

Systèmes de classification

Classification du BERGEY'S Manual

En 1923, Bergey et quatre collègues ont publié une classification des bactéries qui pouvait être utilisée pour l'identification bactérienne, le *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*.

La première édition du *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, publié en 1984, est basée sur la classification phénétique.

La seconde édition du « Bergey » est largement phylogénétique. Elle contient 5 volumes.

Critères d'identification et de classification

a. Caractères morphologiques

La morphologie bactérienne est établie par observation microscopique.

La morphologie cellulaire présente des caractères d'une grande importance taxonomique car elle est spécifique à l'espèce.

Elle a une grande stabilité évolutive (nombreux gènes).

b. Caractères métaboliques

Le métabolisme et la physiologie cellulaires sont déterminés par les enzymes.

L'analyse des enzymes et autres protéines actives permet de comparer indirectement les génomes.

Parmi les activités métaboliques et physiologiques bactériennes nous avons:

- Type trophique (sources de carbone, d'azote...),
- La nature du métabolisme énergétique,
- La nature des produits métaboliques,
- La croissance par rapport au pH et à la température du milieu, la relation avec l'oxygène,
- Les besoins nutritionnels spécifiques...

c. Caractères génomiques

Pour identifier une espèce, l'étude des caractères génomiques est plus importante chez les bactéries que chez les autres organismes vivants.

L'étude des caractères génomiques est réalisée soit directement (ADN) soit indirectement (ARN, protéines).

Les acides nucléiques sont principalement analysés par les tests d'hybridation ADN/ADN

Les protéines sont principalement analysés par la détermination des séquences en acides aminés de protéines ayant la même fonction chez les différents organismes.

Unités de classification

Les organismes procaryotes regroupent les Bactéries (Eubactéries) et les Archaébactéries. Ils forment, dans leur ensemble, le règne des *Procaryotae*.

a. Rangs taxonomiques

Comme pour l'ensemble des organismes vivants, l'unité de base de la classification bactérienne est l'espèce. Plusieurs espèces présentant entre elles suffisamment de caractères communs sont réunies en un genre.

Sur le même principe, plusieurs genres composent une famille et ainsi de suite.

Plusieurs familles forment un ordre, plusieurs ordres constituent une classe, plusieurs classes sont réunies en une division (ou embranchement ou domaine) dont l'ensemble est érigé en règne qui constitue donc le premier degré de classification.

Les différents groupes de classification, de tout rang, sont appelés taxons.

Certains taxons ont une terminaison dérivée du latin et définie par leur rang taxonomique hiérarchique : les noms de familles se terminent par *acea* et les noms des ordres par *ales*. Parfois, les ordres sont subdivisés en sous ordres dont les noms se terminent alors par *ineae*.

b. Espèce bactérienne

- C'est une population de cellules bactériennes ayant des caractéristiques semblables et différent des autres espèces bactériennes.
- On distingue les espèces en se fondant sur plusieurs critères.

c. Souches bactériennes

- Un clone est constitué des descendants d'une seule culture microbienne pure.
- Dans certains cas, des cultures pures d'une même espèce ne sont pas tout à fait pareilles. On utilise le terme « souche » pour désigner chaque groupe distinct et subdiviser les espèces en sous espèces ou variantes.
- Les souches se différencient par quelques caractères secondaires mais leurs caractères d'identification au niveau de l'espèce restent les mêmes.
- Les souches sont décrites de différentes façons. Des biovars (caractères biochimiques ou physiologiques), les morphovars (caractères morphologiques), les sérovars (propriétés antigéniques), les pathovars (facteurs de pathogénicité), lysotypes (sensibilité aux phages).

- Une souche d'une espèce est désignée comme la souche type. C'est l'une des premières souches étudiées et elle est souvent plus caractérisée que les autres.

Méthodes de taxonomies

- Depuis longtemps, la taxonomie classique est basée sur l'étude des caractères morphologiques, structuraux et le profil métabolique des bactéries mais elle est insuffisante aujourd'hui pour établir une classification naturelle des bactéries.
- Parallèlement, d'autres méthodes modernes plus fiables de taxonomie bactérienne se sont développées, parmi elles la taxonomie moléculaire s'est imposée comme l'outil de référence, complétée par d'autres approches qui permettent de réduire le champ d'investigation ou d'affiner l'analyse taxonomique.

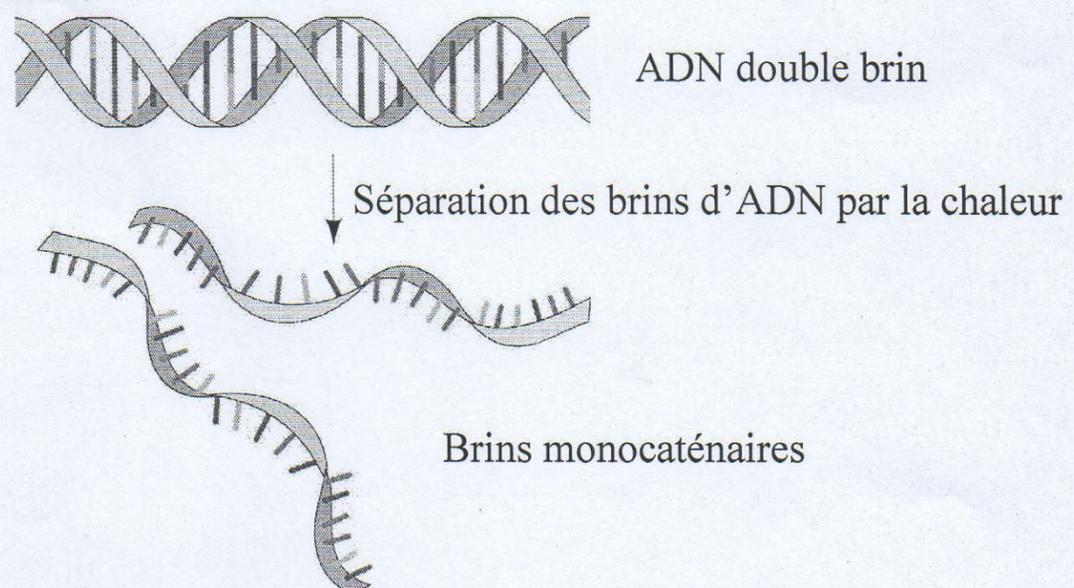
a. Taxonomie phylogénétique

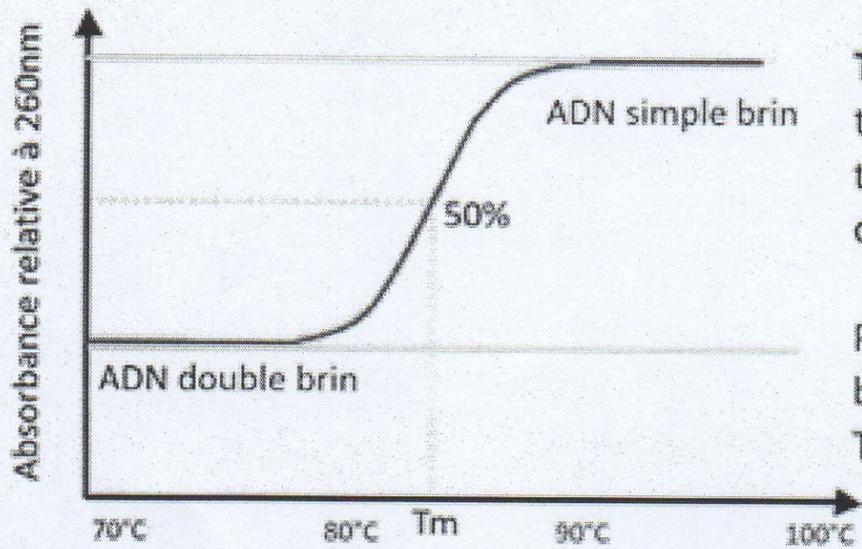
- Elle a été proposée dès 1936 mais les techniques nécessaires à sa mise en œuvre n'étaient pas disponibles.
- Dans les années 1970 les techniques de génétique moléculaire sont bien maîtrisées. Parmi lesquelles, l'hybridation des acides nucléiques, (ADN et ARN), à ce moment là où la taxonomie phylogénétique a vu le jour.
- Les bactéries appartenant à la même espèce possèdent des génomes identiques. L'étude des caractères physico-chimiques de ces génomes et les ARN et protéines, constitue maintenant la méthode de référence des taxonomistes, pour établir des relations phylogénétiques entre les différents taxons bactériens.

b. Méthodes phylogénétiques

1. Analyse de l'ADN

1.1. Dénaturation de l'ADN





Tm (melting point) =
température de fusion =
température de demi-
dénaturation

Plus il y aura de paires de
bases GC présentes et plus la
Tm sera élevée.

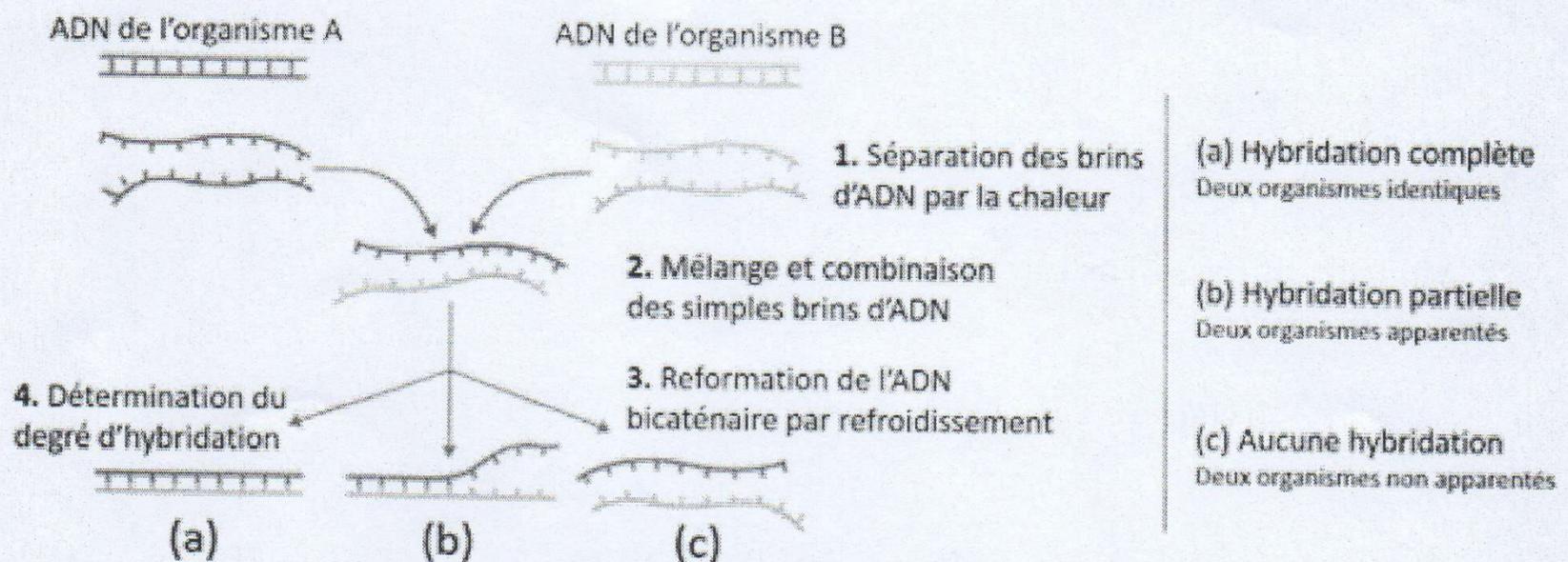
La température de demi-dénaturation « Tm »

Coefficient de G+C%

$$\text{Mol \%G+C} = \frac{G+C}{G+C+A+T} 100$$

- Le contenu en GC est constant et le même chez tous les individus d'une même espèce biologique et il est différent d'une espèce à l'autre.
- Le GC% des procaryotes est variable, s'étalant d'environ 25 à presque 80%
- Des souches bactériennes appartenant à une même espèce ont un intervalle de variation de G+C% compris entre 0 et 5%. Au-delà de 10 % de variation, les bactéries ne peuvent appartenir au même genre.
- Ce paramètre présente surtout un intérêt pour son pouvoir d'exclusion
- La teneur en G+C est mesurée par D.O ou par ultracentrifugation.

Hybridation de l'ADN



Homologie ADN/ADN à Tor

- Le niveau d'hybridation des simples brins d'ADN dépend de leur degré d'homologie. Cette homologie concerne l'ensemble du génome.
- L'hybridation concerne uniquement l'ADN chromosomique.
- La renaturation de l'ADN est maximale à une température définie, appelée **température optimum de renaturation (Tor)**, inférieure de 25 à 30°C à la température de dénaturation.
- A Tor, l'homologie est de 70 à 100% entre souches de la même espèce, il varie de 0 à 60% pour des souches d'espèces différentes.

Stabilité thermique des hybrides

- $T_m(e)$ (thermal elution midpoint) est la température de dénaturation de 50% de l'hybride. Elle est obtenue par l'élévation progressive de la température de dénaturation d'ADN hybridé.
- La comparaison des $T_m(e)$, obtenues dans des réactions d'hybridations homologues ($Ax A'$) et des réactions d'hybridations hétérologues (AxB) permet d'obtenir une estimation précise de la stabilité thermique des hybrides hétérologues.
- Les souches d'une même espèce ont des $\Delta T_m(e)$ comprises entre 1 et 5°C, soit aux environs de 5% de bases non appariées.
- Les souches d'espèces différentes présentent des $\Delta T_m(e)$ situées entre 8 et 20 °C.

Séquençage des ARN

- Les ARN sont des molécules transcrites de l'ADN. Ils sont formés de A, G, U, C. Il en existe trois sortes : l'ARNm, l'ARNt et l'ARNr, chacun d'eux ayant une fonction spécifique.
- Depuis les années 1970, les ARNr sont considérés comme des marqueurs taxonomiques moléculaires de grande fiabilité :
 - Rôle central dans la synthèse des protéines, présence ubiquitaire, la même fonction dans le monde vivant, fiabilité et rapidité de leur analyse.
- Plus les séquences nucléiques des gènes codants pour les ARNr sont proches et plus les souches sont génétiquement apparentées.
- A l'inverse, plus les séquences nucléiques sont différentes et plus les souches étudiées sont génétiquement éloignées.