

TD 2 : Méthode d'étude et d'analyse de la cellule bactérienne

I- Moyen d'étude d'une cellule bactérienne

1- Fractionnement des bactéries

Les bactéries peuvent être lysées par :

1-1 - des procédés physiques : broyage en présence de microbilles de verre, d'ultrasons, de variation de pression ;

1-2 - des procédés chimiques : digestion enzymatique, action d'antibiotiques, action de détergents.

Les différents constituants bactériens, lorsqu'ils sont libérés, peuvent être séparés par gel filtration, centrifugation différentielle, électrophorèse.

2- Observation des bactéries

2-1- Microscopie optique : L'examen à l'état frais, entre lame et lamelle, renseigne sur la forme des bactéries et leur mobilité éventuelle. L'examen après coloration permet de mieux apprécier leur forme.

2-2- Microscopie électronique Elle permet l'étude de la structure fine des bactéries.

II- Méthode d'étude d'une cellule bactérienne

1- Préparation des échantillons :

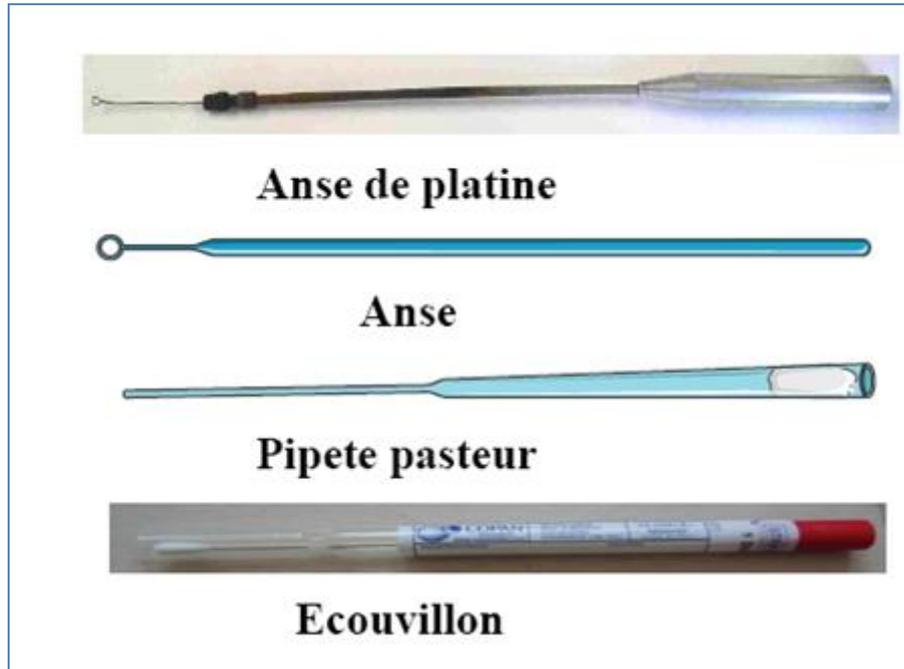
1-1- Prélèvement des bactéries :

Prélèvement des échantillons bactériens doit se faire *stérilement*, pour le réaliser il faut :

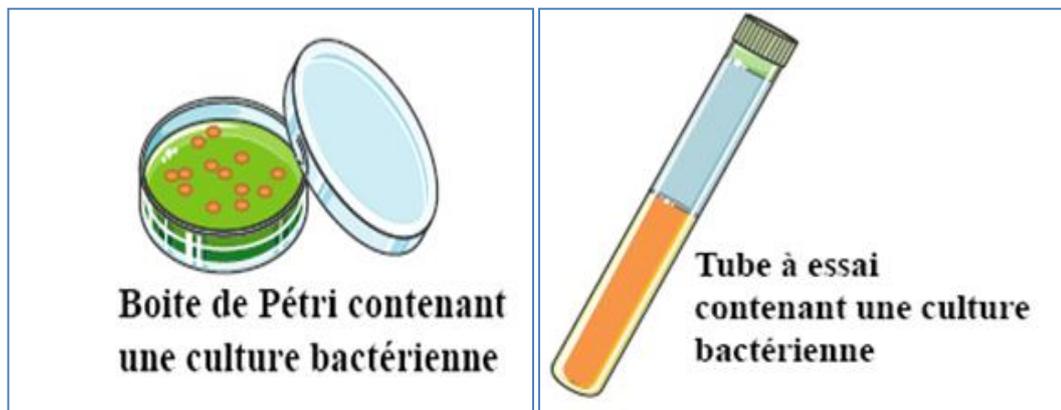
- Une zone stérile : créée à l'aide du Bec bunsen



- Outils de prélèvement : anse, anse de platine, pipette pasteur, écouvillon...



- L'échantillon prélevé doit être cultivé que ce soit sur boîte de Pétri contenant milieu de culture solide (gélose) ou sur un tube à essai contenant milieu de culture liquide (Bouillon)



2- Incubation des échantillons : l'incubation se fait à une température et une durée optimale de croissance de la bactérie. Ces conditions sont assurées au laboratoire à l'aide de l'étude.



3- L'identification des bactéries

3-1- Observation macroscopique :(description des colonies) :

L'aspect des colonies dépend du milieu, de la durée et la température d'incubation. Il ne pourra être décrit convenablement qu'à partir des colonies bien isolées. La description des colonies doit mentionner plusieurs éléments:

- La taille : petite, moyenne ou grande ;
- La forme : bombée, plate, ombiliquée, à centre surélevé ;
- L'aspect de la surface : lisse, rugueux, muqueux ;
- L'opacité : opaque, translucide, transparent ;
- La consistance : grasse, crémeuse, sèche, muqueuse ;
- Pigmentation (la couleur)
-

3-2- Observation microscopique

Compte tenu de leur taille (de l'ordre du micron), les bactéries sont visualisées au microscope optique sans coloration (état frais) ou après coloration.

3-2-1- Observation à l'état frais :

C'est l'examen microscopique des micro-organismes vivants. Ce type d'observation permet d'apprécier :

➤ La mobilité des bactéries et leur morphologie ;

3-2-2- Observation après coloration :

L'examen après coloration permet d'observer des bactéries tuées fixées sur une lame (frottis bactérien) et ayant subi l'action d'un ou plusieurs colorants. Les colorations, réalisées sur des frottis sèches et fixes, sont classées en :

- **Coloration simple (un seul colorant)** : La coloration au bleu de méthylène peut apporter des informations concernant la morphologie des germes.
- **Coloration différentielle** ou double type Gram ;
- **Colorations spéciales** des structures bactériennes (capsules, spores....)

3-3- La recherche des caractères biochimiques :

L'identification biochimique des bactéries est effectuée en utilisant des milieux de culture dont la composition permet de mettre en évidence une enzymatique.

Exemples : l'identification par Api système: activités variables (souches **A** et **B**) de type β -galactosidase (ONPG), lysine décarboxylase (LDC), ornithine décarboxylase (ODC), uréase (URE)



L'activité fermentaire est révélée avec un milieu type contenant un sucre, un indicateur coloré des changements de pH. La fermentation du sucre entraîne un abaissement du pH et donc un changement de couleur de l'indicateur coloré.