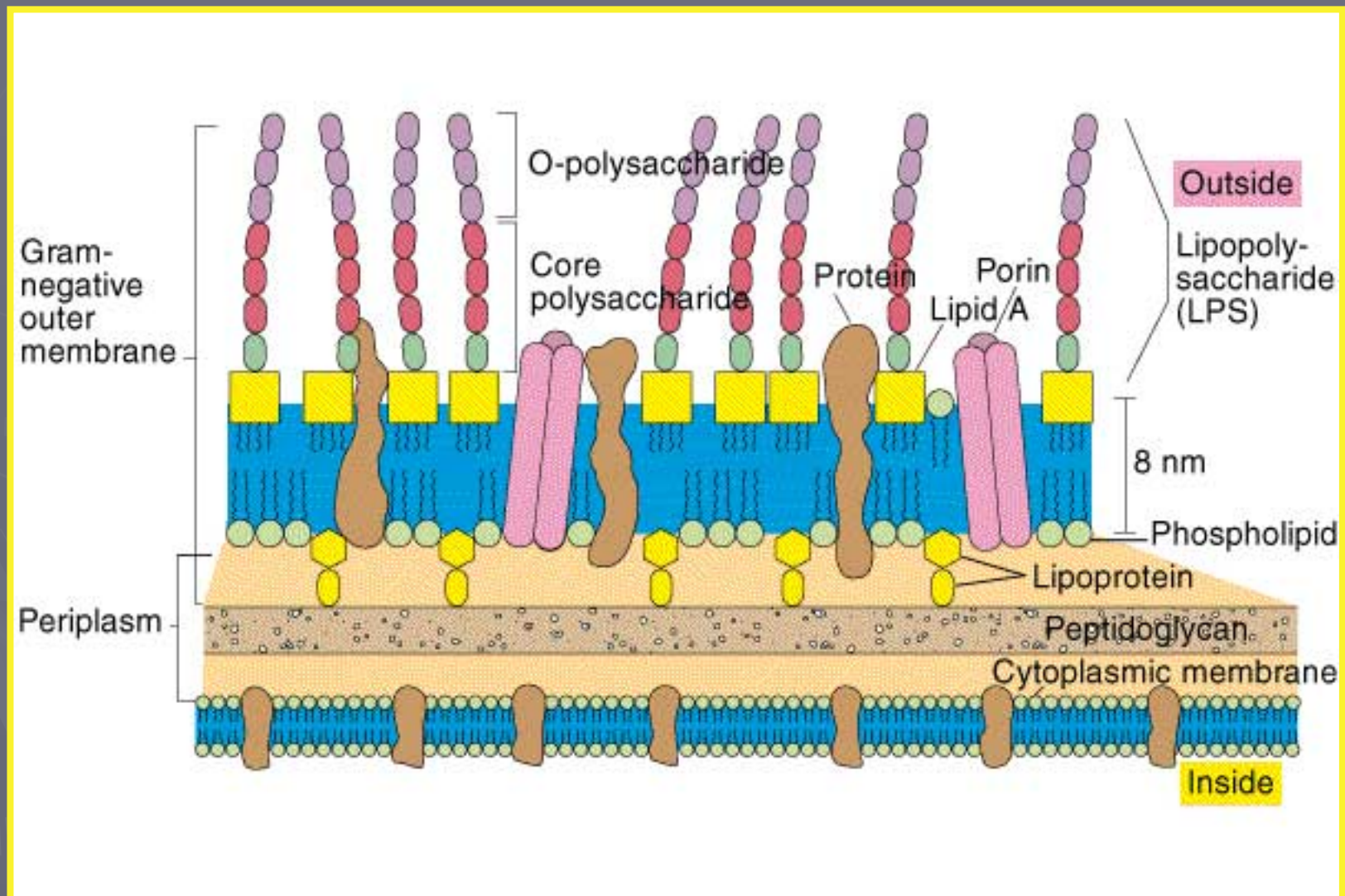
Parois Gram + et Gram -



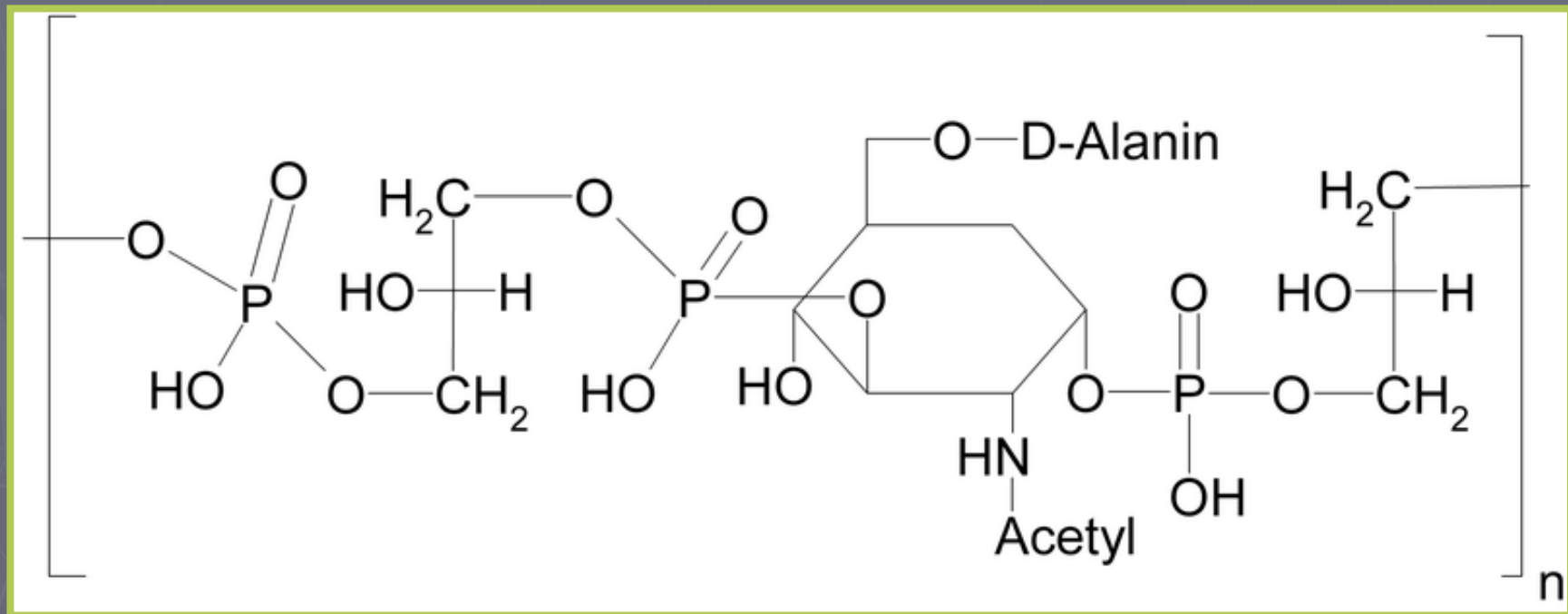
Paroi des bactéries Gram +



Paroi des bactéries Gram -



Acide téichoïque constituant de la paroi des bactéries à Gram positif

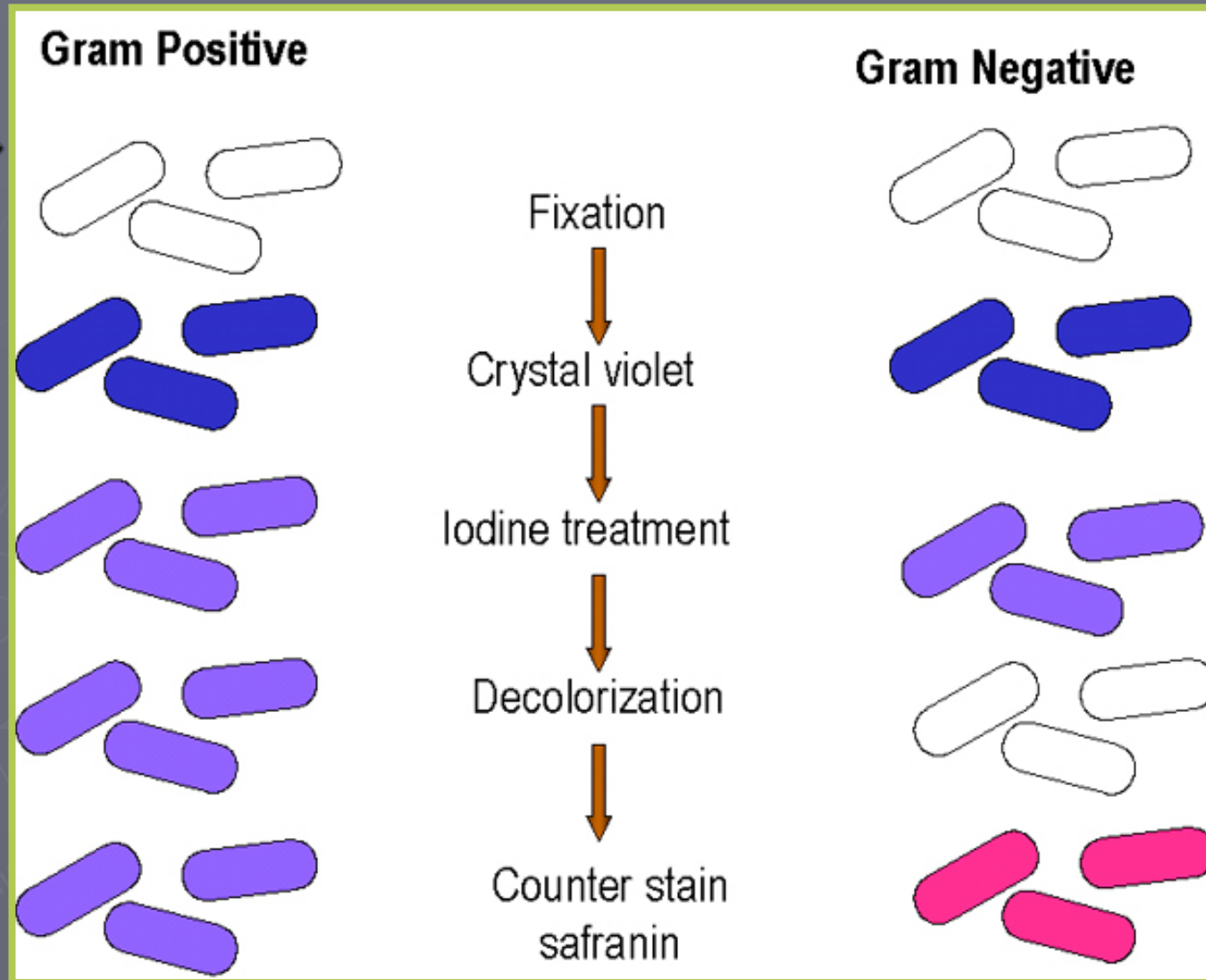


LES COLORATIONS

La Coloration différentielle de Gram

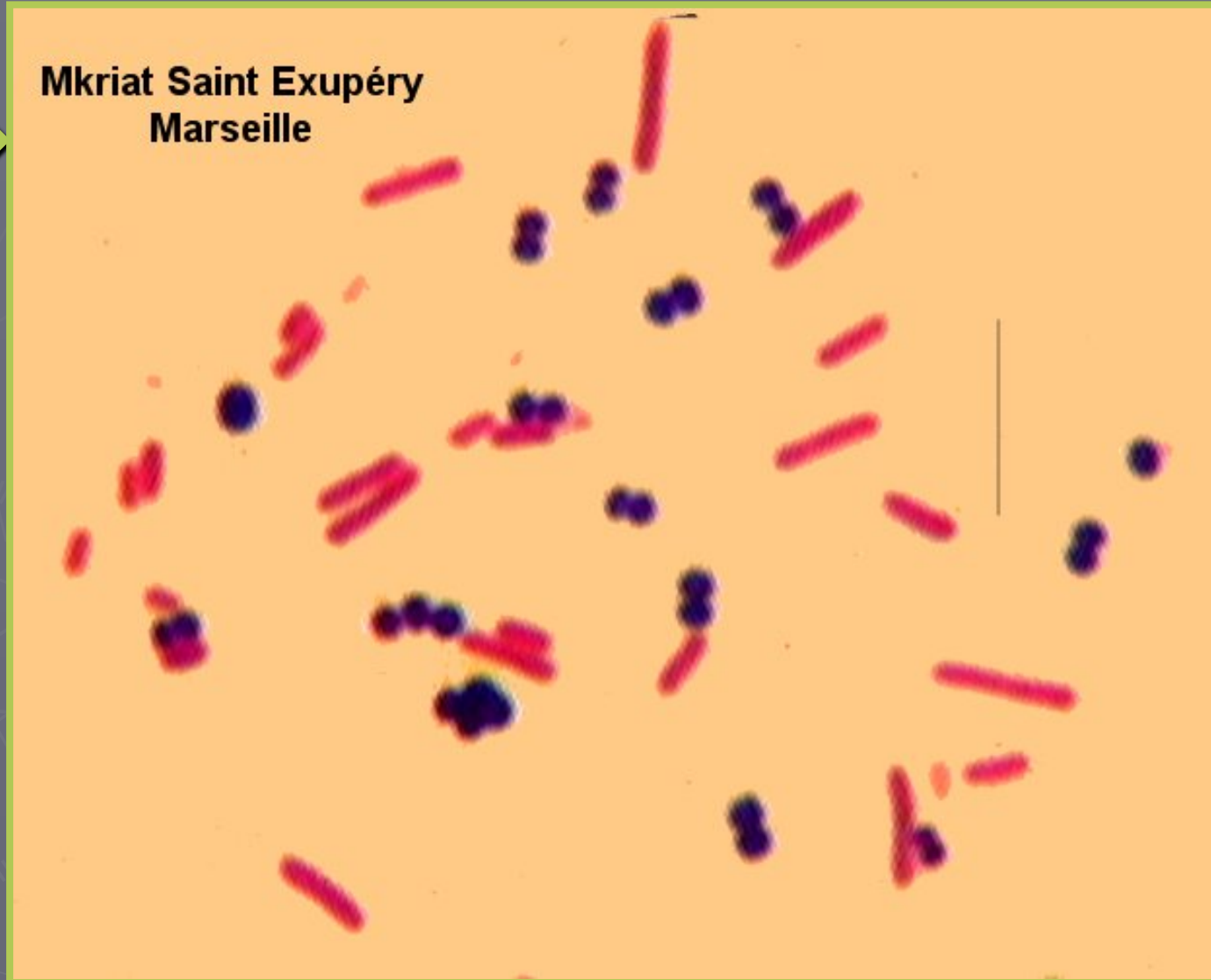
RESULTAT			
<u>ETAPES</u>	<u>PROCEDURE</u>	<u>Gram +</u>	<u>Gram -</u>
COLORATION INITIALE	Violet de gentiane pendant 30 secondes	Violet	Violet
FIXATION	Lugol	Reste violet	Reste violet
DECOLORATION	Lavage à l'éthanol 95 % pendant 10 à 20 secondes	Reste violet	Devient incolore
CONTRE-COLORATION	Fuschine ou Safranine pendant 20 à 30 secondes	Reste violet	Coloration rose

COLORATION DE GRAM

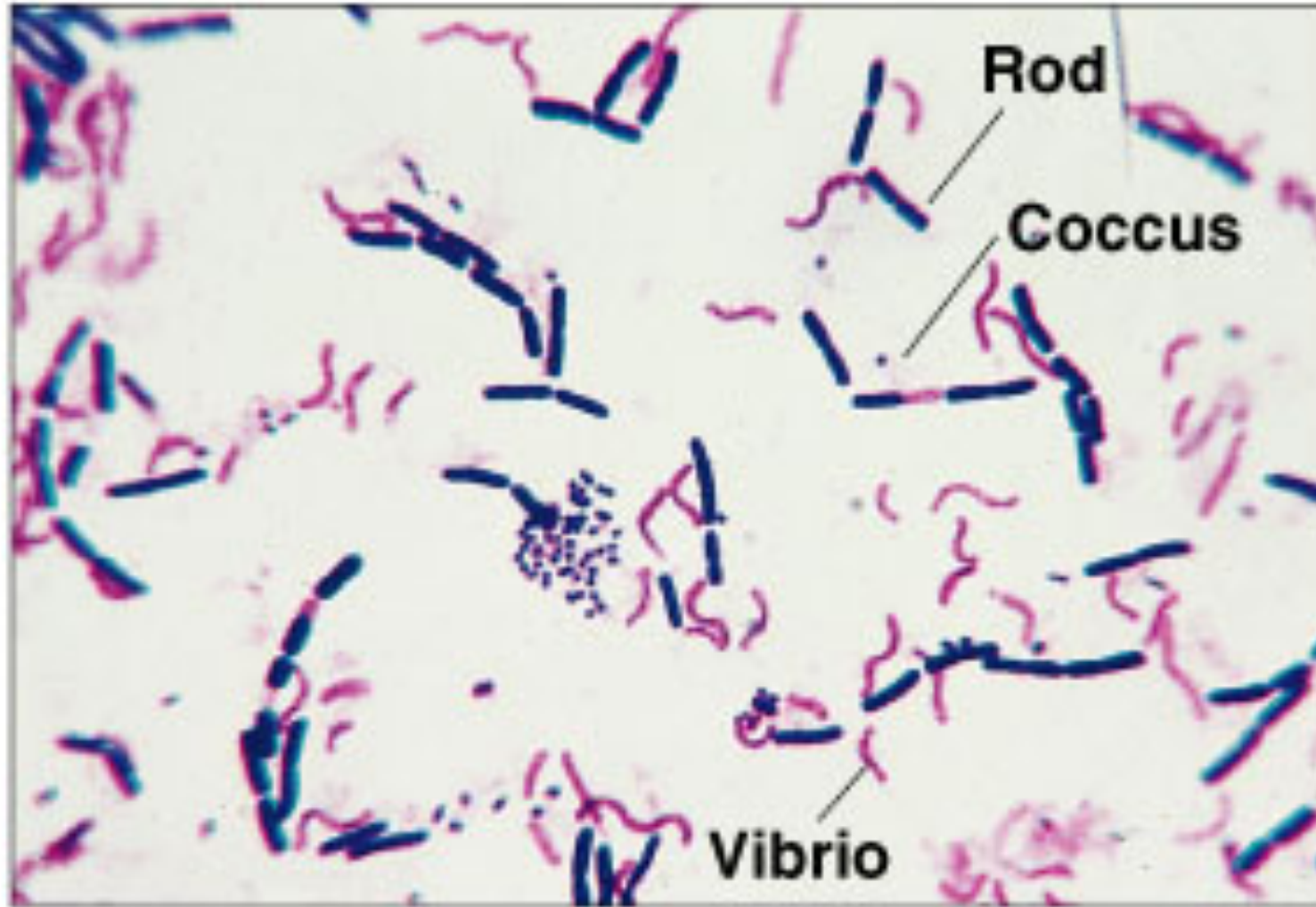


COLORATION DE GRAM

Mkriat Saint Exupéry
Marseille



COLORATION DE GRAM

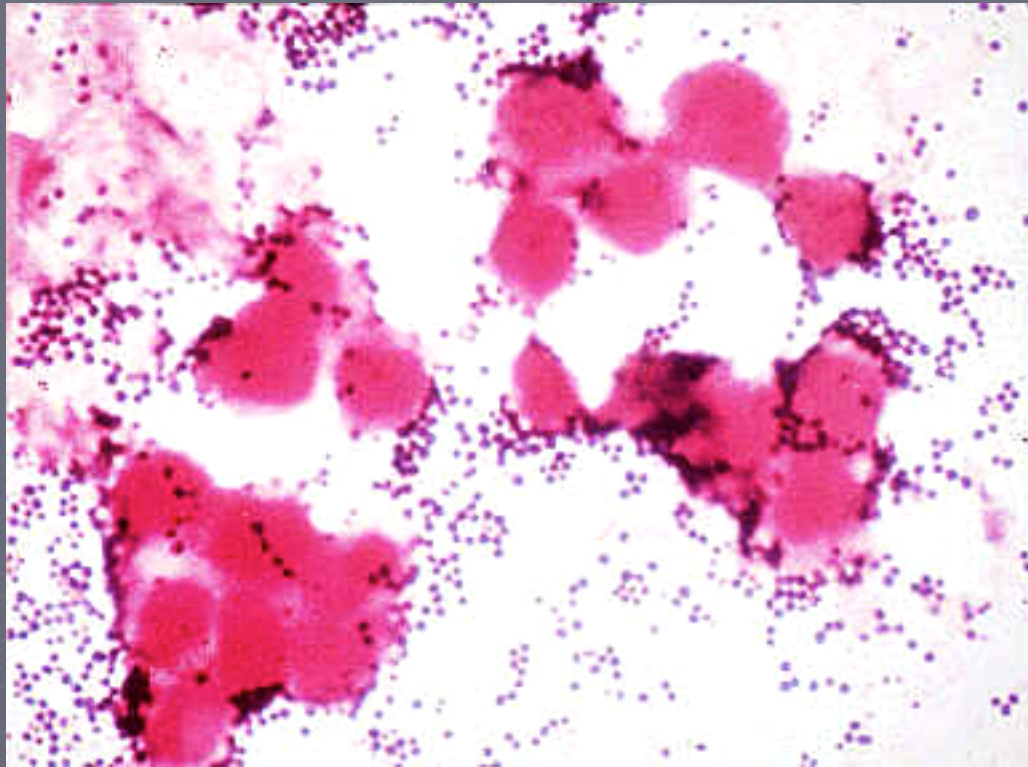


COLORATION DE GRAM

***Bactéries
à
Gram positif***

COLORATION DE GRAM

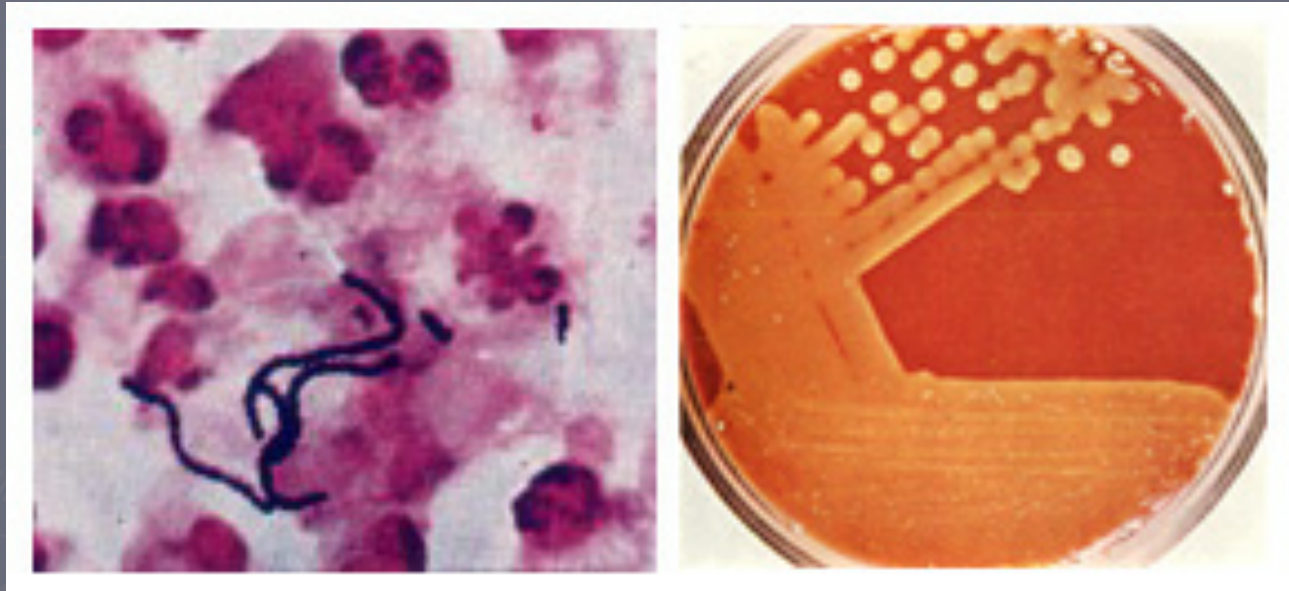
Bactéries à Gram positif



Coloration de Gram sur un exudat de pus avec
Staphylococcus aureus.

COLORATION DE GRAM

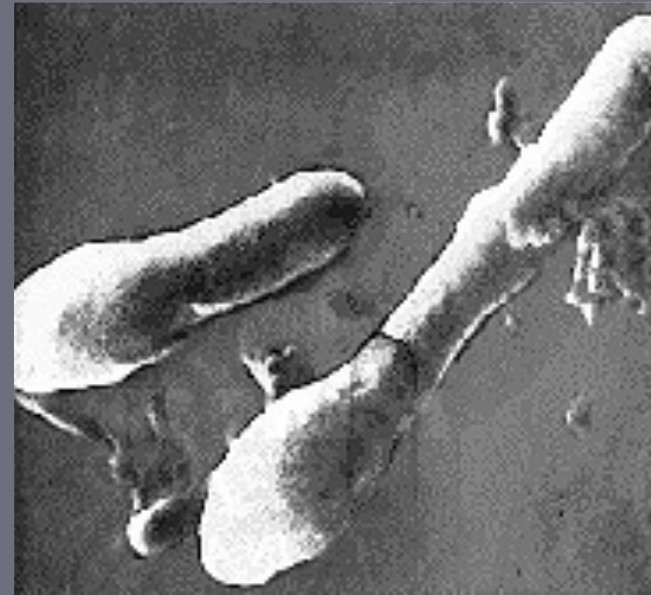
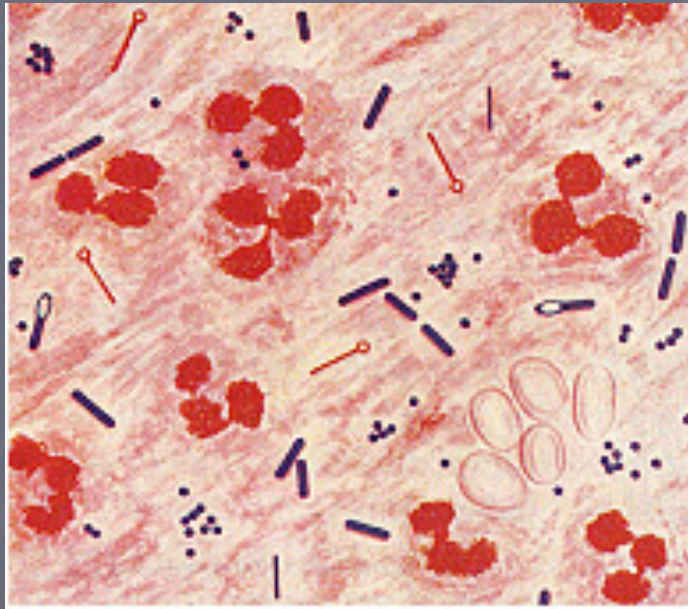
Bactéries à Gram positif



Streptococcus pyogenes. A gauche. Coloration de Gram de *Streptococcus pyogenes* sur un échantillon clinique. A droite. Colonies de *Streptococcus pyogenes* cultivées sur du agar au sang montrant une hémolyse de type beta (zones claires).

COLORATION DE GRAM

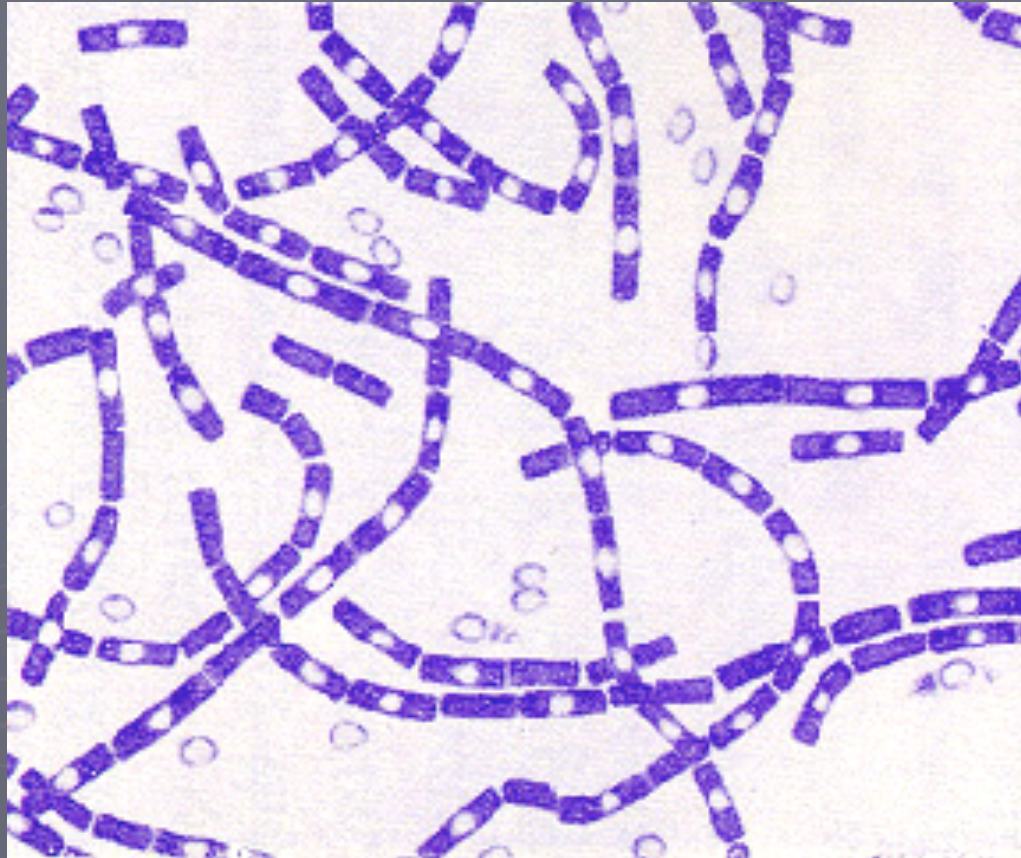
Bactéries à Gram positif



A gauche. Coloration de Gram sur un échantillon de pus dans une infection anaérobie mixte. Au moins trois différents *Clostridia* spp. sont visibles. A droite. Micrographie électronique de cellules de *Clostridium tetani*.

COLORATION DE GRAM

Bactéries à Gram positif



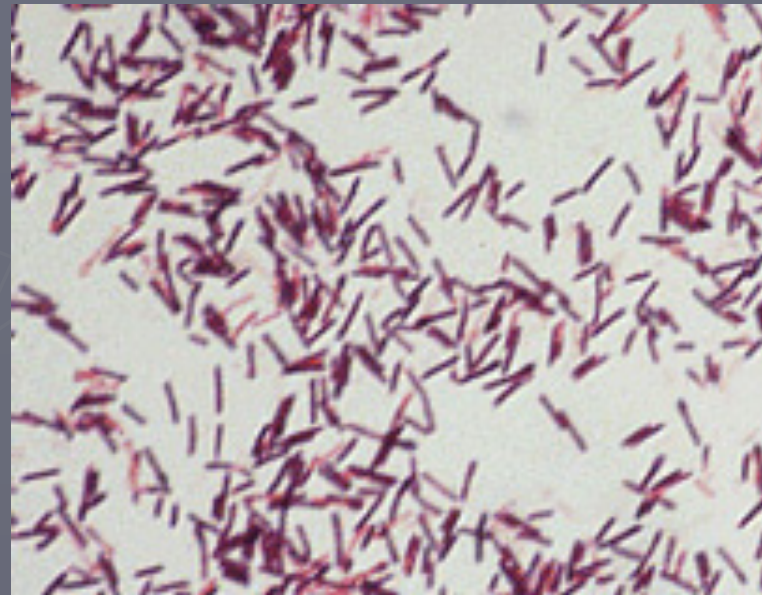
Bacillus anthracis

COLORATION DE GRAM

Bactéries à Gram positif



Bacillus anthracis



Bacillus cereus

COLORATION DE GRAM

Différences entre deux bactéries à Gram positif

Caractéristiques	<i>B. anthracis</i>	<i>B. cereus</i>
<i>Besoin de thiamine pour la croissance</i>	+	-
<i>Hémolyse sur agar au sang de mouton</i>	-	+
<i>Capsule glutamyl-polypeptidique (colonies mucoïdes)</i>	+	-
<i>Lyse par le bactériophage gamma</i>	+	-
<i>Mobilité</i>	-	+
<i>Croissance sur agar au chlorhydrate</i>	-	+
<i>Test du collier des perles</i>	+	-

COLORATION DE GRAM

***Bactéries
à
Gram négatif***

COLORATION DE GRAM

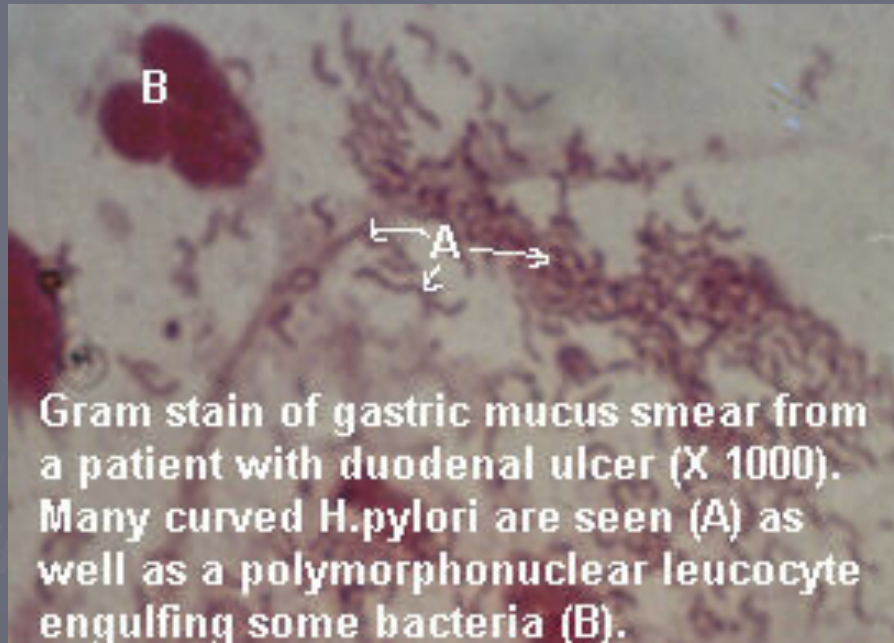
Bactéries à Gram négatif



Pseudomonas aeruginosa

COLORATION DE GRAM

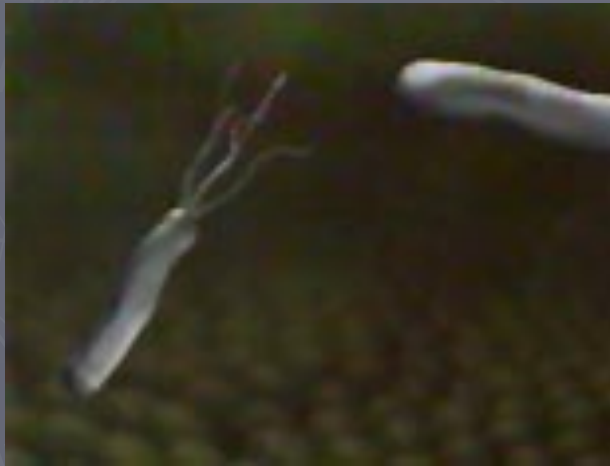
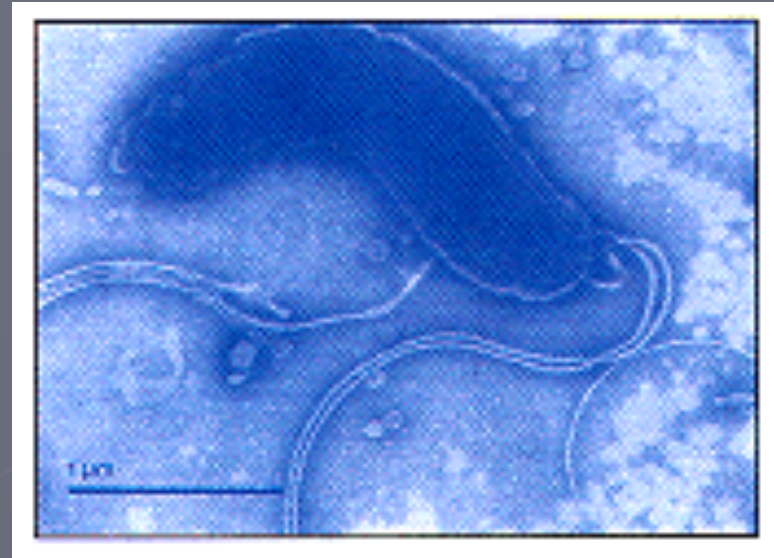
Bactéries à Gram négatif



Coloration de Gram d'un échantillon de mucus gastrique d'un patient avec une ulcère duodénale. Plusieurs cellules courbées d'*Helicobacter pylori* sont observées (A) ainsi que des Leucocytes polymorphonucléaires avalant quelques bactéries (B).

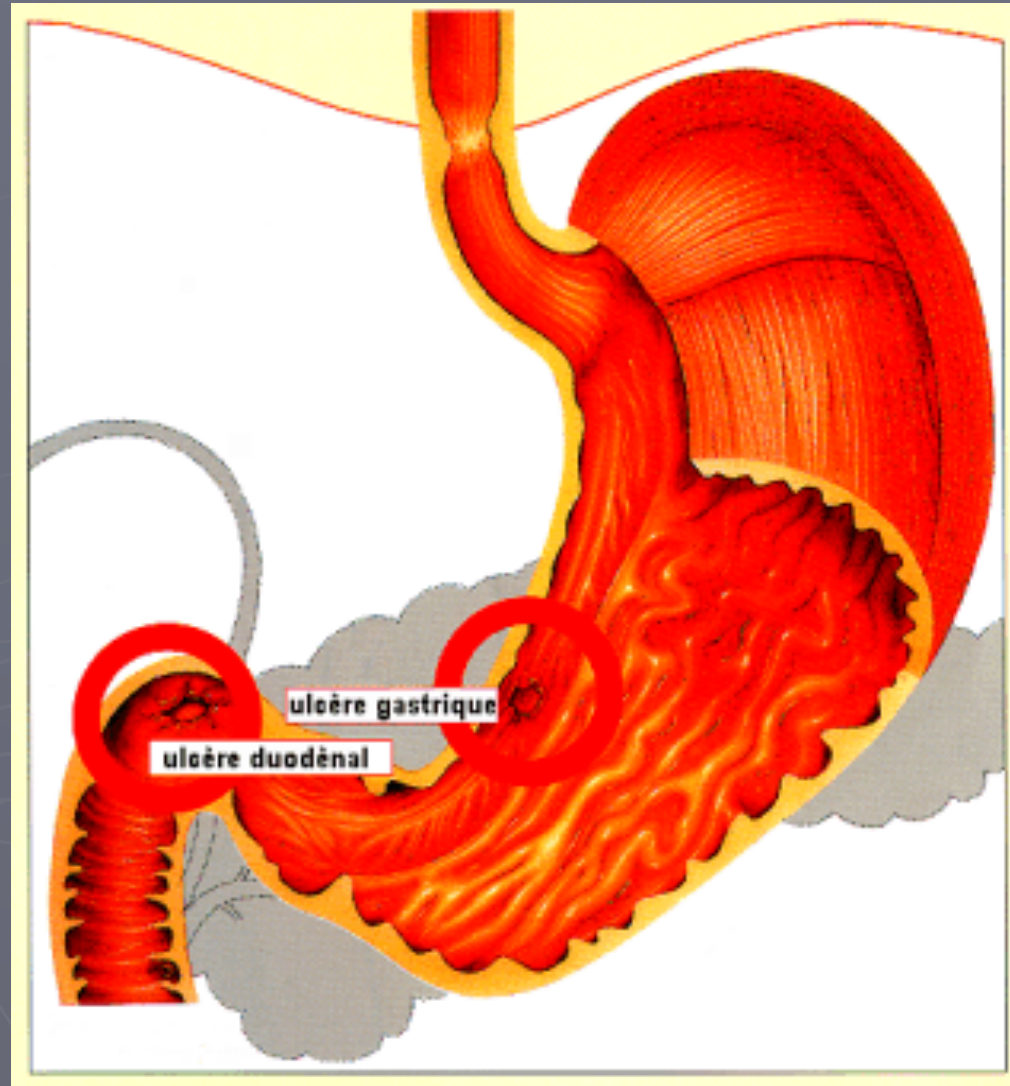
Helicobacter pylori

L'ulcère provoquée par *H. pylori*

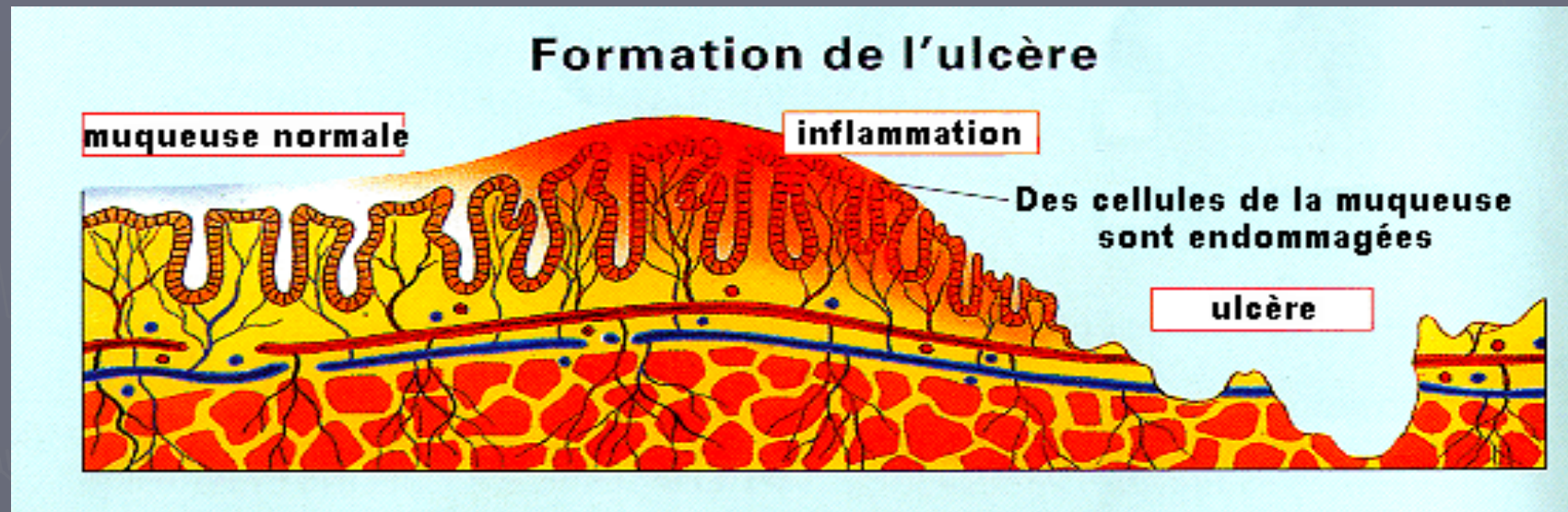


Helicobacter pylori

Ulcère gastrique et ulcère duodénal



Développement de l'ulcère



Helicobacter pylori

COLORATION DE GRAM

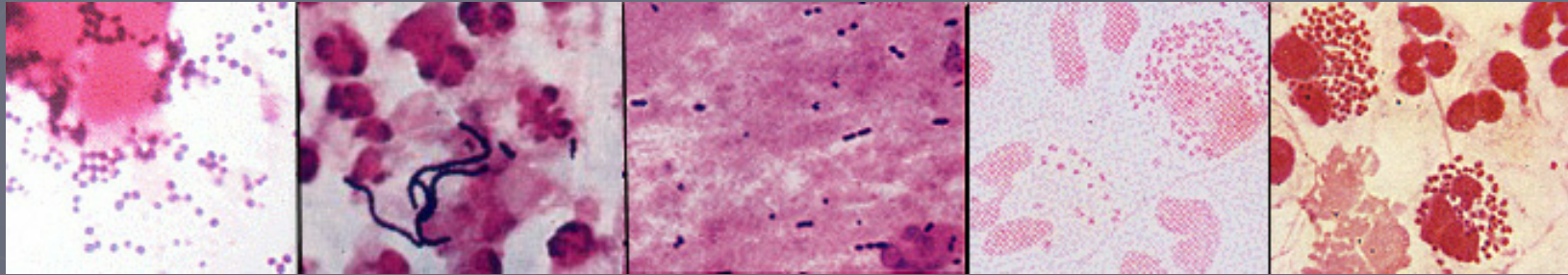
Bactéries à Gram négatif



Profil d'une Pseudomonade: Bâtonnet Gram -, mobiles par flagelles polaires. A) Microscopie électronique à transmission, coloration négative. B) Microscopie électronique à balayage. C) Coloration de Gram.

COLORATION DE GRAM

Bactéries à Gram positif et à Gram négatif



Galerie de coques pyogéniques, coloration de Gram d'échantillons cliniques (pus), De gauche à droite: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria gonorrhoeae* (blennorragie), *Neisseria meningitidis* (méningocoque).

Quelques différences entre les bactéries Gram + et les bactéries Gram -

- Les bactéries Gram + sont fréquemment sensibles à la pénicilline.
- Elles sont productrices d'exotoxines.
- Elles sont sensibles aux désinfectants à base de phénol.
- Exemples : *Bacillus anthracis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Clostridium tetani* et *Corynebacterium diphtheriæ*.

- Les bactéries Gram - sont fréquemment sensibles aux tétracyclines et aux aminoglycosides : gentamicine, néomycine et kanamycine.
- Elles sont productrices d'endotoxines.
- Elles sont sensibles au chlore, à l'iode et aux détergents.
- Exemples : *Salmonella typhi*, *Shigella sonnei*, *Bordetella pertussis* et *Yersinia pestis*.

Quelques différences entre les bactéries *Gram +* et les bactéries *Gram -*

Comparaison des caractères physiologiques des bactéries Gram positif et négatif

<u>PROPRIETES</u>	<u>Gram +</u>	<u>Gram -</u>
Besoins nutritifs	Plutôt complexes	Plutôt simples
Tolérance à la déshydratation	Forte	Faible
Inhibition de la croissance par : - la pénicilline - les colorants	Forte Forte	Faible Faible
Destruction de la paroi par le lysozyme	Forte	Faible
Excrétion d'exoenzymes	Fréquente	Rare*
Libération d'exotoxines	Oui	Non
Production d'endotoxines	Non	Oui
Resistance aux chocs physiques	Forte	Faible

* Enzymes retenues dans le périplasme

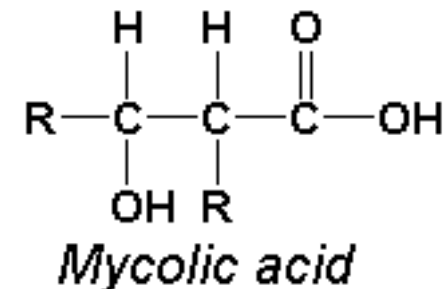
Les mycobactéries

Les **Mycobactéries** forment un groupe de bactéries particulières dont fait partie *Mycobacterium tuberculosis*. En plus du peptidoglycane, la paroi de ces bactéries contient des acides gras particuliers, les acides mycoliques, qui leur confèrent des propriétés particulières.

On peut noter :

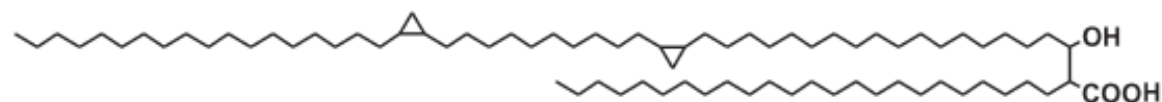
- Une grande résistance à la dessiccation: le **bacille tuberculeux** peut survivre pendant des semaines dans les expectorations desséchées;
- Une résistance à l'action des alcalis et à celle de certains désinfectants;
- Une résistance à l'action des acides et de l'alcool qui leur est spécifique;
- Un comportement hydrophobe.

BAAR = Bacille acido-alcool résistant

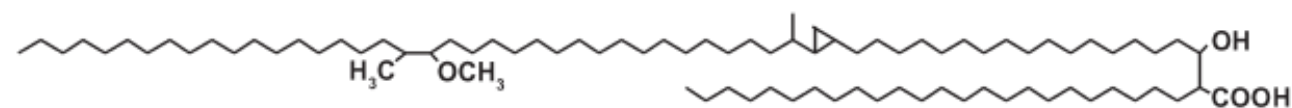
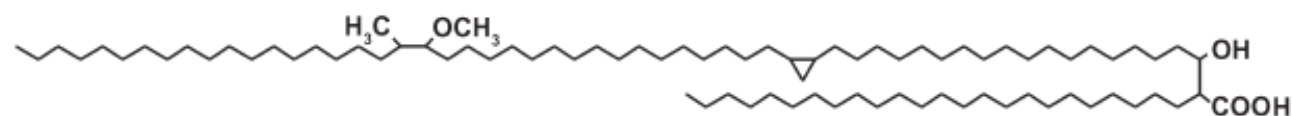


Exemples de différents types d'acides mycoliques

α -Mycolates



Methoxymycolates



Ketomycolates

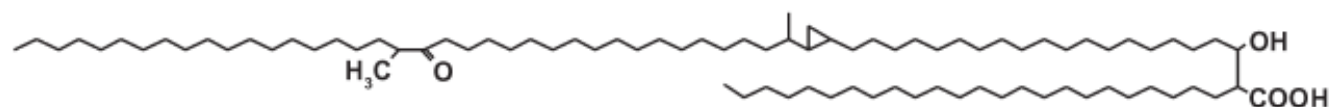
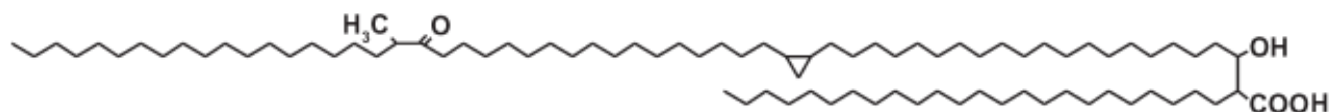
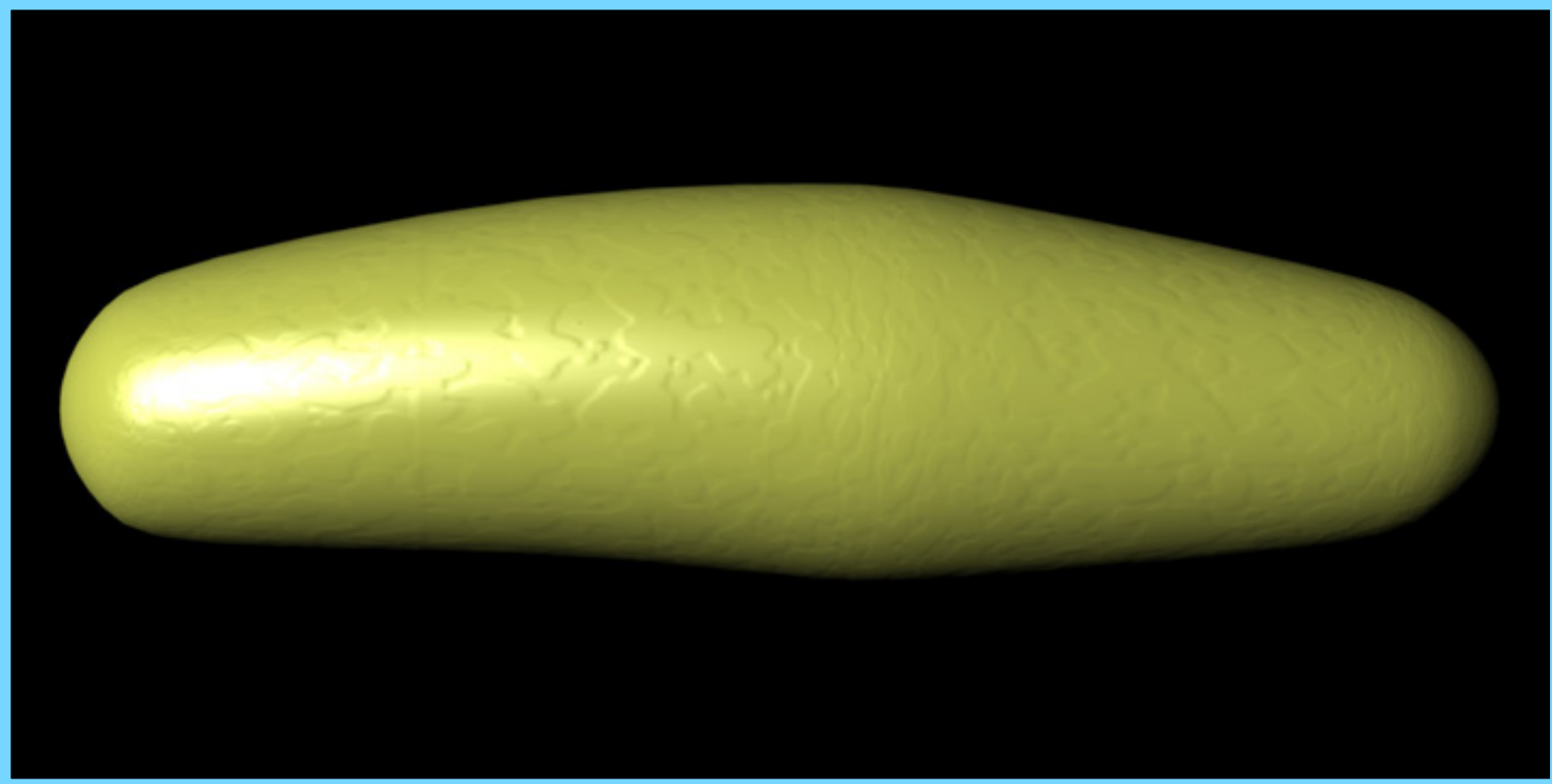


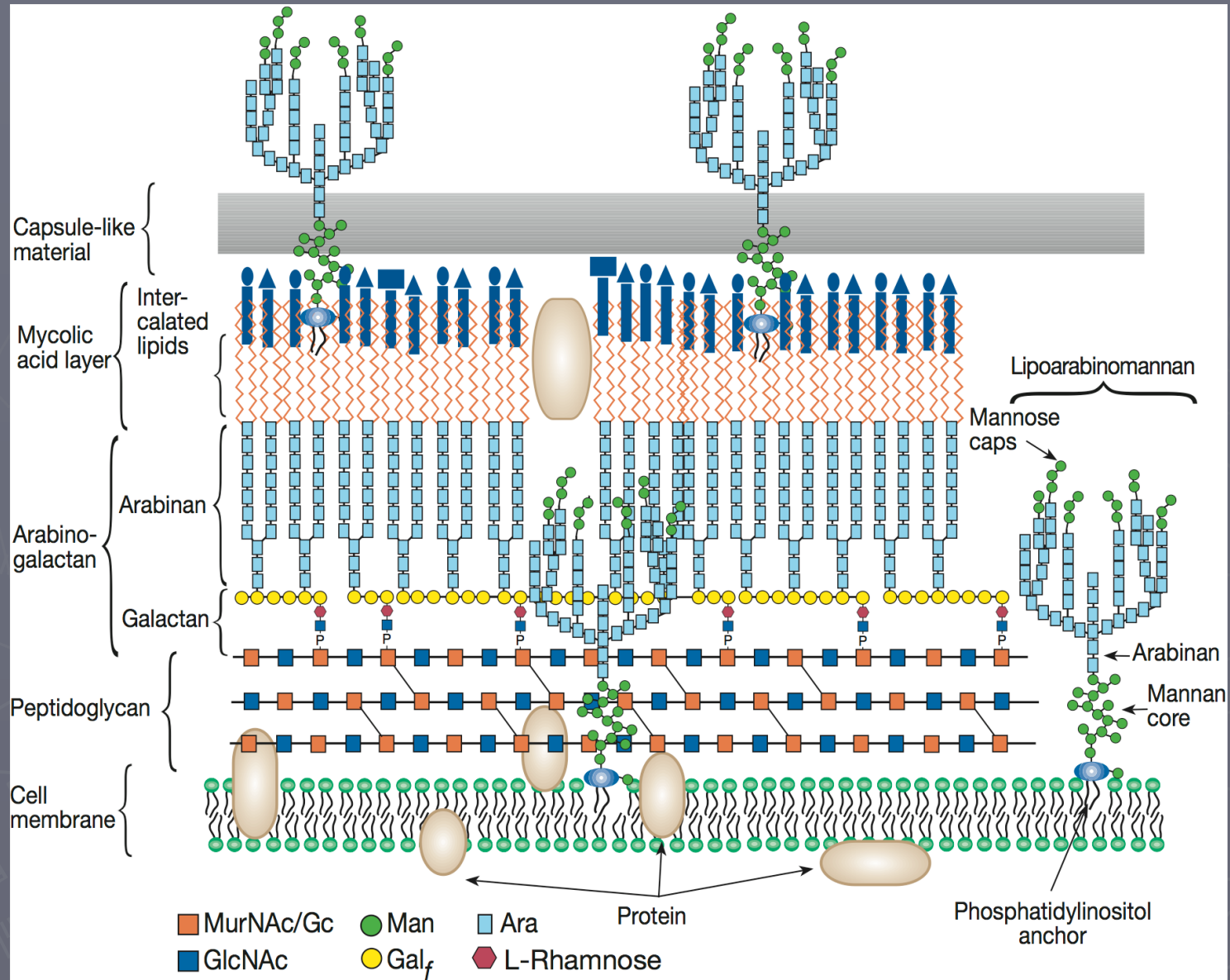
Fig. 2: the structures of mycolic acids identified in *Mycobacterium tuberculosis*. α -Mycolates: its meromycolate chain contains two *cis*-cyclopropanes; Methoxymycolates: its meromycolate chain contains an α -methyl methyl-ether moiety in the distal position and a *cis*-cyclopropane or an α -methyl *trans*-cyclopropane in the proximal position; Ketomycolates: its meromycolate chain contains an α -methyl ketone moiety in the distal position and proximal functionalities as in the methoxy series. It should be pointed out that, more recently, unsaturations have been detected in the meromycolate chain of *M. tuberculosis* (Watanabe et al. 2002), which are not shown here.

Les mycobactéries



Mycobacterium tuberculosis

Structure de la paroi des mycobactéries



La Coloration de Ziehl-Neelsen

Quand les *mycobactéries* sont cultivées en milieu liquide, elles restent difficilement en suspension. C'est pourquoi elles forment des voiles en surface et des agrégats difficiles à séparer dans de tels milieux. C'est aussi pourquoi on ajoute des substances tensio-actives dans les milieux de culture de ces espèces afin d'en permettre une dispersion plus uniforme.

Il faut signaler que la résistance à l'action des acides et de l'alcool (on dit que les *mycobactéries* sont alcoolo-acido-résistantes) est à l'origine de la Coloration de Ziehl-Neelsen. Cette coloration est spécifique et permet de distinguer ces bactéries de toutes les autres.

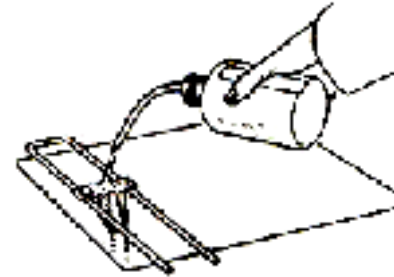
La Coloration de Ziehl-Neelsen



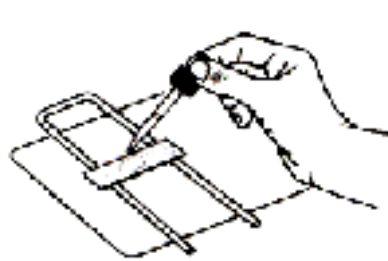
Recouvrir la lame de fuchsine de Ziehl. Chauffer sur de l'eau bouillante pendant 8 min. Ajouter du colorant s'il s'est dissipé.



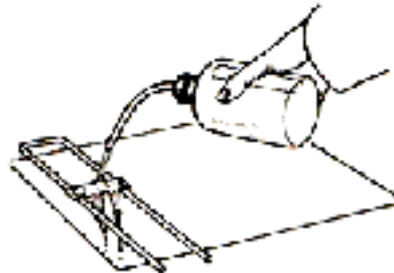
Après que la lame est refroidie, décolorer avec la solution d'alcool acidifié pendant 10-20 s.



Arrêter la décoloration en rinçant brièvement avec de l'eau distillée.



Contre-coloration avec du bleu de méthylène pendant 30 s.



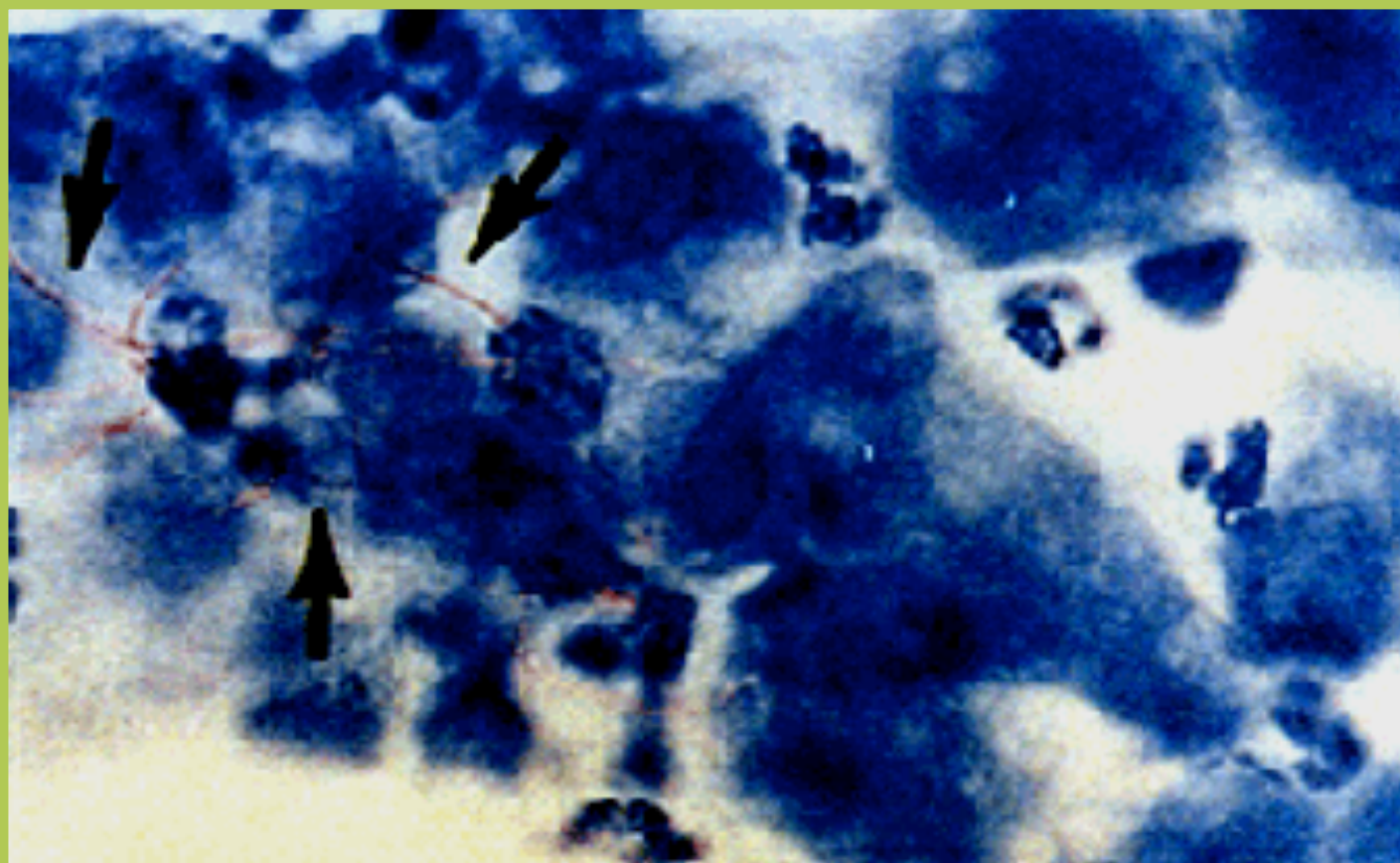
Rincer brièvement avec de l'eau distillée pour enlever l'excès de bleu de méthylène.



Sécher légèrement avec du papier bouvard et examiner directement avec l'objectif d'immersion.

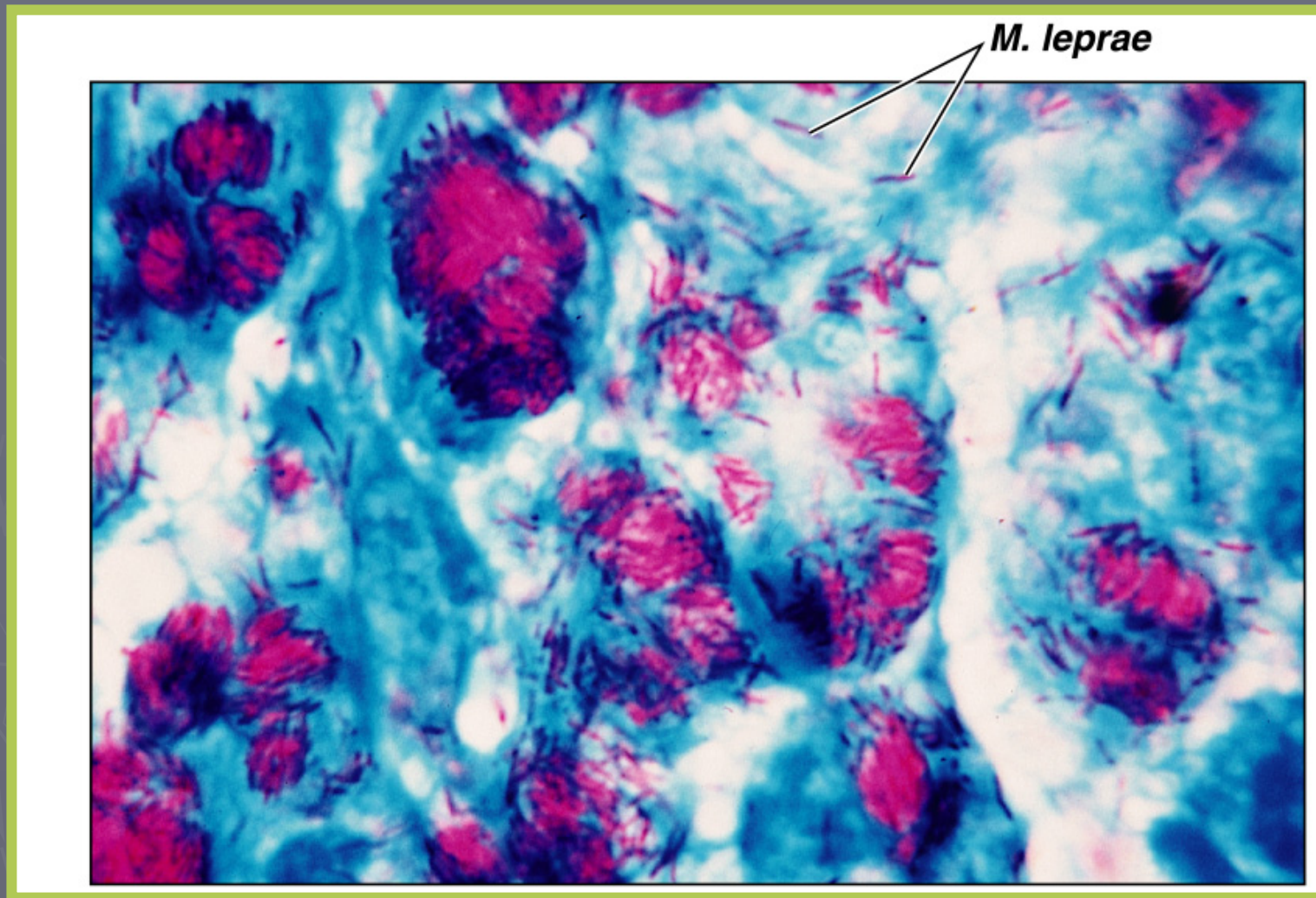
Ziehl-Neelsen acid-fast staining procedure

La Coloration de Ziehl-Neelsen

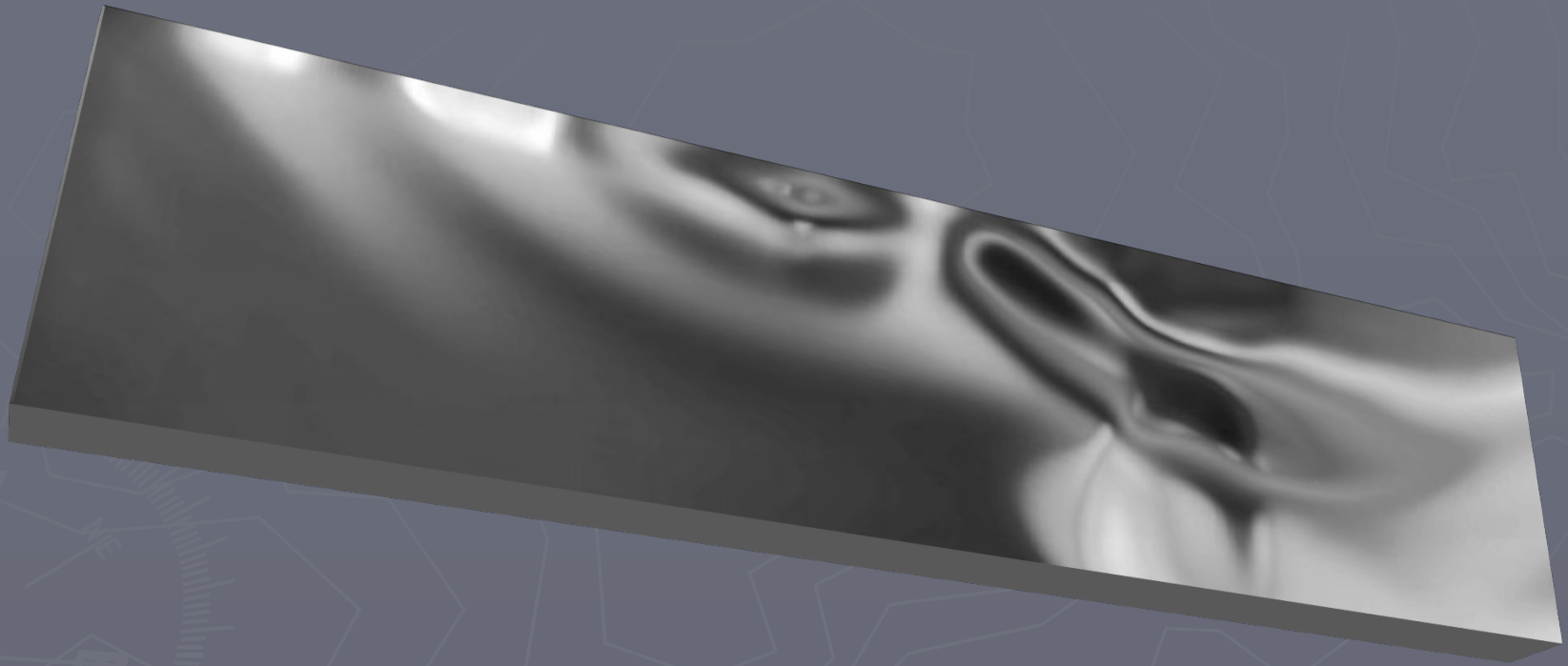


**Mycobacterium
Acid Fast Stain**

La Coloration de Ziehl-Neelsen



La paroi des bactéries



Fin