République Algérienne Démocratique Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique
Université des
Sciences et de la Technologie d'Oran « Mohamed Boudiaf »
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département du Vivant et de l'Environnement

Polycopié

Destiné aux étudiants de Licence 3^{ème} année « Microbiologie »

SYSTEMATIQUE DES PROCARYOTES

(Bactéries et Archaea)

Elaboré par:
Dr. BEGHALEM HAMIDA

Préface:

Ce manuel regroupe des informations pédagogiques et scientifiques qu'un étudiant de Licence Microbiologie doit savoir sur la Systématique des Procaryotes il explique toutes les bases de ce cours de façon chronologique.

Ce document est un outil d'enseignement universitaire, est la suite et l'approfondissement des connaissances acquises en L2 (S4) : U.E. de Microbiologie générale. Il s'adresse principalement aux étudiants en biologie (Licence) et a pour objectif d'aboutir à un diagnostic bactériologique de l'ensemble des bactéries et des Archaea selon les données de la nouvelle édition du Bergey's Manual (Vol 1, 2, 3, 4 et 5). En plus des caractères classiques de détermination des procaryotes, l'apport de l'outil moléculaire sur lequel se base le Bergey pour l'identification des bactéries et des Archaea est d'une grande importance.

Ce Manuel est inspiré du programme proposé dans le canevas de Licence Microbiologie pour la matière Systématique des Procaryotes (Bactéries et Archaea).

Liste des Figures

Figure 1 Structure hiérarchique en taxonomie

Figure 2 l'arbre phylogénétique universel

Figure 3 Structure d'une cellule procaryote

Figure 4 Quelques-uns des principaux clades des Bacteria et Archeae

Figure 5 Dendrogramme montrant les résultats de l'analyse phénétique.

Figure 6 La séparation des protéines par électrophorèse à (a) 2-D PAGE et (b) SDS-PAGE

Figure 7 Examen du gène ARNr de trois isolats microbiens par l'utilisation de l'analyse RFLP

La figure 8 La résolution taxinomique relative de diverses techniques moléculaires

Figure 9 Portion d'un séquençage d'ADN automatisé

Figure 10 Les relations phylogénétiques parmi les Bacteria et les Archae

Figure 11 Phylogénie des bactéries

Figure 12 Les relations phylogéniques entre γ -protéobactéries

Figure 13 La classification du phylum des Actinobacteria

Figure 14 Les relations phylogénétiques dans le phylum des *Firmicutes*

Liste des tableaux

Tableau 1 : La comparaison des Bacteria, Archaea

Tableau 2 Les différences caractéristiques entre les bactéries Gram positive et négative.

Tableau 3 Quelques caractères morphologiques utilisés pour la classification et l'identification

Tableau 4 Caractéristiques des principaux groupes physiologiques archéens

Sommaire

Préface

Liste des figures

Liste des tableaux

I.	Introduction à la systématique	1
	A- Taxonomie	1
	B- Systématique	1
II.	Les différents groupes bactériens et archaéens	3
	II-1 Les procaryotes	4
	A- Les bactéries	5
	B- Les Archéobactéries	5
III.	Principes de la taxonomie chez les bactéries selon "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology"2013.	7
IV.	Principaux types de classification	10
	IV-1 Taxonomie phénotypique	10
	IV-2 Taxonomie numérique	13
	IV-3 Taxonomie moléculaire	14
	IV-4 Taxonomie phylogénique	17
V.	Les grands phylums bactériens selon la classification du Bergey's Manual :	
	biologie, taxonomie, morphologie et écologie :	20
	1. Phylum Proteobacteria :	20
	• Classe 1: Alphaproteobacteria	21
	• Classe 2: Betaproteobacteria	23
	• Classe 3: Gammaproteobacteria	25
	• Classe 4 : Deltaprotéobactéria	31
	• Classe 5 : Epselonproteobacteria	32
VI.	Etudes des grands groupes bactériens	
	VI-1 Les bactéries Gram négatives autres que les Proteobacteria	33
	• VI-2 Les bactéries Gram positives	37
VII.	Les Archaea :	42
	VII -1 Les Euryarchaeota	44
	VII-2 Les Crenarchaeota	47

I. Introduction à la systématique

A- La taxinomie ou taxonomie (du grec *taxi*= disposition ou ordre ; *nomis*= lois ou nemein) est la discipline scientifique qui consiste à nommer, décrire et classer les êtres vivants. Cette science, très formalisée, obéit aux instructions de codes internationaux de nomenclature.

B- La systématique quant à elle a pour objectifs l'étude de la diversité des organismes et la compréhension des relations entre les organismes vivants et fossiles, c'est-à-dire leurs degrés de parenté. Ce que l'on appelle actuellement **biosystematique**, est une approche moderne de la systématique qui fait appel à des informations de différentes origines: morphologie, génétique, biologie, comportement, écologie, etc.

Au sens large, la systématique est faite de trois parties séparées mais reliées entre elles : la classification, la nomenclature et l'identification.

- **La classification** est l'arrangement des organismes en groupes ou taxons selon leur similitude ou leur parenté évolutive.
- **La nomenclature** est la branche de la taxinomie qui occupe de donner des noms aux groupes taxinomiques selon des règles publiées.
- **L'identification** est le côté pratique de la taxinomie, elle consiste à déterminer qu'un isolat particulier appartient à un taxon connu.

Les rangs taxonomiques :

En préparant une classification, on place le micro-organisme à l'intérieur d'un petit groupe homogène qui est lui-même membre d'un groupe plus large dans une organisation hiérarchique et non chevauchante. A n'importe quel rang, une catégorie unit des groupes du niveau inférieur d'après leurs propriétés communes (Figure. 1). Dans la taxonomie des procaryotes, les niveaux ou les rangs les plus utilisés sont par ordre ascendant, les espèces, les genres, les familles, les ordres, les classes, les phylums.

Figure 1 Structure hiérarchique en taxonomie

Le groupe de base en taxinomie est l'espèce qui est un ensemble de souches partageant de nombreuses propriétés stables et différent de façon significative des autres groupes de souches. La définition la plus précise a été proposée par les taxinomistes bactériens ; une espèce est un ensemble de souches qui ont une teneur en GC similaire et une similarité de 70% ou plus.

Une souche est une population d'organismes qui se distingue d'autres populations à l'intérieur d'une catégorie taxinomique particulière. Il y a de nombreuses façons de décrire les différences à l'intérieur d'une espèce. Des biovars sont des souches procaryotes variantes caractérisées par des différences biochimiques ou physiologiques ; les morphovars diffèrent morphologiquement et les sérovvars ont des propriétés antigéniques distinctes. Une souche d'une espèce est désignée comme la souche type.

- **Différentes approches taxonomiques**

Les systèmes de classification peuvent être construits de deux façons générales. On peut grouper les organismes sur base d'une similarité d'ensemble pour former un système phénétique ; ou bien les grouper sur base de relations évolutives probables, ce qui donne un système phylogénétique. Pour établir des classifications phénétiques, on peut recourir aux ordinateurs pour analyser les données. C'est le processus appelé taxinomie numérique.

a- Taxonomie phénétique :

Elle compare beaucoup de caractères sans présumer que l'un est plus important phylogénétiquement que les autres ; ainsi, des caractères non pondérés sont utilisés pour

l'estimation d'une similitude générale. Des organismes qui partagent beaucoup de caractères forment ainsi un groupe unique ou taxon.

b- Taxonomie phylogénétique :

A la suite de la publication en 1859 de l'œuvre de Darwin de l'origine des espèces, les biologistes essayèrent de développer des systèmes de classification phylogénique ou phylétique. Il s'agit de systèmes basés sur des relations évolutives plutôt que sur une ressemblance générale : le terme phylogénie « du grec phylon, tribu ou race et genesis, génération ou origine » se reporte au développement évolutif d'une espèce.

c- Taxonomie polyphasique :

Dans cette approche, les systèmes taxinomiques sont établis en utilisant une large gamme d'informations phénotypiques et génotypiques, allant des propriétés moléculaires aux caractéristiques écologiques.

II. Les différents groupes bactériens et archaéens :

Les études de Carl Woese et de ses collaborateurs sur les séquences d'ARNr des cellules procaryotes suggèrent que ceux-ci se sont séparés en deux groupes distincts. La figure 2 trace un arbre phylogénique universel qui reflète cette vision des choses. L'arbre se divise en trois branches principales qui représentent les trois domaines : *Eucarya*, *Bacteria* et *Archaea*, ces deux derniers groupes constituant les Procaryotes.

Figure 2 l'arbre phylogénétique universel

II-1 Les procaryotes

Les **Procaryotes** apparaissent il y a 3,5 milliards d'années environ. Depuis cette époque, ils se sont adaptés et ont prospéré sur une planète dont les caractéristiques environnementales ont changé en permanence et sont présents dans presque tous les milieux où la vie peut exister. Ils ont eux-mêmes contribué aux modifications de l'environnement terrestre. Par rapport aux Eucaryotes, les Procaryotes ne possèdent pas un véritable noyau limité par une membrane (Figure 3), mais l'ADN forme un enchevêtrement qualifié de nucléotide. Cet enchevêtrement correspond en réalité à l'unique chromosome bactérien, dont la molécule d'ADN porte tous les gènes nécessaires à la vie cellulaire (de l'ordre de milliers). Parfois la cellule procaryote comporte d'autres ADN, beaucoup plus petits, appelés plasmides et qui ne comptent que quelques gènes chacun. Ces plasmides se répliquent indépendamment du chromosome principal et bon nombre d'entre eux peuvent changer de cellule au moment de la conjugaison bactérienne. Les Procaryotes se reproduisent de manière asexuée, par un mode de division cellulaire appelé scissiparité. Dans un milieu favorable, une bactérie peut donner naissance par divisions répétées à un clone de cellules identiques et dont l'effectif croit de manière exponentielle.

Figure 3 Structure d'une cellule procaryote

A- Les bactéries

Une bactérie (du grec *baktêria*, bâton) est une cellule entourée d'une membrane et contenant tous les éléments nécessaires à sa propre reproduction. Les bactéries sont les organismes vivants les plus abondants sur Terre: leur masse cumulée, malgré leur très petite taille (de l'ordre du millième de millimètre) serait comparable à celle des végétaux.

Les bactéries présentent des formes très variées, le plus fréquents étant celles en coques et en bâtonnets.

La paroi des bactéries est composée de peptidoglycane, constitué d'une matrice de polymères glucidiques liés entre eux par de courtes chaînes de polypeptides. Certaines bactéries sécrètent autour de la cellule une capsule protectrice gélatineuse de polysaccharides.

B- Les Archéobactéries

La découverte en 1977 des **Archéobactéries** fut une véritable révolution scientifique. Ces organismes, d'abord identifiés dans des environnements extrêmes (les sources hydrothermales des fonds océaniques, les milieux aquatiques sursaturés, ou les milieux acides) qui ressemblent peut-être à certains habitats de la Terre primitive, seraient en réalité présents dans presque tous les habitats. Les techniques de la biologie moléculaire ont permis de les mettre en évidence dans le plancton marin, dans les sols, et dans les eaux douces continentales, alors qu'ils n'avaient jamais été détectés jusqu'ici en culture *in vitro*.

Les parois des archées sont composées de diverses molécules, entre autre de polysaccharides et de protéines et peut être aussi de composés inorganiques. Un trait distinguant les archées des bactéries est la nature très différente de leurs lipides membranaires. Ceux des archées comportent des hydrocarbures saturés associés par des liaisons covalentes à leurs extrémités, de sorte que leur membrane est constituée d'une seule couche.

Tableau 1 : La comparaison des Bacteria, Archaea

Propriété	<i>Bacteria</i>	<i>Archaea</i>
Noyau entouré d'une membrane, avec nucléole	Absent	Absent
Organites membranaires internes complexes	Absents	Absents
Paroi cellulaire	Presque toujours faite de peptidoglycane contenant de l'acide muramique	Divers types, pas d'acide muramique
Lipides membranaires	Acides gras à chaînes droites et liaisons ester	Chaînes aliphatiques ramifiées et liaisons éther
Vacuoles gazeuses	Présentes	Présentes
ARN de transfert	Présence de thymine dans la plupart des ARNt ; l'ARNt initiateur porte une <i>N-formylméthionine</i>	Pas de thymine dans le bras T ou T ψ C de l'ARNt ; l'ARNt initiateur porte une méthionine
ARNm polycistroniques	Présents	Présents
ARNm avec introns	Absents	Absents
ARNm épissés, avec coiffe et queue polyA	Absents	Absents
Ribosome		
Taille	70S	70S
Réaction du facteur d'élongation 2 avec la toxine diphtérique	Ne réagit pas	Réagit
Sensibilité au chloramphénicol et à la kanamycine	Sensible	Insensible
Sensibilité à l'anisomycine	Insensible	Sensible
ARN polymérase ADN dépendante		
Nombre d'enzymes	Une	Une
Structure	Modèle sous-unitaire simple (six sous-unités)	Modèle sous-unitaire complexe semblable aux enzymes eucaryotes (8-12 sous-unités)
Sensibilité à la rifampicine	Sensible	Insensible
Promoteurs de type polymérase II	Absents	Présents
Métabolisme		
ATPase similaire	Non	Oui
Méthanogenèse	Absente	Présente
Fixation de l'azote	Présente	Présente
Photosynthèse chlorophyllienne	Présente	Absente
Chimiolithotrophie	Présente	Présente

III. Principes de la taxonomie chez les bactéries : les principales bases de la taxonomie actuelle en se basant sur "**Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**"2013.

En 1923, David Bergy, professeur de bactériologie à l'université de Pennsylvanie, est quatre de ces collègues publièrent une classification des bactéries qui pouvait être utilisée pour l'identification des espèces bactériennes, le Bergey's manual of determinative Bacteriology. Ce manuel en est maintenant à sa neuvième édition. La première édition est un travail plus détaillé qui contient les descriptions de toutes les espèces de procaryotes identifiés à ce jour.

La première édition

Le système utilisé dans la première édition est principalement phénétique. Chacune des 33 sections des quatre volumes contient des procaryotes qui ont en commun quelques caractéristiques facilement déterminable et portent un titre qui, soit décrit ces propriétés, soit fournit les noms vernaculaires des procaryotes décrits. Les caractéristiques utilisées pour définir les sections sont des traits courants, tels que la forme et la morphologie générale, les propriétés de coloration de Gram, la dépendance vis-à-vis de l'oxygène, la mobilité, la présence d'endospores, le mode de production d'énergie, etc.

Les groupes procaryotes sont répartis dans les quatre volumes de la façon suivante : (1) les bactéries Gram-négatives d'importance générale, médicale ou industrielle ; (2) les bactéries Gram-positives autre que les actinomycètes ; (3) les bactéries Gram-négatives à propriété distinctes, (4) les actinomycètes (bactéries filamenteuses Gram-positives).

Les réponses à la coloration de Gram jouent un rôle particulièrement important dans cette classification phénétique : elle va jusqu'à déterminer dans quel volume une espèce est placée.

Les réponses à la coloration de Gram sont aussi en corrélation avec beaucoup d'autres propriétés des bactéries. Les bactéries Gram-négatives typiques, les bactéries Gram-positives et les mycoplasmes (bactéries dépourvues de paroi)

Tableau 2 Les différences caractéristiques entre les bactéries Gram positive et négative.

propriétés	Bactéries Gram négatives	Bactéries Gram positives
Paroi cellulaire	Paroi cellulaire de type Gram négatif avec une couche interne de peptidoglycane de 2 à 7nm et une membrane externe épaisse de 7 à 8nm) contenant des lipides, des protéines et des lipopolysaccharides	Paroi cellulaire de type Gram positif homogène et épaisse (20 à 80 nm) faite principalement de peptidoglycane. Il peut y avoir d'autre polysaccharide et des acides techoïque.
Forme cellulaire	Sphère, ovale, bâtonnets droits ou courbés, hélices ou filaments, certaines ont des gaines ou des capsules	Sphères, bâtonnets ou filaments peuvent avoir de vraies ramifications
Reproduction	Scissiparité, parfois bourgeonnement	Scissiparité, les formes filamenteuses croissent par allongement de l'extrémités.
Métabolisme	Phototrophes, chimiolithoautotrophes, ou chimioorganohétérohétérotrophes.	Généralement chimioorganohétérotrophes quelques un sont phototrophes
Mobilité	Mobiles ou non mobiles. La localisation des flagelles. La mobilité peut être due à des filaments axiaux (spirochètes) ou à du glissement.	Le plus souvent non mobiles ; si mobiles ont des flagelles péritriches.
Appendices	Peuvent produire différents types d'appendices : pili, fimbriae, prosthèques, pédoncules	Généralement sans appendices (peuvent avoir des spores sur des hyphes)
Endospores	Ne forment pas d'endospores	Certains groupes formes des endospores

La seconde édition

Le Bergey Manual of Systematic Bacteriology donne le système accepté pour la taxinomie procaryote. La seconde édition du Bergey fournit des classifications phylogénétiques. Les procaryotes y sont divisés en deux domaines et 26 phyla et les archeae sont divisées en deux phyla. Les comparaisons de séquences d'acides nucléiques, particulièrement les séquences d'ARNr 16S, fondent cette classification. La deuxième édition est largement phylogénétique que phénétique donc elle est différente de la première édition.

La seconde édition est publiée en cinq volumes :

Volume 1 Les archéobactéries et les bactéries phototrophes

Volume 2 : les protéobactéries

Volume 3 Les bactérie Gram-positives pauvres en GC

Volume 4 Les bactérie Gram-positives riches en GC

Volume 5 Les planctomycètes, Spirochètes, Fibrobactéries, Bacteroides et Fusobactéries.

Figure 4 Quelques-uns des principaux clades des Bacteria et Archeae

IV. Principaux types de classification :

IV-1 La taxonomie phénétique

La taxonomie phénétique est un système qui groupe les organismes suivant la similitude de leurs caractères phénotypiques. Les études phénétiques ne dépendent pas de l'analyse phylogénique bien qu'elles puissent révéler des relations évolutives. Elles comparent beaucoup de caractères sans présumer que l'un est plus important phylogéniquement que les autres ; ainsi, des caractères non pondérés sont utilisés pour l'estimation d'une similitude générale. La meilleure classification phénétique est évidemment celle qui compare le plus d'attributs possible. Des organismes qui partagent beaucoup de caractères forment ainsi un groupe unique ou taxon.

IV-1-1 Caractéristiques morphologiques

Les traits morphologiques sont importants en taxinomie microbienne pour plusieurs raisons. La morphologie est facile à étudier et à analyser, en particulier pour les micro-organismes eucaryotes et les procaryotes les plus complexes. Les comparaisons morphologiques sont de plus significatives, car la structure dépend de l'expression de nombreux gènes. Beaucoup de caractères morphologiques différents sont utilisés dans la classification et l'identification des micro-organismes (Tableau 3). Bien que le microscope optique ait toujours été un outil très important, sa limite de résolution d'environ 0,2 μm réduit son utilité en ce qui concerne les structures et les micro-organismes plus petits. Ce sont les microscopes électroniques à transmission et à balayage qui, par leur pouvoir de résolution plus élevé, ont beaucoup aidé à l'étude de tous les groupes microbiens.

Tableau 3 Quelques caractères morphologiques utilisés pour la classification et l'identification

Caractère	Croupe microbien
Forme cellulaire	Tous les groupes principaux
Taille cellulaire	Tous les groupes principaux
Morphologie des colonies	Tous les groupes principaux
Caractéristiques ultrastructurales	Tous les groupes principaux
Réaction à la coloration	Bactéries, certains mycètes
Cils et flagelles	Tous les groupes principaux
Mécanisme de mobilité	Bactéries mobiles pas glissement. spirochètes
Forme et localisation de l'endospore	Bactéries formatrices d'endospores
Morphologie et localisation des spores	Bactéries, Algues, Mycètes
Inclusions cellulaires	Tous les groupes principaux
Couleur	Tous les groupes principaux

IV-1-2 Caractéristiques physiologiques et métaboliques

Les caractéristiques physiologiques et métaboliques sont très utiles, car elles sont directement en relation avec la nature et l'activité des enzymes microbiennes et des protéines de transport. Comme les protéines sont les produits des gènes. L'analyse de ces caractéristiques fournit une comparaison indirecte des génomes. Le tableau 4 donne certaines de ces propriétés, parmi les plus importantes.

Tableau 4 Quelques caractères physiologiques et métaboliques utiles à la classification et l'identification
--

Sources de carbone et d'azote
Constituants de la paroi cellulaire
Sources d'énergie
Produits de fermentation
Mode général de nutrition
Optimum et gamme de températures de croissance
Luminescence
Mécanismes de conversion de l'énergie
Mobilité
Tolérance osmotique
Relations avec l'oxygène
Optimum et gamme de pH de croissance
Pigments photosynthétiques
Besoins et tolérance en sel
Métabolites secondaires
Sensibilité aux inhibiteurs métaboliques et aux antibiotiques
Inclusions de réserve

IV-1-3 Caractéristiques écologiques

Beaucoup de propriétés sont de nature écologique, car elles affectent les relations entre micro-organismes et environnement. Elles ont souvent une valeur taxinomique, car des micro-organismes même très proches peuvent différer considérablement quant à leurs caractéristiques écologiques. Les micro-organismes vivant dans diverses parties du corps humain sont très différents l'un de l'autre et très différents de ceux qui se développent dans l'eau douce, l'eau de mer ou sur terre. Comme exemples de caractères écologiques importants taxinomiquement citons les modes de vie, la nature des relations symbiotiques, la propriété de causer une maladie chez un hôte particulier, les préférences d'habitat telles les exigences de température, pH, oxygène et concentration osmotique.

IV-2 La taxinomie numérique

L'approche quantitative appelée taxinomie numérique, est devenu possible grâce à l'avènement des ordinateurs. Peter H.A Sneath et Robert Sokal ont défini la taxinomie numérique comme « le groupement d'unités taxinomiques, en taxons à l'aide de méthodes numériques sur la base des états de leurs caractères ». L'information sur les propriétés des organismes est mise sous une forme convenant à l'analyse numérique, puis est comparée par ordinateur.

Le procédé débute par la détermination de la présence ou de l'absence de caractères sélectionnés dans le groupe d'organismes étudié.

Pour faire une classification précise et fiable, il faut comparer de nombreux caractères, au moins 50. Il est préférable d'inclure de nombreux types de données différentes : morphologiques, biochimiques, et physiologiques.

Après l'analyse des caractères, on calcule pour chaque paire d'organismes du coefficient d'association, une fonction qui mesure l'accord entre les caractères des deux organismes. Parmi les indices les plus couramment utilisés, il y a l'indice de Jaccard Sneath donné par la relation suivante :

$$SAB = nS^+ / nS^+ + nd$$

SAB : 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.

Les résultats de l'analyse taxinomique numérique sont souvent résumés en un arbre appelé dendrogramme (Figure 5). Le diagramme est généralement placé de côté, l'axe des x ou abscisse étant gradué en unités de similitude. Chaque embranchement se situe à la valeur de similitude reliant les deux branches. Les organismes dans les deux branches ont tellement de caractéristiques en commun que les deux groupes ne s'observent séparément qu'après l'examen de coefficients d'association plus élevés que la valeur du point d'embranchement. Les phénons formés à environ 80% de similitude sont souvent équivalents aux espèces. La taxinomie numérique s'est déjà avérée un puissant outil en taxinomie microbienne. Bien que souvent, elle confirme des schémas de classifications préexistantes. Elle a souvent mis en défaut des classifications acceptées.

Figure 5 Dendrogramme montrant les résultats de l'analyse phénétique. Les isolats I et 2 sont des membres d'un phénon 90 et les isolats I à 3 ronflent un phénon R0. Tandis que les souches I à 3 peuvent être membres d'une seule espèce.

IV-3 Caractéristiques moléculaires

Une des meilleures approches de la taxinomie est l'étude des protéines et des acides nucléiques. Ces derniers étant soit les produits directs des gènes soit les gènes eux-mêmes, la comparaison des protéines et des acides nucléiques fournit une information considérable sur les parentés véritables. Ces approches moléculaires plus récentes ont pris de plus en plus d'importance dans la taxinomie des procaryotes.

IV-3-1 Comparaison des protéines

Les séquences en acides aminés des protéines reflètent directement les séquences des ARNm et sont donc étroitement reliées à la structure des gènes qui les encodent. Les comparaisons de protéines de différents micro-organismes sont donc très utiles à la taxinomie. Il y a plusieurs façons de comparer des protéines. L'approche la plus directe est de déterminer la séquence en acides aminés de protéines ayant la même fonction. Comme il est long et coûteux de déterminer la séquence d'une protéine, des méthodes plus indirectes de comparaison ont été fréquemment employées. La mobilité électrophorétique des protéines (Figure 6) est utile à l'étude relationnelle au niveau de l'espèce et de la sous-espèce.

http://biotech.spip.acrouen.fr/IMG/article_PDF/Electrophorose-SDS-PAGE-principe-et_a155.pdf

Figure 6 La séparation des protéines par électrophorèse à (a) 2-D PAGE et (b) SDS-PAGE

Les propriétés physiques, cinétiques et régulatrices des enzymes ont été employées en taxinomie. Comme le comportement d'une enzyme reflète sa séquence en acides aminés, cette approche est utile à l'étude de certains groupes microbiens.

IV-3-2 Composition en bases des acides nucléiques

Les génomes microbiens peuvent être directement comparés et la similitude taxinomique estimée de nombreuses façons. La première technique et probablement la plus simple est de déterminer la composition en bases de l'ADN, ainsi le pourcentage de GC dans l'ADN. L'ADN ayant un contenu en GC plus grand aura plus de liaisons hydrogène et ses chaînes ne se sépareront qu'à des températures plus élevées ; c'est-à-dire qu'il aura un point de fusion plus élevé. On peut suivre facilement la fusion d'un ADN par spectrophotométrie car l'absorbance de la lumière ultra-violette à 260 nm augmente avec la séparation des chaînes.

Si deux organismes diffèrent de plus de 10% dans leur contenu en GC, leurs génomes ont des séquences en bases très différentes.

IV-3-3 Hybridation des acides nucléiques

La similitude entre génomes peut se comparer de façon directe par hybridation des acides nucléiques. L'hybridation ADN-ADN ne peut être utilisée que pour l'étude de micro-organismes très apparentés. On compare des organismes plus distants en

réalisant des hybridations ADN -ARN avec des ARN radioactifs ribosomiaux ou de transfert.

IV-3-4 La prise d'empreintes génomiques

L'ARNr PSU peut aussi être analysé par des méthodes qui ne nécessitent pas de séquençage nucléotidique. À la place, les différences de séquences de gènes ARNr peuvent être identifiées par digestion avec des enzymes de restriction. Souvenez-vous que des enzymes de restriction ne coupent qu'au niveau de leur séquence de reconnaissance, de telle sorte que lorsque ces séquences varient (même d'un seul nucléotide) à l'intérieur du gène ARNr PSU de différents isolats microbiens, des bandes de taille différente (appelées fragments de restriction) apparaîtront quand l'ADN sera soumis à l'électrophorèse. Il y a 2 façons d'examiner les gènes d'ARNr PSU à l'aide des enzymes de restriction. La première méthode, appelée polymorphisme de la longueur des fragments de restriction (RFLP), nécessite l'amplification PCR du gène qui encode l'ARNr afin de fournir suffisamment d'ADN pour l'analyse. L'ADN est alors digéré avec les enzymes de restriction et déposé sur un gel (figure 7). La figure 8 présente la résolution taxinomique relative de diverses techniques moléculaires

Figure 7 Examen du gène ARNr de trois isolats microbiens par l'utilisation de l'analyse RFLP

Famille	Genre	Espèce	Sous-espèce	Souche
Séquençage génomique				
Séquençage de l'ARNr 16S				
GC Mol %				
Hybridation ADN-ADN				
Typage de séquence multilocus				
Profilage des protéines totales				
Prise d'empreinte génomique				

La figure 8 La résolution taxinomique relative de diverses techniques moléculaires

IV-4 La taxonomie phylogénique :

La classification phylogénique à la suite de la publication en 1859 de l'œuvre de Darwin de l'origine des espèces. Les biologistes essayèrent de développer des systèmes de classification phylogénique ou phylétique. Il s'agit de systèmes basés sur des relations évolutives plutôt que sur une ressemblance générale (le terme phylogénie [du grec phylon, tribu ou race et genesis. génération ou originel se rapporte au développement évolutif d'une espèce). La comparaison directe du matériel génétique et des produits de gènes (ARN et protéines) a permis de surmonter certains de ces problèmes.

IV-4-1 Le séquençage

Le séquençage d'ARN est le plus utilisé en taxinomie microbienne (Figure 9). Les séquences qui ont reçu le plus d'attention sont celles des ARNr 5S et I 6S isolés respectivement des sous-unités 50S et 30S des ribosomes bactériens. Les ARNr sont un outil presque idéal dans l'étude de l'évolution et des parentés microbiennes, car ils sont essentiels à un organite critique trouvé chez tous les micro-organismes. Le rôle fonctionnel est le même pour tous les ribosomes. De plus leur structure se modifie

très lentement au cours du temps vraisemblablement à cause de leur rôle crucial et constant. Comme l'ARNr contient des séquences variables et invariables, des micro-organismes aussi bien très proches que très distants peuvent être comparés. Il s'agit là d'un avantage important car les organismes peu apparentés ne peuvent être étudiés que par des séquences qui se modifient peu avec le temps

Figure 9 Portion d'un séquençage d'ADN automatisé

IV-4-2 Les arbres phylogéniques

Les relations phylogéniques sont illustrées sous forme de diagrammes ramifiés ou arbres. Un arbre phylogénique est un graphe fait de branches reliées par des nœuds (Figure 10). Les nœuds représentent des unités taxinomiques telles que l'espèce ou le genre ; les nœuds externes, à l'extrémité des branches, représentent des organismes vivants. L'arbre peut comporter une échelle de temps où la longueur des branches peut représenter le nombre de changements moléculaires qui se sont produits entre les deux nœuds.

Figure 10 Les relations phylogénétiques parmi les Bacteria et les Archaea

La taxonomie moderne nommée « Taxinomie polyphasique » est établie en utilisant une large gamme d'informations phénotypiques et génotypiques, allant des propriétés moléculaires aux caractéristiques écologiques.

**V. Les grands phylums bactériens selon la classification du Bergey's Manual :
biologie, taxonomie, morphologie et écologie :**

La figure 11 regroupe les grands phylums bactériens en se basant sur la comparaison des ARNr 16S.

Figure 11 Phylogénie des bactéries

Phylum Proteobacteria :

Les protéobactéries constituent le groupe de bactéries le plus grand et le plus diversifié. Il compte actuellement plus de 380 genres et 1.300 familles. Bien que les études de l'ARNr *I6S* montrent qu'elles sont phylogéniquement apparentées, les protéobactéries offrent à beaucoup d'égards des variations marquées. La morphologie de ces bactéries Gram-négatives va des bâtonnets et coques simples, aux genres formant des prosthèques, des bourgeons et même des fructifications.

Physiologiquement, ces bactéries sont aussi diverses. Photoautotrophes, chimolithotrophes et chimiohétérotrophes sont tous bien représentés.

La comparaison des séquences de l'*ARNr 16S* a révélé cinq sous-groupes, la seconde édition du Bergey place tous ces procaryotes dans le phylum de **Proteobacteria**, qui compte cinq classes : **les Alphaproteobacteria**, **les Betaproteobacteria**, **les Gammaproteobacteria**, **les Deltaproteobacteria** et **les Epsilonproteobacteria**.

Classe 1: Alphaproteobacteria

Les α -protéobactéries incluent la plupart des protéobactéries oligotrophes. Certaines ont des métabolismes inhabituels comme la méthylotrophie (*Methylobacterium*) et la capacité de fixer l'azote (*Nitrobacter*). Les membres de genres comme *Rickettsia* et *Brucella* sont des pathogènes importants : en fait, *Rickettsia* est devenu un parasite intracellulaire obligatoire. De nombreux genres se caractérisent par des caractères morphologiques distinctifs, comme les prosthèques.

La classe des α -lphaproteobacteria comprend six ordres et 18 familles.

A- Rickettsia et Coxiella

La première édition place ces deux genres et d'autres bactéries à croissance intracellulaire dans une section séparée, et elle sont présentées ensemble à cause de la similarité de leur mode de vie, bien qu'ils soient en apparence phylogéniquement distants. Ces bactéries sont bacilliformes, coccoïdes ou pléomorphes, avec des parois Gram-négatives typiques et sans flagelles. Bien que de tailles variées, ces bactéries sont fort petites. Par exemple, *Rickettsia* mesure 0,3 à 0,5 μm de diamètre et 0,8 à 2,0 μm de long : *Coxiella* à 0,2 à 0,4 μm sur 0,4 à 1 μm . Tous sont parasites ou mutualistes. Les formes parasites se développent chez les vertébrés dans les érythrocytes, les cellules réticuloendothéliales et les cellules de l'endothélium vasculaire. Elles vivent aussi souvent chez les arthropodes suceurs de sang, tels que puces, tiques, mites ou poux qui servent de vecteurs ou d'hôtes primaires. Les rickettsies pénètrent dans la cellule hôte en induisant la phagocytose. Les membres du genre *Rickettsia* s'échappent immédiatement du phagosome et se reproduisent par scission binaire dans le cytoplasme. Au contraire, *Coxiella* reste à l'intérieur du phagosome après la fusion de celui-ci avec un lysosome et se reproduit en fait à l'intérieur d'un phagolysosome. La cellule hôte éclate parfois, libérant de nouveaux organismes. Outre le dommage provenant de la lyse cellulaire, l'hôte souffre des effets toxiques des parois des rickettsies. Ces ordres comprennent de nombreux pathogènes

importants. *Rickettsia prowazekii* et *R. typhi* sont associés au typhus et *R. rickettsii* à la fièvre pourprée des Montagnes Rocheuses. *Coxiella burnetii* est responsable de la fièvre Q chez les humains.

B- Les *Caulobacteraceae* et les *Hyphomicrobiaceae*

Certaines des α -protéobactéries ne sont pas de simples bâtonnets ou coques, mais possèdent des appendices. Ces bactéries présentent au moins une des trois caractéristiques suivantes : une prosthèque, un pédoncule ou une reproduction par bourgeonnement. Au début du cycle reproductif, la cellule mature produit un hyphes ou prosthèque d'un diamètre de 0,2 à 0,3 μm qui s'allonge sur plusieurs μm . Les familles des *Caulobacteraceae* et des *Hyphomicrobiaceae* des α -protéobactéries contiennent deux des genres à prosthèque les mieux étudiés : *Caulobacter* et *Hyphomicrobium*.

- **Le genre *Hyphomicrobium***

Le genre *Hyphomicrobium* est fait de bactéries bourgeonnantes, aérobies, chimiohétérotrophes et fréquemment fixées à des supports solides dans des habitats d'eau douce, marins et terrestres.

La physiologie et la nutrition d' *Hyphomicrobium* sont aussi particulières. Ce ne sont ni les sucres, ni les acides aminés qui permettent une croissance abondante : au contraire. *Hyphomicrobium* se développe sur de l'éthanol et de l'acétate, il abonde sur des composés monocarbonés tels le méthanol, le formiate et le formaldéhyde. Il s'agit donc d'un méthylotrophe facultatif qui tire son énergie et son carbone de composés réduits monocarbonés.

- **Le genre *Caulobacter***

Les bactéries du genre *Caulobacter* peuvent être des bâtonnets à flagelle polaire ou posséder une prosthèque et un crampon grâce auquel elles s'attachent à un substrat solide. On isole généralement les *Caulobacter* d'eaux douces et marines à niveau nutritionnel faible ; ils sont aussi présents dans le sol. Ils adhèrent souvent à des bactéries, des algues et d'autres microorganismes et absorbent les aliments libérés par leurs hôtes. Leur prosthèque est différente de celle d' *Hyphomicrobium*, car elle est dépourvue d'éléments cytoplasmiques et est composée presque en totalité de la membrane plasmique et de la paroi cellulaire. Elle s'allonge dans des milieux pauvres et peut atteindre plus de dix fois la dimension de la cellule.

Par l'accroissement de la surface cellulaire, la prosthèque améliore la prise d'aliments dans des milieux dilués elle accroît aussi la flottaison de la cellule.

C- La famille des Rhizobiaceae

Dans la seconde édition du Bergey, l'ordre des *Rhizobiales* dans les α -protéobactéries contiendra 10 familles avec une grande variété de phénotypes. La première famille de cet ordre est celle des *Rhizobiaceae*, où figurent les genres Gram-négatifs aérobies, *Rhizobium* et *Agrobacterium*.

- **Les membres du genre *Rhizobium*** sont des bâtonnets mobiles de 0,3 à 0,9 sur 1,2 à 3,0 μm . Ils se transforment en bactéroïdes symbiotiques, fixateurs d'azote dans les cellules des nodules radiculaires des légumineuses.
- **Le genre *Agrobacterium*** est placé dans la famille des *Rhizobiaceae*, mais diffère de *Rhizobium* en ne fixant pas l'azote et en ne stimulant pas la formation de nodules radiculaires. Au lieu de cela, les *Agrobacterium* envahissent les collets, racines et tiges de nombreuses plantes et transforment les cellules végétales en cellules tumorales dont la prolifération est autonome. L'espèce la mieux étudiée est *A. tumefaciens* qui pénètre dans beaucoup de plantes à larges feuilles par des blessures et cause la maladie de la galle du collet (crown gall).

Classe 2: Betaproteobacteria

En ce qui concerne le métabolisme, les β -protéobactéries ont des modes communs avec les α -protéobactéries, mais elles tendent à utiliser des substances libérées par la décomposition organique, dans les régions anaérobies des habitats. Certaines de ces bactéries emploient l'hydrogène, l'ammoniac, le méthane, les acides gras volatils et des substances similaires. Comme chez les α -protéobactéries, on trouve chez elles une diversité métabolique considérable. Les β -protéobactéries peuvent être chimiohétérotrophes, photolithotrophes, méthylotrophes et chimiolithotrophes. Le sous-groupe accueille deux genres qui contiennent d'importants pathogènes de l'homme : *Neisseria* et *Bordetella*. La classe des Betaproteobacteria comprend six ordres et 12 familles.

A- L'ordre des *Neisseriales*

La seconde édition place dans cet ordre une famille, les *Neisseriaceae*, et lui assigne 14 genres. Le genre le mieux connu et le plus étudié est *Neisseria*. Les membres de ce

genre sont des coques Gram-négatifs, aérobies, non mobiles, qu'on trouve le plus souvent par paires avec les côtés adjacents aplatis. Ils peuvent avoir des capsules et des fimbriae. Le genre est chimioorganotrophe, oxydase-positif et presque toujours catalase-positif.

Il y a des espèces qui colonisent les muqueuses des mammifères et certaines sont pathogènes pour l'homme. *Neisseria gonorrhoeae* est l'agent causal de la gonorrhée, *Neisseria meningitidis* est responsable de certains cas de méningite.

B- L'ordre des *Burkholderiales*

L'ordre contient cinq familles, dont trois comprennent des genres bien connus. Le genre *Burkholderia* fait partie de la famille des *Burkholderiaceae*. Ce genre a été créé lorsque le genre *Pseudomonas* fut divisé en sept nouveaux genres au moins, sur base des données de l'ARNr 16S : *Acidovorax*, *Aminobacter*, *Burkholderia*, *Comamonas*, *Deleya*, *Hydrogenophaga* et *Methylobacterium*. Les membres du genre *Burkholderia* sont des bâtonnets droits, mésophiles, non sporulants, non fermentants, aérobies et Gram-négatifs. Ils produisent de la catalase et sont souvent oxydase-positifs. La plupart des espèces utilisent le poly-D-hydroxybutyrate comme réserve de carbone.

- **La famille des *Alcaligenaceae*** comprend le genre *Bordetella*. Ce genre est composé de coccobacilles aérobies, Gram-négatifs, d'une taille d'environ 0,2 à 0,5 sur 0,5 à 2,0 μm . *Bordetella* est un chimioorganotrophe, au métabolisme respiratoire, qui requiert du soufre organique et de l'azote (acides aminés) pour sa croissance. C'est un parasite des mammifères qui se multiplie dans les cellules de l'épithélium respiratoire. *Bordetella pertussis* est une espèce encapsulée, non mobile, cause de la coqueluche.
- **La famille des *Comamonadaceae*** contient 15 genres avec des caractéristiques très diverses. Certains genres (p. ex. *Sphaerotilus* et *Leptothrix*) possèdent une gaine, structure tubulaire creuse entourant une chaîne de cellules. Les gaines sont souvent serrées mais ne sont jamais en contact avec les cellules qu'elles enferment. Elles peuvent contenir des oxydes de fer ou de manganèse. Elles ont au moins deux fonctions. Les gaines aident les bactéries à s'attacher à des surfaces solides et à capter les aliments d'eaux à courant lent même si celles-ci sont pauvres. Les gaines protègent aussi contre des prédateurs tels les

protozoaires et *Bdellovibrio*. Deux genres bien étudiés sont *Sphaerotilus* et *Leptothrix*.

C- L'ordre des *Nitrosomonadales*

On trouve de nombreux chimiolithotrophes dans l'ordre des *Nitrosomonadales*. Deux genres de bactéries nitrifiantes (*Nitrosomonas* et *Nitrospira*) sont placés ici, dans la famille des *Nitrosomonadaceae*. Le chimiolithotrophe pédonculé *Gallionella* fait partie de cet ordre-ci.

D- L'ordre des *Hydrogenophilales*

Les genres *Thiobacillus* et *Thiomicrospira* sont les plus connues. *Thiobacillus*, un des chimiolithotrophes les mieux étudiés et la plus remarquable des bactéries sulfureuses incolores, c'est un bâtonnet Gram-négatif et *Thiomicrospira* ont une longue cellule spiralée. Tous les deux ont un flagelle polaire. Bien que *Thiobacillus* utilise normalement le CO₂ comme source principale de carbone, *T. novellus* et quelques autres souches peuvent se développer de façon hétérotrophe.

Les *thiobacilles* sont souvent la cause d'une grosse pollution acide et métallique lors qu'ils libèrent des métaux à partir de déchets miniers. Cependant, les bactéries oxydatrices du soufre sont aussi bénéfiques : elles peuvent accroître la fertilité d'un sol quand elles libèrent du soufre indisponible en l'oxydant en sulfate.

Classe 3: *Gammaproteobacteria*

Les γ -protéobactéries constituent le plus grand sous-groupe des protéobactéries, d'une extraordinaire variété de types physiologiques. Beaucoup de genres importants sont chimioorganotrophes et aérobies facultatifs. D'autres genres contiennent des chimioorganotrophes aérobies, des photolithotrophes ou des méthylotrophes. Selon certaines études d'hybridation ADN-ARNr, les γ -protéobactéries sont composées de plusieurs groupes issus de branches anciennes (Figure 12). L'un est celui des bactéries pourpres sulfureuses ; un second comprend les parasites intracellulaires *Legionella* et *Coxiella*. Les deux plus grands groupes comptent une large variété de genres non photosynthétiques. La superfamille 1 selon l'ARN ribosomal est représentée par les familles des *Vibrionaceae*, des *Enterobacteriaceae* et des *Pasteurellaceae*. Les genres *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Moraxella*, *Xanthomonas* et *Acinetobacter* appartiennent à cette superfamille. L'exceptionnelle diversité de ces bactéries apparaît dans la seconde édition du *Bergey* qui divise la classe de *Gammaproteobacteria* en 13 ordres, 20 familles et environ 160 genres.

Les **bactéries pourpres sulfureuses** seront décrites ici, puisqu'il s'agit de γ -*protéobactéries*. Le manuel de Bergey divise les bactéries pourpres sulfureuses en deux familles : les *Chromatiaceae* et les *Ectothiorhodospiraceae*. Dans la seconde édition, ces familles sont dans l'ordre des *Chromatiales*. La famille des *Ectothiorhodospiraceae* compte cinq genres. Les cellules d'*Ectothiorhodospira* sont rouges, en forme de spirale, flagellées aux pôles. Les bactéries pourpres sulfureuses sont des anaérobies strictes, généralement photolithoautotrophes. Elles oxydent le sulfure d'hydrogène en soufre et le déposent à l'intérieur de la cellule sous forme de granules de soufre. On les trouve dans les zones lacustres anaérobies et riches en sulfures.

Figure 12 Les relations phylogéniques entre γ -protéobactéries

A- L'ordre des *Thiotrichales*

L'ordre des *Thiotrichales* comprend trois familles, dont la plus grande est celle des *Thiotrichaceae*. Il y a dans cette famille plusieurs genres qui oxydent les composés soufrés. Du point de vue morphologique, on trouve des bâtonnets et des formes filamenteuses. Deux des genres les mieux étudiés de cet ordre sont *Beggiatoa* et *Leucothrix*. *Beggiatoa* est microaérophile, il se développe dans des habitats riches en sulfure, tels les sources sulfureuses, l'eau douce avec des plantes en décomposition, les rivières, les marais salants et les sédiments marins. Ses filaments contiennent des cellules courtes en forme de disque et sans gaine. *Leucothrix* est un chimioorganotrophe aérobic qui forme de longs filaments ou trichomes qui ont jusqu'à 400 µm de long. Il est habituellement marin et s'attache à des substrats solides au moyen d'un crampon. *Leucothrix* a un cycle biologique complexe où la dispersion s'effectue par formation de gonidies. *Thiothrix* est un genre voisin qui forme des filaments gainés et libère des gonidies par l'extrémité ouverte de la gaine.

B- L'ordre des *Méthylcoccales*

La famille des *Methylococcaceae* contient des bâtonnets, des vibrions et des coques qui utilisent le méthane et le méthanol comme seules sources de carbone et d'énergie dans des conditions aérobies ou microaérobies. Ainsi, il s'agit de méthylotrophes. La famille contient six genres : nous en citerons deux : *Methylococcus* (cellules sphériques non mobiles) et *Methylomonas* (bâtonnets droits, incurvés ou ramifiés avec un flagelle polaire unique). La croissance méthylotrophe dépend de la présence de méthane et de composés apparentés. Les bactéries méthylotrophes se développent dans le monde entier dans des habitats anaérobies. Les bactéries oxydatrices de méthane, utilisent le méthane comme seule source de carbone et d'énergie.

C- L'ordre des *Pseudomonadales*

- **Le genre *Pseudomonas*** est le genre le plus important dans l'ordre des *Pseudomonadales*, famille des *Pseudomonadaceae*. Ce genre contient des bâtonnets droits ou faiblement incurvés de 0,5 à 1,0 µm sur 1.5 à 5.0 µm de long. Ils sont mobiles grâce à un ou plusieurs flagelles polaires et sont dépourvus de prosthèque ou de gaine. Ces chimiohétérotrophes sont aérobies et leur métabolisme respiratoire utilise l'O₂ (et parfois des nitrates) comme accepteur d'électrons. Dans la première édition, le genre est un taxon exceptionnellement hétérogène, fait de 70 espèces ou plus. La seconde édition du Bergey a réduit

drastiquement la taille du genre *Pseudomonas*, en transférant des espèces dans plusieurs genres nouveaux (p. ex. : *Burkholderia*, *Hydrogenophaga* et *Methylobacterium*).

L'impact pratique des pseudomonades est très important pour les raisons suivantes : 1. De nombreuses espèces peuvent dégrader une variété exceptionnellement large de molécules organiques. Ainsi, elles sont très importantes dans le processus de minéralisation (la dégradation microbienne de matériaux organiques en substances inorganiques) dans la nature et le traitement des déchets. Comme sources de carbone et d'énergie, les pseudomonades fluorescentes peuvent utiliser environ 80 substances.

Certaines pseudomonades sont des agents pathogènes animaux et végétaux importants. *P. aeruginosa* infecte les personnes les moins résistantes, envahit les tissus brûlés et cause des infections des voies urinaires.

Des pseudomonades telles que *P. fluorescens* sont impliquées dans l'avarie du lait, de viandes, d'oeufs et de fruits de mer réfrigérés ; elles se développent en effet à 4 °C et dégradent lipides et protéines

- **Le genre *Azotobacter*** fait aussi partie de la famille des *Pseudomonadaceae*. Le genre rassemble de grandes bactéries ovoïdes, de 1,5 à 2,0 µm de diamètre, qui peuvent être mobiles grâce à des flagelles péritriches. Les cellules sont souvent pléomorphes, allant des bâtonnets aux formes coccoïdes, et forment des cystes lorsque la culture vieillit. Le genre est aérobic, catalase-positif et fixe l'azote sans symbiose. *Azotobacter* est très répandu dans les sols et dans les eaux.

D- L'ordre des Vibrionales

L'ordre des *Vibrionales* ne compte qu'une seule famille, les *Vibrionaceae*. Les membres de la famille des *Vibrionaceae* sont des bâtonnets Gram-négatifs droits ou incurvés, possédant des flagelles polaires. La plupart sont oxydase-positifs et tous utilisent le D-glucose comme source unique ou principale de carbone et d'énergie. En majorité, ce sont des micro-organismes aquatiques très répandus dans les eaux douces et marines. Il y a six genres dans la famille : *Vibrio*, *Photobacterium*, *Enhydrobacter*, *Salinivibrio*, *Listonella* et *Allomonas*.

Plusieurs vibrions sont des pathogènes importants, *V. cholerae* est l'agent responsable du choléra et *V. parahaemolyticus* cause parfois des gastroentérites

chez les humains après consommation de limas de mer contaminés. *V. anguillarum* et d'autres sont responsables de maladies chez les poissons.

Plusieurs membres de la famille se distinguent parce que bioluminescents. *Vibrio fischeri* et au moins deux espèces de *Photobacterium* sont parmi les quelques bactéries marines douées de bioluminescence, elles émettent une lumière bleu-vert grâce à l'activité d'une luciférase.

E- L'ordre des *Enterobacteriales*

La famille des *Enterobacteriaceae* est la plus grande des familles, elle contient des bâtonnets droits Gram-négatifs à flagelles péritriches ou non mobiles, et facultativement anaérobies, dont les besoins nutritionnels sont simples. Dans la seconde édition, l'ordre des *Enterobacteriales* ne compte qu'une famille, les *Enterobacteriaceae*, avec 41 genres. Les propriétés métaboliques des *Enterobacteriaceae* sont très utiles à la caractérisation des genres. Les membres de cette famille, souvent appelés entérobactéries ou bactéries entériques (du grec *enterikos*, appartenant à l'intestin), dégradent tous les sucres par la voie d'Embden-Meyerhof et clivent l'acide pyruvique pour donner de l'acide formique dans des fermentations formiques.

La famille se divise en deux groupes selon les produits de fermentation. En majorité (soit les genres *Escherichia*, *Proteus*, *Salmonella* et *Shigella*), ils réalisent une fermentation acide mixte et produisent principalement du lactate, de l'acétate, du succinate, du formiate et de l'éthanol. Dans la fermentation butanediolique, les produits principaux sont le butanediol, l'éthanol et l'anhydride carbonique. *Enterobacter*, *Serratia*, *Erwinia* et *Klebsiella* ont une fermentation butanediolique. Ces deux types de fermentation formique se distinguent par les tests au rouge de méthyle et de Voges-Proskauer.

Comme les bactéries entériques ont une morphologie très semblable, on utilise normalement des tests biochimiques pour les identifier après un examen préliminaire de leur morphologie, de leur mobilité et de leur croissance. Les tests les plus communément utilisés sont : le type de fermentation formique, l'utilisation du lactose et du citrate, la production d'indole à partir de tryptophane, l'hydrolyse de l'urée et la production de sulfure d'hydrogène. Par exemple, *Escherichia* et *Enterobacter* fermentent le lactose mais *Shigella*, *Salmonella* ou *Proteus* ne le font pas. La popularité des systèmes commerciaux d'identification montre bien l'utilité des tests biochimiques pour identifier les bactéries entériques.

Les membres des *Enterobacteriaceae* sont si communs, si répandus et si importants qu'on les trouve plus souvent que n'importe quelles autres bactéries dans les laboratoires. Sans aucun doute, *Escherichia coli* est la bactérie la mieux étudiée et organisme expérimental de choix pour beaucoup de microbiologistes. C'est un habitant majeur du colon des hommes et des animaux à sang chaud et il est très utile à l'analyse de la contamination fécale des eaux. Certaines souches causent des gastroentérites ou des infections des voies urinaires. Plusieurs genres entériques contiennent des pathogènes humains très importants responsables de diverses maladies : *Salmonella*, la fièvre typhoïde a les gastroentérites ; *Shigella*, la dysenterie bacillaire ; *Klebsiella*, la pneumonie ; *Yersinia*, la peste. Les membres du genre *Erwinia* sont des germes pathogènes importants pour les plantes cultivées et sont la cause de rouilles, de flétrissements et de plusieurs autres maladies végétales.

F- L'ordre des Pasteurellales

La famille des *Pasteurellaceae* contient de petites bactéries (0,2 à 0,3 µm de diamètre), non mobiles, normalement oxydase-positives, ayant des besoins nutritionnels complexes, et parasites de vertébrés. La famille comprend six genres : *Pasteurella*, *Haemophilus*, *Actinobacillus*, *Lonepinella*, *Mannheimia* et *Phocoenobacter*.

Comme on peut s'y attendre, les membres de cette famille les mieux connus sont ceux qui causent des maladies chez les humains et nombre d'animaux importants. *Pasteurella multocida* et *P. haemolytica* sont des germes pathogènes animaux. *P. multilocida* est responsable du cholera de la volaille qui tue chaque année de nombreux poussins, dindes, canards et oies. *P. haemolytica* est au moins en partie responsable de pneumonies chez le bétail, les moutons et les chèvres. *H. influenzae* type b est un agent pathogène humain majeur qui cause diverses maladies dont une méningite chez les enfants.

Classe 4 : Deltaprotéobactéria

Bien que les δ-protéobactéries ne rassemblent pas beaucoup de genres, elles montrent une diversité morphologique et physiologique considérable. On peut diviser ces bactéries en deux groupes généraux, tous deux chimioorganotrophes. Certains genres sont prédateurs comme les bdellovibrions et les myxobactéries. D'autres sont des anaérobies qui fabriquent du sulfure à partir de sulfate et de soufre, en oxydant des aliments organiques. La classe compte sept ordres et 17 familles.

A- Les ordres des *Desulfobibrionales*, des *Desulfobacterales* et des *Desulfuromonadales*

Ces bactéries réductrices de sulfate ou de soufre forment un groupe diversifié. On les y a rassemblées à cause de leur métabolisme strictement anaérobie et de leur capacité d'utiliser le soufre élémentaire, les sulfates ou d'autres formes oxydées du soufre comme accepteurs d'électrons dans la respiration anaérobie. Le mieux étudié de ces agents réducteurs de sulfate est *Desulfovibrio* ; *Desulfuromonas* utilise seulement le soufre élémentaire comme accepteur.

Desulfovibrio et d'autres bactéries réductrices de sulfate prospèrent dans des habitats tels que boues, sédiments de cours d'eau et de lacs pollués, dans des lagunes d'épuration et des digesteurs d'eaux d'égouts, ainsi que dans des sols gorgés d'eau. *Desulfuromonas* prévaut dans les sédiments anaérobies marins ou estuariens. Il peut aussi être isolé des digesteurs à méthane et de boues anaérobies et riches en sulfure d'hydrogène des milieux d'eau douce.

B- L'ordre des *Bdellovibrionales*

L'ordre ne compte que la famille de *Bdellovibrionaceae* et trois genres. Le genre *Bdellovibrio* (du grec bdella, sangsue) contient des bâtonnets incurvés Gram-négatifs portant des flagelles polaires. Elle fore un trou à travers la paroi cellulaire de l'hôte en 5 à 20 minutes grâce à la libération de plusieurs enzymes hydrolytiques. Son flagelle est perdu durant la pénétration de la cellule. Une fois entré, *Bdellovibrio* prend le contrôle de la cellule hôte et se développe dans le périplasme, sous la paroi, jusqu'à ce que la cellule hôte perde sa forme et s'arrondisse. La bactérie en croissance utilise les acides aminés de son hôte comme source d'énergie, de carbone et d'azote.

C- L'ordre des *Myxococcales*

Les *myxobactéries* sont des bactéries du sol, aérobies et Gram-négatives. Elles se caractérisent par une mobilité par glissement, un cycle biologique complexe avec production de fructifications et la formation de myxospores dormantes. Elles sécrètent un ensemble d'enzymes digestives qui lysent les bactéries et les levures. Beaucoup de *myxobactéries* sécrètent aussi des antibiotiques qui peuvent tuer leur proie. La plupart des *myxobactéries* utilisent des acides aminés comme source principale de carbone, d'azote et d'énergie. Ce sont toutes des chimio-hétérotrophes à métabolisme respiratoire. Le cycle biologique des *myxobactéries* est tout à fait particulier et ressemble à celui des moisissures cellulaires visqueuses. Lorsque les aliments sont épuisés, les *myxobactéries* s'agrègent et se différencient en une fructification. On les isole le plus communément de sols neutres ou de matériel

végétal en décomposition, comme des feuilles et des écorces d'arbres. et de crottes d'animaux. Bien qu'elles poussent dans des endroits aussi divers que les forêts tropicales et la toundra arctique, les *myxobactéries* sont surtout abondantes dans les zones chaudes.

Classe 5 *Epsilonproteobacteria*

Les ϵ -protéobactéries constituent la plus petite des cinq classes de protéobactéries. Ce sont des bâtonnets minces, Gram négatifs, qui peuvent être droits, incurvés ou hélicoïdaux. Les ϵ -protéobactéries ne comptent qu'un ordre, les *Campylobacterales*, et deux familles, les *Campylobacteraceae* et les *Helicocteraceae*. Les deux genres les plus importants, *Campylobacter* et *Helicobacter*, sont des batonnets microaérophiles, mobiles, hélicoïdaux ou vibrioïdes, Gram négatifs.

- Le genre *Campylobacter* contient des espèces aussi bien non pathogènes que pathogènes pour l'homme et les animaux. *C.fetus* cause une maladie de la reproduction et des avortements chez le bétail et les moutons. Chez l'homme, il est associé à une variété de conditions, depuis la septicémie. *C. jejuni* est responsable d'avortements chez les moutons et de diarrhées entériques chez les humains.
- Il y a au moins 14 espèces d'*Helicobacter*, toutes isolées de l'estomac ou de l'intestin grêle de l'homme ou d'autres mammifères. Le principal pathogène humain est *Helicobacter pylori* qui est la cause de gastrite et d'ulcères gastriques.

VI- Etudes des grands groupes bactériens :

VI-1 Les bactéries Gram négatives autres que les Proteobacteria

A- Les bactéries photosynthétiques

La seconde édition du Bergey place les bactéries photosynthétiques dans six groupes principaux. Le phylum des *Chloroflexi* correspond aux bactéries vertes non sulfureuses et le phylum des *Chlorobi*, aux bactéries vertes sulfureuses.

- **Les cyanobactéria**

Les *cyanobactéries* diffèrent de façon fondamentale des bactéries photosynthétiques vertes et pourpres, elles ont en effet une photosynthèse oxygénique. Elles utilisent l'eau comme donneur d'électrons et produisent de l'oxygène au cours de la photosynthèse. Au contraire, les bactéries pourpres et vertes ont une photosynthèse anoxygénique. Comme elles sont incapables d'utiliser l'eau comme source d'électrons, elles emploient pour la formation de

NADH et NADPH, des molécules réduites, telles le sulfure d'hydrogène, le soufre, l'hydrogène ou une matière organique.

Les bactéries pourpres et vertes diffèrent des cyanobactéries parce qu'elles ont des bactériochlorophylles plutôt que de la chlorophylle. Ceci s'avère très utile, à cause des spectres d'absorption distincts des bactériochlorophylles et des pigments accessoires.

Les *cyanobactéries* forment le groupe le plus vaste et le plus divers de bactéries photosynthétiques, ils ont leur propre phylum. Les bactéries pourpres sont réparties entre trois groupes. La seconde édition du Bergey's Manual of Determinative Bacteriology décrit 56 genres avec quelque détail. Le contenu en GC dans le groupe varie de 35 à 71 %. Bien que les cyanobactéries soient de vrais procaryotes, leur système photosynthétique est très proche de celui des eucaryotes en ce qu'il contient la chlorophylle α et le photosystème II, et en ce qu'il réalise la photosynthèse oxygénique. Les *cyanobactéries* sont très tolérantes vis-à-vis de conditions extrêmes, elles sont présentes dans presque tous les environnements aquatiques et terrestres. Les espèces thermophiles peuvent se développer à des températures atteignant 75°C dans des sources chaudes, neutres à alcalines. Les *cyanobactéries* établissent avec un succès particulier des relations symbiotiques avec d'autres organismes, exemple des espèces fixatrices d'azote qui forment des associations avec diverses plantes.

B- Les rickettsies et les chlamydies

Le phylum des Chlamydiae La première édition du Bergey met les *chlamydies* avec les *rickettsies*, parce que ces deux groupes Gram-négatifs sont des parasites intracellulaires obligatoires : ils ne croissent et ne se reproduisent que dans leurs cellules hôtes. Basée sur les données de l'ARNr 16S, la seconde édition déplace les *chlamydies* dans le phylum des Chlamydiae et les rickettsies dans les α -protéobactéries. Bien que *chlamydies* et *rickettsies* soient des parasites intracellulaires obligatoires et pas beaucoup plus grandes que les pox-virus, elles diffèrent des virus par la présence d'ADN et d'ARN, d'une membrane plasmique, de ribosomes actifs, de voies métaboliques, par une reproduction par fission binaire et d'autres caractères distinctifs. Le phylum des *Chlamydiae* compte une classe, un ordre, quatre familles et seulement cinq genres. Le genre *Chlamydia* est de loin le plus important et le mieux étudié c'est sur lui que nous porterons notre attention. Les *chlamydies* sont des bactéries non mobiles, coccoïdes, Gram-négatives, dont la taille varie de 0,2 à 1,5 μ m. Elles ne peuvent se reproduire que dans des vésicules cytoplasmiques des cellules hôtes, leur cycle de développement est particulier et implique la formation de corps élémentaires et de corps réticulés. Bien que leur enveloppe ressemble à celle des autres bactéries Gram-négatives, leur paroi est différente car elle est dépourvue d'acide muramique et de peptidoglycane. Les

chlamydiae ont un métabolisme extrêmement limité et sont des parasites intracellulaires obligatoires des mammifères et des oiseaux (cependant des bactéries semblables aux chlamydiae ont récemment été isolées d'araignées, de palourdes et d'invertébrés d'eau douce). La taille de leur génome est de 4 à 6 x 10⁸ (laitons, c'est l'un des plus petits parmi les procaryotes et leur contenu en GC est de 41 à 44 %).

Trois espèces de *chlamydiae* sont d'importants agents pathogènes de l'homme et d'autres animaux à sang chaud. *C. trachomatis* infecte les humains et les souris. Chez les humains, il est responsable de trachomes, d'urétrite non gonococcique et d'autres maladies. *C. psittaci* cause la psittacose chez les hommes. Cependant, contrairement à *C. trachomatis*, il infecte aussi beaucoup d'autres animaux (perroquets, dindes, moutons, bétail et chats) et envahit les tractus intestinaux, respiratoires et génitaux, le placenta et le fœtus, l'œil ainsi que le liquide synovial des articulations. *Chlamydia pneumoniae* est une cause ordinaire de pneumonie chez l'homme. On a maintenant la preuve directe que les infections par *C. pneumoniae* peuvent être accompagnées d'un développement d'athérosclérose et que les infections chlamydiennes peuvent provoquer des inflammations et des dommages cardiaques sérieux.

- **Spirochaetes**

Le phylum des Spirochaetes [du grec spins, un enroulement, et chaete. cheveu] contient des bactéries Gram-négatives chimiohétérotrophes, distinctes par leur structure et leur type de mobilité. Ce sont de longues bactéries fines (0.1 à 3 μm sur 5 à 250 μm) en forme d'hélice souple. Par leur mobilité, les spirochètes diffèrent fortement des autres bactéries, elles peuvent se mouvoir dans des solutions très visqueuses, bien qu'elles soient dépourvues de flagelles externes rotatifs. En contact avec une surface solide, elles ont des mouvements de reptation. Leur type de mobilité unique est dû à une structure morphologique curieuse appelée le filament axial.

Les spirochètes peuvent être anaérobies, anaérobies facultatifs ou aérobies. Comme source de carbone et d'énergie, ils utilisent des glucides, des acides aminés, des acides gras à longue chaîne et des alcools à longue chaîne.

D'un point de vue écologique, le groupe est exceptionnellement varié et il se développe dans des milieux allant de la boue à la bouche de l'homme. Des membres du genre *Spirochaeta* vivent libres et se multiplient dans des eaux douces anaérobies, riches en sulfure, ou dans des milieux marins. Certaines espèces du genre: *Leptospira* se développent dans l'eau aérobie et dans le sol humide. Au contraire, beaucoup de spirochètes forment des associations symbiotiques avec d'autres organismes et se retrouvent dans; des localisations très diverses :

dans l'intestin postérieur des termites et des larves de xylophages (« wood roaches »), dans l'appareil digestif des mollusques (*Cristispira*) et des mammifères, dans les cavités buccales des animaux (*Treponema denticola*, *T. oralis*). Des spirochètes tapissent la surface de nombreux protozoaires que l'on trouve dans les intestins postérieurs des termites et des larves de xylophages. Par exemple, le flagellé *Myxotricha paradoxa* est couvert de fins spirochètes (0.15 sur 10 µm de long), qui sont fermement fixés et aident au mouvement du protozoaire. Certains membres des genres *Treponema*, *Borrelia* et *Leptospira* sont d'importants pathogènes. Par exemple *Treponema pallidum* est responsable de la syphilis et *Borrelia burgdorferi* est la cause de la maladie de Lyme. Notre incapacité à cultiver le spirochète en dehors de son hôte humain a fait obstacle à l'étude de *Treponema* et de son rôle dans la syphilis.

La seconde édition du Bergey structure le phylum des *Spirochaetes* en une classe, un ordre (les *Spirochaetales*) et trois familles (les *Spirochaetaceae*, les *Serpulinaceae* et les *Leptospiraceae*), actuellement, il y a treize genres dans le phylum.

VI-2 Les bactéries Gram positif

Les relations phylogéniques entre bactéries Gram-positives ont été analysées par comparaison des séquences des ARNr 16S; celle-ci montre que ces bactéries sont divisées en un groupe à faible teneur en GC et un groupe au contenu en GC élevé ou groupe des actinobactéries.

A- Les bactéries Gram-positives riches en GC

Les actinomycètes sont des bactéries Gram-positives aérobies donnant des hyphes ramifiés, habituellement non fragmentés, et des spores asexuées. On appelle les spores asexuées portées par le mycélium aérien, des conidiospores ou conidies, si elles sont formées à l'extrémité des hyphes, et des sporangiospores lorsqu'elles sont contenues dans des sporanges.

Les actinomycètes ont plusieurs types nettement différents de paroi et souvent, une composition en sucres variable dans les extraits cellulaires. Des propriétés telles que la couleur et la morphologie sont également utiles pour la taxinomie.

La première édition du Bergey classe les actinomycètes sur base de propriétés telles que la disposition des conidies, la présence d'un sporange, le type de paroi et les sucres des extraits cellulaires. La seconde édition du Bergey classe les bactéries riches en GC phylogéniquement, en utilisant les données de l'ARNt I6S. Le phylum des *Actinobacteria* contient une classe, cinq sous-classes, six ordres, 14 sous-ordres et 40 familles (figure 13).

Figure 13 La classification du phylum des Actinobacteria

- **Le sous-ordre des *Actinomycetinae*** contient le genre *Actinomyces*, dont les membres sont des bâtonnets non sporulants, de forme irrégulière, qui peuvent provoquer des maladies chez le bétail et chez l'homme.
- **Le sous-ordre des *Micrococcineae*** comprend les genres *Micrococcus*, *Arthrobacter* et *Dermatophilus*. *Arthrobacter* présente un cycle de croissance bâtonnet-coque inhabituel et se divise par cassure.

Les genres *Corynebacterium*, *Mycobacterium* et *Nocardia* seront placés dans le sous-ordre des *Corynebacterineae*. Les mycobactéries forment soit des batonnets, soit des filaments qui se fragmentent facilement. Leurs parois cellulaires contiennent beaucoup de lipides et d'acides mycoliques ; la présence de ces lipides les rend acido-résistantes. Les genres *Corynebacterium* et *Mycobacterium* comptent plusieurs pathogènes de l'homme très importants.

- **Le sous-ordre des *Micromonosporineae*** ces actinomycètes ont un mycélium végétatif abondant et forment des sporanges aériens spéciaux, Ils sont présents dans le sol, l'eau douce et les océans. Les formes du sol sont probablement importantes pour la décomposition.

Dans la seconde édition, le genre *Propionibacterium* a été placé dans **le sous-ordre des *Propionibactericeae***. Les membres de ce genre se trouvent communément sur la peau et dans l'intestin. Ils sont importants dans la fabrication du fromage et dans le développement de l'acné.

- **Le sous-ordre des *Streptomyicineae*** de la seconde édition contient le genre *Streptomyces*. Les membres de ce genre ont des parois de type 1 et des hyphes aériens portant des chaînes de 3 à 50 (ou plus) conidiospores non mobiles, dans une mince gaine.
- **Le sous-ordre des *Streptosporangineae*** contient plusieurs genres : les *Maduromycètes*, *Thermomonospora* et genres apparentés. Beaucoup de ces organismes contiennent du madurose, un sucre dérivé, et des parois cellulaires de type III.
- Les genres *Frankia* et *Geodermatophilus* sont placés dans **le sous-ordre des *Frankineae***. Ils produisent des amas de spores aux extrémités des hyphes et ont des parois cellulaires de type III. **Frankia** croit en symbiose avec des plantes supérieures non légumineuses et fixe l'azote.

Les actinomycètes ont une importance pratique considérable. Ce sont, essentiellement, des habitants du sol et ils sont très largement distribués. Ils peuvent dégrader un nombre et une variété énormes de composés organiques et ils sont extrêmement importants pour la minéralisation de la matière organique. Les actinomycètes produisent la plupart des antibiotiques naturels utilisés en médecine. Bien que beaucoup d'actinomycètes soient des micro-organismes vivant librement, quelques uns sont pathogènes chez l'homme, les animaux et certains végétaux.

B- Les bactéries Gram-positives pauvres en GC

Le troisième volume de la seconde édition du Bergey décrit les bactéries Gram-positives pauvres en GC. Celles-ci sont placées dans le phylum des *Firmicutes* et divisées en trois classes : les *Clostridia*, les *Mollicutes* et les *Bacilli* (Figure 14). Le phylum des *Firmicutes* est vaste et complexe, il compte 10 ordres et 33 familles. La différence la plus évidente avec le système de classification de la première édition est la présence de la classe des *Mollicutes*. Les mycoplasmes, classe des *Mollicutes*, sont maintenant rangés parmi les Gram-positives pauvres en GC, plutôt que dans les bactéries Gram-négatives. Les données d'ARN ribosomal indiquent que les mycoplasmes sont étroitement apparentés aux *clostridies*, bien qu'ils n'aient pas de paroi cellulaire.

Figure 14 Les relations phylogénétiques dans le phylum des *Firmicutes*

- **Les mycoplasmes** sont des bactéries Gram-négatives qui n'ont pas de paroi cellulaire et sont incapables de synthétiser les précurseurs du peptidoglycane. Beaucoup d'espèces exigent des stérols pour croître. Ce sont les plus petites bactéries à reproduction autonome.

Les endospores résistent à la dessiccation et à la chaleur : elles permettent à la bactérie de survivre à des conditions rudes, particulièrement dans le sol.

Les membres du genre *Clostridium* sont des bâtonnets Gram-positifs anaérobies qui forment des endospores et n'effectuent pas la réduction catabolique du sulfate. Ils sont responsables du botulisme, du tétanos, de l'avarie des aliments et de la putréfaction.

Le genre *Desulfotomaculum* est anaérobie, forme des endospores et réduit le sulfate en sulfure par une respiration anaérobie.

- **Les héliobactéries** sont Gram-positives anaérobies, photosynthétiques et contiennent de la bactériochlorophylle g. Certaines forment des endospores.
- La famille des *Veillomellaceae* rassemblent des coques Gram-négatifs, anaérobies. Certains parasitent des vertébrés.
- La classe des *Bacilli* se divise en deux ordres : les *Bacillales* et les *Lactobacillales*. Le genre **Bacillus** contient des bâtonnets Gram-positifs, chimiohétérotrophes, formateurs d'endospores, catalase positifs, aérobies et facultatifs, qui sont habituellement mobiles et pérित्रiches. *Bacillus* synthétise des antibiotiques et des insecticides. Il est la cause d'intoxication alimentaire et du charbon.
- *Thermoactinomyces* est un thermophile Gram-positif qui forme un mycélium et de vraies endospores. Il provoque des réactions allergiques et est responsable de l'asthme du fermier.
- Les membres du genre *Staphylococcus* sont des coques Gram-positifs, non mobile, anaérobies facultatifs qui forment des amas irréguliers. Ils se développent sur la peau et les muqueuses, des animaux à sang chaud. Certains sont d'importants pathogènes pour l'homme.
- Plusieurs genres importants comme *Lactobacillus*, *Listeria*, et *Caryophanon* contiennent des bâtonnets Gram-positifs, non sporulant, normaux. *Lactobacillus* effectue la fermentation lactique et est très utilisé dans les industries alimentaire et laitière.

Leuconostoc effectue la fermentation hétéro-lactique par la voie de la transcétolase et intervient dans la fabrication de produits végétaux fermentés, du babeurre, du beurre et du fromage.

Les genres *Streptococcus*, *Enterococcus* et *Lactococcus* rassemblent des coques Gram-positifs, disposés par paire et en chaînes. Ils sont habituellement facultatifs et effectuent la fermentation homolactique. Le coque pyogène *S. pyogenes*, les streptocoques oraux *S. pneumoniae* et *S. mutans*, l'entérocoque, *E. faecalis* et le lactocoque *L. lactis* sont des espèces importantes.

- **VII. Les Archeae:**

La première édition du Bergy divise les archéobactéries en cinq groupes principaux, basés sur des différences physiologiques et morphologiques : les *Euryarchaeota*, les *Crenarchaeota* les *Korarchaeota*, les *Nanoarchaeota*, et les *Taumarchaeota*. Le tableau 4 résume les caractéristiques de ces cinq groupes et donnent des représentants de chacun deux.

Les deux premiers phyla seront étudiés plus en détail car ce sont les plus connus et ceux qui renferment le plus grand nombre de taxons.

Tableau 20.1 Caractéristiques des principaux groupes physiologiques archéens		
Groupe	Caractéristiques générales	Genres représentatifs
Archées méthanogènes	Anaérobies stricts. Le métabolite final majeur est le méthane. S^0 peut être réduit en H_2S sans production d'énergie. Les cellules possèdent la coenzyme M, les facteurs 420 et 430 et la méthanoptérine	<i>Methanobacterium</i> (E) ¹ <i>Methanococcus</i> (E) <i>Methanomicrobium</i> (E) <i>Methanosarcina</i> (E)
Archées réductrices de sulfates	Cocci régulières et irrégulières. Formation d' H_2S à partir de thiosulfate et de sulfate. Croissance autotrophe sur thiosulfate et H_2 . Peuvent se développer de manière hétérotrophe. Il y a aussi production de traces de méthane. Thermophiles extrêmes et anaérobies stricts. Possèdent le facteur 420 et la méthanoptérine, mais pas la coenzyme M, ni le facteur 430.	<i>Archaeoglobus</i> (E)
Archées halophiles extrêmes	Cellules en formes de bâtonnets, coques ou irrégulières, qui peuvent inclure des pyramides ou des cubes. Principalement chimio-organohétérotrophes. La plupart des espèces demandent du chlorure sodique ≤ 1.5 M, mais certaines peuvent survivre avec du 0,5 M. La plupart forment des colonies caractéristiques rouges brillantes, certaines ne sont pas pigmentées. Neutrophiles à alcalophiles. Généralement mésophiles, mais une espèce au moins croît à 55 °C. Possèdent soit l'archaérodopsine, soit l'halorhodopsine et utilisent l'énergie lumineuse pour produire de l'ATP.	<i>Halobacterium</i> (E) <i>Halococcus</i> (E) <i>Natronobacterium</i> (E)
Archées sans paroi cellulaire	Cellules pléomorphes. Thermoacidophiles et chimio-organotrophes. Anaérobies facultatifs. La membrane cytoplasmique contient une glycoprotéine riche en mannose et un lipoglycane.	<i>Thermoplasma</i> (E)
Thermophiles extrêmes métabolisant S^0	Bâtonnets, filaments ou coques. Thermophiles obligatoires (optimum de croissance à des températures comprises entre 70 et 110 °C). Habituellement anaérobies stricts, mais peuvent être aérobies ou anaérobies facultatifs. Acidophiles ou neutrophiles. Autotrophes ou hétérotrophes. La plupart métabolisent le soufre. Réduisent S^0 en H_2S en anaérobiose ; oxydent H_2S ou S^0 en H_2SO_4 en aérobiose.	<i>Desulfurococcus</i> (C) <i>Pyrodictium</i> (C) <i>Pyrococcus</i> (E) <i>Sulfolobus</i> (C) <i>Thermococcus</i> (E) <i>Thermoproteus</i> (C)
Oxydatrices d'ammonium mésophiles aérobies	Ubiquitaires dans les habitats marins et les sols, chimiolithoautotrophes, utilisant l'ammoniac comme donneur d'électrons et l'oxygène comme accepteur terminal. Emploient la voie HP/HB ² pour la fixation du carbone. Preuves que certaines thaumarchea des profondeurs d'océan pourraient utiliser l'urée comme source de carbone et d'azote	<i>Cenarchaeum symbiosium</i> (T) <i>Nitrosopumilus maritimus</i> (T)

Tableau 4 Caractéristiques des principaux groupes physiologiques archéens

1- Les Euryarchaeota.

Les Euryarchaeota constituent un phylum très diversifié, comprenant de nombreuses classes, ordres et familles. Sur la base de données sur les ARNr, la seconde édition du Bergy répartit les archéobactéries dans les phylums *Euryarchaeota* [du grec eurus, large, et archaios, ancien] et *Crenarchaeota* [du grec crene, source ou fontaine, et archaios]. Les euryarchéotes ont reçu ce nom parce qu'ils occupent de nombreuses niches écologiques différentes et qu'ils offrent toute une variété de patterns métaboliques. Le phylum des Euryarchaeota est très divers avec ses sept classes (*Methanobacteria*, *Methanococci*, *Halobacteria*, *Thermoplasmata*, *Thermococci*, *Arrhaeoglobi* et *Methanopyri*), ses neuf ordres et ses 15 familles. Les méthanogènes, les halophiles extrêmes, les réducteurs de sulfates, et les nombreux thermophiles extrêmes, au métabolisme dépendant du soufre, sont placés dans les *Euryarchaeota*. Les méthanogènes constituent le groupe métabolique dominant.

Les méthanogènes

Les méthanogènes sont des anaérobies stricts qui obtiennent l'énergie en convertissant CO_2 , H_2O , le formiate, le méthanol, l'acétate et d'autres substances en méthane ou méthane et CO_2 . Ils sont autotrophes s'ils se développent sur H_2 et CO_2 .

C'est le plus grand groupe d'archéobactéries, Il comprend cinq ordres (*Methanobacteriales*, *Methanococcales*, *Methanomicrobiales*, *Methanosarrinales* et *Methanopyrales*) et 26 genres qui diffèrent fortement l'un de l'autre par la forme, la séquence de l'ARN 16S, la chimie et la structure de la paroi, les lipides membranaires et d'autres caractères. Par exemple, les méthanogènes construisent trois types différents de parois. Plusieurs genres ont des parois à pseudomuréine, d'autres parois contiennent soit des protéines, soit des hétéropolysaccharides.

Un des groupes de méthanogènes les plus inhabituels est la classe des *Methanopyri*. Elle ne comprend qu'un ordre, les *Methanopyrales*, qu'une famille et qu'un seul genre, *Methanopyrus*. Ce méthanogène en forme de bâtonnet extrêmement thermophile, a été isolé d'une fontaine hydrothermale marine. *Methanopyrus kandleri* a son minimum de température à 84°C et son optimum à 98°C ; il croît jusqu'à 110°C .

Les bactéries méthanogènes ont potentiellement une grande importance pratique car le méthane est un combustible propre et une excellente source d'énergie. Depuis de nombreuses années, des stations d'épuration des eaux usées ont utilisé le méthane qu'elles produisaient comme source d'énergie pour le chauffage et l'électricité.

Les halobactéries

Les halophiles extrêmes ou halobactéries, classe des Halobacteria, constituent un autre groupe majeur des archéobactéries, actuellement composé de 15 genres dans une seule famille, les *Halobacteriaceae*. Il s'agit de chimiohétérotrophes aérobies à métabolisme respiratoire et exigeant des éléments nutritifs complexes généralement des protéines et des acides aminés pour leur développement. Les espèces sont soit non mobiles, soit mobiles avec des flagelles lophotriches.

Le trait distinctif le plus marquant de cette famille est sa dépendance absolue envers une concentration élevée en NaCl. Ces procaryotes demandent au moins 1,5 M NaCl (environ 8 % p/v) et ont généralement un optimum de croissance aux environs de 3 à 4 M NaCl (17 à 23 %). Ils pourront croître à des concentrations salines approchant la saturation (environ 36 %). La paroi de *Halobacterium* est tellement dépendante de la présence de NaCl qu'elle se désintègre lorsque la concentration en NaCl descend sous 1.5M. Ainsi, les halobactéries ne se développeront que dans des habitats à haute salinité, tels les marais salants. Ils se développent aussi dans des produits alimentaires comme du poisson salé et les avariés.

Les halobactéries ont souvent une pigmentation rouge à jaune à cause des caroténoïdes qu'elles utilisent probablement comme protection contre la lumière forte du soleil. Elles peuvent atteindre de tels niveaux de population que les lacs salés, les marais ou les saumures de poissons deviennent réellement rouges. Le membre le mieux étudié de la famille est probablement *Halobacterium salinarium* (*H. halobium*). Ce procaryote est particulier car il peut capter l'énergie lumineuse par photosynthèse en l'absence de chlorophylle. En présence de concentrations faibles en oxygène, certaines souches d'*Halobacterium* synthétisent une membrane cellulaire modifiée appelée la membrane pourpre, qui contient une protéine, la bactériorhodopsine. L'ATP est produit suivant un mode unique de photosynthèse sans la participation de bactériochlorophylle, ni de chlorophylle. *Halobacterium* possède en fait quatre rhodopsines, chacune de fonction différente. Comme déjà mentionné, la bactériorhodopsine assure un transfert de protons vers l'extérieur, qui sert à la synthèse d'ATP.

La haloitodopsine utilise l'énergie lumineuse pour transporter des ions chlorure dans la cellule et maintenir une concentration intracellulaire en KCl de 4 à 5 M. Enfin, il y a deux rhodopsines qui agissent comme photorécepteurs, une pour la lumière rouge et

l'autre pour la lumière bleue. Elles contrôlent l'activité flagellaire pour positionner l'organisme à la profondeur d'eau optimale.

- **Les thermoplasmes**

Les procaryotes de la classe des Thermoolasmata sont des thermoacidophiles dépourvus de paroi cellulaire. Actuellement, deux genres seulement, *Thermoplasma* et *Picrophilus*, sont connus. Ils sont suffisamment différents l'un de l'autre pour être placés dans des familles séparées, les *Thermoplasmataceae* et les *Picrophilaceae*.

Thermoplasma se développe dans des rejets de mines de charbon. Ces rejets contiennent de grandes quantités de pyrite (FeS), qui est oxydée en acide sulfurique par les bactéries chimiolithotrophes. En conséquence, ces déchets deviennent très chauds et acides. C'est un habitat idéal pour *Thermoplasma* puisque sa croissance est optimale entre 55 et 59°C et à un pH de 1 à 2. Bien que dépourvu de paroi, il possède une membrane plasmique renforcée par une grande quantité de tétraéthers de diglycérol, de lipopolysaccharides et de glycoprotéines. L'ADN de cet organisme est stabilisé par une association avec une protéine spéciale de type histone qui condense l'ADN en particules ressemblant aux nucléosomes eucaryotes. A 59°C, *Thermoplasma* a la forme d'un filament irrégulier tandis qu'il est sphérique à des températures plus basses, les cellules peuvent être flagellées et mobiles.

Picrophilus est encore plus inhabituel que *Thermoplasma*, Il a été isolé pour la première fois au Japon, dans des champs solfataris de chaleur modérée. Bien que dépourvu d'une paroi cellulaire normale, *Picrophilus* possède une couche S, extérieure à sa membrane plasmique. *Picrophilus* est aérobic et croît entre 47 et 65°C, avec un optimum à 60°C. C'est dans ses exigences en pH qu'il est le plus remarquable, cet organisme ne se développera qu'à des pH inférieurs à 3,5 et son optimum de croissance se situe à pH 0,7. En fait, il croît pratiquement à pH 0 !

- **Les thermophiles extrêmes métabolisant S°**

Ce groupe physiologique correspond à la classe des *Thermococci*, qui compte un seul ordre, les *Thermococcales*. Les *Thermococcales* sont des anaérobies stricts et peuvent réduire le soufre en sulfure. Elles sont mobiles par flagelles et les températures optimales pour leur croissance vont de 88 à 100°C environ. L'ordre ne contient qu'une famille et deux genres, *Thermococcus* et *Pyrococcus*.

- **Les archéobactéries réductrices de sulfates**

Les archéobactéries réductrices de sulfates se trouvent dans la classe des *Archaeoglobi* et l'ordre des *Arhaeoglobales*. Cet ordre ne compte qu'une famille et un genre.

Archaeoglobus contient des cellules coccoïdes irrégulières, Gram-négatives, dont les parois sont faites de sous-unités glycoprotéiques.

Il peut capter des électrons d'une variété de donneurs d'électrons (ex. : H₂, lactate, glucose) et réduire les sulfates, les sulfites ou les thiosulfates en sulfure. Le soufre élémentaire n'est pas utilisé comme accepteur. Archeoglobus est extrêmement thermophile (son optimum est «environ 83°C) et est isolé de fontaines hydrothermales marines. Au contraire d'autres archéobactéries, ce n'est pas seulement la capacité de réduire le sulfate, qui rend cet organisme particulier, mais il possède aussi les coenzymes des méthanogènes comme F₄₂₀ et la méthanoptérine.

2-Les Crenarchaeota

La plupart des *crénarchéotes* qui ont été isolés sont extrêmement thermophiles, et beaucoup sont acidophiles et dépendant du soufre. Le soufre peut être utilisé soit comme un accepteur d'électrons dans une respiration anaérobie, soit comme une source d'électrons par des lithographes. Ils sont presque tous des anaérobies stricts. Ils se développent dans l'eau chauffée géothermiquement ou dans des sols contenant du soufre élémentaire.

Ces archéobactéries peuvent être très thermophiles et sont souvent classées comme hyperthermophiles. L'exemple extrême est *Pyrodictium*, une archéobactérie isolée de fonds marins chauffés géothermiquement. La température minimale de croissance de *Pyrodictium* est de 82°C, l'optimale de 105°C et la maximale de 110°C. On trouve dans ce groupe des organotrophes comme des lithotrophes. Pour les lithotrophes, les sources d'électrons les plus communes sont le soufre et H₂. A présent, le phylum contient 69 genres : deux des mieux étudiés sont *Thermoputillus* et *Sulfolobus*.

Les membres du genre *Sulfolobus* sont des archéobactéries sphériques irrégulièrement lobées. Gram-négatives, aérobies, dont l'optimum de température se situe aux environs de 70 à 80 °C et l'optimum de pH entre 2 et 3. Pour cette raison, on les classe comme thermoacidophiles, puisque c'est à pH acide et à température élevée qu'ils se développent le mieux. Ils croissent comme des lithotrophes sur des granules de soufre dans des sources et des sols acides et chauds ils oxydent le soufre en acide sulfurique.

L'oxygène est l'accepteur normal d'électrons mais le fer ferrique peut être utilisé. Des sucres et des acides aminés comme le glutamate servent aussi de source de carbone et d'énergie.

Thermoproteus est un bâtonnet long et fin qui peut être courbé ou ramifié. Sa paroi cellulaire est faite de glycoprotéines. *Thermoproteus* est un anaérobie strict et se développe à des températures de 70 à 96°C et à des valeurs de pH entre 2,5 et 6,5. On le trouve dans des sources chaudes et d'autres milieux aquatiques chauds riches en sulfures. Il peut se développer en organotrophie et oxyder glucose, acides aminés, alcools et acides organiques avec le soufre élémentaire comme accepteur d'électrons. En fait, *Thermoproteus* utilise une respiration anaérobie. Il se développe aussi comme chimiolithotrophe en utilisant H₂ et S°. Le monoxyde de carbone ou le CO₂ servent de source unique de carbone.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Prescott L.M, Harley J.P, Klein D. Microbiologie. 2ème Edition Française. De Boeck Université 2010.
- Microbiologie de Prescott / Willey, Sherwood, Woolverton ; 5ème Edition Française 5(2018), traduction de Jacques Coyette, Jean-Paul Joseleau et Robert Perraud
- Biologie De Peter H Raven, Kenneth A Mason, Jonathan B Losos, Tod Duncan ; traduction de Pierre L ; Masson et Charles Van Hove 5ème édition 2020.
- Microbiologie et toxicologie des aliments : Hygiène et sécurité alimentaires/Guy Leyral/Elisabeth Vierling , 4ème édition. Rueil-Malmaison : Doin, Bordeaux : CRDP d'Aquitaine, 2007, 290 p.
- Biodiversité, Dynamique biologique et conservation, 2ème édition. Christian l'évêque, Jean-Claude Mounolou. Dunod , Paris , 2008 .

Microbial Diversity : Form and Function in Prokaryotes ,Oladele Ogunseitan ;Blackwell Publishing