

TD 1. Notions de microbiologie

Définition

La microbiologie est un domaine des sciences appliquées qui a pour objet les microorganismes et les activités qui les caractérisent.

Classification des microorganismes

Les microorganismes étaient classés dans le monde vivant comme protistes lorsque la classification comprenait les trois règnes : animal végétal et protistes.

Les protistes inférieurs étaient les bactéries et les algues bleu-verts.

Les protistes supérieurs étaient les algues les protozoaires et les champignons

Aujourd'hui la classification du monde vivant a évolué en trois domaines (le plus haut niveau de classification) comme détaillé dans la figure 1.

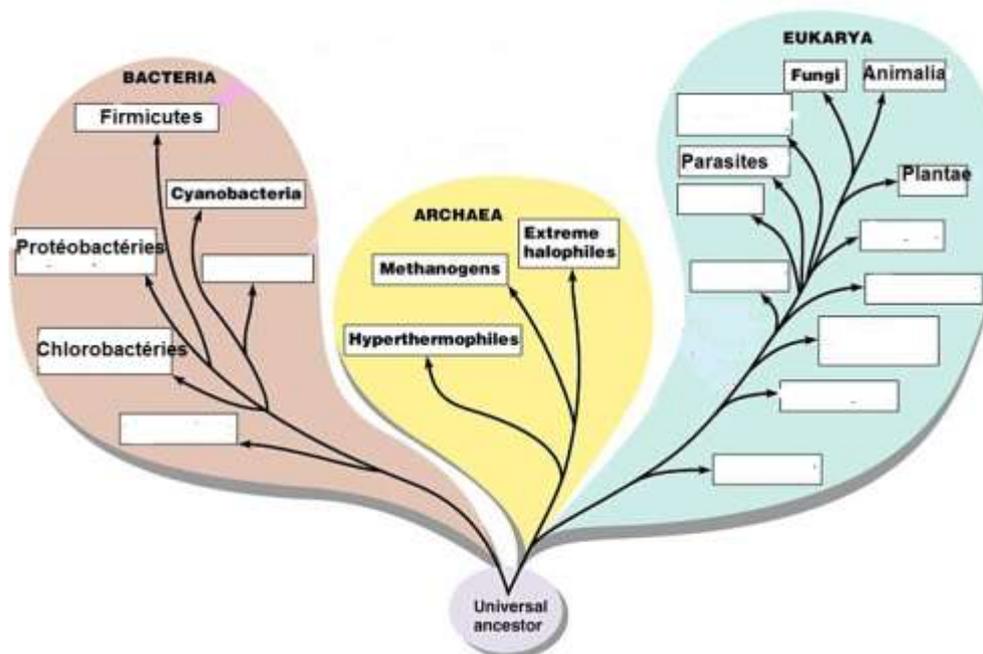


Figure 1. Classification du monde vivant selon les trois domaines

Cette classification n'est plus organisée selon les caractéristiques (ressemblances) physiologiques mais génétiques entre les différentes cellules du monde vivant (procaryote ou eucaryote).

Les microorganismes comprennent désormais :

Tout le domaine *Bacteria* qui représente les bactéries à cellules procaryotes.

Tout le domaine *Archaea* (archéobactéries) à cellules procaryotes vivant dans les milieux hostiles exemples : les méthanogènes, les halophiles...etc.

Et aussi le règne *Fungi* (les champignons microscopiques) et **les parasites** (les protozoaires) du domaine *Eukarya* car ce sont des cellules eucaryotes microscopiques.

Les virus font partie de la microbiologie, ils ne figurent pas dans la classification du monde vivant parce qu'ils ne sont pas vivant en dehors de leurs hôtes (pas d'organites cellulaires mise à part le matériel génétique).

Caractéristiques de la cellule procaryote et eucaryote

Propriétés	Procaryotes	Eucaryotes
Noyau + membrane nucléaire	Absence	Présence
Nombre de chromosome	1	Plusieurs
Nucléole	Absence	Présence
Mitochondrie	Absence	Présence
Chloroplaste	Absence	Présence
Réticulum	Absence	Présence
Appareil de golgi	Absence	Présence
Réticulum endoplasmique	Absence	Présence
Paroi	Avec peptidoglycane	Sans peptidoglycane
Exemples	Bactéries	Animaux Plantes Champignons Algues Protozoaires

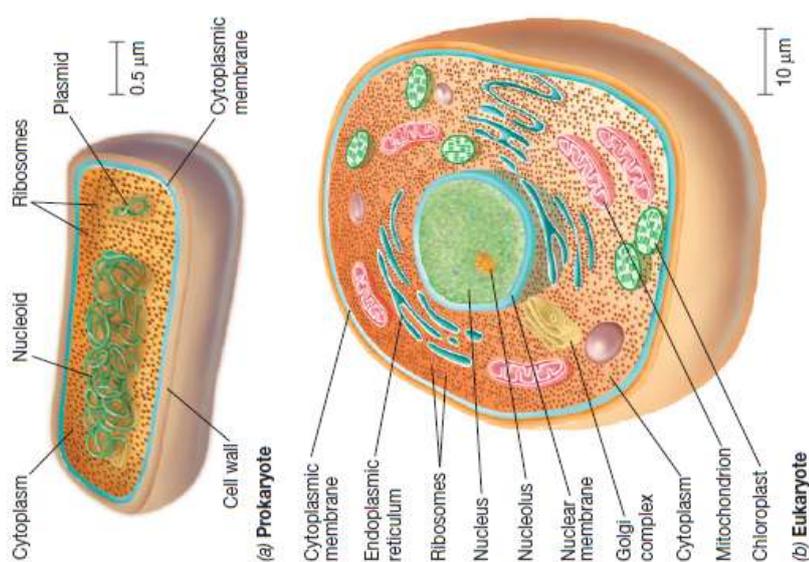


Figure 2.11 Internal structure of cells. Note differences in scale and internal structure between the prokaryotic and eukaryotic cells.

Coloration de Gram

Chez les bactéries il y'a une technique qui permet de les diviser en deux grands groupes (Gram + et Gram -) mise au point par Hans Christian Gram, les premiers apparaissent violettes alors que les deuxièmes deviennent rose, durant l'étape à l'éthanol, ce dernier traverse uniquement la paroi des Gram négatifs (absence de couche épaisse de peptidoglycane) il décolore ainsi la cellule (élimine le violet) pour qu'enfin elle puisse être colorée avec la fushine (rose).

Technique

- Préparer un frottis microbien à partir d'une souche jeune et le fixer sur la lame (avec la chaleur, voir TP).
- Verser quelques gouttes de violet de Gentiane ou de Cristal violet sur le frottis, laisser agir 1min (le violet colore le cytoplasme) jeter ensuite l'excès de colorant en inclinant la lame.
- Rincer délicatement la lame avec de l'eau distillée (sur le coin de la lame, pas directement sur le frottis).
- Déposer quelques gouttes de lugol (mordant qui permet de fixer le violet dans les bactéries, laisser agir 1 minute, jeter et rincer.
- Décolorer avec de l'éthanol ou acétone en faisant couler la solution de décoloration sur la lame jusqu'à ce que le violet ne s'écoule plus du frottis (5 à 10 secondes). Les pores de la paroi des Gram+ sont fermés par la déshydratation à l'alcool. La paroi est alors imperméable et le colorant violet reste dans les bactéries. La membrane des Gram- est dissoute par le mélange alcool-acétone.
- La paroi plus mince et de composition différente laisse alors sortir la coloration violette.
- Rincer à l'eau distillée.
- Colorer avec une solution de safranine ou de fuschine (rose) pendant 1 minute. Ce colorant permet de visualiser les bactéries Gram - décolorées à l'étape précédente. Cette coloration moins forte que le violet n'affecte pas la couleur des Gram +.
- Rincer à l'H₂O. Laisser sécher et observer au microscope (voir TP).

