



## **SARAHMED Editions**

Contactez-nous par e-mail à l'adresse  
[leseditionssarahmed@gmail.com](mailto:leseditionssarahmed@gmail.com) ou visitez notre site web  
<https://sarahmed.net/>

**ISBN 978-9969-505-88-7**  
**Janvier 2025**

# **Identification et Classification des Micro-organismes**

**Prof. Abdelaziz TOUATI**



# TABLE DES MATIERES

|   |           |
|---|-----------|
| <b><u>INTRODUCTION</u></b>  | <b>1</b>  |
| <b><u>1 PRINCIPES DE LA TAXONOMIE</u></b>   | <b>5</b>  |
| <b>1.1 INTRODUCTION A LA TAXONOMIE</b>  | <b>5</b>  |
| 1.1.1 LA TAXONOMIE BACTERIENNE : PRINCIPES ET SUBDIVISIONS                        | 5         |
| 1.1.2 LES FONCTIONS PRINCIPALES DE LA TAXONOMIE<br>BACTERIENNE                    | 7         |
| <b>1.2 LE CONCEPT D'ESPECE</b>  | <b>7</b>  |
| 1.2.1 LA DEFINITION TRADITIONNELLE DE L'ESPECE                                    | 8         |
| 1.2.2 LA NOTION DE SIMILITUDE PHENOTYPIQUE ET DE VARIATION<br>INTERNE             | 8         |
| 1.2.3 DIVERSITE GENETIQUE ET GENOTYPIQUE  | 9         |
| 1.2.4 LA DEFINITION BIOLOGIQUE DE L'ESPECE  | 10        |
| 1.2.5 LA DESCRIPTION COMPLETE DES PHENOTYPES ET DES<br>GENOTYPES                  | 10        |
| <b>1.3 LA NOMENCLATURE : REGLES ET APPLICATION</b>                                | <b>11</b> |
| 1.3.1 NOMENCLATURE  | 11        |
| 1.3.2 CLASSIFICATION ET IDENTIFICATION  | 12        |
| <b>1.4 TAXONOMIE NUMERIQUE</b>  | <b>15</b> |
| 1.4.1 CALCUL DU COEFFICIENT DE SIMILARITE   | 16        |
| 1.4.2 EXEMPLE DE LA HIERARCHIE TAXONOMIQUE DES<br>BACTERIES                       | 19        |
| 1.4.3 LA TAXONOMIE MICROBIENNE  | 21        |
| 1.4.4 APPLICATION DE LA TAXONOMIE NUMERIQUE DANS LA<br>CLASSIFICATION BACTERIENNE | 22        |
| <b>1.5 TAXONOMIE MOLECULAIRE ET GENOTYPES BACTERIENS</b>                          | <b>22</b> |

|            |  |           |
|------------|--|-----------|
| 1.5.1      | APPLICATIONS PRATIQUES DE LA TAXONOMIE MOLECULAIRE                               | 23        |
| 1.5.2      | L'ARBRE PHYLOGENETIQUE DES MICRO-ORGANISMES                                      | 25        |
| 1.5.3      | REPERCUSSIONS DE LA TAXONOMIE MOLECULAIRE  | 27        |
| <b>1.6</b> | <b>NOMENCLATURE BIOLOGIQUE : REGLES ET SYSTEME</b>                               |           |
|            | <b>BINOMIAL</b>  | <b>28</b> |
| <b>1.7</b> | <b>STRATEGIES UTILISEES POUR IDENTIFIER LES BACTERIES</b>                        | <b>29</b> |
| 1.7.1      | IDENTIFICATION MICROBIENNE : APPROCHES<br>TRADITIONNELLES ET LIMITES             | 30        |
| 1.7.2      | AVANCEES DE LA BIOLOGIE MOLECULAIRE  | 31        |
| 1.7.3      | LA REVOLUTION DE LA PCR ET DES METHODES<br>D'AMPLIFICATION DES ACIDES NUCLEIQUES | 32        |
| <b>1.8</b> | <b>METHODES D'IDENTIFICATION BACTERIENNE</b>                                     | <b>33</b> |
| 1.8.1      | TECHNIQUES GENOTYPIQUES VS. TECHNIQUES<br>PHENOTYPIQUES                          | 34        |
| 1.8.2      | COMPLEMENTARITE DES APPROCHES GENOTYPIQUES ET<br>PHENOTYPIQUES                   | 35        |
| 1.8.3      | IDENTIFICATION GENOTYPIQUE BASEE SUR DES MOTIFS                                  | 37        |
| 1.8.4      | IDENTIFICATION GENOTYPIQUE BASEE SUR LES SEQUENCES                               | 38        |

## **2 IDENTIFICATION PHENOTYPIQUE DES BACTERIES**

**41**

|            |   |           |
|------------|---|-----------|
| <b>2.1</b> | <b>LES CARACTERISTIQUES PHENOTYPIQUES DES BACTERIES</b> | <b>41</b> |
| 2.1.1      | MORPHOLOGIE MICROSCOPIQUE                               | 41        |
| 2.1.2      | DIFFERENCES METABOLIQUES                                | 42        |
| 2.1.3      | SEROLOGIE   | 43        |
| 2.1.4      | ANALYSE DES ACIDES GRAS                                 | 44        |

|            |   |           |
|------------|---|-----------|
| 2.1.5      | CARACTERISTIQUES DE LA COLONIE ET PIGMENTATION  | 45        |
| 2.1.6      | CROISSANCE ET CONDITIONS DE CULTURE             | 46        |
| 2.1.7      | IDENTIFICATION BIOCHIMIQUE ET TESTS SPECIFIQUES | 47        |
| 2.1.8      | RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES                    | 47        |
| <b>2.2</b> | <b>MORPHOLOGIE MICROSCOPIQUE</b>                | <b>48</b> |
| 2.2.1      | TAILLE ET FORME DES MICRO-ORGANISMES            | 48        |
| 2.2.2      | IDENTIFICATION DES BACTERIES                    | 49        |
| 2.2.3      | ARRANGEMENT DES BACTERIES                       | 50        |
| 2.2.4      | COLORATION DE GRAM                              | 52        |
| <b>2.3</b> | <b>CARACTERISTIQUES CULTURALES</b>              | <b>60</b> |
| 2.3.1      | MORPHOLOGIE DE LA COLONIE                       | 61        |
| 2.3.2      | MILIEUX DE CULTURE SELECTIFS ET DIFFERENTIELS   | 62        |
| 2.3.3      | APPLICATION CLINIQUE ET DIAGNOSTICS RAPIDES     | 63        |
| 2.3.4      | METHODE DE LA BOITE STRIEE                      | 64        |
| <b>2.4</b> | <b>CARACTERISTIQUES BIOCHIMIQUES</b>            | <b>68</b> |
| 2.4.1      | TEST DE CATALASE                                | 69        |
| 2.4.2      | TEST D'OXYDASE                                  | 72        |
| 2.4.3      | TEST DE COAGULASE                               | 76        |
| 2.4.4      | TEST DE MOTILITE                                | 80        |
| 2.4.5      | TEST HEMOLYTIQUE                                | 82        |
| 2.4.6      | TEST DE GELOSE TRIPLE SUCRE-FER (TSI)           | 85        |
| 2.4.7      | TEST DE LA REDUCTION DES NITRATES               | 90        |
| <b>2.5</b> | <b>SEROTYPAGE</b>                               | <b>93</b> |
| 2.5.1      | LES ANTIGENES DANS LE SEROTYPAGE BACTERIEN      | 94        |
| 2.5.2      | TECHNIQUES DE SEROTYPAGE                        | 95        |
| 2.5.3      | APPLICATIONS DU SEROTYPAGE                      | 96        |
| 2.5.4      | LIMITES DU SEROTYPAGE                           | 98        |
| <b>2.6</b> | <b>ANALYSE DES ACIDES GRAS (FAME)</b>           | <b>98</b> |
| 2.6.1      | PRINCIPES THEORIQUES DE L'ANALYSE FAME          | 99        |
| 2.6.2      | METHODOLOGIE                                    | 99        |

|       |   |     |
|-------|---|-----|
| 2.6.3 | APPLICATIONS PRATIQUES DE L'ANALYSE FAME        | 100 |
| 2.6.4 | VARIABILITE ET STANDARDISATION DES PROFILS FAME | 101 |
| 2.6.5 | PRECISION ET FIABILITE                          | 102 |

### **3 IDENTIFICATION MOLECULAIRE DES BACTERIES**

**103**

#### **3.1 INTRODUCTION**

**103**

#### **3.2 AMPLIFICATION DE SEQUENCES D'ADN SPECIFIQUES A L'AIDE DE LA PCR**

**104**

##### 3.2.1 PRINCIPES FONDAMENTAUX DE LA PCR

105

##### 3.2.2 APPLICATIONS DE LA PCR EN MICROBIOLOGIE

106

##### 3.2.3 ANALYSE DES PRODUITS DE PCR : LES MARQUEURS DE RESTRICTION

107

##### 3.2.4 HYBRIDATION PAR TRANSFERT DE SOUTHERN

108

##### 3.2.5 APPLICATIONS EPIDEMIOLOGIQUES ET TYPAGE MICROBIEN

109

##### 3.2.6 LIMITATIONS DE LA PCR

109

#### **3.3 SEQUENÇAGE DES GENES DE L'ARNr**

**110**

##### 3.3.1 PRINCIPE DU SEQUENÇAGE DU GENE DE L'ARNr 16S

110

##### 3.3.2 PROCEDURE DU SEQUENÇAGE DU GENE 16S

111

##### 3.3.3 AVANTAGES DU SEQUENÇAGE DU GENE DE L'ARNr 16S

112

##### 3.3.4 APPLICATIONS CLINIQUES ET ENVIRONNEMENTALES

113

##### 3.3.5 ANALYSE PHYLOGENETIQUE ET CONSTRUCTION D'ARBRES

114

##### 3.3.6 LIMITATIONS ET DEFIS

115

#### **3.4 METHODES DE TYPAGE MOLECULAIRE**

**116**

##### 3.4.1 ANALYSE PLASMIDIQUE

117

##### 3.4.2 ANALYSE DE RESTRICTION DE L'ADN CHROMOSOMIQUE (RFLP)

120

|            |  |            |
|------------|--|------------|
| 3.4.3      | ÉLECTROPHORESE EN CHAMP PULSE (PFGE) DE L'ADN<br>CHROMOSOMIQUE | 123        |
| 3.4.4      | RIBOTYPAGE   | 125        |
| 3.4.5      | RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHIC DNA (RAPD)                        | 129        |
| 3.4.6      | POLYMORPHISME DE LONGUEUR DE RESTRICTION AMPLIFIE<br>(AFLP)    | 133        |
| <b>3.5</b> | <b>IDENTIFICATION BACTERIENNE PAR MALDI-TOF</b>                | <b>138</b> |
| 3.5.1      | PRINCIPE DE LA METHODE MALDI-TOF                               | 138        |
| 3.5.2      | APPLICATIONS DE MALDI-TOF                                      | 140        |
| 3.5.3      | AVANTAGES DE LA METHODE MALDI-TOF                              | 141        |
| 3.5.4      | LIMITES ET DEFIS DE LA METHODE MALDI-TOF                       | 142        |
|            | <b><u>CONCLUSION</u></b>                                       | <b>145</b> |
|            | <b><u>REFERENCES</u></b>                                       | <b>147</b> |



# LISTE DES ABBREVIATIONS

**AFLP** = Amplified Fragment Length Polymorphism

**ATCC** = American Type Culture Collection

**FAME** = Fatty Acid Methyl Esters

**ICNB** = International Code of Nomenclature of Bacteria

**LPSN** = List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature

**MALDI-TOF** = Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization -  
Time of Flight

**NAAT** = Nucleic Acid Amplification Test

**NGS** = Next-Generation Sequencing

**PFGE** = Pulsed-Field Gel Electrophoresis

**RAPD** = Random Amplified Polymorphic DNA

**RFLP** = Restriction Fragment Length Polymorphism



# INTRODUCTION

La taxonomie microbienne, discipline fondamentale de la microbiologie, vise à organiser et classer les micro-organismes en fonction de leurs traits morphologiques, physiologiques, génétiques et phylogénétiques. Cette classification est essentielle pour comprendre la diversité microbienne et son rôle dans les écosystèmes naturels, la santé humaine et les applications industrielles. À mesure que les travaux contemporains progressent, il devient de plus en plus clair que la taxonomie microbienne est confrontée à des questions complexes sur l'organisation et l'évolution des micro-organismes.

Une question centrale en microbiologie est de savoir si les micro-organismes se regroupent naturellement en ensembles distincts possédant des traits communs et une histoire évolutive partagée. Si tel est le cas, le rôle de la taxonomie est de refléter cette structure de manière fiable et fonctionnelle. Cependant, dans certains cas, la diversité microbienne peut s'avérer plus fluide, certains organismes ne s'intégrant pas parfaitement dans des groupes bien définis. Par conséquent, une approche flexible, intégrant des méthodes classiques et modernes, est nécessaire pour caractériser cette diversité.

Les avancées en génomique communautaire et en phylogénomique ont révolutionné notre compréhension de l'évolution microbienne. Ces disciplines permettent d'explorer la structure génétique des populations microbiennes, identifiant des marqueurs moléculaires et des relations évolutives complexes. Ces données, combinées à des méthodes bioinformatiques, fournissent