

UNIVERSITE DE BATNA 2
FACULTE DE MEDECINE
MODULE DE MICROBIOLOGIE
MEDECINE 3^{ème} ANNEE
PHARMACIE 4^{ème} ANNEE
PR. Ag BOUKHALFA.S

GENETIQUE BACTERIENNE

Plan:

Objectifs pédagogiques.

- I. Introduction.
- II. Mutation.
 - A) Définition.
 - B) Caractères.
 - C) Bases moléculaires ou chimiques.
 - D) Expression de la mutation.
- III. Transferts génétiques.
 1. Transformation.
 2. Conjugaison.
 3. Transduction.
 4. Conversion lysogénique.
- IV. Plasmides.
- V. Conclusion.
- VI. Références.

Objectifs pédagogiques:

1. Définir la mutation et les transferts génétiques en bactériologie.
2. Connaître les caractères et les mécanismes des transferts génétiques.

I. INTRODUCTION:

La génétique bactérienne a acquis sur le plan médical une importance considérable en raison de son rôle déterminant dans la pathogénie, l'épidémiologie et les résistances bactériennes aux antibiotiques.

Il existe deux types de phénomènes génétiques:

- 1) Les mutations,
- 2) Les transferts génétiques.

II. MUTATION :

A-Définition :

C'est l'apparition dans une population donnée d'une bactérie présentant un caractère différent qu'elle peut transmettre à toute sa descendance. La mutation a une expression phénotypique.

B- Caractères :

1- Spontanéité :

Elle préexiste à l'utilisation de l'antibiotique. La mutation est un phénomène spontané, mais elle peut être induite par des agents sélectifs ou mutagènes: rayons X, UV, agents chimiques.

2- Discontinuité :

Caractère brusque. Se fait en une seule étape. Loi du tout ou rien.

3- Stabilité :

Propriété acquise transmise à la descendance, mais ceci n'exclue pas la réversibilité de la mutation.

4-Rareté:

Faible fraction de la population.

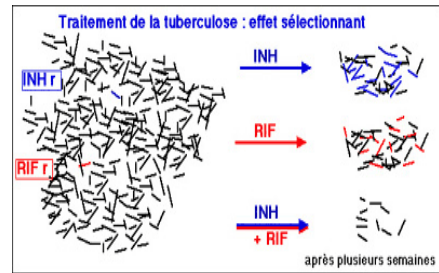
5-Indépendance-Spécificité :

La mutation touche un caractère à l'exclusion d'un autre.

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

Si le taux de mutation est de 10^{-5} pour l'isoniazide (INH) et de 10^{-7} pour la rifampicine (RIF), la probabilité d'isoler un double mutant résistant à INH-RIF est de 10^{-12} => Une telle émergence sera évitée par une antibiothérapie associant au-moins deux antituberculeux.

**Caverne tuberculeuse :
population =108 bacilles.**



C- Bases moléculaires ou chimiques :

Mutation = changement séquence nucléotidique d'un gène. Peut survenir par:

- Substitution d'une paire de bases:
 - 1- transition (AT => GC).
 - 2- Inversion= Transversion (AT =>TA).

Mutations réversibles, silencieuses (certaines) ou létales.

- Cassure des liaisons sucre-phosphate: Affecte une séquence de bases (codon) d'ADN par :
 - 1- Insertion.
 - 2- Délétion.
 - 3-Inversion.

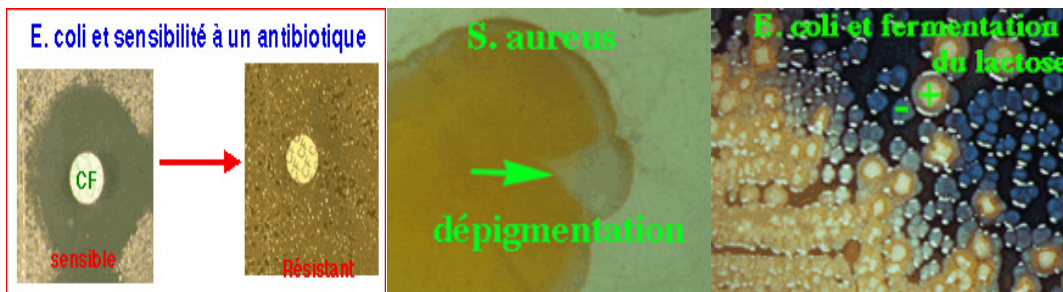
Mutations non réversibles, souvent létales.

D- Expression de la mutation:

la mutation touche l'ADN, donc elle est génotypique, l'expression phénotypique n'est pas toujours rapide.

Exp:

- Mutations morphologiques (capsule, paroi, ribosome, flagelles...).
- Aspect des colonies.
- Résistance aux antibiotiques.
- Fermentation des sucres.
- Mutation létale.

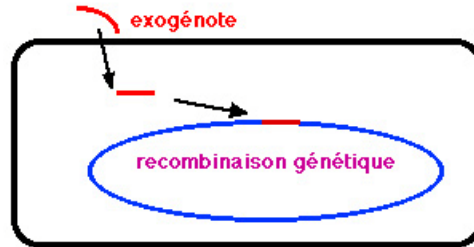


Expression phénotypiques de la mutation.

III. TRANSFERTS GENETIQUES :

Les transferts d'acide désoxyribonucléique (ADN) bactérien doivent être suivis de recombinaison génétique dite légitime (s'il provient d'une même espèce ou d'une espèce voisine). Dans d'autres circonstances, l'ADN peut ne pas se recombiner (plasmide).

Ces transferts sont unidirectionnels, le plus souvent partiels (1 à 2 % du génome transféré) et d'efficacité faible (fréquence de recombinaison de l'ordre de 10^{-6}).



1. TRANSFORMATION :

A-Définition:

Premier modèle connu de transfert de matériel génétique.

Transfert passif d'ADN d'une bactérie donatrice à une bactérie réceptrice dite en état de compétence. Nouveau caractère génétique, stable, transmissible.

B-Découverte du phénomène: Griffith (1928):

Pneumocoques capsulés vivants: mort de la souris.

Pneumocoques capsulés tués (chaleur) ou Pneumocoques acapsulés (non virulents) vivants: sans effet.

Mélange de Pneumocoques capsulés (Virulents) tués + Pneumocoques acapsulés (non virulents) vivants => Septicémie mortelle à Pneumocoques capsulés vivants.

Transformation ou réversion des Pneumocoques acapsulés (R) en Pneumocoques capsulés (S).

Découverte du phénomène (expériences de Griffith):

n°	expériences	état de la souris	analyse du sang de la souris
1	pneumocoques S vivants	mort	présence de très nombreux pneumocoques S vivants
2	pneumocoques R vivants	survie	absence de tout pneumocoque
3	capsule détruite pneumocoques S tués	survie	absence de tout pneumocoque
4	pneumocoques S tués + pneumocoques R vivants	mort	Présence de très nombreux pneumocoques S vivants
5	pneumocoques S tués et sans ADN + pneumocoques R vivants	survie	absence de tout pneumocoque
6	pneumocoques R vivants + ADN extrait de pneumocoques S	mort	Présence de très nombreux pneumocoques S vivants

En 1930, Avery McLeod et McCarty démontrent que le principe transformant est : l'ADN bactérien. L'ADN des PCT qui permettait aux PNCV de synthétiser une capsule.

ADN = support chimique de l'hérédité en 1944.

C- Exigences :

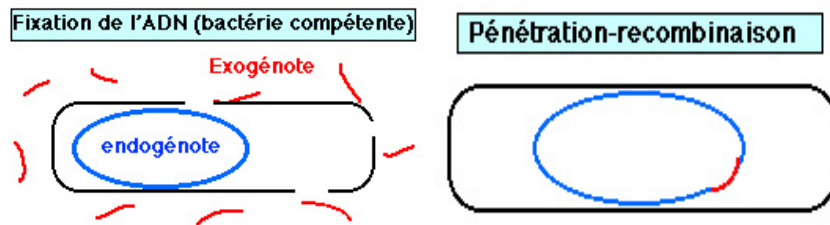
1- Etat de compétence de la bactérie réceptrice:

Transitoire, fin de la phase exponentielle de croissance (production d'un facteur de compétence), chez une partie de la population bactérienne.

2- ADN bicaténaire transformant : De grande taille.

Donc, il doit y avoir de l'ADN libéré d'une bactérie (exogénote) et celui-ci doit être fixé à la surface d'une bactérie réceptrice (site d'absorption) en phase de compétence.

D-Etapes :



- Fixation ADN bactérien transformant à la surface cellulaire (absorption).
- Pénétration d'un brin d'ADN à l'intérieur de la cellule.
- Intégration de l'ADN monocaténaire dans l'ADN de la bactérie réceptrice (recombinaison génétique légitime) => Acquisition d'un nouveau caractère génétique stable, donc transmissible à la descendance : recombinant ou transformant.

E-Caractéristiques:


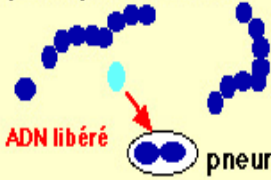
- Transfert d'une partie limitée du génome bactérien (1-2%).
- Efficacité relative.
- Limitée à quelques espèces bactériennes : *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria*, *Bacillus subtilis*, *Haemophilus influenzae*.
- Spécificité relative : bactéries génétiquement proches.

F-Applications- intérêts:

Grand intérêt historique : L'ADN est bien le support chimique de l'hérédité.

Grand intérêt théorique et pratique : Compréhension du mécanisme de synthèse de la capsule (virulence), contrôle génétique de la résistance aux ATBs.....

En bactériologie médicale : intérêt lié à l'émergence de bactéries résistantes aux antibiotiques (pneumocoques, méningocoques).

<p>RESISTANCE ACQUISE AUX β-LACTAMINES</p>  <p>Pneumocoque-Méningocoque</p> <ol style="list-style-type: none">1/ affection rhino-pharyngée2/ traitement par β-lactamine3/ Sélection de mutants résistants d'espèces voisines (mutation)	<p>4/ transfert par transformation</p> <p>Streptocoques "viridans"</p>  <p>ADN libéré</p> <p>pneumocoque</p>
---	---

2. CONJUGAISON :

A- Définition : Sexualité des bactéries.

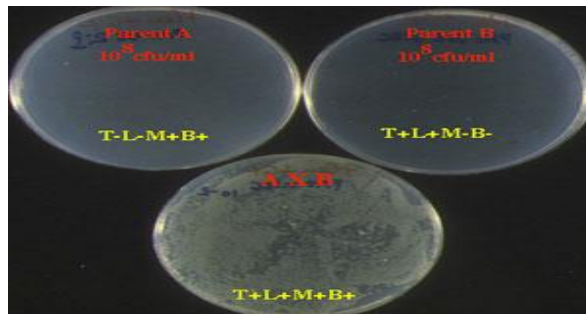
Transfert d'ADN entre une bactérie donatrice et une bactérie réceptrice.

Contact et appariement entre 2 bactéries de sexes différents.

Facteur de fertilité (F) = sexualité chez la bactérie donatrice mâle => pilis sexuels.

B-Découverte du phénomène :

Expérience de LEDERBERG et TATUM (1946)



Mutants auxotrophes d'E.coli « A »: auxotrophes ou exigeants en thréonine (T-) et Leucine (L-) => croissance nulle sur milieu minimal synthétique (GN), sans facteurs de croissance.

Mutants auxotrophes d'E.coli « B » : exigeants en méthionine (M-) et Biotine (B-) => croissance nulle sur ce même milieu.

Mélange en milieu liquide minimal des 2 types de mutants (108 +108) => culture de 102 colonies après plusieurs heures de contact.

=>Isolement d'E.coli recombinants prototrophes : T+L+M+B+.

Recombinaison à faible fréquence et exigeait le contact entre les deux bactéries.

C- Caractéristiques :

1-Différenciation sexuelle :

Le transfert d'ADN qui est à sens unique ou orienté, met en évidence la différenciation sexuelle entre le donneur et le receveur.

Facteur F = facteur de fertilité ou de sexualité. Polarité ou caractère mâle => bactérie F+.

Bactérie femelle = F- .

Facteur F = premier plasmide connu, code pour : Biosynthèse du pili sexuel.

Son insertion possible dans le chromosome bactérien, bactérie dite Hfr.

Mobilisation (transfert) du chromosome bactérien vers les bactéries réceptrices (F-).

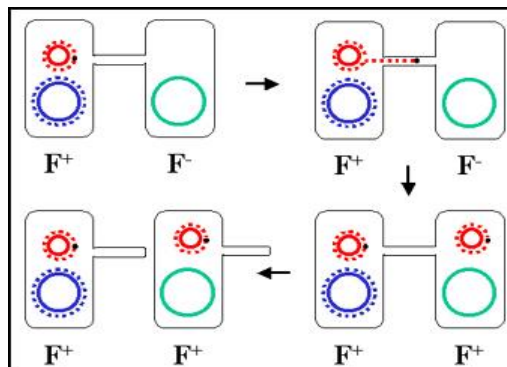
2- Spécificité-Fréquence :

Transfert d'ADN chromosomique : Spécificité d'espèce, mais limité à quelques espèces (E. coli, Salmonella, Pseudomonas aeruginosa).

Transfert d'ADN extra-chromosomique (Plasmides conjugatifs) : Moins spécifique, très répandu dans le monde bactérien.

D- Etapes :

Etapes de la conjugaison bactérienne



1- Contact :

- Fixation des pilis sexuels des bactéries F+ à la surface des F-.
- Rétraction avec rapprochement des 2 types de bactéries => Contact.
- Formation d'un pont cytoplasmique.

2- Transfert de l'ADN:

- Transfert d'un brin d'ADN, avec restauration de l'intégrité du génome de la bactérie donatrice par réplication.
- Transfert à sens unique, orienté, progressif, quelques fois total (100 mn à 37° C).
- Recombinaison du brin monocaténaire exogène avec l'ADN receveur.

3- Caractères transférés-Fréquence:

- N'importe quel gène bactérien peut être transféré.
- La fréquence de recombinaison est faible.

E- Intérêts :

Le transfert des gènes par conjugaison est un facteur majeur d'évolution du patrimoine génétique bactérien, en particulier pour l'acquisition de la résistance aux antibiotiques (échange d'ADN plasmidique +++++).

A permis l'établissement des cartes génétiques du chromosome (E. coli, P. aeruginosa).

A permis la caractérisation du plasmide F.

3. TRANSDUCTION :

A- Définition :

Transfert d'ADN partiel d'une bactérie donatrice à une bactérie réceptrice par le biais d'un bactériophage (rôle de vecteur).

Le virus est dans ce cas virulent, se multiplie dans la bactérie.

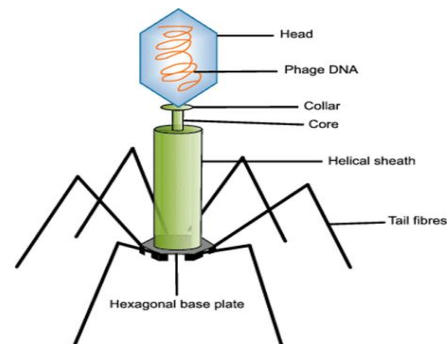
Lors de la phase d'encapsidation, il incorpore de l'ADN bactérien fragmenté.

B- Bactériophage:

Virus des bactéries.

Structure:

Tête sphérique, cylindrique ou hexagonale de nature protéique qui entoure un acide nucléique et d'une queue de nature protéique qui comprend: un cylindre central, rigide et creux communiquant avec la tête et d'une gaine hélicoïdale contractile.

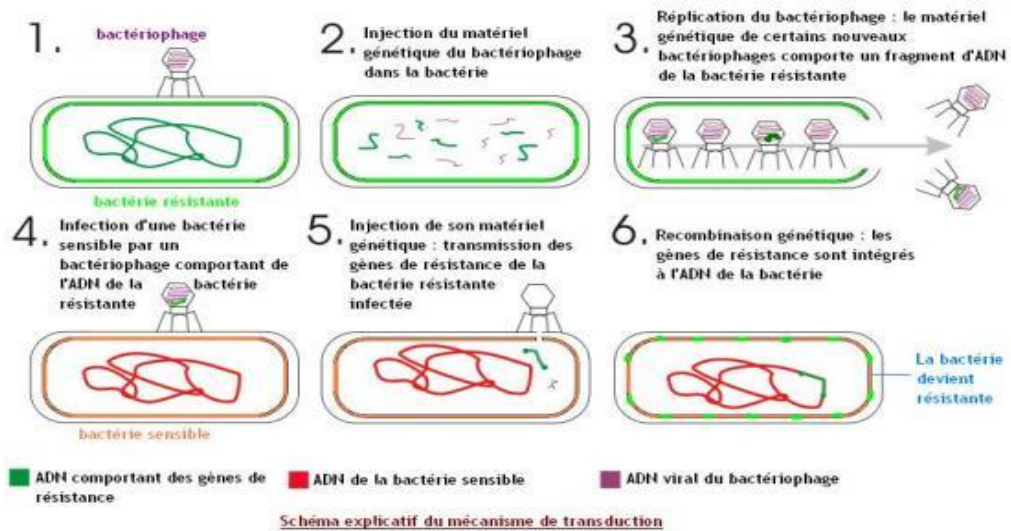


L'extrémité de la queue laisse apparaître une plaque basale hexagonale sur laquelle sont fixés six filaments ou fibres caudales, ces fibres constituent l'organe de fixation du bactériophage sur la bactérie.

- Phage virulent => se multiplie dans la bactérie (cycle lytique).
- Phage tempéré => s'intègre dans le chromosome bactérien, et est répliqué en même temps que lui (cycle lysogénie).

Bactériophage = prophage => Bactérie lysogène.

Cycle lytique et lysogénique



Dans une population de bactéries lysogènes, un prophage se libère de temps en temps du chromosome bactérien, se multiplie, lyse la bactérie et en infecte d'autres.

Si au cours de sa libération, il emporte des gènes bactériens avec lui (ADN fragmenté par nucléase du phage) => Transfert des gènes d'une bactérie lysogène à une autre : Transduction.

C- Découverte du phénomène : ZINDER & LEDERBERG (1952).

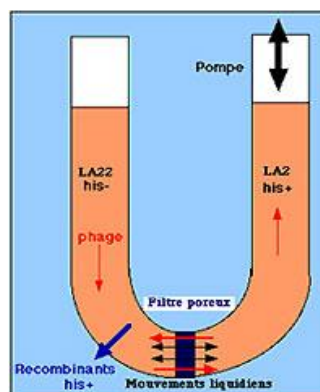
-Bactérie auxotrophe LA 22 : exige l'histidine

-Bactérie auxotrophe LA 2: exige le tryptophane.

Mélange des 2 types dans un tube en U, séparé à la base par une membrane de verre fritté => Bactéries prototrophes his⁺, tryp⁺ (fréquence 10⁻⁶).

L'existence d'un agent filtrable, vecteur de l'information génétique est démontrée.

ZINDER & LEDERBERG (1952)



D- Caractéristiques :

1- Incidence :

Existence de nombreuses espèces lysogènes: Bactéries à Gram + (Staphylococcus, Streptococcus, Bacillus) ou à Gram négatif (Entérobactéries, Pseudomonas).

2- Types de transduction :

a- Transduction généralisée ou Complète :

Gènes transférés intégrés dans le chromosome de la bactérie réceptrice, transmis à sa descendance : recombinaison légitime.

b- Transduction abortive : Dilution du fragment

Gènes transférés non intégrés dans le chromosome => passage à une seule cellule fille (assez fréquent).

4. CONVERSION LYSOGENIQUE :

Certaines propriétés bactériennes sont induites par la présence d'un phage, qui apporte par lui-même un nouveau caractère très important pour la bactérie réceptrice => Conversion lysogénique.

Exp: Sécrétion de toxine diphtérique que chez les C. diphtérie se trouvant à l'état lysogène par un prophage β spécifique.

Transduction	Conversion lysogénique
Rôle du phage purement véhiculaire : Le génome transféré provient d'une autre bactérie.	Rôle essentiel et unique du génome phagique : Il lysogénise la bactérie et induit le nouveau caractère.
Fréquence des bactéries transduites par apport aux bactéries infectées : faible (10^{-5} à 10^{-8})	Toutes les bactéries qui reçoivent le phage sont lysogénisées et converties.

IV. PLASMIDES :

A – DEFINITION :

-ADN à double brin, circulaires, cytoplasmiques, de taille variable (0,5 kb à 500 Kb), doués de répllication autonome.

-Médiateurs de nombreuses propriétés permettant une meilleure adaptation des bactéries, bien que non indispensables au métabolisme normal de la cellule-hôte.

-Transmission naturelle d'une cellule à l'autre par conjugaison +++.

B – DECOUVERTE:

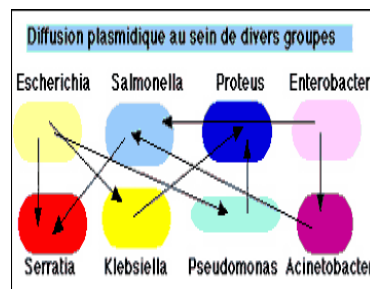
Terme créé en 1952 par LEDERBERG.

Les premiers plasmides de résistance aux ATBS découverts au JAPON en 1956.

C- PRINCIPALES CARACTÉRISTIQUES:

Peuvent être associés dans une bactérie:

- 1- Résistance aux ATBS, ATS, métaux toxiques.
- 2- Résistance à l'hôte : Facteurs d'adhérence, exotoxines, facteur invasif.
- 3- Caractères métaboliques : la production d' H₂S (E. coli), de lactose ou lysine décarboxylase (Proteus), pouvant amener à des erreurs de diagnostic au laboratoire.



Éléments de l'hérédité extra chromosomique, ils donnent aux nombreuses espèces qui les hébergent de nouveaux et nombreux caractères génétiques.

Principal processus d'évolution rapide des bactéries.

V. CONCLUSION :

Les bactéries possèdent leur propre patrimoine génétique héréditaire. Ce réservoir de gènes est l'objet d'échanges permanents entre bactéries, ce qui permet à ces micro-organismes de s'adapter aux modifications du milieu dans lequel ils évoluent.

VI. REFERENCE :

Leclerc H et al. Microbiologie générale. La bactérie et le monde bactérien 1995.