**3.1. Identification des bactéries (Exemple)**

 L'identification des bactéries se fait suivant une clé dichotomique qui va des caractères les plus vastes aux plus pointus pour aboutir à une espèce bactérienne donnée.

 **a)Critères morphologiques**

 L’étude de la morphologie bactérienne est le premier acte effectué par un laboratoire de diagnostic pour identifier une bactérie. L'observation de la morphologie bactérienne permet une orientation préliminaire du diagnostic. **[7]**

**-Macroscopique**

À l'œil nu, on peut distinguer les caractéristiques d'une colonie :

* La forme du relief (bombée, semi-bombée, plate)
* La taille
* La couleur
* L'aspect (collant, filamenteux...)
* L'odeur
* La transparence (opaque, translucide)
* L'allure des contours (régulier, dentelés)
* La consistance
* La pigmentation
* Aspect de la surface (lisse ou rugueuse)

Il existe trois grands types de colonies:

* colonies de **TYPE S** (Smooth=lisse): contours lisse et réguliers, semi-bombée, surface brillantes, crémeuses.
* colonies de **TYPE M** (Muqueux): contours lisse et réguliers, très bombées, surface très brillantes, filantes.
* colonies de **TYPE R** (Rough=rugueux) : contours irréguliers, plates rugueuses et mates, sèches. **[7]**

**-Microscopique**

**\*-État frais**

 L'état frais se fera avec une suspension de colonie qui ne sera pas fixée sur la lame comme la coloration de gram mais se fera avec une goutte de suspension entre lame et lamelle.

 Cette observation microscopique se fera à l'objectif x40 avec peu de lumière pour ne pas tuer les bactéries car le but de cette observation est de voir leurs mobilités (on peut voir aussi la morphologie mais cela se voit mieux en coloration de gram).

**\*-Coloration de Gram**

 Les bactéries étant en général quasiment transparentes, on commence par préparer un étalement (faire un frottis) sur lame de microscope auquel on applique une [coloration de Gram](http://fr.wikipedia.org/wiki/Coloration_de_Gram). L'observation microscopique se fera à l'objectif x100 avec de l'huile à immersion.

 Les bactéries à [Gram positif](http://fr.wikipedia.org/wiki/Gram_positif) apparaîtront mauves alors que celles à [Gram négatif](http://fr.wikipedia.org/wiki/Gram_n%C3%A9gatif) apparaîtront roses. Il existe d'autres colorations, comme par exemple celle au [vert de malachite](http://fr.wikipedia.org/wiki/Vert_de_malachite) permettant de mettre en évidence les formes sporulées. La coloration de Gram permet de déterminer le type de paroi cellulaire.

**\*-Forme**

 La forme est extrêmement diverse au sein du monde bactérien. Si on excepte les bactéries dépourvues de paroi ([Mycoplasmes](http://fr.wikipedia.org/wiki/Mycoplasme)), qui peuvent être très polymorphes, la diversité est relativement restreinte pour les bactéries d’intérêt médical et vétérinaire. Parmi celles-ci, on distingue principalement des formes sphériques ([cocci](http://fr.wikipedia.org/wiki/Cocci)), cylindriques ([bacille](http://fr.wikipedia.org/wiki/Bacille_%28forme%29)), spiralées ([spirille](http://fr.wikipedia.org/wiki/Spirille)), enroulées (spirochète) à appendice bourgeonnant ou filamenteux.

**\*-Mode de groupement**

 Elles peuvent se regrouper en chaînes ([*Streptococcus*](http://fr.wikipedia.org/wiki/Streptococcus), [*Enterococcus*](http://fr.wikipedia.org/wiki/Enterococcus), [*Lactococcus*](http://fr.wikipedia.org/wiki/Lactococcus)...), en amas asymétriques ou grappes ([*Staphylococcus*](http://fr.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus)), en amas cubiques réguliers (sarcines), en palissades ou en paquets d’épingles ([*Corynebacterium*](http://fr.wikipedia.org/wiki/Corynebacterium))... Le mode de groupement, à condition de l’apprécier sur une culture jeune effectuée en milieu liquide et de tenir compte de l’aspect prédominant, est également un élément important pour orienter l'identification.

**\*-Taille**

 Les plus petites bactéries ont une taille de 0,1 à 0,2 micromètre ([*Chlamydia*](http://fr.wikipedia.org/wiki/Chlamydia)) alors que certaines ont un diamètre supérieur à 10 micromètres. La plus grande bactérie connue ([*Thiomargarita namibiensis*](http://fr.wikipedia.org/wiki/Thiomargarita_namibiensis)) peut atteindre un diamètre de 750 micromètres.

**\*-Présence de** [**spores**](http://fr.wikipedia.org/wiki/Spore)

Toutes les bactéries n'ont pas la possibilité de sporuler. La totalité des bacilles à [Gram](http://fr.wikipedia.org/wiki/Gram) + sporulent en situation de stress. Pour mettre en évidence les spores au microscope optique, il suffit de les colorer au [vert de malachite](http://fr.wikipedia.org/wiki/Vert_de_malachite) ou à l'encre de Chine. Mais on peut les deviner à la coloration de Gram (absence de coloration). Les spores sont présents chez les Bacillus.

**\*-Mobilité**

 Les bactéries peuvent être équipées d'un ou plusieurs [flagelle](http://fr.wikipedia.org/wiki/Flagelle)(s) leur permettant de se déplacer. Les 2 mobilités les plus courantes sont la mobilité par ciliature péritriche si la bactérie se déplace dans tous les sens, soit par ciliature polaire si la bactérie part dans un seul sens. Pour définir le mode de déplacement des bactéries, on parle de chimiotactisme. La bactérie évoluant dans un milieu se déplace selon des gradients de concentration pour se rapprocher de sa "nourriture"

**\*-Capsule**

 La [capsule](http://fr.wikipedia.org/wiki/Capsule_%28bact%C3%A9riologie%29) est formée de [polymères](http://fr.wikipedia.org/wiki/Polym%C3%A8re) (polysaccharides ou protides) disposés en couches à la périphérie de la bactérie. Celle-ci permet à la bactérie d'adhérer aux surfaces (coloniser les surfaces) et d'échapper au [système immunitaire](http://fr.wikipedia.org/wiki/Syst%C3%A8me_immunitaire) car les [antigènes](http://fr.wikipedia.org/wiki/Antig%C3%A8ne) de surface sont recouverts par la capsule qui les rend indétectables (pouvoir pathogène). **[7]**

 **b)Critères biochimiques**

 On identifie aussi une bactérie en observant si elle utilise tel ou tel substrat. On la met donc en contact dans un milieu de culture avec un glucide, ou un peptide, ou d'autres substrats plus complexes. On peut révéler l'utilisation de ce substrat par virage (changement de couleur) d'un indicateur de pH car un glucide utilisé donne un produit acide, un peptide donne un produit basique, etc.

 Chaque famille de bactéries a des caractères propres, on peut donc les rassembler facilement avec des caractéristiques de base comme l'utilisation du glucose avec ou sans oxygène, la réduction des nitrates, etc. Ensuite, on dispose de [galeries d'identifications biochimiques](http://fr.wikipedia.org/wiki/Galerie_d%27identification_biochimique) qui sont parfois vendues par des sociétés spécialisées. Ces tests sont assez longs, de un à deux jours. **[7]**

 **c) Critères génétiques**

 On peut citer des techniques de génie génétique comme:

* la [PCR](http://fr.wikipedia.org/wiki/Polymerase_Chain_Reaction) (Polymérase) pour cibler un gène présent uniquement chez une famille ou un genre bactérien par réhybridation spécifique de courtes séquences d'ADN (oligonucléotides amorces) synthétiques précises.
* les [puces à ADN](http://fr.wikipedia.org/wiki/Puces_%C3%A0_ADN) qui utilisent le même principe mais ayant une précision allant jusqu'à la souche même. **[7]**