

## GENETIQUE BACTERIENNE

La génétique est la science de la variation et de l'hérédité, née de l'étude chez les organismes doués de reproduction sexuée, du croisement ou hybridation entre races ou variétés de la même espèce.

### **I/ La mutation chromosomique**

1°) **Définition** : Il s'agit d'une modification d'un caractère, spontanée ou induite, discontinue, stable, affectant quelques individus d'une population, spécifique et enfin liée à une modification du génome bactérien.

### 2°) **Caractères de la mutation chromosomique**

- Spontanéité ou induction** : En raison de la rareté de l'événement mutationnel, il est nécessaire, pour mettre en évidence des mutants, d'employer des moyens sélectifs.
- Discontinuité** : La modification ne s'effectue pas à travers une suite continue de formes intermédiaires mais le plus souvent en une seule étape selon la loi du TOUT ou RIEN, entre le type sauvage et celui mutant.

Exemple : *E. coli* lactose + → mutant lactose -.

Colonie S → colonie R

*Salmonella Typhimurium* his<sup>-</sup> → his<sup>+</sup>

*Staphylococcus aureus* Sensible à la streptomycine (1 µg/ml) → Résistant à la streptomycine (1000 µg/ml).

- Stabilité** : En l'absence d'agent sélecteur, le caractère acquis par mutation est transmissible à la descendance et se maintient dans les subcultures.
- Rareté (taux de mutation)** : C'est un phénomène rare, n'affectant qu'un petit nombre d'individus dans une population quantifiable. Le taux de mutation est la probabilité pour une bactérie de muter pendant une unité de temps (définie) qui est habituellement le temps de génération. Le taux de mutation est caractéristique d'un caractère donné, il varie en général de l'ordre de 10<sup>-5</sup> à 10<sup>-10</sup>.
- Spécificité – Indépendance** : La mutation n'affecte le plus généralement qu'un seul caractère sans modifier les autres.

Exemple : *Salmonella Typhimurium* his<sup>-</sup> tryp<sup>-</sup> → his<sup>+</sup> tryp<sup>-</sup> ou his<sup>-</sup> tryp<sup>+</sup>

Le fait de subir une mutation sur un caractère donné ne modifie pas la capacité ou la probabilité de subir une autre mutation affectant alors un autre caractère.

La probabilité pour une bactérie de subir simultanément deux mutations distinctes est le produit des probabilités individuelles de ces mutations.

Les taux de mutation de *Mycobacterium tuberculosis* étant de 10<sup>-5</sup> pour l'isoniazide (INH) et 10<sup>-7</sup> pour la rifampicine (Rif), la probabilité d'isoler un double mutant INH<sup>R</sup> Rif<sup>R</sup> est de 10<sup>-12</sup>, donc très faible.

### 3°) **La mutation à l'échelle moléculaire**

La mutation est une modification de la structure du gène, ce qui entraîne une modification de la structure primaire de la chaîne polypeptidique correspondante. Il peut y avoir biosynthèse de l'enzyme, celle-ci est quelquefois sans activité biologique.

La mutation peut être liée à la perte du gène (délétion), dans ce cas, il ne peut y avoir biosynthèse de la chaîne polypeptidique correspondante.

La mutation est donc une modification de l'ADN.

Différents types sont individualisés :

Une seule paire de nucléotides est impliquée par :

**transition** AT → GC

**transversion** AT → TA

**addition** AAT CGC<sub>G</sub> CGA CGT → AAT CGC GCG ACG T

La modification du génome peut être plus importante, il peut s'agir d'une séquence modifiée par délétion ou insertion de plusieurs codons. La mutation est alors létale et difficilement reverse.

## **II/ La transformation bactérienne**

1°) **Définition** : La transformation « naturelle » est le transfert de matériel génétique lui-même (ADN), qui est fixé, absorbé par des bactéries réceptrices ou en état de compétence. Cette absorption d'ADN polymérisé est suivie d'une recombinaison génétique légitime avec acquisition de nouveaux caractères génétiques donc stables et transmissibles.

Ce transfert naturel d'ADN bactérien est limité à quelques espèces et partiel.

### 2°) **Expérience (Découverte de la transformation naturelle)**

Ce phénomène a été découvert par GRIFFITH, en 1928, qui constata par inoculation sous-cutanée à la souris :

- que les pneumocoques vivants de type S<sub>3</sub> provoquent une septicémie mortelle ;
- que les pneumocoques de type S<sub>3</sub> tués laissent les souris vivantes ;
- qu'un mutant acapsulé R, vivant, n'entraîne pas la mort de la souris quel que soit le sérotype capsulé dont il provient ;
- que seul le mélange bactérien de pneumocoques vivants, acapsulés (R) donc avirulents (faible inoculum) et de pneumocoques tués par la chaleur mais capsulés (S) (inoculum riche) après injection sous-cutanée à la souris, peut entraîner la mort par septicémie.

Il observa donc la transformation ou la « réversion » de R → S puisque la culture de sang des animaux morts mettait en évidence des pneumocoques virulents donc capsulés.

Au cours d'une investigation systématique relative à la nature chimique du principe transformant, AVERY, Mac LEOD et Mac CARTY démontrèrent en 1944 que la transformation n'est observée in vitro qu'en présence d'une préparation d'ADN pur hautement polymérisé.

L'activité des préparations transformantes est uniquement perdue en présence de désoxyribonucléase.

### 3°) **Caractères de la transformation**

- a) **Types** : La transformation naturelle ou physiologique met en jeu un ensemble de mécanismes complexes comme celui de la compétence, variables selon les germes à Gram positif ou à Gram négatif.

La transformation artificielle facilite la pénétration d'un ADN programme en perméabilisant la cellule par traitement chimique, thermique ou enzymatique.

- b) **Incidence** : La transformation naturelle est observée chez quelques espèces bactériennes à Gram positif (*Streptococcus* dont *Streptococcus pneumoniae*, *Bacillus*) ou à Gram négatif (*Neisseria*, *Moraxella*, *Haemophilus*).

#### c) **Phases de la transformation**

- **Apparition de l'état de compétence** : L'état de compétence est l'aptitude à fixer une macromolécule d'ADN et à la transformer en une forme DNase-résistante.

A ce stade divers polypeptides sont biosynthétisés (autolysine, endonucléase, protéine fixatrice).

- **Fixation de l'ADN donneur (ADN exogène)** : Seul l'ADN bicaténaire suffisamment polymérisé ( $5 \times 10^5$  daltons au minimum) est fixé réversiblement puis irréversiblement qu'il soit homologue ou hétérologue.
- **Pénétration et intégration avec le chromosome** : La pénétration de l'ADN est précédée de son hydrolyse par l'endonucléase en fragments de 10 à 30 kb et de celle de la paroi par l'autolysine. Seul le fragment d'ADN fixé par son extrémité pénètre. Puis il est converti en un fragment monocaténaire (bactéries à Gram+) ou non (bactéries à Gram-). Ensuite l'appariement du fragment d'ADN monocaténaire avec le fragment homologue chromosomique est suivi, s'il y a lieu, de recombinaison génétique.

### **III/ La transduction**

1°) **Définition** : Il s'agit d'un transfert d'ADN bactérien, qui est partiel, par l'intermédiaire de bactériophage dont le rôle est passif (vecteur). Dans la bactérie réceptrice, ce transfert de gènes bactériens peut s'accompagner d'une recombinaison légitime (transduction généralisée) ou non (transduction abortive et quelquefois spécialisée).

#### **2°) Caractères de la transduction**

a) **Incidence** : Ce phénomène a été décrit aussi bien chez les espèces bactériennes à Gram+ (*Staphylococcus*, *Bacillus*) qu'à Gram- (entérobactéries, *Pseudomonas*).

b) **Types** : Il existe au moins 3 variantes de ce phénomène.

- **Transduction généralisée et abortive** : Dans la transduction généralisée, les phages possèdent une endonucléase qui fragmente le chromosome bactérien de telle sorte n'importe quel gène d'une bactérie donatrice peut être intégré dans la capsid du phage et transféré puis recombiné à une bactérie réceptrice.

Dans la transduction complète, le fragment transféré s'intègre dans le chromosome de la bactérie réceptrice et le recombinant obtenu transmet à toute sa descendance le caractère transduit.

Dans la transduction abortive, le fragment transféré n'est pas intégré dans le chromosome et de ce fait n'est pas répliqué. Il n'est transmis de la cellule mère qu'à une ces deux cellules filles. Les gènes qu'il contient continuent néanmoins à s'exprimer.

- **Transduction spécialisée (restreinte ou localisée)** : Ce phénomène très particulier a été découvert avec le phage  $\lambda$  d'*E.coli* qui transfère uniquement la propriété de métaboliser le galactose. Le prophage s'insère spécifiquement sur le chromosome bactérien au voisinage des gènes responsables du métabolisme du galactose et de la biotine. Au cours de l'induction de la réplication du prophage (mutation induite par les UV), ces gènes peuvent se substituer à une partie du génome phagique. Une fois libre, les bactériophages peuvent transférer aux bactéries réceptrices la propriété de métaboliser le galactose.

Ce type de transduction correspond à une addition de matériel génétique au moyen d'un élément transposable de type phage.

#### **3°) Conversion lysogénique**

a) **Définition** : La conversion lysogénique est l'acquisition par une bactérie d'un caractère somatique particulier, déterminé par le génome d'un prophage spécifique, dit convertisseur. Ce caractère qui s'exprime dans toutes les bactéries est lié à l'état lysogène et disparaît avec la perte de cet état.

b) **Propriétés** : *Corynebacterium diphtheriae* ne produit de toxine que s'il est lysogénisé par un prophage spécifique  $\beta$ , l'information génétique nécessaire à la synthèse de la toxine étant portée par le génome phagique. Relèvent également du phénomène de conversion la synthèse de la toxine érythrogyène par *Streptococcus pyogenes* et celle de certains facteurs antigéniques par *Salmonella enterica*.

### **IV/ Les plasmides**

1°) **Définition** : Les plasmides sont des molécules d'ADN à double brin, circulaire, cytoplasmique qui sont douées de réplication autonome. Ils sont médiateurs de très nombreuses propriétés, permettant une meilleure adaptation des bactéries bien que non indispensables au métabolisme normal de la cellule-hôte. Leur transmission naturelle d'une cellule à l'autre s'effectue habituellement par conjugaison et par transduction mais aussi au laboratoire par mobilisation avec un autre plasmide ou encore par transformation artificielle.

#### **2°) Propriétés biologiques des plasmides** :

Les plasmides donnent aux bactéries la propriété de résister :

- aux antibiotiques :  $\beta$ -lactamines, aminosides, phénicolés, tétracyclines, macrolides, sulfamides, triméthoprime, acide fusidique, fosfomycine, quinolones ;
- aux antiseptiques (mercuriels par exemple) ;

- aux composés de métaux toxiques : antimoine, argent, arséniate, bismuth, bore, cadmium et tellurite ;
- aux rayons UV ;
- à divers bactériophages.

La virulence des bactéries pathogènes peut être à médiation plasmidique.

Ainsi la diarrhée des voyageurs est en relation avec un *E. coli* dans lequel le plasmide hébergé code deux facteurs de virulence différents, d'une part l'adhérence grâce à des antigènes de surface ou facteurs d'attachement (K88, K99), d'autre part une exotoxine de type entérotoxine (LT et ST).

Dans l'impétigo staphylococcique, l'exfoliatine est à médiation plasmidique.

Les plasmides peuvent aussi apporter des gènes responsables de changements métaboliques (lactose et lysine décarboxylase chez les *Proteus*, production de H<sub>2</sub>S chez *E. coli*) posant le problème de l'identification d'une bactérie.

### 3°) Nature chimique – Structure

Il s'agit de molécules d'ADN. L'ADN est bicaténaire, circulaire, super-hélicoïdal et de taille moléculaire variable (0,5 à 400 mégadaltons).

### 4°) Transférabilité

La transmission des plasmides d'une bactérie à l'autre s'effectue surtout par conjugaison, transduction mais aussi par mobilisation et transformation artificielle.

Les étapes du transfert sont : contact spécifique avec intervention de pili sexuels, transfert unidirectionnel du brin monocaténaire, réplication asymétrique.

Ce mode est habituel chez les bactéries à Gram négatif (entérobactéries, *Pseudomonas*).

Il existe, cependant, chez les germes à Gram positif (*Streptococcus*, *Clostridium*, *Streptomyces*).

### 5°) Classification

Lorsque deux plasmides coexistent stablement dans un hôte bactérien ils sont assignés à des groupes ou classes différents. Par contre, deux plasmides de même classe sont incapables de coexister.

## V/ Transposition et transposons

1°) Définition : C'est un mécanisme d'évolution rapide, qui consiste dans l'addition pure et simple de gènes (insertion d'ADN sauteurs ou mobiles) de taille définie au sein du génome (chromosome bactérien ou plasmide) et en l'absence d'homologie de séquence nucléotidique (recombinaison illégitime).

### 2°) Propriétés des transposons

a) Propriétés biologiques : Les transposons codent les déterminants de la transposition et d'autres fonctions comme la résistance aux antibiotiques ( $\beta$ -lactamines, aminosides, chloramphénicol, tétracyclines, MLS, sulfamides et triméthoprime, fosfomycine), aux sels de métaux lourds (mercure), la virulence (toxine LT) voire des caractères métaboliques comme le lactose.

b) Distribution : La majorité des transposons identifiés sont issus des plasmides hébergés par les bacilles à Gram négatif tels les entérobactéries comme *E. coli*, *Klebsiella*, *S. enterica*, *Shigella*, *Proteus* ou les *Pseudomonas* (*P. aeruginosa*). D'autres transposons ont été rapportés chez *S. aureus*, *Enterococcus* et *Streptococcus pneumoniae*.

### 3°) Rôle – Evolution

Les transposons induisent des réarrangements génétiques profonds. Leur mobilité importante par translocation de gènes en l'absence d'homologie génétique soit entre plasmides, soit du plasmide au chromosome et vice versa, assure donc une distribution d'un patrimoine génétique commun. Ils sont les éléments essentiels du pouvoir d'adaptation des bactéries comme la résistance aux antibiotiques en réponse à leur introduction.

Des espèces sans lien phylogénique telles *E. coli*, *P. aeruginosa*, *H. influenzae*, *N. gonorrhoeae* ont ainsi acquis les mêmes gènes de résistance aux  $\beta$ -lactamines par transposition sur des plasmides résidents ou cryptiques.

Les transposons constituent un génomme collectif dans lequel puisent les bactéries en fonction de leur nécessité d'adaptation ou de la pression de sélection. Cette nécessité est en relation avec les plasmides, se modifiant par addition successive de transposons. Ces éléments, preuve du « génie génétique in vivo » pourraient être des constituants de la plupart des cellules.