

Chapitre 3 : Principe de la taxonomie chez les bactéries

La taxonomie est la science des lois de la classification. C'est au 18^{ième} siècle que Linné a proposé pour la première fois les principes d'une classification dite *Naturelle* pour les organismes du monde animal et végétal. Puis au 19^{ième} Ernest Haeckel classa selon les principes de Linné en troisième règne les protistes. Ses principes veulent que tout individu appartient à une espèce, toute espèce à un genre.....etc. et c'est l'espèce qui détermine la base de la construction.

1-La classification ou taxonomie

taxinomie du grec taxis : arrangement a pour objet de classer les êtres vivants de façon hiérarchisée au sein de groupes appelés taxons ou phylons. La taxonomie microbienne est en perpétuelle évolution. Chaque année, de nouvelles espèces sont découvertes. A l'heure actuelle, on connaît 10 à 15 % des microorganismes existant. Ce constat est dû à notre incapacité de les isoler et de les cultiver. Ce dernier est nécessaire pour toute étude taxonomique ou identification d'un agent infectieux.

La nomenclature

La nomenclature est l'ensemble de règles qui permet de nommer les taxons de façon non ambiguë et en adéquation avec les niveaux hiérarchiques de la classification en cours (code international de nomenclature bactérienne).

Identification

L'identification ou détermination permet d'intégrer des souches bactériennes inconnues à l'un des taxons, préalablement définis sur la base de la comparaison de leurs caractères spécifiques respectifs. Ceci pour mieux les utiliser ou les exploiter (Espèces bénéfiques) ou bien pour mieux s'en protéger et de les contrôler (espèces Pathogènes).

L'écriture scientifique

Les noms des bactéries sont désignés par deux noms en latins. Le nom de genre écrit avec une première lettre en majuscule suivi du nom de l'espèce écrit en minuscule l'ensemble du nom en italique ex *Escherichia coli* ou normal souligné Escherichia coli

2-Méthodes de taxonomie

La taxonomie classique est basée sur l'étude des caractères morphologiques et structuraux des bactéries, ainsi que sur leur profil métabolique. Elle a constitué pendant longtemps le seul outil des taxonomistes et reste aujourd'hui encore d'un apport significatif mais insuffisant pour établir une classification naturelle des bactéries. Parallèlement, se sont développés d'autres méthodes de taxonomie bactérienne.

La taxonomie génétique fait appel à des techniques d'analyses modernes bien plus fiables qui permettent d'obtenir des données capables d'établir objectivement le degré de parenté génomique et les filiations phylogénétiques entre les différents groupes de bactéries. Leur traitement par la **taxonomie numérique**, en particulier, a révolutionné la taxonomie bactérienne.

2-1-La taxonomie génétique ou phylogénique

L'information génétique de la bactérie est portée par des *génophores nucléaires* et *plasmidiques* que nous désignons sous le nom de génome. Ces dernières années la classification des bactéries est basée sur la structure de l'ADN qui s'exprime par le *coefficient de Chargaff* qui représente le pourcentage de Guanine et Cytosine en mole dans la molécule d'ADN.

Les critères sont recherchés :

- a. La taille du génome.
- b. La composition des bases d'ADN sous la forme de pourcentage de G+C (GC%).
- c. Le taux d'hybridation ADN/ADN.
- d. La séquence de l'ADN qui code pour l'ARN ribosomal 16 S.

a. La taille du génome

Selon les espèces la taille du génome est variable. Par exemple chez les bactéries paratrophes le génome est très réduit.

b. Composition en base d'ADN (Coefficient de Chargaff) :

Quel que soit l'espèce d'origine, l'ADN contient toujours autant de purine que de pyrimidine soit :

$$(A + G) = (C + T) \text{ ou } (A+G) / (C+T) = 1$$

De plus, il y a autant de thymine que d'adénine $A/T = 1$, autant de guanine que de cytosine $G/C = 1$

Par contre, le rapport $(A+T)/(C+G)$ varie beaucoup : il est caractéristique de l'espèce.

Ce coefficient est appelé coefficient de Chargaff. Il peut être calculer suite à un séquençage par la formule suivante $((G+C)/(A+T+G+C)) \times 100$.

Ou bien par une méthode de spectrométrie ultra-violet.

c. Hybridation ADN/ADN

Les températures clés et leurs définitions :

T_m : Point de fusion (Thermal elution mid point) : Température de dénaturation de 50% de l'hybride

T_{or} : Température optimale de renaturation : 25° à 30°C < Température de dénaturation

T_{rr} : Température restrictive de renaturation: 10 à 15 °C < Température de dénaturation (**Fig.1**).

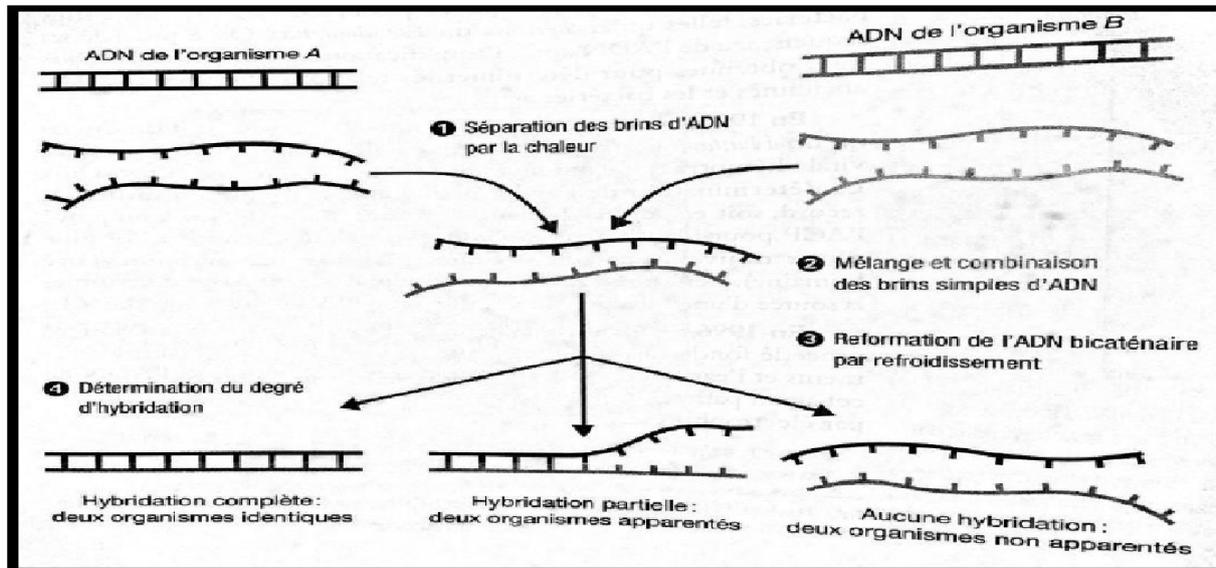


Figure 1 : Schéma explicative du phénomène de l'hybridation.

d. Le séquençage des ARN ribosomiaux (ARNr)

Selon Woese, les ARNr sont les meilleurs chronomètres moléculaires par :

- La constance de leur fonction
- Leur répartition dans tous les organismes
- Leur grande taille

2.2. Taxonomie numérique

La taxonomie numérique ou taxométrie ou taxonomie andansonienne (du nom d'ADANSON) est une approche quantitative rendue possible grâce à la puissance des ordinateurs car elle implique un volume de calcul considérable. Elle est basée sur la comparaison de caractères de différentes natures : morphologique, physiologique, génétique, appartenant à des souches prises deux à deux. Les distances taxonomiques entre deux organismes sont exprimées par un « coefficient de similitude », calculé de diverses manières, selon le choix des caractères sélectionnés et le codage et le traitement appliqués aux données recueillies, par l'indice de JACCARD-SNEATH, donné par la relation suivante :

- SAB : Coefficient de similitude entre la souche A et la souche B
- nS+ : Nombre de caractères similaires
- nd : Nombre de caractères différents pour donner une valeur significative à l'étude.

Les résultats de l'analyse taxonomique numérique sont souvent exprimés sous la forme d'un diagramme ramifié analogue à un arbre. C'est un dendrogramme où les organismes ayant la plus grande similitude sont groupés ensembles appelés «*phénons*».

En général, on estime, qu'au-delà de 80% de similitude de phénons peuvent être assimilés à une même espèce. Ainsi, selon le résultat de la comparaison, l'arbre phylogénétique le plus probable est déduit.

3-Systèmes de classification

3-1 Classification phénétique ou phénotypique

Depuis la classification proposée par Cohn en 1872 et jusqu'au début des années soixante, toute la taxonomie bactérienne reposait sur une classification phénétique. La classification phénétique (ou phénotypique) regroupe les organismes suivant la similitude de leurs caractères phénotypiques. Elle utilise un nombre de caractères considérés comme importants :

- ✓ Aspect morphologique : forme, dimension, présence ou non de capsule, flagelle....
- ✓ Aspect structural : présence mucopeptide, de paroi.....
- ✓ Aspect tinctoriaux : toutes les types de coloration (Gram, simple...)
- ✓ Type trophique : aérobie, phototrophe....etc.
- ✓ Métabolismes : glucidique, protidique....

Les caractères morphologiques sont utiles pour l'identification, mais ne peuvent pas démontrer à eux seuls les relations phylogénétiques.

3.1- Les Tests métaboliques :

Très importants, ils peuvent distinguer des bactéries très apparentées. On recherche la présence d'enzymes (oxydase, catalase), la dégradation de l'urée, de l'esculine. La transformation du lactose et la production de gaz, l'utilisation de différents sucres comme source de carbone, l'utilisation du citrate, la production d'acétoïne.

Ces techniques ont été miniaturisées dans des galeries spécialisées (API), on peut faire 20 tests sur une même galerie spécifique des entérobactéries (**Fig.2**).

4. La Classification selon le manuel de Bergey

Malgré les problèmes posés par la classification des bactéries, il existe des travaux en ce domaine dont le plus remarquable et certainement le « Bergey's manuel of systematic bacteriology », proposé dès 1923 aux USA qui a pour objectif initial le regroupement des espèces bactérienne connues de manière facilité l'identification d'organismes inconnus. Dans sa dernière version (1984), le mode de classification retenu est phénétiques et basé sur la détermination des caractères simples tel que : coloration de Gram, réaction avec l'Oxygène, mobilité, sporulation, source d'énergie et de nutriments. La dernière classification de *Bergey* classe les bactéries dans la classe des Schizomycètes qui se divise en dix ordres puis en familles en tribus en genres et enfin en espèces (10 O.F.T.G.sp).

Selon *Prévot*, les bactéries sont classées en quatre sous embranchements, divisés eux-mêmes en classes, ordres, familles, tribus, genres et enfin en espèces (4 sE.C.O.F.T.G.sp).

Krassilnikov divise les bactéries en quatre classes s et chacune d'entre elles est divisée en familles, genres et en espèces (4C.F.G.sp).

Tableau 1 : Méthodes et critères utilisées pour classer et/ou identifier les bactéries selon Bergey's Manual

Méthodes ou critères	Classifications	Identifications
Caractéristiques morphologiques	Non (<i>Oui pour Cyanobactérie</i>)	Oui
Coloration différentielle	Oui (<i>paroi cellulaire</i>)	Oui
Tests biochimiques	Non	Oui
Sérologie	Non	Oui
Typage bactériophage	Non	Oui
Profils d'acides gras	Non	Oui
Cytométrie en flux	Non	Oui
Composition en bases d'ADN	Oui	Non
Empreintes génétiques d'ADN	Non	Oui
Séquences d'ARNr	Oui	Non
PCR	Oui	Oui
Hybridation d'acides nucléiques	Oui	Oui
		(sondes d'ADN puces à ADN)

COQUES A GRAM POSITIF

MORPHOLOGIE	GENRE	ESPECE	NOM COURANT	HABITAT	POUVOIR PATHOGENE
En amas	<i>Staphylococcus</i>	<i>aureus</i> <i>epidermidis</i> <i>intermedius</i> autre	Staphylocoque doré Staphylocoque blanc	Ubiquitaire, peau, muqueuses	Suppuration
En chainettes	<i>Streptococcus</i>	Groupe A, C, G, L Agalactiae (groupe B) Groupe D	Strepto B hemolytique Strepto B Non entérocoques	Pharynx Voies génitales	Streptococcies synd, post streptococciques infections néonatales
En diplocoques	<i>Entreptococcus</i>	pneumonie	Pneumocoque	Voies respiratoires	Otites, pneumonies, méningites
En courtes chaînes	<i>Enterococcus</i>	faecalis faecium	Entérocoques	Intestin	Infections urinaires, digestives, endocardites ...

COQUES A GRAM NEGATIF

MORPHOLOGIE	GENRE	ESPECE	NOM COURANT	HABITAT	PUVOIR PATHOGENE
En diplocoques	<i>Neisseria</i>	<i>gonorrhoeae</i> <i>meningitidis</i>	Gonocoque Méningocoque	Voies génitales pahrynx	Blénnorragie, MST méningite cérébrospinale

BACILLE A GRAM POSITIF

MORPHOLOGIE	GENRE	ESPECE	NOM COURANT	HABITAT	POUVOIR PATHOGENE
" petits "	<i>Listeria</i>	Monocytogenes	/	Ubiquitaire	Méningites infections néonatales
	<i>Erysipelothryx</i>	Rhusiopathiae	Bacille du rouget du porc	Animaux	Lésions cutanées endocardites
	<i>Corynebacterium</i>	Diphtheriae autres	Bacille de loeffler coryneformes	Gorge	Diphthérie, croup infections respiratoires, cutanées, urinaires
" grands "	<i>Bacillus</i>	Anthraxis autres	Bactéridie charbonneuse	Spores dans les sols, les végétaux, dans les fourrures	Charbon Rarement pathogènes

BACILLE A GRAM NEGATIF

FAMILLE	GENRE	ESPECE	NOM COURANT	HABITAT	PUVOIR PATHOGENE
enterobacteriaceae	<i>Escherichia</i> <i>Enterobacter</i> <i>Klebsiella</i>	<i>coli</i> <i>aerogenes</i> <i>pneumoniae</i> <i>oxytoca</i>	Coliforme	flore intestinale muqueuses de l'homme et de l'animal	infections respiratoires, génito- urinaires ou de septicémies diarrhées