

I. Introduction

La microbiologie alimentaire vise à :

1. Rechercher, déterminer et évaluer les microorganismes dans les aliments ;
2. Déterminer l'action (bénéfique ou nuisible) de ces microorganismes ;
3. Observer les effets de transformation et de conservation et leurs relations avec les espèces présentes.

L'étude de ces microorganismes dans leurs biotopes (aliments) n'est pas aussi simple que nous croyons. La diversité microbienne exige un support d'informations assez riche et un système de classification très pointu pour qu'on puisse identifier ces microorganismes les uns par rapport aux autres.

De ce fait, il fallait arranger l'ensemble des cellules microscopiques (virus, bactéries, mycètes, protozoaires et certains algues microscopiques) sous forme de taxons hiérarchiques dans ce qu'on appelle Taxonomie ou Taxinomie ou encore systématique.

II. Rappels sur la classification des microorganismes

Dans le monde microbien :

Il existe deux (2) organisations cellulaires distinctes celle des **eucaryotes** et celle des **procaryotes**. Les virus marque la particularité par leurs appartenance à un groupe à part appelé groupe des **Acaryotes** (**A** : non ou pas, **caryon** : noyau). Ce dernier ne contient pas de vrai noyau ni de propre machinerie enzymatique.

Le groupe des **procaryotes** (**pro** : primitive, **caryon** : noyau) contient que des **bactéries** et **archéobactéries**.

Leurs cellules possèdent :

- ✚ Une paroi particulière dans sa composition (e i : peptidoglycane comme composé pariétale exclusif chez les bactéries).
- ✚ Un cytoplasme pauvre en organites (ribosomes, substances de réserve).
- ✚ Un matériel génétique diffus dans le cytoplasme dépourvus de membrane nucléaire.

Le groupe des **eucaryotes** (**Eu** : vrai, **caryon** : noyau) contient une gamme très large de microorganismes tels que les mycètes, les algues et protozoaires. Les cellules de ce groupe possèdent :

- ✚ Une paroi qui se diffère (dont sa composition) d'un organisme à un autre au moins au niveau d'un composé ou plus (e i : présence de pigmentation -de chitine- etc...).
- ✚ Un cytoplasme très riche et peuplé en micro-organites (ribosomes, appareil de Golgi, mitochondries, REP Lisse et Rigoureux, substances de réserve, etc...).
- ✚ Un vrai noyau avec une membrane nucléaire et un génome très enroulé.

II.1. les eucaryotes

- ✓ Organisation cellulaire complexe différente à celle des procaryotes.
- ✓ Vrai noyau : plusieurs chromosomes et un nucléole
- ✓ Cytoplasme riche en organites.
- ✓ Soit unicellulaire (levure), soit pluricellulaires ou filaments plurinuclés.

Les principaux représentants sont : les protozoaires – les algues – les mycètes.

1. Les protozoaires :

- ✓ La plupart sont des espèces unicellulaires mobiles.
- ✓ La nutrition est par phagocytose.
- ✓ La reproduction est par mitose et parfois par méiose et fécondation.
- ✓ Ils sont dépourvus de cellulose.

Certains sont parasites de l'homme et pathogène provoquant :

La dysenterie → l'amibe parasite intestinal.

Toxoplasmose → maladie touchant les femmes enceintes → l'avortement.

Hématogame → infection des tissus sanguins

Paramécie → infection due au *Paramecium* présent dans l'eau douce.

Insomnie → trypanosome : mouche Tsé – Tsé.

2. Les algues :

Ils sont connus par leur production de différentes pigmentations. Il existe des algues rouges, dorés, brunes et vertes. Ils sont réputés par :

- ✓ Caractères anatomiques et morphologiques typiques aux végétaux.
- ✓ Contiennent une membrane cellulosique.
- ✓ Capables de former la photosynthèse.
- ✓ Rôle importants (ex. gélifiants (agar-agar) – engrais – vitamines A, B, C, D et K).
- ✓ D'autres sont pathogènes provoquant dans la plupart des paralysies.

3. Les mycètes :

- ✓ Non photosynthétiques # algues.
- ✓ Non pas de cellulose ou de chitine
- ✓ N'ont pas des organes de locomotion (flagelles) # protozoaires.

II.2 Les procaryotes

Le groupe englobe les bactéries et les archéobactéries : théorie du même ancêtre.

Les procaryotes possèdent :

- ✚ Une paroi cellulaire (polypeptides et polysaccharides)
- ✚ ADN circulaire unique diffus dans le cytoplasme.
- ✚ Généralement, les cellules contiennent des éléments constants (paroi-cytoplasme –appareil nucléaire – ribosomes) et des éléments facultatifs (plasmides – pili – capsule – vacuole – flagelles).

III. Les unités de classification biologique :

But : établir un arrangement des microorganismes en Taxons selon leurs propriétés communes. Pour ce faire, il faut acquérir un ensemble d'informations : Morphologiques, biochimiques, fonctionnelles (sous le terme phénotype) et récemment moléculaires (sous le terme génotype).

Ce système de classification est composé d'un enchainement de plusieurs **rangs_hiérarchiques** donné comme suit :

Règne – domaine - phylum (embranchement)- classe – ordre (~ales) – famille (~aceae) – genre – espèces.

Les règles d'écriture :

Pour une écriture correcte d'un terme scientifique, 3 principaux bases sont nécessaire, il faut écrire :
1/ la première lettre en Majuscule.
2/ le reste des lettre en Minuscule.
3/ le terme en italique.

IV. méthodes de classement :

Pour pouvoir arranger une bactérie (par exemple), il faut réaliser plusieurs tests afin de collecter le maximum d'informations concernant les similitudes et les différences (de cette bactérie avec celles qui sont déjà répertoriées) sur le plan phénotypiques génotypiques ou en encore polyphasiques.

IV.1. Classement par phénotype

En revanche, certains **tests phénotypiques** d'orientation sont cités ci-après :

- Test de la coloration de Gram.
- Examen et descriptif macroscopique des colonies.
- Test de la mobilité.
- Test de la sporulation

- Test des différentes températures
- Le type de respiration
- Test du profil biochimique (galerie API)
- Etc.

Chez les bactéries, la notion du rang hiérarchique (**sous espèce**) est également importante vu le nombre important des espèces bactériennes. Il s'agit des différences trouvées entre les espèces classées en sous-espèces et sous des appellations bien ciblées.

Lorsque ces différences sont sur le plan :

- **biochimique** ; on appelle la sous-espèce par un **biotype** ou **biovar**.
- **Antigénique** ; on appelle la sous-espèce par un **sérotype** ou **sérovar**.
- **Pathogénique** ; on appelle la sous-espèce par un **pathotype** ou **pathovar**.
- **Enzymatique** ; on appelle la sous-espèce par un **zymotype** ou **zymovar**.
- **Sensibilité aux antibiotiques** ; on appelle la sous-espèce par un **antibiotype** ou un **antibiovar**.
- **Sensibilité aux bactériophages** ; on appelle la sous-espèce par un **lysotype** ou **lysovar**.

IV.2. Classement par génotype :

Ce type de classement est basé sur l'information génétique propre à chaque espèce bactérienne (par exemple). A cet effet, trois (3) principales méthodes sont décrites.

IV.2. 1. Détermination du pourcentage (G+C) : Chargaff et al., 1949.

Même espèce veut dire (G+C)% constant (bases pyrimidiques (C-T)) – (bases puriques (A-G)).

Chez les procaryotes, les valeurs (G+C) % sont très dispersées. Elles varient entre 25 et 75%.

Plus de 5% (> 5%) de différences en matière de (G+C)% (entre la bactérie à identifier par rapport à celle répertoriée) indique que les 2 bactéries à comparer n'appartiennent pas au même rang d'espèce.

Plus de 10% (> 10%) de différences en matière de (G+C)% indique que les 2 bactéries n'appartiennent pas au même genre.

L'inconvénient : lorsque un % en (G+C) est identique n'applique pas il s'agit de la même espèce car l'ordre ou la disposition des bases azotées peut fausser les résultats.

IV.2.2. L'hybridation des acides nucléiques :

Dans ce cas, L'identification génomique d'une bactérie repose sur le principe de la comparaison avec une autre bactérie répertoriée. Pour ce faire, une de ces deux bactéries, est soumise à l'isotopie radioactive. La dénaturation des deux brins d'ADN est assurée par la température. Le maintien de la stabilité de cette température (stabilité thermique) est considérée la condition principale de la réussite de ce test car il existe une relation entre cette température et le pourcentage des bases azotées non regroupées.

Résultats :

plus il y a un duplex hétérogène plus les bactéries sont proches. Sachant que lorsque $\Delta T = 1.6^\circ \text{ } 1\% \longrightarrow$ des bases azotées sont non regroupées.

Les 2 bactéries appartiennent à la même espèce lorsque : **Le duplex hétérogène atteint $\geq 70\%$ avec $\Delta T < 5^\circ$.**

L'inconvénient : difficulté de stabilité thermique.

IV.2.3. Séquençage des ARN ribosomiques :

Choix ARN ribosomiques 16S (chez les procaryotes) :

- A) présents chez les pro et eucaryotes.
- B) abondants dans la cellule et facilement purifiables.
- C) structure bien conservée dirigée à la synthèse des protéines.

Principe du test : il est basé sur la fragmentation de l'ARNr par ARNase T1 puis les fragments (ou les oligonucléotides) ainsi obtenues sont comparés avec ceux des bactéries répertoriées.

Résultat : plus ces oligonucléotides sont semblables plus l'homologie est grande ; lorsque cette homologie dépasse ou égale ($\geq 97\%$) implique que les 2 souches à comparer appartiennent à la même espèce.

Notions à définir :

Espèce : unité fondamentale de classification réunissant l'ensemble des caractères phénotypiques et génétiques. Elle constitue la souche type.

Colonie : ensemble de bactéries se développant sur une surface solide, souvent visible à l'œil nu pouvant aussi être microscopique. En théorie, la colonie provient d'une seule cellule mère ou à une bonne probabilité à partir de cellules génétiquement homogènes.

Elle est l'accumulation des cellules au même point qui rend l'agrégat des cellules visible à l'œil nu ou à la loupe. Ce terme s'emploie pour les bactéries, les mycètes inférieurs et certains parasites.

Clone : chaque colonie, si elle est suffisamment éloignée de ses voisines, constitue un clone. Il s'agit de l'ensemble d'individus bactériens issus de la croissance d'une seule cellule bactérienne, c'est-à-dire une population descendant d'une même souche. On peut l'appeler aussi culture pure.