

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mohamed Khider Biskra
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Niveau : licence
Module : SYSTEMATIQUE DES PROCARYOTES
(Bactéries et Archaea)
Chargé de module : BENKADDOUR Bachir
Maître-assistant A
Spécialité microbiologie

Année universitaire 2020-2021

Objectifs de l'enseignement :

Cet enseignement est la suite et l'approfondissement des connaissances acquises en L2 (S4) : U.E. de Microbiologie générale. Il doit 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.

Connaissances préalables recommandées :

Sans pré-requis. Microbiologie, biologie cellulaire, botanique

Chapitre 1 : Introduction à la systématique

1. Introduction

Les organismes vivants sont étonnamment divers et il est nécessaire de les classer ou de les arranger en groupes selon leurs similitudes mutuelles.

Au XVIII^{ème} siècle, les êtres vivants étaient scindés en deux règnes, le **règne végétal** et le **règne animal**, les **bactéries** étant classées parmi les **plantes**. Très rapidement, ces regroupements apparaissant simplistes et trop restrictifs, un troisième règne est créé par Haeckel en 1868, le règne des **Protistes** qui regroupe mycètes, algues, protozoaires et bactéries.

En 1969, Robert Harding Whittaker propose de diviser les organismes sur la base de trois critères principaux : le type cellulaire principalement basé sur la structure nucléaire (procaryote ou eucaryote) et sur la composition de la paroi cellulaire, le niveau d'organisation (solitaire ou unicellulaire, en colonie ou multicellulaire) et le type de nutrition. Il définit ainsi pour la première fois la classification des organismes vivants en cinq règnes : Monera ou Procaryotae, Protista, Fungi, Animalia et Plantae.

Basées sur l'étude de l'ARNr 16S, les études phylogénétiques menées par Woese depuis les années 1970 remettent en cause la classification des êtres vivants en cinq règnes de Whittaker.

Woese et al. ont étudié les relations phylogénétiques entre plus de 500 espèces de procaryotes et d'eucaryotes, en termes de similarité entre les séquences d'ADNr 16S et 18S.

A partir des données obtenues, des modèles phylogénétiques ont été construits et ont conduit à la découverte en 1977 d'un troisième domaine constitué de procaryotes particuliers, appelés **archaebactéries** qui sont aussi éloignées des eucaryotes que des eubactéries. On y retrouve des organismes aérobies mais aussi un grand nombre d'anaérobies, tous capables de vivre dans un environnement très hostile (pH, température, salinité,...). Ces résultats rejetant une classification des organismes vivants en cinq règnes, les auteurs ont proposé un arbre phylogénétique universel classant tous les êtres vivants en trois domaines (taxon le plus élevé) indépendants : Bacteria (ou Eubacteria), Archaea (ou Archaeobacteria) et Eucarya (Figure 1 et Tableau 1).

Tableau 1. Classification des êtres vivants de Whittaker et Woese

Règnes d'après Whittaker et Margulis (1978)	Organismes	« Domaines » d'après Woese R (1990)
<i>Prokaryotae</i>	Archaeobactéries ou archéobactéries	<i>Archaea</i> ou archées ¹
	Eubactéries Cyanobactéries ²	<i>Bacteria</i> ² ou bactéries (à cellule procaryote)
<i>Protoctista</i>	Protozoaires, Protophytes (euglènes, péridiniens, diatomées) Algues (vertes, rouges et brunes)	<i>Eucarya</i> ou eucaryotes (à cellule eucaryote)
<i>Fungi</i>	Champignons, lichens	
<i>Plantae</i>	Plantes	
<i>Animalia</i>	Animaux	

Arbre phylogénétique de la vie

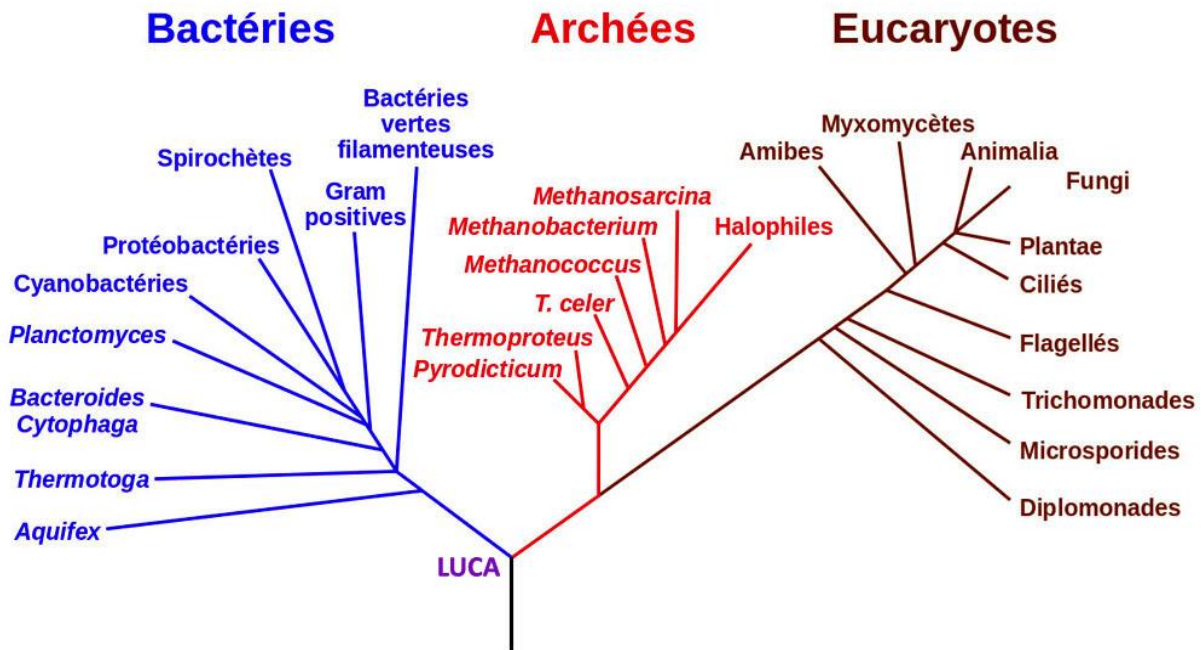


Fig 1 : Arbre phylogénétique universel défini par Woese et adapté par Wheelis classant les êtres vivants en trois domaines : Archae, Bacteria et Eucarya.

2. Intérêt d'une taxonomie bactérienne

La taxonomie bactérienne a pour but d'établir des groupes de bactéries présentant des caractères communs, les taxons, auxquels elle va attribuer un nom. Son application principale est l'identification qui consiste à étudier les caractères d'un organisme afin de pouvoir le placer dans un taxon préalablement décrit ou dans un nouveau taxon.

3. Définitions.

a. La **taxinomie ou taxonomie** (du grec taxi, disposition ou ordre et nomos, loi ou nemein, distribuer ou gouverner) se définit comme la science de **la classification biologique**. Au sens large, elle est faite de trois parties séparées, mais reliées entre elles : la **classification**, la **nomenclature** et **l'identification**.

b. La **systématique** : le terme systématique est souvent utilisé **pour taxinomie**. De nombreux taxonomistes le définissent cependant en termes plus généraux comme « l'étude scientifique des organismes dans le but ultime de les caractériser et de les arranger de manière ordonné ». Quand le gain de connaissances est utilisé en taxonomie, toute étude de la nature des organismes fait partie de la **systématique**. Ainsi, elle englobe des disciplines telles que la morphologie, l'écologie, l'épidémiologie, la biochimie, la biologie moléculaire et la physiologie.

c. La **classification** : est **l'arrangement** des organismes en groupes ou **taxons** selon leur similitude ou leur parenté évolutive sur la base de critères définis.

d. La **nomenclature** est la branche de la taxinomie qui s'occupe **de donner des noms** aux groupes taxinomiques selon des règles publiées.

d.1 règles d'écriture des nomenclatures bactériennes

La nomenclature des bactéries est réglementée par le *Code International de la Nomenclature Bactérienne*.

➤ Il faut utiliser les 26 lettres de l'alphabet et rien de plus. Donc il ne faut pas insérer des espaces, des tirets, des diacritiques (cédilles et tréma) et des accents. Par exemple, on doit écrire Bacteroides et non Bacteroïdes. Les ligatures doivent être écrites en séparant les lettres. Ainsi, œ et æ s'écrivent respectivement oe et ae.

➤ Les noms scientifiques doivent être des mots **latins ou latinisés** qui sont traditionnellement écrits en **italique** ou ils sont **soulignés** s'il est écrit à la main dans un manuscrit. Cette recommandation permet au lecteur de faire la distinction entre le nom scientifique et le corps du texte, quelle que soit la langue utilisée. Les noms scientifiques peuvent décrire l'organisme, rendre hommage à un chercheur ou nommer l'habitat d'une espèce. Par exemple, considérons *Staphylococcus aureus*, une bactérie qui se trouve communément sur la peau des humains. **Staphylo-** décrit la disposition groupée des cellules ; **coccus** indique qu'elles ont la forme de sphères. L'épithète spécifique, **aureus**, signifie **doré** en latin : un grand nombre de colonies de cette bactérie sont cette couleur. Le nom de genre de la bactérie *Escherichia coli* a été donné en l'honneur du scientifique **Theodor Escherich**, alors que son épithète spécifique, **coli**, nous rappelle qu'*E. coli* habite le colon ou gros intestin.

➤ les noms des **espèces** doivent être formés d'une combinaison **binaire** dont le premier terme est le nom de **genre** et le deuxième terme (« une épithète »). Le premier terme prend **une majuscule** et le deuxième terme commence par une **minuscule** (exemple : *Streptococcus equi*).

Après une première citation, l'utilisation de la première lettre du nom de genre suivie d'un point puis de l'épithète est tolérée (exemple : *S. equi*).

➤ Les noms des **sous-espèces** doivent être formés d'une combinaison **ternaire** dont le premier terme est le nom de genre, le deuxième est l'épithète spécifique et le troisième une épithète propre à la sous-espèce (épithète sous-spécifique). Les épithètes prennent une minuscule et elles sont séparées par l'abréviation "subsp."

Exemples : *Staphylococcus aureus* subsp. *anaerobius*, *Pasteurella multocida* subsp. *multocida*, *Aeromonas hydrophila* subsp. *dhakensis*.

➤ Les noms des taxons d'un rang hiérarchique **supérieur** au **genre** et incluant les **ordres** sont au féminin pluriel, ils doivent prendre une **majuscule** et ce sont des substantifs ou des adjectifs traités comme des substantifs. Ces noms sont formés en rajoutant **un suffixe à la racine** du nom du **genre type**. Ces **suffixes sont répertoriés dans tableau 1**.

Dans la taxonomie des procaryotes, les niveaux ou les rangs les plus utilisés sont par ordre **descendant** ; Le **domaine** est le premier niveau de classification (*Bacteria*), vient ensuite le **phylum**, la **classe**, l'**ordre**, la **famille**, le **genre** et l'**espèce**. Cette dernière constitue l'unité de

classification. Toutefois, il est souvent nécessaire de subdiviser une espèce en différentes **sous-espèces** (*subspecies*). Il existe également des rangs intermédiaires en fonction du groupe taxinomique.

➤ Le nom de chaque taxon d'un rang hiérarchique **supérieur** à l'ordre il faut qu'il soit un mot latin ou latinisé de préférence conforme à la **Recommandation 6**. Il est basé par choix sur une combinaison de caractères du taxon ou sur un seul caractère d'une importance exceptionnelle.

Tableau 2 : Vue d'ensemble des rangs taxinomiques, des suffixes respectifs et des types appropriés énumérés dans le code bactériologique.

Rang taxinomique	Taxonomic rank	suffixe	Type nomenclatural	exemple
Domaine	Domain	----		<i>Bacteria</i>
Phylum	Phylum	-aeota	Choix d'une classe type parmi celles qui composent le phylum	<i>Proteobacteria</i>
Classe	Class	-ia	Choix d'un ordre type parmi ceux qui composent la classe	<i>Gammaproteobacteria</i>
Sous-classe	Subclass	-idae	Genre type provenant du nom du taxon	-----
Ordre	Order	-ales		<i>Pseudomonadales</i>
Sous-ordre	Suborder	-ineae		<i>Pseudomonadineae</i>
Famille	Family	-aceae		<i>Pseudomonadaceae</i>
Sous-famille*	Subfamily	-oideae		---
Tribu*	Tribe	-eae		<i>Pseudomonadeae</i>
Sous-tribu*	Subtribe	-inae		-----
Genre	Genus		Espèce type choisie lors de la première définition du genre	<i>Pseudomonas</i>
Sous-genre	Subgenus			
Espèce	Species		Souche type choisie lors de la première définition de l'espèce	<i>Pseudomonas syringae</i>
Sous-espèce	Subspecies			<i>Pseudomonas syringae</i> subsp <i>syringae</i>
Biovar, serovar, pathovar				pv .Tomato

* : Les rangs **sous-famille**, **tribu**, **sous-tribu** et **sous-genre** ne sont pas largement utilisés à l'heure actuelle

e- L'identification est le côté pratique de la taxinomie, elle consiste à **déterminer** qu'un isolat particulier appartient à un **taxon** connu. ou encore ; l'identification attribue à une souche inconnue l'un des taxons déjà décrit ou permet de créer un nouveau taxon. C'est

le processus pour déterminer si un organisme appartient à une des unités définies (classifiées) et marquées (nommées).

La souche inconnue est comparée à des espèces déjà décrites (souches types) et le nom de l'espèce la plus similaire est proposé.

L'identification d'une bactérie consiste habituellement à obtenir une culture pure de celle-ci et de la comparer à l'aide de tests variés à un grand nombre d'autres espèces jusqu'à retrouver celle correspondante. L'apport des techniques moléculaires permet parfois de s'affranchir de la mise en culture et de proposer une alternative aux tests biochimiques. De nombreuses méthodologies existent aujourd'hui pour l'identification et sont basées sur des caractéristiques phénotypiques des germes et de plus en plus moléculaires. La démarche doit tenir compte de critères de chaque méthodologie et s'organiser selon la forme d'**entonnoir** en partant du plus simple et informatif au plus compliqué et précis.

En pratique, la détermination du genre et de l'espèce d'un procaryote nouvellement découvert est basée sur la **taxonomie polyphasique**. Cette approche inclut les caractères phénotypiques, phylogénétiques et génotypiques.

f- Un **taxon** (ou unité taxonomique ou groupe taxonomique) regroupe différents organismes dans l'ensemble qu'il constitue. Chaque taxon reçoit un nom. Quand des organismes sont regroupés au sein d'un taxon donné c'est parce que la construction de ce regroupement est apparue scientifiquement pertinente. Une espèce x, un genre y, une famille z, un ordre t, une classe u, un phylum v sont des taxons de niveaux hiérarchiques croissants. En microbiologie, un sérotype (ou sérovar) est aussi un taxon mais de niveau infra espèce.

4. Unité de base de la taxonomie

Le groupe de base en taxonomie microbienne est **l'espèce**. **une espèce procaryote est un ensemble de souches** qui partagent **de nombreuses** propriétés stables et diffèrent de façon significative des autres groupes de souches.

Une définition plus précise a été proposée par des taxinomistes bactériens. **Une espèce est un ensemble de souches qui ont une teneur en GC similaire et une similarité de 70% ou plus, estimé par des expériences d'hybridation de l'ADN. Idéalement, une espèce devrait aussi pouvoir se distinguer des espèces similaires.**

Chaque espèce est assignée à un genre, le rang précédent dans la hiérarchie taxonomique.

Toutefois, dans certains cas, des cultures pures **d'une même espèce** ne sont pas tout à fait identiques. On utilise alors le terme de **souche** pour désigner chaque groupe.

- Une **souche** : est une population d'organismes qui se distingue d'autres populations à l'intérieure d'une catégorie taxinomique particulière. On considère qu'elle provient d'un organisme unique (cellule mère) ou d'un isolat de culture pure. On distingue les souches d'une même espèce en faisant suivre l'épithète spécifique d'un numéro, d'une lettre ou d'un nom. Par exemple, la souche *E.coli* O157 :H7 est l'agent responsable de la diarrhée associée à la maladie de hamburger.

Les souches à l'intérieure d'une espèce peuvent différer légèrement l'une de l'autre de multiple façons.

- Des **biovars** sont des souches variantes caractérisées par des différences biochimiques ou physiologiques,
- Les **morphovars** diffèrent morphologiquement,
- Les **sérovvars** ont des propriétés antigéniques distinctes
- Les **pathovars** ont des différences pathogéniques,
- Les **zymovars** différences d'isotypie des enzymes,
- Les **lysovars** différences de sensibilité à des bactériophages,
- Les **antibiotypes** différences de sensibilité aux antibiotiques,

L'espèce bactérienne est constituée par sa **souche type** et par l'ensemble des souches considérées comme suffisamment proche de la souche type pour être incluses au sein de la même espèce.

La souche type est habituellement une des premières souches étudiées et elle est souvent plus complètement caractérisée que les autres. La souche type de l'espèce est appelée espèce type et devient le détenteur du nom de l'espèce. Ceci assure la permanence des noms quand des révisions de la nomenclature interviennent parce que l'espèce type doit rester dans l'espèce originale. Seules les souches très semblables à la souche type ou à l'espèce type sont incluses dans une espèce.

Chapitre II : Principaux types de la taxonomie

Les différentes approches taxonomiques

1. L'approche (Taxonomie) phénotypique

C'est une **classification** qui regroupe les organismes suivant la similitude de leurs **caractères phénotypiques**.

Les caractéristiques phénotypiques communément utilisées dans la taxonomie phénotypique sont les **caractéristiques** morphologiques, physiologiques, biochimiques, écologiques, immunologiques, physico-chimiques (chimiotaxonomie)...etc.

Les caractères phénotypiques sont les **caractéristiques observables** qui résultent de **l'expression des gènes** d'un organisme. Les études **phénétiqes** comparent beaucoup de caractères sans présumer que l'un est plus important phylogénétiquement que l'autre ; ainsi, des caractères non pondérés sont utilisés pour l'estimation d'une similitude générale. La meilleure classification **phénétiqes** est évidemment celle qui compare le plus d'attributs possible. Des organismes qui partagent beaucoup de caractères forment ainsi un **groupe unique ou taxon**. Les caractères phénotypiques sont très utiles pour l'identification de routine et peuvent aussi fournir des informations phylogénétiques.

1.1. Caractéristiques morphologiques

Les **traits (caractéristiques)** morphologiques sont importants en taxonomie microbienne pour de nombreuses raisons. La morphologie est facile à étudier et à analyser, en particulier pour les microorganismes **eucaryotes et les bactéries ou archées** les plus complexes. De plus, les comparaisons morphologiques sont significatives parce que les caractères structuraux **dépendent de l'expression de nombreux gènes**, qu'ils sont habituellement **génétiqes stables** et que, normalement (au moins chez les eucaryotes), ils varient peu avec les changements environnementaux. Ainsi, une similarité morphologique est une bonne indication d'une parenté **phylogénétique**. Beaucoup de caractères morphologiques différents sont utilisés dans la classification et l'identification des microorganismes. Le tableau 2 et 3 résume quelques caractères morphologiques utilisés pour la classification et l'identification.

La morphologie de **la colonie** et des **cellules** permet d'obtenir une **identification initiale** relativement à un micro-organisme. Cela s'effectue par des méthodes simples d'isolation et de

culture du micro-organisme et par l'observation visuelle subséquente au moyen du microscope.

Tableau 2 et 3 : Quelques caractères morphologiques utilisés pour la classification et l'identification

Caractère	Groupe 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 par 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

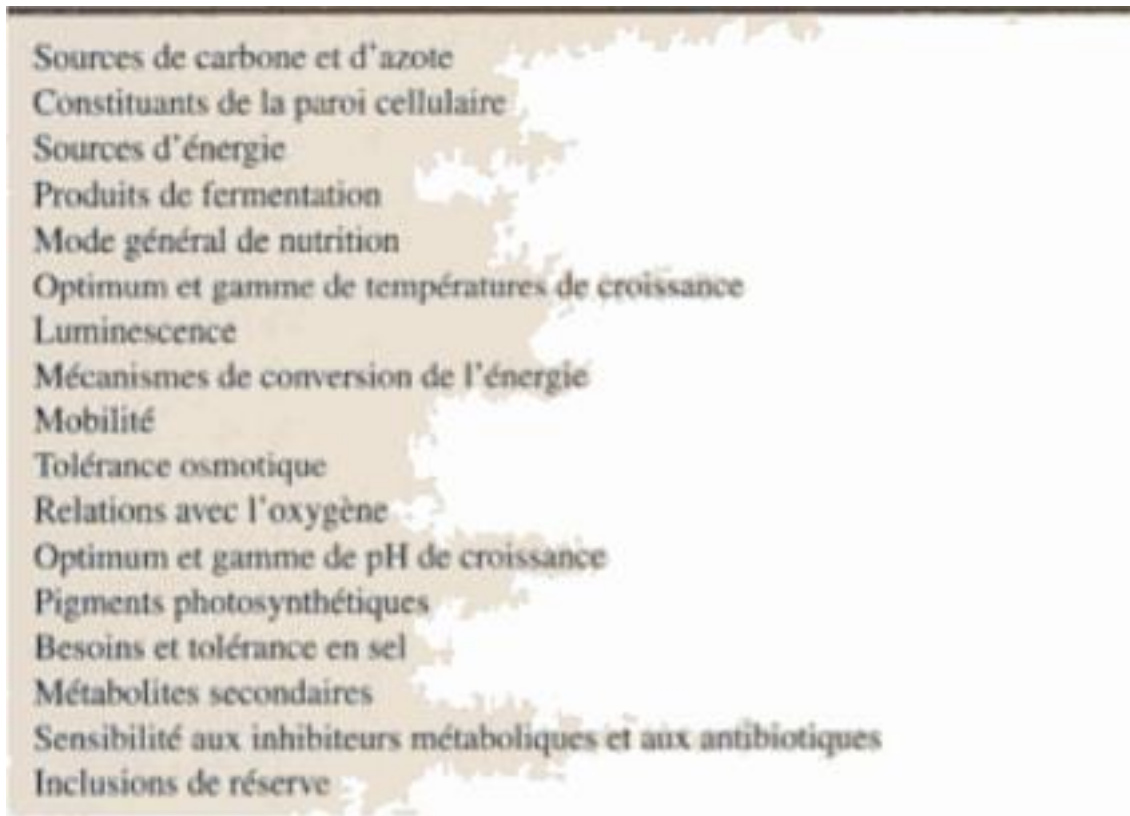
* Utilisés pour la classification et l'identification d'au moins quelques bactéries, algues, mycètes et protozoaires.

Catégorie de test	Test
Morphologie des colonies	Présence de pigments diffusibles ou non, fluorescents ou non, lumineux. Taille et forme des colonies
Micro-morphologie	Coloration de Gram et de Ziehl. Présence de cocci, bacille, mycelium, gaine. Taille des cellules. Agencement des cellules. Présence de granules intra-cellulaires. Mobilité (par flagelles polaires ou péritriches, ou par glissement). Existence d'un dimorphisme ou d'un pléomorphisme. Présence de spores.

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 le produit des gènes, l'analyse de ces caractéristiques fournit une comparaison indirecte des génomes.

Tableau 4 : Quelques caractères physiologiques et métaboliques utilisées pour 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

1.3. Caractéristiques écologiques

La capacité d'un microorganisme de coloniser un environnement spécifique à une valeur taxinomique. Certains microorganismes peuvent être très similaires sous beaucoup d'autres aspects, mais habiter des niches écologiques différentes, ce qui suggère qu'ils peuvent n'être pas aussi proches parents que supposé à première vue. Comme exemple de propriétés écologiques taxinomiquement importantes, citons les modèles de cycles biologiques, la nature des relations symbiotiques, la capacité de causer une maladie chez un hôte particulier, les préférences d'habitat telles les exigences de températures, de pH, d'oxygène et de concentration osmotique.

Beaucoup de propriétés sont de nature écologique, car elles affectent les relations entre microorganismes et environnement. Elles ont souvent une valeur taxinomique, car des microorganismes très proches peuvent **différer** considérablement quant à leurs caractéristiques écologiques. Les microorganismes vivants dans diverses parties du corps humain sont très différents l'un de l'autre et très différents de ce aux qui se développent dans l'eau douce, l'eau de mer ou sur terre. Comme exemple de caractères écologiques importants **taxinomiquement, citons les modes de vie, la nature des relations**

symbiotiques, la capacité de causer une maladie chez un hôte particulier, les préférences d'habitat telles les exigences de températures, de pH, oxygène et de concentration osmotique. De nombreux **facteurs de croissances** sont aussi considérés comme des caractères physiologiques (tableau 4).

1.4. Caractéristiques sérologiques

Les bactéries sont des mosaïques d'**antigènes**. Cette complexité antigénique des structures de surface (flagelle, pili, paroi, membrane, capsule) peut être mise à profit dans la **classification et l'identification**. La facilité et la rapidité des techniques immunologiques sont en effet des avantages considérables. Dans la famille des *Enterobacteriaceae*, de nombreux genres ou espèces sont ainsi subdivisés en **serotype**. Les épreuves sérologiques permettent de **différencier non seulement des espèces de microorganismes, mais aussi des souches d'une même espèce**.

En titre d'exemple, la classification de **streptocoques** en groupe sérologique repose sur la détection et l'identification de l'antigène de structure pariétale : « **le polysaccharide C** ». En lumière de la composition chimique de cet antigène polysaccharidique plusieurs espèces de streptocoques ont été déterminées et ont été divisées en 21 groupes (A – W) sauf I et J.

Un autre antigène de nature protéinique appelé antigène **M** permet en effet de différencier à l'intérieur du groupe A, 56 types sérologiques différents.

1.5. Caractéristiques physico- chimiques (Chimiotaxonomie)

La caractérisation chimiotaxonomique est basée sur l'étude (analyse) de différents constituants cellulaires des procaryotes. Chimiotaxonomie consiste en l'utilisation des caractères chimiques dans la classification des organismes. Ces caractères ont été surtout étudiés au niveau des parois cellulaires. Elle est couramment utilisée pour **la définition d'espèce**.

Les composés majeurs adoptés par cette classification sont les acides aminés pariétaux, protéines, peptides, les lipides des enveloppes (paroi) cellulaires, polysaccharides et autres polymères apparentés, enzymes ainsi que d'autres molécules polymères complexes telles que l'isoprénoïde quinone et le stérol parmi les membres de différents taxons. Le tableau ci-dessous résume les constituants et les méthodes utilisés en chimiotaxonomie.

Tableau 5. Les constituants cellulaires et les méthodes utilisées pour la caractérisation des bactéries en Chimiotaxonomie

Site or level	Components	Analytical methods*
Extracellular	Products of metabolism Polysaccharides	TLC, GLC, HPLC and isotachopheresis of extracts and derivatives GLC of derivatives
Whole-organism	Whole-organism Pyrolysate Fatty acids Proteins Polyamines Sugars	FT-IR spectrometry Pyrolysis GLC or MS GLC of methyl esters PAGE, two-dimensional electrophoresis and isoelectric focusing HPLC of dansyl derivatives GLC of methyl glycosides
Gram-negative outer membrane	Lipopolysaccharide Polar lipids	Purification by UC then GLC of methyl esters and glycosides TLC of solvent extracts
Mycobacterial outer membrane	Mycolic acids Free lipids	TLC of methyl esters TLC of solvent extracts
Cell wall	Peptidoglycan: 1 Diaminopimelate isomers 2 Other amino acids 3 Glycan type Polysaccharides Teichoic acids	PC and TLC of whole organism or wall hydrolysates PC and TLC of wall hydrolysates, GLC of derivatives, AAAA Glycolate test As for whole-organism sugars Chemical analysis and serology
Plasma membrane	Isoprenoid quinones Polar lipids Cytochromes	TLC, RPTLC, GLC, HPLC, RPHPLC and DPMS of solvent extracts Spectrophotometry
Proteins	Enzymes Amino acids	PAGE, growth independent enzyme assays (rapid enzyme tests) and functional characterization Sequencing

1.5. 1. Détermination des profils protéiques

Le profil électrophorétique d'une souche est le reflet du bagage génétique de la bactérie et sa comparaison avec les profils d'autres bactéries permet de mesurer leur degré de parenté. Deux microorganismes très proches doivent avoir des profils **similaires ou identiques**.

1.5.2. Analyse des acides gras cellulaires

Les acides gras sont les composants majoritaires des lipides cellulaires. La caractérisation des types et des proportions d'acides gras présents dans les membranes bactériennes est utilisée par certains laboratoires pour identifier les bactéries. Un profil d'acide gras peut donc être caractéristique d'un genre ou d'une espèce bactérienne. Ainsi les *Lactobacillus* spp. ont des

acides gras à nombre pair d'atomes de carbone et à courte chaîne droite alors que les espèces du genre *Bacillus* ont des acides gras à nombre impair de carbones et à chaîne ramifiée. Les profils d'acides gras d'un organisme pouvant varier en fonction de la température, de la phase de croissance voire du milieu de culture, cette technique n'est applicable qu'aux bactéries cultivables dans des conditions standards. Elle n'est utilisée que par des laboratoires spécialisés.

1.5. 3. Structure et composition de la paroi bactérienne

Le peptidoglycane étant très répandu dans le monde bactérien (hors *Tenericutes*, *Chlamydiae* et *Planctomycetes*), la composition de la paroi cellulaire peut être déterminée dans un but taxonomique. La détermination de sa composition est surtout utilisée pour les bactéries à Gram positif chez lesquelles elle peut être caractéristique **d'un genre** ou d'une **espèce** bactérienne particulière. Le type de peptidoglycane chez les bactéries à Gram négatif est plutôt uniforme et ne présente que peu d'intérêt **taxonomique**.

Les acides teichoïques enchâssés dans ce peptidoglycane peuvent également être utilisés en tant que marqueurs phénotypiques après extraction, purification et analyse par chromatographie. Leur absence chez *Micrococcus spp* permet de distinguer ces bactéries des *Staphylococcus spp*. Au sein de ce genre, le type d'acide teichoïque permet de différencier *Staphylococcus aureus* des autres espèces de staphylocoques.

2. L'approche moléculaire (taxonomie génotypique ou moléculaire)

L'approche moléculaire fait appel aux méthodes basées sur l'analyse des molécules d'ADN ou d'ARN, soit au niveau de l'ensemble du génome, soit en ciblant certains fragments du chromosome ou du plasmide bactérien.

De nombreuses méthodes d'identification génotypiques validées permettent d'identifier une bactérie ou archée ont été développées pour contourner certaines limites de l'identification phénotypique. Le tableau 6 résume quelques méthodes utilisées en taxonomie des bactéries.

Certaines des méthodes décrites ci-dessous sont classiquement utilisées en taxonomie bactérienne parce qu'elles sont considérées comme des méthodes de référence (hybridation ADN-ADN, détermination du G+C%, séquençage du gène de l'ARNr 16S) et/ou parce qu'elles sont aisées à mettre en place. D'autres sont beaucoup moins utilisées, soit de par leur

Le tableau 6. Quelques méthodes utilisées en taxonomie des bactéries

Table 14.4 Some genotypic methods used in bacterial taxonomy

<i>Method</i>	<i>Description/application</i>
DNA–DNA hybridization	A genomewide comparison of sequence similarity. Useful to distinguish species within a genus
DNA profiling	Ribotyping (Section 14.9), AFLP, rep-PCR. Rapid method to distinguish between species and strains within a species
MLST	Strain typing using DNA sequences of multiple genes. High resolution, useful for distinguishing even very closely related strains within a species
GC ratio	Percentage of guanine plus cytosine base pairs in the genome. Less commonly used in taxonomy because of poor resolution. If the GC ratio of two organisms differs by more than about 5%, they cannot be closely related, and organisms with similar or even identical GC ratios may be unrelated

2.1 Détermination du pourcentage en G+C (Mesure du contenu en guanine et cytosine)

La première technique utilisée se basant sur des acides nucléiques a été la détermination du G+C%. La structure en double brin de l'ADN d'un organisme implique une complémentarité de ces bases : G-C et A-T. La teneur relative en base [G+C] / [A+T] peut varier d'un génome à l'autre, mais il reste constant pour les individus d'une même espèce. Le contenu en base d'un ADN est exprimé par la détermination du G+C%, dont la formule est la suivante :

$$G+C = [G+C] / [A+T+C+G] \times 100$$

$$\text{Mol\% GC} = \frac{GC}{GC + AT} \times 100$$

Sa détermination est considérée comme l'une des méthodes génotypiques les plus classiques et fait partie intégrante de la description standard d'un taxon bactérien.

Ce pourcentage peut être déterminé de différentes manières, en **mesurant la température de fusion** (T_m « melting temperature ») de l'ADN ou par chromatographie liquide haute performance (CLHP).

Le %G+C varie entre 13 et 76% chez les procaryotes et le %G+C des organismes d'une même espèce bactérienne ne doivent pas différer de plus de **3% ou 5%** selon les dénitrions de l'espèce et de plus de **10% dans le cas d'un genre**.

Les données de contenu en GC ont une valeur taxinomique pour au moins 2 raisons.

La première ; ils peuvent confirmer un schéma taxinomique obtenu sur d'autre bases. si des organismes d'un même taxon présentent des contenus en CG trop dissemblables, c'est que le taxon doit probablement être divisé. La seconde, le contenu en CG semble utile à caractériser les genres bactériens, car la variation à l'intérieur d'un genre est généralement inférieure à 10%, même si le contenu varie de façon importante entre les genres. Par exemple le contenu en CG de *Staphylococcus* est de 30 à 38% tandis que celui de *Micrococcus* est de 64 à 75% ; cependant, ces deux genres de coque gram positifs ont beaucoup d'autres caractères en commun.

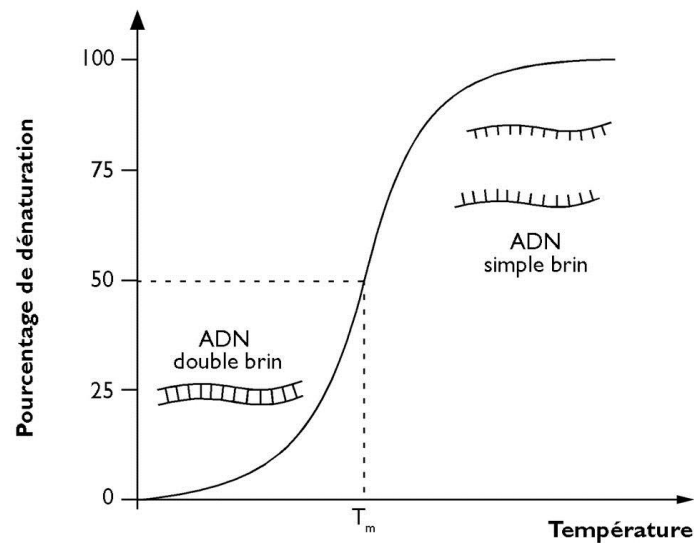


Fig 2 : T_m d'un fragment d'ADN

Le T_m (melting température ou température de fusion moléculaire) d'un fragment d'ADN est la température à laquelle 50 % des molécules sont sous forme double brin.

2.3. Détermination des taux d'hybridation ADN-ADN

Cette technique a été rendue possible grâce à la découverte du phénomène de dénaturation et renaturation de l'ADN.

Le chauffage progressif d'une molécule d'ADN entraîne la rupture des liaisons hydrogènes reliant les paires de bases entre les deux brins. Les brins deviennent indépendants l'un de l'autre et seul un refroidissement lent permet de rétablir ces liaisons hydrogènes.

Cette dénaturation est caractérisée par le **T_m** (thermal denaturation midpoint, température de demi dénaturation de l'hybride) qui augmente en fonction du contenu en G+C% du génome considéré. La renaturation des deux brins d'ADN se produit suite à un **refroidissement lent**. Par contre, si la solution d'ADN est refroidie brutalement, les deux brins restent sous forme monocaténaire.

Afin de déterminer si deux organismes appartiennent à la même espèce, leur ADN est mélangé dans une même solution. Après dénaturation, la température de la solution est abaissée afin que les brins d'ADN se réassocient.

Lors de la renaturation on obtient deux types de duplex : (i) des **homoduplex** d'ADN formés de deux brins d'ADN provenant du même organisme et (ii) des **hétéroduplex** d'ADN formés de deux brins provenant chacun d'un organisme différent (hybrides).

C'est le **ratio** d'hétéroduplex qui est pris en compte dans le taux d'hybridation ADN/ADN. Plus les brins d'ADN des deux espèces sont complémentaires, plus cela favorisera l'apparition d'hétéroduplex. S'il y a plus de 70% d'hétéroduplex, alors les deux bactéries peuvent être considérées comme étant de la **même espèce**.

Le ΔT_m obtenu ne doit pas dépasser 5° C chez les souches d'une même espèce. Si le ΔT_m est $>$ à 7-8°C, on peut admettre que les deux ADN appartiennent à des espèces différentes.

Si des molécules d'ADN ont des séquences très différentes, elles ne formeront pas d'hybrides stables détectables. **Par conséquent, l'hybridation ADN-ADN n'est utilisée que pour l'étude de microorganismes étroitement apparentés.**

Il existe plusieurs méthodologies pour mesurer la similarité ADN/ADN qui utilisent toutes le même principe, notamment ;

- (i) la méthode à l'hydroxyapatite

(ii) la méthode à l'endonucléase S1

(iii) la méthode de renaturation optique

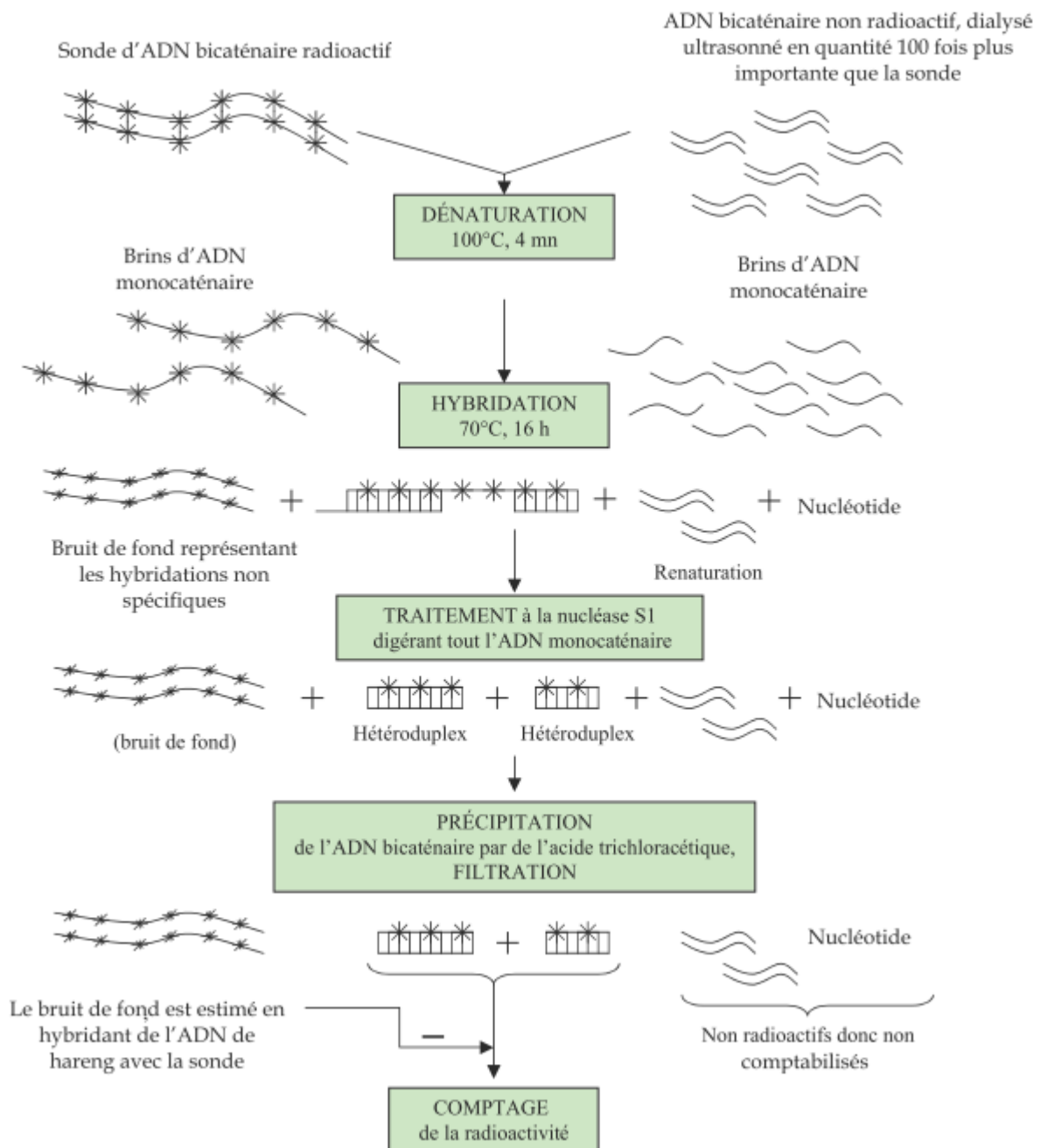


Fig 3: schéma de l'hybridation ADN/ADN par la méthode de la nucléase S1

3.3. Outils moléculaires modernes et taxonomie

3.3.1 Le séquençage des acides nucléiques (Le séquençage de l'ARN 16s ou l'ADNr 16s)

a. Le séquençage l'ARN 16s

La première classification des bactéries, basée sur des **marqueurs moléculaires**, a été proposée par Woese et ses collaborateurs en 1970. En effet, en se basant sur **l'étude de l'ARN 16S**, ces auteurs ont suggéré l'existence de deux groupes de procaryotes : les eubactéries et les archéobactéries (Woese & Fox, 1977).

Les ARNr ont été choisis en taxonomie pour plusieurs raisons évidentes :

- ils sont présents dans les cellules procaryotes et eucaryotes,
- ils ont une structure bien conservée chez tous les êtres-vivants,
- des portions d'ARNr ont une séquence identique chez tous les êtres vivants.
- Ils sont abondants dans la cellule, faciles à purifier et à séquencer (utilisation d'une reverse transcriptase).

Les ARNr s'associent à des protéines pour former les ribosomes. La sous-unité 30S d'un ribosome contient de l'ARNr 16S et la sous-unité 50S contient de l'ARNr 5S et de l'ARNr 23S. L'ARNr 5S est formé d'environ 120 nucléotides, l'ARNr 16S de 1 500 nucléotides et l'ARNr 23S comprend environ 2900 nucléotides. **Le plus utilisé pour les études taxonomiques est l'ARNr 16S.**

L'ARNr 16S est utile à la classification phylogénétique et à l'identification bactérienne. Il comporte des séquences conservées (stables) communes à des unités de taxons élevés et des séquences variables spécifiques d'espèces. La séquence nucléotidique de l'ARNr 16S peut être comparé via internet à celles de souches déposées dans des banques de données internationales.

b. Séquençage du gène ARNr 16S

La tendance actuelle est de travailler sur le gène qui code l'ARN ribosomal 16S. Le gène de l'ARN 16S a comme avantage d'être facilement séquencé, d'avoir une séquence suffisamment informative et d'être constitué de domaines hautement conservés entourant des domaines variables. La technique de PCR (amplification en chaîne par polymérase) utilisée permet de multiplier l'ADN codant pour les ARNr 16S et de le séquencer base par base. A partir d'une copie on peut obtenir 1 million de copies. Ensuite

les gènes individuels ou le génome entier sont comparés avec les séquences des **bactéries déjà identifiées**.

Il est admis qu'en dessous de 97% d'homologie deux bactéries ne peuvent appartenir à la même espèce. Ce n'est que si les gènes présentent plus de 97% de similarité de séquence qu'il est alors nécessaire de faire appel à l'hybridation ADN/ADN afin de confirmer un taux d'hybridation supérieur ou égal à 70% entre les deux organismes et donc de valider que ceux-ci appartiennent à la même espèce.

Le gène de l'ARNr 16S s'imposant comme l'étalon-or de l'identification et la classification d'espèce bactérienne, il a été nécessaire de mettre en place des banques de données de séquences.

Actuellement, ils existent **de nombreuses bases de données**, disponible sur Internet, contenant les noms et les séquences alignées pour chaque espèce et proposées à la libre consultation, associées avec des outils permettant des analyses et des comparaisons entre séquences. Ces outils permettent de comparer une séquence nucléotidique d'une souche inconnue avec les banques de séquence et retiennent les séquences les plus proches.

Tableau 7 : Seuils de similarité de séquence du gène de l'ARNr 16S pour les rangs taxonomiques majeurs. L'intervalle de confiance est indiqué entre parenthèses. Le seuil de qualification de l'espèce a été déterminé par Stackebrandt et Ebers (2006). Source: Rosselló-Móra et Amann (2015) et Yarza et al. (2014).

Rang	Seuil	Minimum (%)	Mediane (%)
Espèces	98,7	98,7	NA
Genre	94,5	94,8 (94,5, 95,1)	96,4 (96,2, 96,6)
Famille	86,5	87,7 (86,8, 88,4)	92,3 (91,7, 92,9)
Ordre	82	83,6 (82,3, 84,8)	89,2 (88,3, 90,1)
Classe	78,5	80,4 (78,6, 82,5)	86,4 (84,7, 88,0)
Phylum	75	77,5 (75,0, 79,9)	83,7 (81,6, 86,0)

3.3.2 Autres méthodes génotypiques utilisées en taxonomie bactérienne

- Étude de la structure génomique par électrophorèse en champ pulsé l'ECP ou PFGE (pour Pulsed Field Gel Electrophoresis)
- Séquençage total des génomes et génomique comparée
- REP-PCR (repetitive sequence based-PCR).
- AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)
- SNP (Single Nucleotide Polymorphism).
- MLST (Multi Locus Sequence Typing) analyse de séquences multilocus
- MLSA (Multilocus Sequence Analysis) 'analyse de séquences multilocus
-

4. Taxonomie polyphasique (mixte et consensuelle) (polyphasic taxonomy)

Les termes de "polyphasic taxonomy" ont été introduits en 1970 par Colwell pour faire référence à **une classification qui tient compte d'un maximum de données** : données génétiques, données phénotypiques, données chimiotaxonomiques, données écologiques....

Progressivement, il a été reconnu que cette classification devait refléter le plus fidèlement possible les relations naturelles entre les bactéries. Les informations génotypiques, génomiques et phylogénétiques sont fournies par l'analyse des acides nucléiques via différentes méthodes, tandis que les informations phénotypiques sont déterminées via les protéines et leurs fonctions ou en utilisant d'autres marqueurs chimiotaxonomiques.

La combinaison des résultats obtenus de ces différents niveaux cellulaires permet une classification consensus des microorganismes étudiés. Actuellement l'identification de bactéries inconnues passe obligatoirement par l'application de ce concept de taxonomie mixte et consensuelle faisant appel à une combinaison des différentes données décrites précédemment, car cette approche est actuellement la plus satisfaisante scientifiquement.

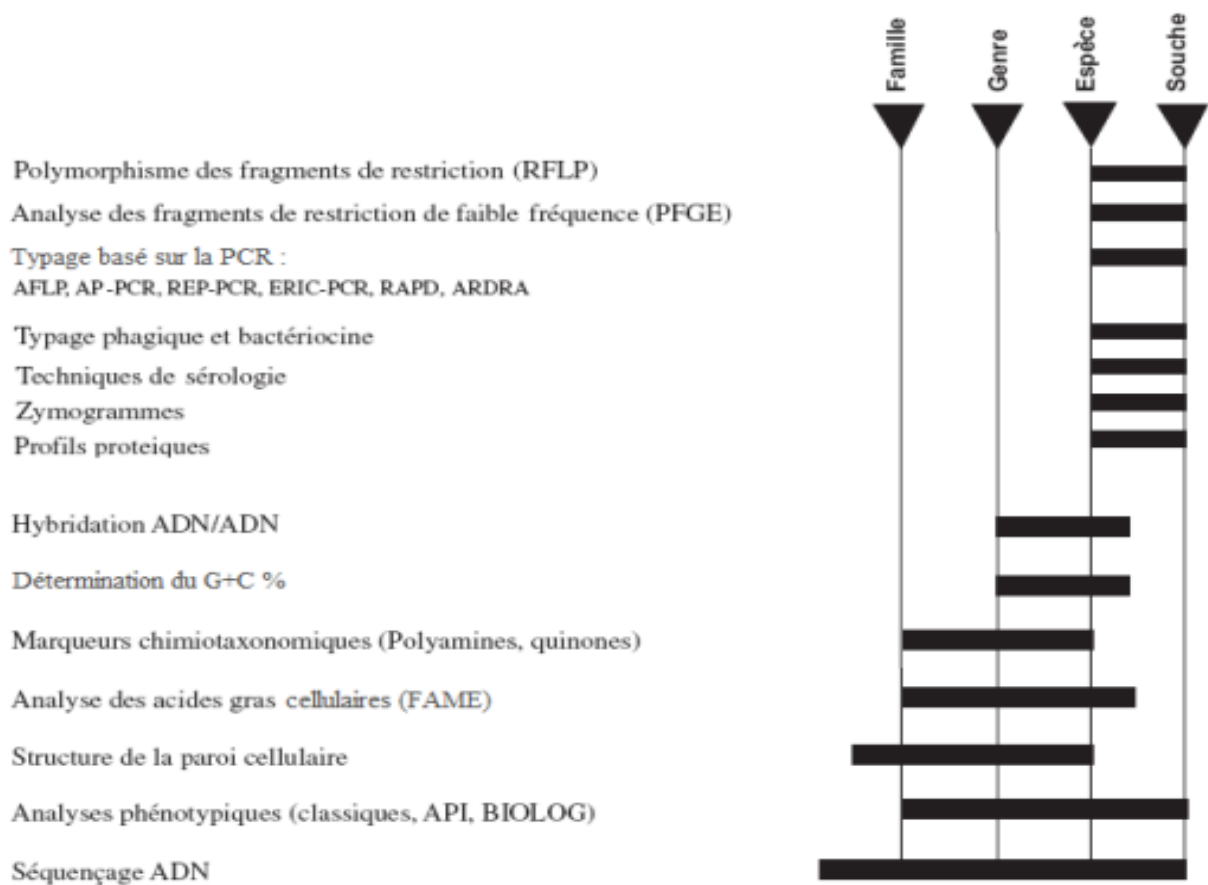


Figure 5. Pouvoir discriminant de certaines techniques pouvant être utilisées dans une approche taxonomique mixte et consensuelle. Adapté de Zakhia et coll. (2006) et de Vandamme et coll. (1996).

RFLP, restriction fragment length polymorphism ; PFGE, pulsed-field gel electrophoresis ; AFLP, amplified fragment length polymorphism ; AP-PCR, arbitrarily primed PCR ; REP-PCR, repetitive extragenic palindrome PCR ; ERIC-PCR, enterobacterial repetitive intragenic consensus PCR ; RAPD, randomly amplified polymorphic DNA ; ARDRA, amplified rDNA restriction analysis ; MLEE, multilocus enzyme electrophoresis ; FAME, fatty acid methyl ester.

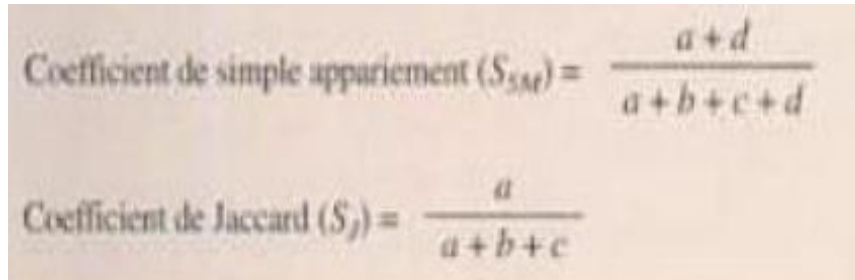
3. Taxonomie numérique

La taxonomie numérique ou **adansonienne** consiste à évaluer la similitude entre de nombreuses souches en comparant de nombreuses caractéristiques (**morphologique, biochimique, physiologique**) tout en accordant à chacune d'elles le **même poids**. Cette taxonomie est devenue possible grâce à l'avènement des **ordinateurs**.

Le procédé débute par la détermination de la **présence** (+ ou 1) ou l'**absence** (-ou 0) de caractères sélectionnés dans le groupe d'organismes étudiés. *Un caractère est généralement défini comme un attribut dont on peut faire énoncé unique.* Pour faire une classification précise et fiable, il faut comparer de nombreux caractères, au moins **50** et de préférence **plusieurs centaines**. Après l'analyse des caractères, on calcule pour chaque paire d'organismes du groupe un **coefficient d'association**, une fonction qui mesure l'accord entre les caractères des **deux organismes (les souches sont comparées une à une)**.

Le coefficient de simple appariement (S_{SM} pour « simple matching ») et le coefficient de Jaccard (S_J). Le coefficient le plus utilisé en microbiologie étant celui de Jaccard.

le coefficient de Jaccard (S_J) est calculé en ignorant tout caractères qui fait défaut chez deux organismes. La valeur des 2 coefficients augmente de façon linéaire de 0,0 (pas d'appariement) à 1,0 (100% d'appariement). la formule de calcul des 2 coefficients sont comme suit :


$$\text{Coefficient de simple appariement } (S_{SM}) = \frac{a+d}{a+b+c+d}$$
$$\text{Coefficient de Jaccard } (S_J) = \frac{a}{a+b+c}$$

a : caractères présents chez les deux souches (1,1)

b : caractères propres à la souche A (1,0)

c : caractères propres à la souche B (0,1)

d : caractères absent chez les deux organismes (0,0)

Les organismes présentant une grande similitude sont groupés et séparés des organismes dissemblables ; de tels groupes d'organismes sont appelés **phenons** (parfois aussi **phénoms**).

Les phenoms formés à environ 80% de similitude sont souvent équivalents aux espèces.

Les résultats de l'analyse taxonomique numérique sont souvent résumé en un arbre appelé **dendogramme**.

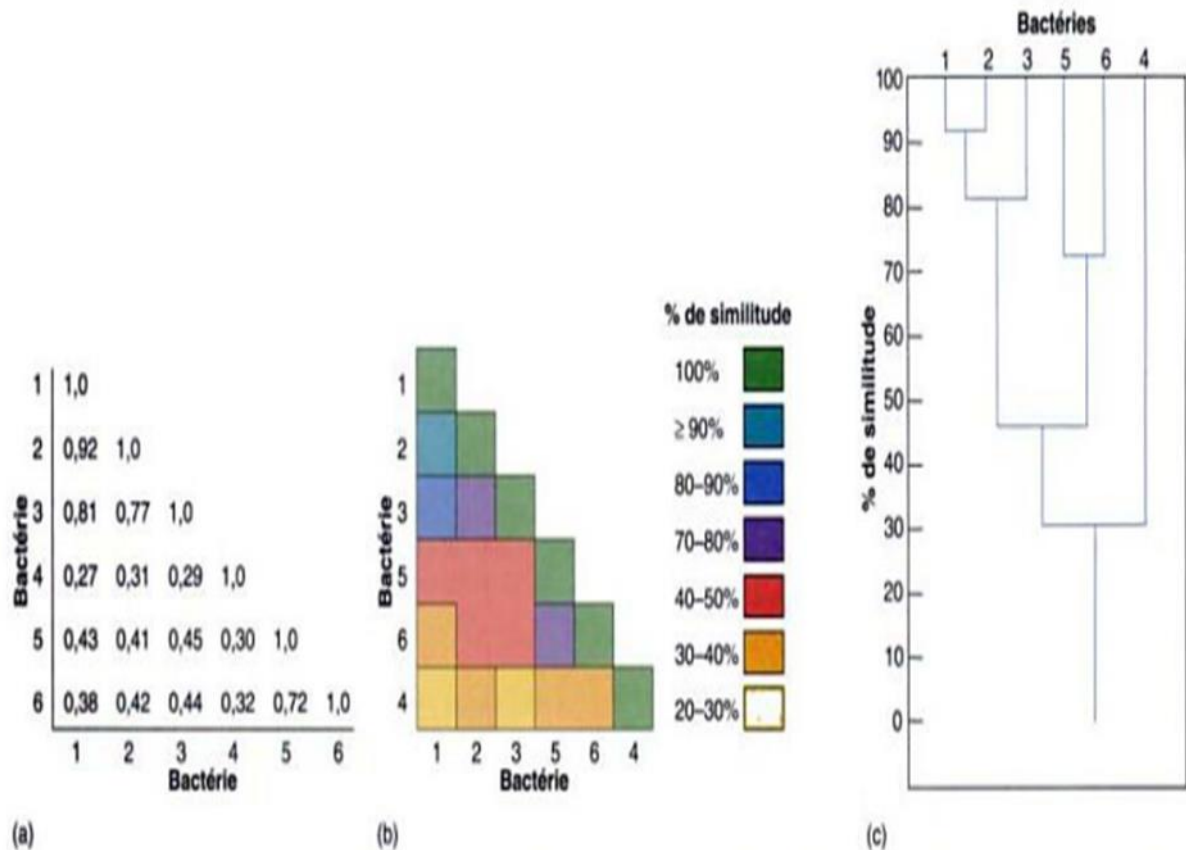


Figure 19.5 Les ensembles et les dendrogrammes en taxinomie numérique. (a) Une petite matrice de similitude qui compare six souches bactériennes. Le degré de similitude s'étend de 0 (0.0) à la similitude complète (1.0). (b) Les bactéries ont été réarrangées et jointes pour former des groupes de souches similaires. Par exemple, les souches 1 et 2 sont les plus similaires. Le groupe de 1 plus 2 est assez similaire à la souche 3, mais pas du tout à la souche 4. (c) Dendrogramme montrant les résultats de l'analyse faite en b. Les souches 1 et 2 sont des membres d'un phénon 90 et les souches 1 à 3 forment un phénon 80. Tandis que les souches 1 à 3 peuvent être membres d'une seule espèce, il est tout à fait improbable que les souches 4 à 6 appartiennent à la même espèce que 1 à 3.

Fig 6 . Les ensembles et les dendrogrammes en taxonomie numérique

5. Le Bergey's Manual of Systematic Bacteriology

En 1923, David Bergey, professeur de bactériologie à l'université de Pennsylvanie, et quatre collègues publièrent une **classification** des bactéries qui pouvait être utilisée comme clé pour l'identification des espèces bactériennes le « *Bergey's Manual of determinative bacteriology* ».

En 1984, fut publiée la première édition du *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*.

Il contient les descriptions de toutes les espèces de procaryotes (bactéries et archées) identifiées à l'époque. Ce livre de référence des taxonomistes bactériens reposait jusqu'à ce cette époque sur la **classification phénotypique** des bactéries (c'est-à-dire sur leurs caractères apparents et ne fournissait aucun détail sur l'évolution naturelle des bactéries les unes par rapport aux autres.

La seconde édition du *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, paru en 2001-2003 en 5 volumes, reflète les progrès énormes accomplis en taxinomie microbienne depuis la publication de la première édition, en particulier pour les **approches moléculaires de l'analyse phylogénétique**. Ainsi, alors que la classificarion dans la première édition était phénétiqque (basée sur une caractérisation phénocypique), la seconde édition du « Bergey » est largement phylogénétique. Bien que les réponses à la **coloration de Gram** soient généralement considérées comme caractères phénétiqques, elles jouent aussi un rôle dans la classification phylogénétique des micro-organismes.

Outre la réorganisation basée sur la phylogénie, la seconde édition donne plus d'informations écologiques sur les taxons individuels. Elle ne regroupe pas toutes les bactéries cliniquement importantes comme le faisait la première édition. Au lieu de cela, les espèces pathogènes sont placées **phylogénétiquement** et se trouvent donc dispersées dans les cinq volumes suivants.

Volume 1—Les *Archaea* et les *Bacteria* des branches les plus anciennes et les *Bacteria* phototrophes.

Volume 2—Les *Proteobacteria*

Volume 3—Les *Firmicutes*

Volume 4—Les *Bacteroidetes*, les *spirochaetes*, les *tenericutes*, les *Fusobacteria*, les *Dictyoglomi*, les *Gemmatimonadetes*, les *Lentisphaerae*, les *Verrumicrobia*, les *Chlamydiae*, et les *Planctomycetes*

Volume 5—*Actinobacteria*

Depuis 2001, des versions réactualisées de cette classification, gratuitement accessibles en ligne, appelées "Taxonomic Outline of the Prokaryotes", sont également disponibles sur le site www.cme.msu.edu/Bergeys/. L'augmentation croissante des séquences et des espèces décrites entraîne un accroissement des données disponibles qui est résumé dans le Tableau 8.

Tableau8: Manuel de Bergey et ses éditions

<i>Bergey's manual of determinative bacteriology</i>	Année d'édition	Caractéristiques
1 ^{re} édition	1923	De Bergey DH ¹ et al., initiée et publiée par la Society of american bacteriologists ² Le Dr Bergey est propriétaire nominal du manuel
2 ^e édition	1925	
3 ^e édition	1930	
4 ^e édition	1934	Transfert de propriété de son manuel aux administrateurs initiaux (dont lui-même jusqu'en 1937) et à leur successeurs : Breed RS et al. de 1937 à 1956...
5 ^e édition	1939	
6 ^e édition	1948	
7 ^e édition	1957	
8 ^e édition	1974	
<i>Bergey's manual of determinative bacteriology</i>	Année d'édition	Caractéristiques
Version abrégée de la 8 ^e édition	1977	<i>The Shorter Bergey's manual of determinative bacteriology</i>
<i>Bergey's manual of systematic bacteriology</i> 9 ^e édition de Holt JG et al. ³	1984 (volume 1) 1987 (volume 2) 1989 (volumes 3 et 4)	Classification des bactéries en 35 sections
<i>Bergey's manual of determinative bacteriology</i> 9 ^e édition de Holt JG et al.	1994 (un seul volume)	Holt JH et al. Classification des bactéries en 35 groupes (ne correspondant pas aux sections ci-dessus)
<i>Bergey's manual of systematic bacteriology</i> 2 ^e édition de Garrity 2001-2003 (en 5 volumes) ⁴	2001 (volumes 1 et 2) 2002 (volumes 3 et 4) 2003 (volume 5)	Classification phylogénétique des micro-organismes
Nouvelle édition ⁵	2005 (volume 2) 2009 (volume 3) 2011 (volume 4)	

1. David Hendricks Bergey (1860-1937).

2. Aujourd'hui dénommée The American Society for Microbiology.

3. Les deux appellations de l'ouvrage figurent sur la page de couverture du volume 1 de 1984, mais cette édition constitue aussi la 1^{re} édition du *Bergey's manual of systematic bacteriology*.

4, 5. Voir informations complémentaires ci-dessous.

☐ Informations complémentaires

Contrairement à toutes les éditions passées, la 2^e édition du *Bergey's manual of systematic bacteriology* (2001-2003) présente donc une classification phylogénétique des micro-organismes.

Elle comprend 5 volumes :

– volume 1 (2001) : *The Archaeae and the deeply branching and phototrophic Bacteria* ;

– volume 2 (2001) : *The Proteobacteria* ;

– volume 3 (2002) : *The low G + C Gram-positive Bacteria* ;

– volume 4 (2002) : *The high G + C Gram-positive Bacteria* ;

– volume 5 (2003) : *The Planctomycètes, Spirochaetes, Fibrobacteres, Bacteroidetes and Fusobacteria*.

Les volumes 2, 3, 4 et 5 ont fait l'objet d'une nouvelle édition respectivement en 2005, 2009, 2010 et 2012 :

– volume 2 (2005) : *The Proteobacteria parta A-C* ;

– volume 3 (2009) : *The Firmicutes* ;

– volume 4 (2010) : *The Bacteroidetes, Spirochaetes, Tenericutes (Mollicutes), Acidobacteria, Fibrobacteres, Fusobacteria, Dictyoglomi, Gemmatimonadetes, Lentisphaerae, Verrucomicrobia, Chlamydiae, and Planctomycetes* ;

– volume 5 (2012) : *The Actinobacteria*.

Tableau 9 : Résumé du plan taxonomique utilisé dans la deuxième édition du *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*.

Taxonomic rank ^a	Total	Archaea	Bacteria
Domains	2	1	1
Phyla	25	2	23
Classes	40	8	32
Subclasses	5	0	5
Order/subsection	89	12	77
Suborders	14	0	14
Families	203	21	182
Genera	941	69	871
Species	5224	217	5007

^aAt the close of 1999 there were 4314 validly named species and 849 validly named genera of *Bacteria* and *Archaea*. The increased numbers that will appear in the second edition of *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* are attributed to inclusion of *Cyanobacteria*, which are covered by the Botanical Code, and synonymies (objective and subjective).

Tableau 10 : Nombre de taxons inclus dans les trois dernières versions en ligne du Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. D'après Garrity et coll. (2004, 2005 et 2007).

Rang	<i>Taxonomic Outline of the Prokaryotes</i>		
	version 5.0	version 6.0	version 7.7
Domaine	2	2	2
Phylum	26	27	27
Classe	42	42	44
Ordre	94	94	97
Famille	244	249	260
Genre	1253	1320	1553
Espèce	6747	7158	8233