

La systématique est la science des classifications des organismes vivants. Elle regroupe trois disciplines :

La classification : taxonomie ou taxinomie, du grec taxis : arrangement et nomos : loi). Etablis des groupes taxonomiques qui sont des ensembles d'organismes vivants apparentés sur des critères (selon leur similitude et leur parenté évolutive) et distincts des autres groupes.

La nomenclature : affecte à chaque groupe (taxon), une dénomination conventionnelle. Les noms scientifiques sont des mots latins. La nomenclature désigne l'espèce par deux noms latins. Ces nom sont écrits selon le système binomial du botaniste suédois Carl Von Linné. La première partie du nom est le nom du Genre, la seconde partie (épithète) est celui de l'espèce.

Le genre : écrit en Italique. Avec sa première lettre en **majuscule**. Après sa citation le nom du genre est abrégé à sa première lettre. Ex : *Escherichia coli*, *Mycoplasma pneumoniae*.

L'espèce : écrite en Italique (ou souligné). Avec sa première lettre en minuscule.

La famille : Le nom est fondé sur un genre valide, il est féminin, pluriel et se termine par **-aceae**. **Tableau 1** : Exemple de rang taxinomique.

Rank	Example
Domain	<i>Bacteria</i>
Phylum	<i>Proteobacteria</i>
Class	γ -Proteobacteria
Order	<i>Enterobacteriales</i>
Family	<i>Enterobacteriaceae</i>
Genus	<i>Shigella</i>
Species	<i>S. dysenteriae</i>

L'identification (détermination) : permet d'intégrer des souches bactériennes inconnues à l'un des taxons préalablement définis. L'identification des bactéries implique l'utilisation d'un protocole méthodologique de plusieurs étapes, afin d'assimiler une souche inconnue à une espèce déjà définie et classée. Pour cela, il sera retenu : des observations microscopiques, avec ou sans colorations spécifiques qui permettent de déterminer des caractères morphologiques ou structuraux (forme cellulaire, type de regroupement, présence ou absence de spores, GRAM, capsule, mobilité...), des tests déterminants (type respiratoires, recherche de la catalase, recherche de l'oxydase...), profils métabolique (mise en évidence des produits ou les métabolites intermédiaires de leur métabolisme par l'utilisation de galeries multi-tests).

La confusion entre taxinomie et systématique : la systématique étudie la diversité biologique et permet de classer, d'organiser les taxons dans un ordre logique. La phylogénie c'est l'étude de l'histoire évolutive d'un groupe d'organisme à partir d'un ancêtre commun. Elle permet de regrouper les organismes selon leurs liens de parenté (parenté génétique).

Les principaux taxons par ordre décroissant (hiérarchie taxinomique) (figure 1). La classification des microorganismes consiste à les placer dans des niveaux taxonomiques hiérarchiques (rangs taxonomiques). Le rang le plus élevé est le **domaine**, dans chaque domaine, chaque microorganisme est placé dans un **phylum**, une **classe**, un **ordre**, une **famille**,

un **genre** et une **espèce**. Certains microorganismes sont aussi attribués à une sous espèce. Les groupes microbiens de chaque niveau ont des noms avec un suffixe spécifique, indicatif du rang ou niveau. Ainsi les noms de famille se terminent par *aceae* et les noms des ordres par *ales*. Parfois les ordres sont subdivisés en sous ordres dont les noms se terminent par *ineae*.

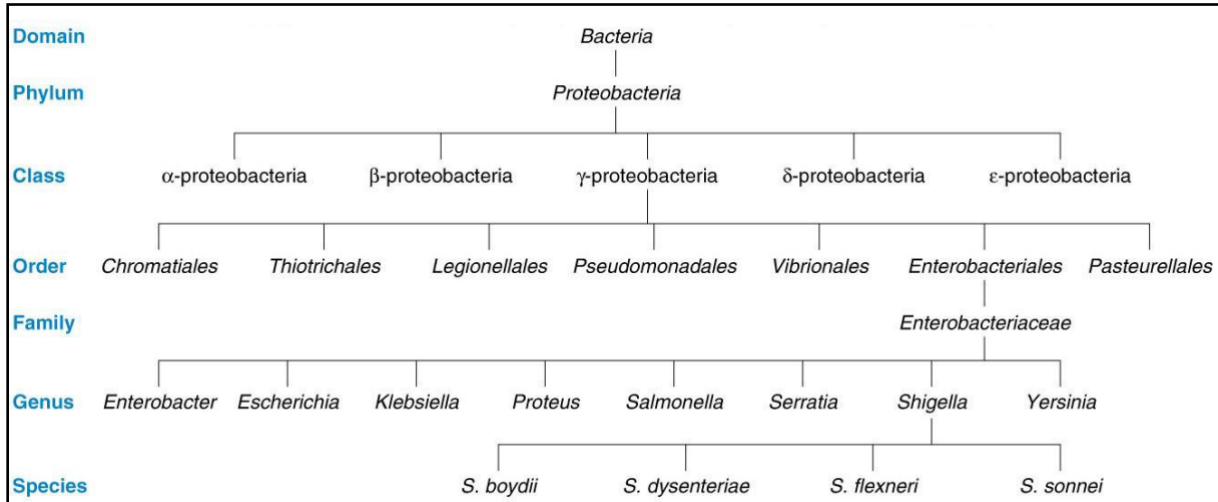


Figure 1 : Structure hiérarchique en taxinomie.

1. Principes de la taxinomie : les principes de classifications appliqués aux organismes supérieurs (animaux et végétaux), basés sur des caractères phénétiques et sur la reproduction sexuée, se sont révélés inapplicables chez les bactéries. En effet, chez les bactéries, les variations morphologiques sont très réduites et insuffisantes pour identifier une espèce, mais la diversité physiologique et métabolique est très importante. Tandis que les croisements sexuels sont rares et incomplets.

1.1. Systèmes de classification :

1.1.1. Classifications artificielles : classifications phénétiques (ou phénotypiques), basées sur la considération de caractères observables. Elles réunissent des groupes de bactéries sur des propriétés phénétiques commune : la forme cellulaire, la coloration de GRAM, le type respiratoire, la température ou le pH de croissance, la présence d'une enzyme ou d'un pigment particulier...Mais ce type de taxinomie peut réunir des bactéries très hétérogènes et génétiquement différentes. Depuis la classification proposée par Cohn en 1872 et jusqu'au début des années soixante, toute la taxinomie bactérienne reposait sur une classification phénétique.

La classification phénétique (ou phénotypique) utilise un nombre de caractères considérés comme importants :

Observations macroscopiques, microscopiques : descriptions des colonies (forme, taille, couleur, odeur), la morphologie des cellules (bacille, coque), leurs arrangements, les colorations (GRAM, bleu méthylène, acido-alcool-résistante), observation de la mobilité à l'état frais, la présence d'endospores, la croissance aérobie, anaérobie.

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

Tests métaboliques : ils peuvent distinguer des bactéries très apparentées. La recherche 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 sont miniaturisées dans des galeries spécialisées (API) (on peut faire 20 tests sur une même galerie spécifique des entérobactéries).

Méthode sérologique : le sérodiagnostic et le stéréotypage est basé sur la réaction spécifique antigène – anticorps. Cette méthode permet de différencier des espèces et même des souches au sein d'une même espèce. Les antigènes ciblés sont les Ag O chez les Gram négatives, les Ag H flagellaires et les Ag K capsulaires.

Tests d'inhibition : on évalue la croissance des micro-organismes sur des milieux sélectifs, en présence d'antibiotiques (antibiogramme).

Chimiotaxonomie : on détermine le profil des acides gras des parois. Le profil des protéines totales par électrophorèse (séparation selon le pH et le poids moléculaire).

Lysotypie : infection par des bactériophages et formation de plages de lyses. On définit le lysovar ou le lysotype.

1.1.2. Classifications naturelles : appelée classifications phylogénétiques (du grec phylon : race et génesis : génération, origine). Elles sont appliquées aux organismes supérieurs, et se basent sur l'existence d'espèces identifiées à partir d'un ancêtre commun, ont évolué différemment. L'inexistence de cette base chez les bactéries rend inapplicable leur classification. Les modèles de classifications phylogénétiques proposés pour les bactéries sont basés sur l'étude comparative de marqueurs moléculaires, en raison de leur grande stabilité, ou de leur faible variabilité. Ces marqueurs sont : soit liés au génome (ADN, ARN et les protéines qui en dérivent), soit des molécules structurales stables (composants membranaires qui sont surtout les acides gras, ou pariétaux : peptidoglycane, acides teichoïques). Les arbres phylogénétiques montrent les liens évolutifs déduits par l'analyse sous forme de lignées aux multiples branches reliées par des nœuds (figure 2).

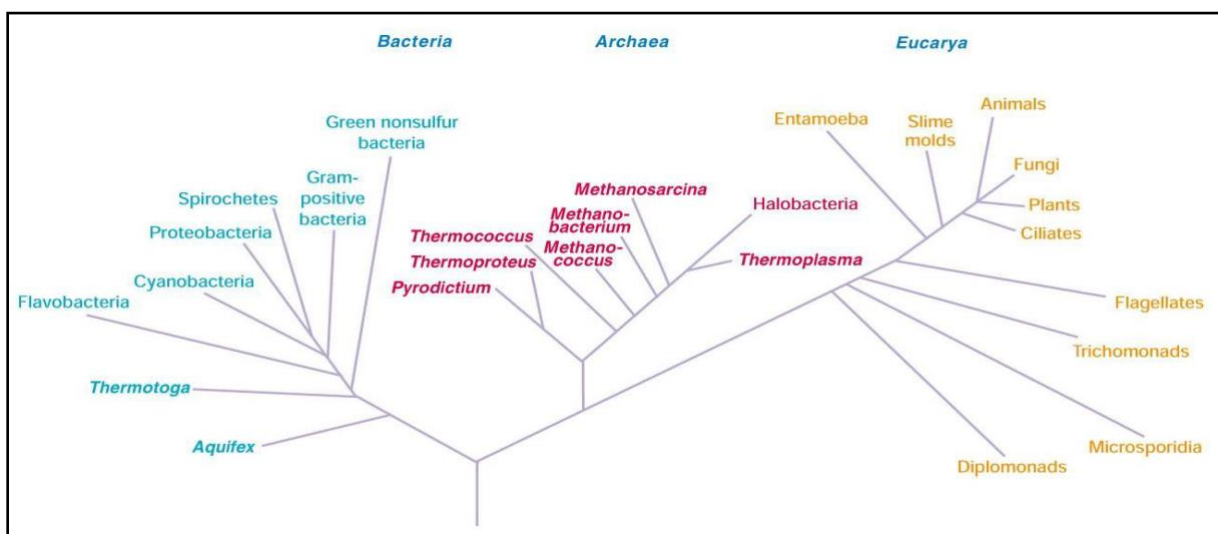


Figure2 : L'arbre phylogénique universel du vivant.

Cette représentation simplifiée a été établie à partir de l'étude comparative des ARNr 16S et 18S. Source : Jean-Claude CALLEN, Biologie Cellulaire, Dunod, 1999.

1.1.3. Classification de *Bergey's Manual* : le plus remarquable travail de classification des bactéries, édité dès 1923 au USA sous le nom : *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Son objectif initial était le regroupement des informations phénotypiques disponibles pour l'identification des espèces bactériennes reconnues, afin de permettre l'identification de souches inconnues. C'est une classification de référence actuelle des bactéries, basée sur les données phylogénétiques.

1.2. Unité de classification : L'espèce est l'unité de base de la classification bactérienne. Dans certains cas, les espèces sont subdivisées en sous espèces ou variantes appelées : souches qui peuvent se différencier par quelques caractères secondaires, mais leurs caractères au niveau de l'espèce restent les mêmes.

La souche est un clone : c'est-à-dire la descendance exclusive d'une bactérie mère unique. Les subdivisions de l'espèce sont proposées par rapport à des caractères spécifiques :

- Biovars ou biotypes : sur la base de caractères biochimiques
- Sérovars ou sérotypes : sur la base de caractères antigéniques
- Pathovars ou pathotypes : sur la base de facteurs de pathogénicités
- Phagovar ou lysotype : sur la base de la sensibilité aux phages.

Définition de l'espèce bactérienne : est basée sur la caractérisation de 5 paramètres de nature génomique :

1/Le coefficient GC% (coefficient de CHARGAFF) ;

2/La taille du génome ;

3/L'homologie ADN/ADN à température optimum de renaturation (T_{or}) ;

4/La sensibilité thermique des hybrides ;

5/L'homologie ADN/ADN à température restrictive de renaturation (T_{rr}).

Sur cette base, **l'espèce bactérienne est l'ensemble de souches ayant une homologie d'hybridation ADN/ADN supérieur ou égal à 70% à T_{or} et un ΔT_m (e) inférieur ou égal à 5°C.**

2. Méthodes de taxonomie :

2.1. Taxonomie classique : elle est basée sur des caractères morphologiques et structuraux des bactéries, ainsi que leur profil métabolique. Elle a un apport significatif mais insuffisant pour établir une classification naturelle des bactéries.

2.2. Taxonomie génétique : elle est basée sur l'analyse de l'ADN de diverses manières pour déterminer l'espèce :

2.2.1. Composition de l'ADN :

A/Le GC% (ou coefficient de CHARGAFF) : chaque base azotée est présente dans une certaine concentration molaire dans une molécule d'ADN donnée. Cette molécule d'ADN peut être caractérisée par le rapport molaire des bases :

$$\text{GC\%} = \frac{[\text{G}] + [\text{C}]}{[\text{G}] + [\text{C}] + [\text{A}] + [\text{T}]} \times 100$$

Ce coefficient exprime le contenu relatif en base d'un ADN, où les bases (A, T, G, C) sont exprimées en concentrations molaires.

*La variation du (GC%) à l'intérieur d'une espèce bactérienne est inférieure à 2.5%, et peut atteindre 10 à 15% dans un genre.

*Les bactéries avec des (GC%) très différents n'appartiennent pas à la même espèce, ni au même genre.

*Les bactéries d'espèces différents n'ont pas obligatoirement des (GC%) différents parce qu'elles peuvent avoir des nucléotides, qui ont une distribution séquentielle des bases différentes.

B/La taille du génome : elle est déterminée par le poids moléculaire (PM) de l'ADN bactérien, qui varie de 1.10^9 à 8.10^9 Dalton.

*Ce PM peut fluctuer de 8% au sein d'une même espèce.

*Entre deux espèces différentes, les fluctuations de la taille du génome, peuvent atteindre 50%.

2.2.2. Hybridation de l'ADN :

A/Hybridation : l'ADN bicaténaire sous l'action d'un chauffage contrôlé donne un ADN dénaturé (séparation des deux brins). Après refroidissement, l'ADN dénaturé retrouve sa structure bicaténaire initiale (duplex), les brins d'ADN monocaténaires ont la propriété de s'associer en ADN bicaténaire, si leur séquences en base sont complémentaires, c'est-à-dire ils sont homologues. Cet appariement s'explique par leur complémentarité structurale : la guanine (G) s'associe à la cytosine (C) pour former le doublet G-C, alors que l'adénine (A) s'apparie avec la thymine (T) pour donner le doublet A-T.

On peut recomposer un ADN bicaténaire à partir de monobrins préalablement séparés d'ADN bactérien. Les monobrins homologues (complémentaires) peuvent provenir de la même souche : **hybridation homologue (AxA')** ou de souches différentes (souches A et B) : c'est l'**hybridation hétérologue (AxB)** (figure 3).

L'hybridation permet de déterminer les relations de parenté génétique entre les organismes confrontés (AxB) par l'évaluation de leur taux d'homologie. L'ADN formé par hybridation est un ADN hybride.

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.

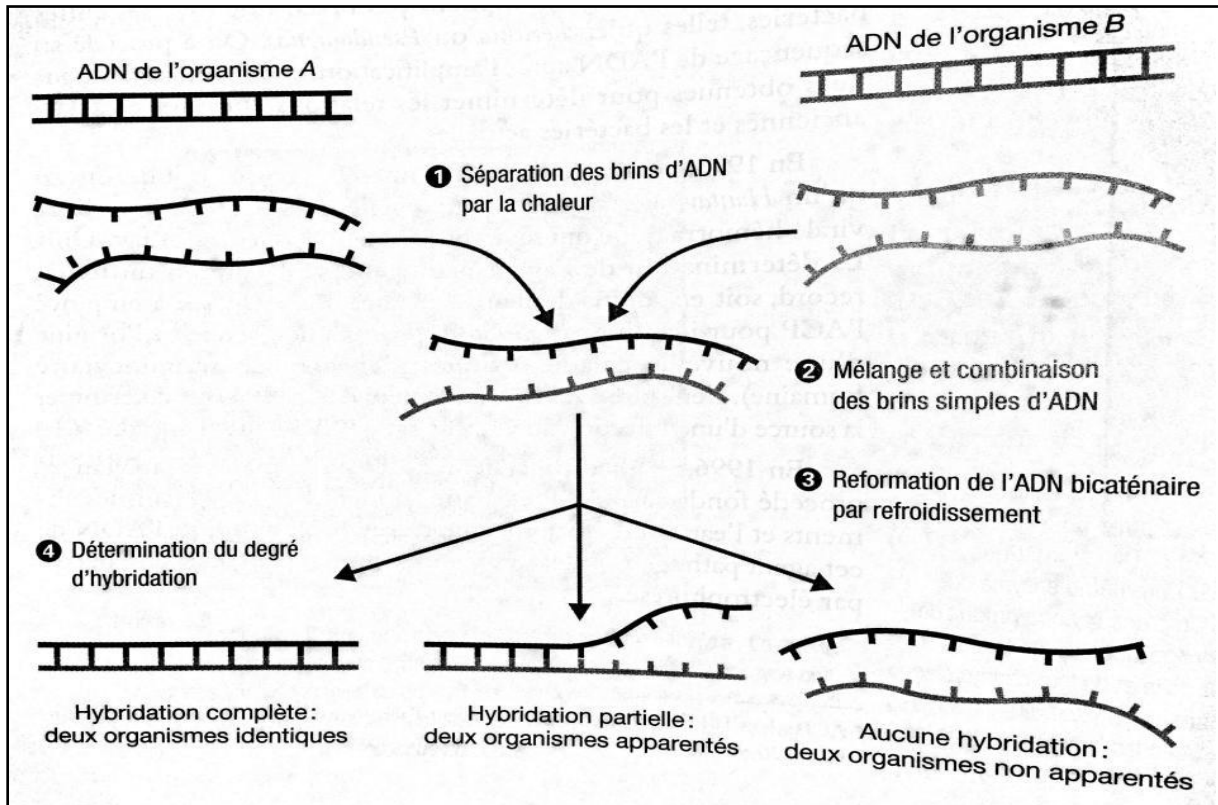


Figure 3 : Les étapes de l'hybridation.

B/Homologie ADN/ADN à T_{or} : l'hybridation de brins d'ADN monocaténaire dépend de leur degré d'homologie, c'est-à-dire complémentarité des séquences de bases les composant. La renaturation (hybridation) de l'ADN est maximale à une température définie appelée : **température optimum de renaturation (T_{or})**, qui est inférieure par une valeur de 25 à 30°C à la température de dénaturation (T_{or} est d'environ 60°C chez les Entérobactéries). A T_{or}, l'homologie c'est-à-dire le pourcentage de bases appariées par rapport aux bases totales est de 70 à 100% entre souches de la même espèce (homoduplex). Ce pourcentage varie de 0 à 60% pour des souches d'espèces différentes (hétéroduplex).

Remarque : l'hybridation concerne, en principe, l'ADN chromosomique, l'ADN plasmidique n'étant pas pris en considération.

C/Stabilité thermique des hybrides : elle est donnée par le paramètre T_{m(e)} (*thermal elution mid point*), qui est la température de dénaturation de 50% de l'hybride. Ce T_m est obtenu par l'élévation progressive de la température de dénaturation dans la solution d'ADN hybridé, au dessus de la température optimum de renaturation (T_{or}).

La comparaison des T_{m(e)} obtenues dans des réactions d'hybridation homologues (AxA') (témoin) et des réactions d'hybridation hétérologues (AxB), permet d'obtenir une estimation précise de la stabilité thermique des hybrides hétérologues, qui est liée à la stabilité chimique

des brins d'ADN hybridés résultant elle-même de la complémentarité de leurs séquences en bases :

*Le $\Delta T_m(e)$ est proportionnelle au pourcentage de paires de bases non appariées, avec 1 à 1.6°C de $\Delta T_m(e)$ pour 1% de bases non appariées.

*Souches de la même espèce $\Delta T_m(e)$: 1 et 5°C, environ 5% de bases non appariées.

*Souches d'espèces différentes $\Delta T_m(e)$: 8 et 20°C.

D/Homologie ADN/ADN à T_{rr} : Cette approche est très utile pour des souches présentant des Homologie ADN/ADN à T_{or}, égalent à 60 -70%. Cette température est défavorable à la renaturation, elle ouvre les ADN hybrides mal ou peu appariés. T_{rr} est la température restrictive de renaturation, elle est de 10 à 15°C en dessous de la température de dénaturation. Elle permet de déceler (identifier) les ADN hybridés mal appariés car sans réelle homologie.

*Souches d'une même espèce ont une homologie ADN/ADN à T_{rr} de 55 à 100%.

*Souches d'espèces différentes ont une homologie ADN/ADN à T_{rr} égale ou inférieure à 50%.

2.3. Taxonomie numérique : la taxinomie numérique ou taxométrie ou taxonomie adansonienne (du nom d'ADANSON son auteur) est en fait une méthode de taxonomie botanique proposée dès le 18^{ème} siècle, et a été adaptée à la taxonomie bactérienne à la fin des années 1950. Mais son utilisation n'est devenue significative que bien plus tard, grâce à la puissance des ordinateurs car elle implique un volume de calcul considérable inaccessible. Elle est basée sur la comparaison de caractères de différentes natures : morphologiques, physiologique, génétiques appartenant à des souches prises deux à deux.

Les caractères retenus sont considérés d'égale valeur et sont quantifiés numériquement, de manière à établir des distances taxonomiques qui traduisent la similarité (ressemblance) et les parentés génétiques entre les organismes confrontés. La quantification binaire (0 ou 1, c'est-à-dire absence ou présence du caractère) des similitudes et des différences permet alors de caractériser les taxons 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. Le coefficient de similitude peut être défini par la relation suivante :

$$S_{AB} = nS^+ / nS^+ + nd$$

S_{AB} : coefficient de similitude entre la souche A et la souche B

nS⁺ : nombre de caractère similaires

nd : nombre de caractères différents pour donner une valeur significative à l'étude.

3. Les grands groupes de bactéries

Les bactéries sont réunies dans le règne des *Procaryotae* qui comprend quatre divisions définies sur la base de la présence ou l'absence d'une paroi cellulaire, et sur sa nature, quand elle est présente. Cependant, ce critère commun peut réunir des bactéries très hétérogène par : leurs morphologies, leurs types trophiques, leurs modes de reproduction, leur écologie.

Les trois premières divisions sont formées d'Eubactéries dont les deux premières possèdent une paroi alors que la 3^{ème} en dépourvue. La 4^{ème} division regroupe l'ensemble des Archaeobactéries qui ont pour la plupart une paroi mais elle est de structure et de composition différente de celle des Eubactéries.

Les 4 divisions de bactéries sont les suivantes :

3.1. Gracilicutes : *Gracilis cutis* : peau fine. Eubactéries possédant une paroi de type GRAM négatif, c-à-d composée de deux éléments : le peptidoglycane et la membrane externe qui leur est spécifique.

3.2. Firmicutes : *Firmus cutis* : peau dure. Eubactéries ayant une paroi type GRAM positif, c-à-d formée d'un seul élément le peptidoglycane.

3.3. Ténéricutes : *Tener cutis* : peau tendre. Eubactéries dépourvues de paroi, leur membrane cytoplasmique constituant leur enveloppe externe.

3.4. Mendosicutes : *mendosus cutis* : peau défectueuse. Archaeobactéries qui en général possèdent une paroi mais certaines espèces ont dépourvues. Quand elle est présente, la paroi est de composition chimique différente de celle des Eubactéries mais elle possède le même type de structure et le même rôle.

Dans la deuxième édition du manuel de Bergey, les procaryotes sont divisés en deux domaines : les **Archaea** (*Archaeobacteria*) et les **Bacteria** (*Eubacteria*), qui comprennent **34 phylums**. 29 pour *Eubacteria* et 5 pour *Archaeobacteria*. Tous ces organismes sont formés de cellules procaryotes. Chaque domaine est divisé en embranchement (phylum), chaque embranchement en classe et ainsi de suite (tableau 2).

Tableau 2 : Division des procaryotes.

Domaines	2	<i>Archaea</i>	<i>Bacteria</i>
Phylums	34	5	29
Classes	57	9	48
Sous-Classes	6	0	6
Ordres	119	15	104
Sous-ordres	20	0	20
Familles	292	26	266
Genres	2100 environ	108	2000 environ
Espèces	7 300 environ	250 environ	7 000 environ
Sous-espèces	450 environ	0	450 environ