

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

و البحث العلمي وزارة التعليم العالي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université MUSTAPHA Stambouli

Mascara



جامعة مصطفى اسطمبولي

معسكر

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Biologiques

Laboratoire de Géo-Environnement et Développement des Espaces

THESE de DOCTORAT

Spécialité : Biotechnologies et Communications Microbiennes

Intitulée

**La sociomicrobiologie environnementale : communication,
biofilm, quorum sensing, et coordination de la mobilité
bactérienne dans les stress environnementaux**

Présentée par : M^{lle} ALIANE Samia

Le 28 / 01/ 2025

Devant le jury :

Président	EL OUALI Fatima Zohra	Prof.	Université de Mascara
Examineur	DJIBAOUI Rachid	Prof.	Université de Mostaganem
Examineur	ALBUQUERQUE António	MCA	Université de Portugal
Examineur	MOUMEN Ouahiba	MCA	Université de Mascara
Examineur	MOHAMMEDI Zohra	MCA	Université de Mascara
Encadreur	MELIANI Amina	Prof.	Université de Mascara

Année Universitaire: 2024-2025

بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ

﴿وَمَا أُوتِیْمٌ مِّنَ الْعِلْمِ إِلَّا قَلِیْلًا﴾

صَدَقَ اللّٰهُ الْعَظِیْمُ

*“ Quand on a choisi un chemin, aussi compliqué soit-il, on le poursuit
jusqu'au bout. Sinon, on saura jamais ce qu'il nous promet ”*

Yasmina Khadra

Les anges meurent de nos blessures

Dédicaces

À mes chers parents pour leur amour inconditionnel et infini

*À ma directrice de thèse, pour son mentorat exceptionnel et son
accompagnement précieux tout au long de ce travail.*

*À mes chères sœurs Fatima, Souhila, Hadjer, Amel et Bouchra, pour
leur soutien indéfectible et leurs encouragements précieux.*

*À ma précieuse nièce Rawan, ta lumière et ton sourire apportent une joie
infinie à ma vie, remplissant mon cœur de bonheur chaque jour.*

*À mes chers amis Manssourcu, Amina, Noor, Hiba, Hanane,
Hadjer, pour leur amitié sincère et leur amour inestimable.*

À tous qui ont contribué de près ou de loin.

Merci à vous.

Aliane Samia

REMERCIEMENTS

Cette thèse représente l'aboutissement de plusieurs années de travail acharné, d'efforts inlassables, et de persévérance. Le parcours fut loin d'être simple, marqué par de nombreux défis, obstacles et imprévus. C'est donc avec une immense reconnaissance que je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers DIEU, le Tout-Puissant et Miséricordieux, pour m'avoir donné la force, la patience et la détermination nécessaires à la réalisation de ce projet. Ses bienfaits et sa guidance m'ont accompagné tout au long de cette aventure scientifique. Louanges à Allah pour sa bienveillance et pour avoir facilité l'accomplissement de cette thèse.

Je tiens à exprimer toute ma gratitude à ma directrice de thèse, Professeur MELIANI Amina, pour la qualité exceptionnelle de son encadrement, la pertinence de ses conseils, et le soutien continu qu'elle m'a apporté tout au long de ce travail. Son expertise scientifique, sa bienveillance et son dévouement ont constitué pour moi des sources précieuses de motivation et d'inspiration, renouvelant mes ambitions et perspectives en tant que jeune chercheur. Grâce à son accompagnement rigoureux, j'ai pu progresser avec assurance et détermination, et je la considère comme un véritable modèle dans le milieu académique.

Je souhaite exprimer ma profonde gratitude à Madame EL OUALI Fatima Zohra, professeur à l'Université de Mascara, pour avoir accepté avec bienveillance de présider mon jury de thèse. Son rôle crucial dans la conduite de la soutenance et ses évaluations approfondies ont été essentiels à la réussite de ma soutenance.

Je suis profondément reconnaissante envers monsieur DJIBAOUI Rachid, Professeur à l'université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant d'examiner ma thèse. Son expertise et ses évaluations approfondies ont été d'une grande valeur pour la réalisation de ce travail.

Mes sincères remerciements à monsieur António Albuquerque, Maître de conférences classe « A » à l'université de Beira Intérieur au Portugal pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant examiner ma thèse. Son évaluation minutieuse et ses observations éclairées ont grandement contribué à la qualité de mon travail.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à madame MOUMEN Ouahiba, Maître de conférences classe « A » à l'Université de Mascara, pour avoir accepté d'évaluer ma thèse. Leur rigueur académique et leurs contributions critiques ont été essentielles à l'aboutissement de ce travail.

Je souhaite adresser mes sincères remerciements à monsieur MOHAMMEDI Zohra, Maître de conférences classe « A » à l'Université de Mascara, pour avoir accepté d'évaluer ma thèse. Leur expertise et leurs remarques constructives ont été cruciales pour la réalisation de ce travail.

Je souhaite exprimer ma gratitude au laboratoire de Géo-Environnement et Développement des Espaces (LDGE) pour son soutien au cours de ces années. Merci au directeur du laboratoire, le Professeur HARIZIA Abdelkader, ainsi qu'à toute la famille du laboratoire LGEDÉ pour l'atmosphère chaleureuse, le soutien constant, l'échange d'avis, et les connaissances partagées tout au long de notre expérience de recherche. Un grand merci à notre ingénieur de laboratoire Mme. GUEDIDER Nora, vous étiez l'un des piliers de notre laboratoire. Je n'aurais jamais pu exprimer ma reconnaissance et gratitude envers vous.

Je souhaite également adresser mes sincères remerciements à toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin, à la réalisation de ce travail, notamment Mr. DJAAFRI, Pr. BENYOUCEF M, Pr. HAMIMED A, Pr. FERGOUG F, Dr. SI MOHAMMED A, Dr. BENAISSA M, Dr. GHALOUNI A, Pr. KIHEL M, Dr. SAMBA GARBA M, Dr. NAAS H, Dr. KOUACHI A, Dr. KOUADRI ME, Dr. MAKHLOUF KE et Dr. BOURROUBEY B.

Un merci particulier à la directrice du laboratoire régional d'hygiène à Relizane, Dr. SELIM Amina, aux responsables du service des analyses de l'eau Dr. BOUAMAR Sarah, et à Mr. BENAMMAR Benaouda

pour m'avoir accueillie lors de mon stage. Votre opportunité enrichissante a grandement contribué à mon expérience.

Ma reconnaissance va également à la chef de service de laboratoire à l'Algérienne des Eaux (ADE) Unité de Relizane, Mme. AOUED Bakhta, à la responsable de service Bactériologie Mme. BENAISSA Souhila, et son équipe Soumia et Sabrina, ainsi qu'au responsable de service physico-chimique Mr. ARIF Youcef et son assistante Sihem, pour leur accueil, leur soutien, leur guidance précieuse, et le dévouement qui ont facilité et enrichi mon travail.

J'exprime ma grande gratitude au Pr. Mehmet Emin DURU et Pr. Özgür CAYLAN à l'université de Mugla Sitki Koçman, Turkiye et leurs équipes de recherche pour l'accueil chaleureux, l'aide, leur disponibilité au cours de la période de stage.

Je tiens à remercier professeur Ibrahim ORTAS à l'université de Cukurova, Turkiye et son assistant Mehmet İŞIK pour leur appréciation de la collaboration scientifique et la fourniture des facilités nécessaires à la réussite du travail.

Je remercie Pr. Nourhan NAGA et Pr. Mona SHAABAN à l'université d'Alexandrie, Egypt, pour leur soutien et les facilités qui ont proposé et leur contribution à la réalisation de ce travail.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à mon cher ami SAMBA Garba Mansourou pour son soutien indéfectible, sa motivation et ses encouragements constants. C'est un ami exceptionnel qui m'a appris la véritable signification de l'amitié dans un monde parfois difficile. Merci d'avoir partagé avec moi les moments sombres ainsi que les instants de joie, pour ton aide précieuse et l'intérêt que tu m'as manifesté tout au long de ces années. Je ne sais ce que j'aurais fait sans toi. Malgré la distance, tu restes toujours proche et présent.

Un grand merci à tous mes chers amis, vous êtes une source constante de joie, de soutien, et de sincérité. Merci d'être toujours là, de rendre chaque situation mémorable, de partager des rires et de créer des souvenirs précieux.

Un immense merci à mes deux grandes familles ALIANE et MERRATIA. Merci à ma petite famille, cette thèse n'aurait jamais existée sans leur bénédiction et leurs prières. Mes précieux parents, votre amour inébranlable, encouragement incessant, et sacrifices désintéressés sont les fondements de chaque succès que j'ai connu. Merci d'être la source inépuisable de mon soutien, la pierre angulaire de mes accomplissements. Un immense merci à mes chères sœurs Fatima, Souhila, Hadjer, Amel et Bouchra pour leur amour, soutien, et motivation. Chacune d'entre vous apporte de la lumière, sincérité et l'amour à mon monde. Merci pour le partage des moments difficiles et joyeux au cours de ce voyage. Merci pour votre amour inconditionnel et votre présence dans ma vie.

Enfin, un doux et chaleureux merci à ma chère nièce Rawan. Ton arrivée a apporté une joie immense et une lumière spéciale pendant la période intense de ma thèse de doctorat. Je suis heureuse de partager ce moment de fierté avec toi. Que chaque jour de ta vie soit aussi lumineux que ton sourire.

ALIANE Samia

LISTE DES PUBLICATIONS

1. **ALIANE Samia**, MELIANI Amina. **2021**. Bacterial biofilms: Formation, advantages for community members, clinical implications, and antibiotic resistance. *Environmental and Experimental Biology Journal*. 19: 121-130. <https://doi.org/10.22364/eeb.19.12>
2. BERKAT Samir, MELIANI Amina, MAZARI Hibat Errahmen, **ALIANE Samia**. **2022**. Microbial biosurfactants: prospects for sustainable molecules with promising applications in bioremediation. *Environmental and Experimental Biology Journal*. 20: 155-164. <https://doi.org/10.22364/eeb.20.14>
3. MAZARI Hibat Errahmen, MELIANI Amina, BERKAT Samir, **ALIANE Samia**, DJIBAOUI Rachid, BOUDEROUA K. **2024**. Washing of heavy metal-contaminated soils using pyoverdine extracted from plant growth-promoting bacteria *Pseudomonas lactis* and *P. Atacamensis*. *Carpathian Journal of Earth and Environmental Sciences*. 19(1): 169 -178. <https://doi.org/10.26471/cjees/2024/019/288>
4. **ALIANE Samia**, MELIANI Amina, BERKAT Samir, MAZARI Hibat Errahmen, BOUHADDA Youcef, SI MOHAMMED Abdesselem. **2024**. Behavioral Responses to Hydrocarbon Stress in Marine Bacteria Isolated from Arzew Harbor in Northwestern Algeria. *Jordan Journal of Earth and Environmental Sciences*. 15 (3): 146-155

LISTE DES COMMUNICATIONS

Communications Internationales

1. **ALIANE Samia**, MELIANI Amina. **2021**. Exploitation of sociomicrobiological traits of marine bacteria in the context of sustainable development. First international conference on Geo-sciences and environment, September 25-26, Mascara, Algeria.
2. **ALIANE Samia**, MELIANI Amina. **2024**. Salt-tolerant rhizospheric Bacteria as Bio-Tools for Agricultural Resilience: Overcoming Salinity Stress, an 1st International Seminar of AgriFood and Industrial Biotechnology, June 26-27th, Khemis Meliana, Algeria.

Communications Nationales

- 1. ALIANE Samia, MELIANI Amina. 2022.** The use of native marine biofilm-forming bacteria for enhanced bioremediation in polluted seawater. National seminar on Biodiversity, Biotechnology and Sustainable Development (BB & DD 2022), April 16, Ghardaia, Algeria.
- 2. ALIANE Samia, MELIANI Amina. 2023.** Bioremediation potential of marine microbiome in polluted sites. National seminar of Toxicology and phyto-aromotherapy, February 23, Relizane, Algeria.

Depuis l'antiquité, les microorganismes étaient perçus comme asociaux, incapables d'interactions communautaires. Cependant, les découvertes récentes sur le quorum sensing et les biofilms ont révélé que les bactéries coordonnent l'expression de gènes selon la densité cellulaire, influençant des processus comme la formation de biofilms et la mobilité. Grâce au chimiotactisme, elles s'adaptent à leur environnement en détectant les variations chimiques locales.

Cette thèse a pour objectif d'analyser l'impact des stress environnementaux sur la formation des biofilms, la mobilité, le chimiotactisme et la communication bactérienne *via* le système de quorum sensing. Dans cette optique, nous avons criblé des souches marines selon leur capacité à former des biofilms. Les souches sélectionnées ont été étudiées sous diverses conditions de stress, notamment la salinité, les hydrocarbures (pétrole brut, kérosène) et les métaux lourds (sulfate de cuivre, nitrate de plomb, chlorure de mercure), afin de déterminer le rôle de la communication ou le quorum sensing sur la régulation de cette adaptation.

Nous avons également examiné le profil biotechnologique des isolats marins, en évaluant l'hydrophobicité cellulaire, le potentiel émulsifiant *vis-à-vis* des hydrocarbures, la biosorption des métaux lourds, ainsi que la production de neuf enzymes extracellulaires (amylase, cellulase, protéase, phospholipase A, gélatinase, phospholipase C, lipase, chitinase et estérase). L'identification phénotypique et biochimique a permis d'attribuer quatorze souches à *Pseudomonas aeruginosa* et quatre souches à *Escherichia coli*.

Nos résultats révèlent une forte variabilité des réponses bactériennes selon le type de stress et la souche concernée. Le stress salin favorise l'adhérence et la formation de biofilms, tandis que les hydrocarbures, en particulier le pétrole brut, stimulent cette aptitude. La présence de métaux lourds entraîne une formation de biofilms plus hétérogène. En termes de mobilité, toutes les souches étudiées se sont révélées mobiles, avec une amélioration de leur motilité en présence de certains niveaux de chlorure de sodium. L'ajout d'hydrocarbures a induit une migration bactérienne avec altération des patterns de motilité, tandis que les métaux lourds, notamment le cuivre et le plomb, ont réduit la mobilité, et le mercure l'a complètement inhibée.

L'analyse de docking moléculaire a mis en évidence une interaction forte entre les hydrocarbures et les récepteurs de quorum sensing (LasR, LasI, PqsR), avec des énergies de liaison allant de -4.9 à -7.3 Kcal/mol, suggérant un potentiel inhibiteur du quorum sensing

intéressant. En revanche, les interactions entre les métaux lourds et ces récepteurs étaient modérées, avec des affinités variant entre -3.2 et -3.6 Kcal/mol.

Enfin, l'étude biotechnologique a montré que neuf souches présentent une activité émulsifiante pour le pétrole brut (de 29.27% à 59.79%) et le kérosène (de 17.38% à 58.57%). Certaines souches ont également affiché une capacité de biosorption pour le cuivre (34.6% à 48.15%) et le plomb (9.95% à 47.15%), tandis que la majorité des *Pseudomonas sp.* produisent huit enzymes hydrolytiques. Les souches les plus performantes ont été caractérisées au niveau moléculaire, identifiant les souches S5A2 et S9A3 comme *Pseudomonas aeruginosa* (99.91%) et S30A1 comme *Escherichia coli* (100%).

Mots clés :

Stress environnemental, biofilm, quorum sensing, mobilité, chimiotaxisme, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, hydrophobicité, potentiel émulsifiant, biosorption, enzymes hydrolytique

Since antiquity, microorganisms were perceived as asocial entities, incapable of forming community interactions. However, recent discoveries on quorum sensing and biofilms have revealed that bacteria coordinate gene expression based on cell density, influencing processes such as biofilm formation and mobility. Through chemotaxis, they adapt to their environment by detecting local chemical variations.

This thesis aims to analyze the impact of environmental stresses on biofilm formation, mobility, chemotaxis, and bacterial communication *via* the quorum sensing system. To this end, we screened marine strains based on their capacity to form biofilms. The selected strains were studied under various stress conditions, including salinity, hydrocarbons (crude oil, kerosene), and heavy metals (copper sulfate, lead nitrate, mercury chloride), to determine the role of communication or quorum sensing in regulating this adaptation.

We also explored the biotechnological profile by assessing cell hydrophobicity, emulsifying potential against hydrocarbons, heavy metal biosorption, and the production of nine extracellular enzymes (amylase, cellulase, protease, phospholipase A, gelatinase, phospholipase C, lipase, chitinase, and esterase). Phenotypic and biochemical identification attributed fourteen strains to *Pseudomonas aeruginosa* and four strains to *Escherichia coli*.

Our results reveal significant variability in bacterial responses depending on the type of stress and strain involved. Salt stress promoted bacterial adhesion and biofilm formation, while hydrocarbons, especially crude oil, further enhanced this ability. The presence of heavy metals resulted in more heterogeneous biofilm formation. In terms of mobility, all studied strains were mobile, with improved motility in the presence of certain levels of sodium chloride. Hydrocarbon supplementation induced bacterial migration with altered motility patterns, while heavy metals, particularly copper and lead, reduced mobility, and mercury completely inhibited it.

Molecular docking analysis revealed strong interactions between hydrocarbons and quorum sensing receptors (LasR, LasI, PqsR), with binding energies ranging from -4.9 to -7.3 Kcal/mol, suggesting an interesting quorum sensing inhibitory potential. In contrast, interactions between heavy metals and these receptors were moderate, with affinities ranging from -3.2 to -3.6 Kcal/mol.

Finally, the biotechnological study showed that nine strains exhibit emulsifying activity for crude oil (29.27% to 59.79%) and kerosene (17.38% to 58.57%). Some strains also

demonstrated copper biosorption capacities (34.6% to 48.15%) and lead biosorption (9.95% to 47.15%), while the majority of *Pseudomonas sp.* strains produced eight hydrolytic enzymes. The most efficient strains were molecularly characterized; identifying strains S5A2 and S9A3 as *Pseudomonas aeruginosa* (99.91%) and S30A1 as *Escherichia coli* (100%).

Keywords :

Environmental stress, biofilm, quorum sensing, mobility, chemotactism, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, hydrophobicity, potentiel émulsifiant, biosorption, hydrolytic enzymes.

منذ العصور القديمة، كان يُعتقد أن الكائنات الدقيقة غير اجتماعية وغير قادرة على التفاعل ضمن مجتمعاتها. إلا أن الاكتشافات الحديثة حول "إستشعار النصاب" وتكوين الأغشية الحيوية أظهرت أن البكتيريا قادرة على تنسيق التعبير الجيني بناءً على كثافة الخلايا، مما يؤثر على عمليات مثل تكوين الأغشية الحيوية والحركة. كما أن البكتيريا تتكيف مع بيئتها من خلال قدرتها على استشعار التغيرات الكيميائية المحلية بفضل آلية "الكيميائيات".

تهدف هذه الأطروحة إلى تحليل تأثير الضغوط البيئية المختلفة على تكوين الأغشية الحيوية، الحركة، الكيميائيات، والتواصل البكتيري عبر نظام الإحساس بالنصاب. من أجل ذلك، تم فحص سلالات بحرية بناءً على قدرتها على تكوين الأغشية الحيوية. وقد دُرست السلالات المختارة تحت ظروف مختلفة من الضغوط مثل الملوحة، الهيدروكربونات (النفط الخام، الكيروسين)، والمعادن الثقيلة (كبريتات النحاس، نترات الرصاص، وكلوريد الزئبق) لتحديد دور الاتصال أو الإحساس بالنصاب (quorum sensing) في تنظيم هذا التكيف.

كما تم استكشاف الجوانب البيوتكنولوجية للزلات البحرية من خلال تقييم الخصائص الكارهة للماء للخلايا، قدرتها على استحلاب الهيدروكربونات، قدرتها على امتصاص المعادن الثقيلة، إضافة إلى إنتاج تسعة إنزيمات خارجية (الأميلاز، السليولاز، البروتياز، الفوسفوليبياز A، الجيلاتيناز، الفوسفوليبياز C، الليباز، الكيتيناز، والإستريز). أظهرت نتائج التحليل الظاهري والبيوكيميائي أن 14 سلالة تنتمي إلى نوع *Pseudomonas aeruginosa*، وأربع سلالات تنتمي إلى نوع *Escherichia coli*.

أظهرت النتائج تباينًا كبيرًا في استجابات السلالات حسب نوع الضغط البيئي. ساعد الضغط الملحي على تعزيز التصاق البكتيريا وتكوين الأغشية الحيوية، بينما حفزت الهيدروكربونات، خاصة النفط الخام، هذه العملية. في المقابل، أظهرت المعادن الثقيلة تأثيرات متباينة على تكوين الأغشية الحيوية. بالنسبة للحركة، كانت كل السلالات متحركة، وتحسنت حركتها في وجود مستويات معينة من كلوريد الصوديوم. وأدى وجود الهيدروكربونات إلى تحفيز الهجرة البكتيرية مع تغير في أنماط الحركة. أما المعادن الثقيلة، مثل النحاس والرصاص، فقد قللت من الحركة، في حين أن الزئبق أوقف الحركة تمامًا.

كشفت نتائج الارتباط الجزيئي عن تفاعل قوي بين الهيدروكربونات ومستقبلات الإحساس بالنصاب (LasR، LasI، PqsR)، مع طاقات ربط تتراوح بين -4.9 و -7.3 كيلو كالوري/مول، مما يشير إلى إمكانية مثيرة لتنشيط النظام. أما بالنسبة للمعادن الثقيلة، فقد كانت التفاعلات مع هذه المستقبلات معتدلة، مع طاقات ربط تتراوح بين -3.2 و -3.6 كيلو كالوري/مول.

أخيرًا، أظهرت الدراسة البيوتكنولوجية أن تسع سلالات تمتلك نشاطًا استحلابيًا تجاه النفط الخام (29.27% إلى 59.79%) والكيروسين (17.38% إلى 58.57%). وأظهرت بعض السلالات قدرة على امتصاص النحاس (34.6% إلى 48.15%) والرصاص (9.95% إلى 47.15%). وأنتجت معظم سلالات *Pseudomonas sp*. ثمانية إنزيمات تحلل مائي. تم التعرف على السلالات ذات الأداء الأعلى على المستوى الجزيئي، حيث تبين أن السلالتين S5A2 و S9A3 تنتميان إلى *Pseudomonas aeruginosa* بنسبة 99.91%، و أن السلالة S30A1 تنتمي إلى *Escherichia coli* بنسبة 100%.

الكلمات المفتاحية:

Pseudomonas aeruginosa، *Escherichia coli*، ضغط بيئي، غشاء حيوي، استشعار النصاب، الحركة،

الحركية الكيميائية ، الخاصية الكارهة للماء ، الامتصاص الحيوي ، الانزيمات الحالة .

TABLE DE MATIÈRES

<i>Introduction générale</i>	1
<i>Partie I. Revue de littérature</i>	6
Chapitre I. Sociomicrobiologie (Quorum sensing et biofilms)	6
I La sociomicrobiologie environnementale	7
<i>I.1 Communication et quorum sensing</i>	7
I.1.1 Auto-inducteur de type oligopeptide	8
I.1.2 Système LuxI-LuxR / auto-inducteur-1 (AI-1)	9
I.1.3 Auto-inducteur 2 (AI-2)	10
I.1.4 Quorum sensing chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11
I.1.4.1 QS dépendant d' AHLs	12
I.1.4.2 QS dépendant d' AHQs	14
I.1.5 Quorum sensing chez <i>Escherichia coli</i>	15
<i>I.2 Biofilms microbiens</i>	16
I.2.1 Processus de la formation du biofilm	18
I.2.1.1 Adhésion bactérienne	19
I.2.1.2 Colonisation, maturation et structuration du biofilm	20
I.2.1.3 Détachement et dispersion	21
I.2.2 Facteurs favorisant la formation du biofilm	22
I.2.2.1 Caractéristiques de la surface	22
I.2.2.2 Caractéristiques du milieu	23
I.2.2.3 Propriétés cellulaires	23
I.2.3 Facteurs influençant la dispersion du biofilm	24
I.2.4 Avantages de la structuration en biofilm	24
I.2.4.1 Stratégie métabolique	25
I.2.4.2 Stratégie génétique	25
I.2.4.3 Stratégie protectrice	26
I.2.4.4 Stratégie résistive et adaptative	26
<i>I.3 Biofilms entre bons et mauvais: coopérations ou conflits?</i>	27
I.3.1 Biofilms et milieu hospitalier	28
I.3.2 Biofilms et industrie alimentaire	32
I.3.3 Biofilms et eaux	33

I.3.4	Biofilms et sol	34
I.3.5	Biofilms et bioremediation	35
<i>I.4</i>	<i>Rôle du quorum sensing dans la vie sociale des microorganismes</i>	36
I.4.1	Régulation de la résistance microbienne	37
I.4.2	Régulation de la formation du biofilm	39
I.4.3	Régulation de la stratégie coopérative	40
I.4.4	Régulation de la stratégie compétitive	41
I.4.5	Régulation de la bioluminescence	42
I.4.6	Régulation de la fixation d'azote	43
Chapitre II.	Stress Environnemental et Mobilité bactérienne	44
<i>II.1</i>	<i>Types du stress environnemental</i>	46
II.1.1	Stress abiotique	46
II.1.1.1	Stress chimique	46
II.1.1.1.1	Stress salin	46
II.1.1.1.2	Stress aux hydrocarbures	49
II.1.1.1.2.1	Stress au pétrole brut	50
II.1.1.1.2.2	Stress au kérosène	51
II.1.1.1.3	Stress aux métaux lourds	52
II.1.1.1.3.1	Stress au cuivre (Cu)	53
II.1.1.1.3.2	Stress au plomb (Pb)	54
II.1.1.1.3.3	Stress au mercure (Hg)	55
II.1.1.2	Stress physique	56
II.1.2	Stress biotique (stress biologique)	57
<i>II.2</i>	<i>Mobilité et Chimiotactisme</i>	58
II.2.1	Types de mobilité bactérienne	59
II.2.1.1	Mobilité de type Swimming	61
II.2.1.2	Mobilité de type Swarming	63
II.2.1.3	Mobilité de type Twitching	68
II.2.2	Système chimiotactique chez la bactérie modèle <i>Escherichia coli</i>	70
II.2.2.1	Diversité et régulation des mécanismes senseurs	73
II.2.3	Système chimiotactique chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	76
II.2.3.1	MCPs chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	77
II.2.4	Chimiotactisme et résistance bactérienne aux stress environnementaux	79

Chapitre III. Modèles bactériens	79
III Modèles bactériens (<i>Pseudomonas aeruginosa</i> et <i>Escherichia coli</i>)	80
III.1 <i>Pseudomonas</i>	80
III.1.1 Aperçu taxonomique	80
III.1.1.1 Panorama des méthodes taxonomiques	82
III.1.1.2 Caractérisation phénotypique	82
III.1.1.3 Caractérisation génotypique	83
III.1.1.4 Caractérisation chimio-taxonomique	84
III.1.2 Aperçu écologique	85
III.1.3 Aperçu métabolique	85
III.2 Espèce type <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	88
III.2.1 Pouvoir pathogène et virulence	89
III.2.1.1 Facteurs de la virulence cellulaire	89
III.2.1.1.1 Flagelle	90
III.2.1.1.2 Pili de type IV	91
III.2.1.1.3 Lipopolysaccharide (LPS)	92
III.2.1.1.4 Polysaccharides extracellulaires (EPS)	94
III.2.1.2 Facteurs de virulence sécrétés	95
III.2.1.2.1 L'exotoxine A	95
III.2.1.2.2 Enzymes lipolytiques	95
III.2.1.2.2.1 Phospholipase	95
III.2.1.2.2.2 Lipase	96
III.2.1.2.2.3 Estérase	97
III.2.1.2.3 Enzymes protéolytiques	98
III.2.1.2.3.1 Protéase	98
III.2.1.2.3.2 Élastase	99
III.2.1.3 Pyocyanine	100
III.2.1.4 Pyoverdine	101
III.3 <i>Escherichia coli</i>	102
III.3.1 Aspect taxonomique	102
III.3.2 Distribution écologique et adaptabilité aux environnements	104
III.3.3 Diversité génétique	107
III.3.4 Clonalité	109
III.3.5 Pathogénicité	109
III.3.6 Facteurs de virulence	111

Partie II. Matériel et méthodes	114
Chapitre I. Échantillonnage et analyses physico-chimiques	115
I Échantillonnage et analyses physico-chimiques	115
<i>I.1 Choix de la Zone d'étude</i>	115
I.1.1 Zone d'étude	115
<i>I.2 Échantillonnage spatio-temporel</i>	116
<i>I.3 Analyses physico-chimiques des échantillons</i>	118
I.3.1 Dosage de l'azote	118
I.3.1.1 Détermination de nitrites	118
I.3.1.2 Détermination de nitrates	118
I.3.1.3 Détermination d'ammonium	119
I.3.2 Dosage du phosphate	119
Chapitre II. Isolement et caractérisation des souches marines	119
II Étude bactériologique	120
<i>II.1 Dénombrement bactérien</i>	120
II.1.1 Enrichissement	120
II.1.2 Préparation des dilutions	120
II.1.3 Ensemencement et Dénombrement	121
<i>II.2 Isolement bactérien</i>	121
II.2.1 Filtration des eaux de mer	121
II.2.2 Purification	121
II.2.3 Conservation des souches isolées	122
II.2.3.1 Conservation à court terme	122
II.2.3.2 Conservation longue durée	122
<i>II.3 Caractérisation des isolats marins</i>	122
II.3.1 Étude morphologique	122
II.3.2 Étude physiologique et biochimique	123
II.3.3 Caractérisation moléculaire	123
II.3.3.1 Extraction d'ADN et amplification d'ARNr S16 par PCR	123
II.3.3.2 Analyse phylogénétique	124

Chapitre III. <i>Optimisation de la croissance bactérienne</i>	124
III Optimisation de la croissance bactérienne	125
<i>III.1 Effet de la température</i>	125
<i>III.2 Effet du pH</i>	125
<i>III.3 Effet de la salinité</i>	125
Chapitre IV. <i>Croissance bactérienne et viabilité dans les stress environnementaux</i>	125
IV Viabilité cellulaire sous les stress environnementaux	126
<i>IV.1 Croissance bactérienne et viabilité en présence des hydrocarbures</i>	126
IV.1.1 Croissance bactérienne et viabilité en présence de pétrole brut	126
IV.1.2 Croissance bactérienne et viabilité en présence de kérosène	126
<i>IV.2 Croissance bactérienne et viabilité en présence des métaux lourds</i>	126
IV.2.1 Croissance bactérienne et viabilité en présence de Cuivre	127
IV.2.2 Croissance bactérienne et viabilité en présence de plomb	127
IV.2.3 Croissance bactérienne et viabilité en présence de mercure	128
Chapitre V. <i>Formation des biofilms sous les stress environnementaux</i>	128
V Caractérisation phénotypique de la formation du biofilm	129
<i>V.1 Production de slime sur la gélose au rouge Congo</i>	129
<i>V.2 Méthode de microplaque en polystyrène</i>	129
<i>V.3 Impact des stress environnementaux sur la formation des biofilms</i>	130
V.3.1 Effet de la salinité sur la formation du biofilm	130
V.3.2 Effet des hydrocarbures sur la formation du biofilm	130
V.3.3 Effet des métaux lourds sur la formation du biofilm	131
Chapitre VI. <i>Quorum sensing chez les bactéries marines</i>	132
VI Quorum sensing	133
<i>VI.1 Détection de système quorum sensing par les biosenseurs</i>	133
<i>VI.2 Effet des stress environnementaux sur le quorum sensing par docking moléculaire</i>	133
VI.2.1 Préparation des récepteurs et des ligands	133

VII	Étude de la mobilité bactérienne et chimiotactisme	137
	<i>VII.1 Mobilité de type swimming</i>	137
	<i>VII.2 Mobilité de type swarming</i>	137
	<i>VII.3 Mobilité de type twitching</i>	137
	<i>VII.4 Étude du comportement chimiotactique</i>	138
	VII.4.1 Swarm plate agar	138
	VII.4.1.1 Effet de la salinité sur la mobilité de type swarming	138
	VII.4.1.2 Effet des hydrocarbures sur la mobilité de type swarming	138
	VII.4.1.3 Effet des métaux lourds sur la mobilité de type swarming	139
VIII	Profil Biotechnologique	140
	<i>VIII.1 Hydrophobicité cellulaire et pouvoir émulsifiant</i>	140
	VIII.1.1 Adhésion bactérienne aux hydrocarbures (BATH)	140
	VIII.1.2 Pouvoir émulsifiant	140
	<i>VIII.2 Biosorption des métaux lourds</i>	141
	<i>VIII.3 Profil de la production des enzymes extracellulaires</i>	141
	VIII.3.1 L'activité Amylase	142
	VIII.3.2 L'activité Cellulase	142
	VIII.3.3 L'activité Chitinase	142
	VIII.3.4 L'activité Gélatinase	142
	VIII.3.5 L'activité Protéase	142
	VIII.3.6 L'activité Phospholipase	143
	VIII.3.7 L'activité Lipase	143
	VIII.3.8 L'activité Estérase	143
IX	Traitement des données et analyses statistiques	143
	<i>Partie III. Résultats et discussion</i>	143
	Chapitre I. Analyses physico-chimiques des échantillons	144
I	Analyses physico-chimiques	144
	<i>I.1 Classification Ascendante Hiérarchique (CAH)</i>	148
	<i>I.2 Analyse en Composantes Principales (ACP)</i>	149

Chapitre II. Analyses bactériologiques des échantillons de l'eau de mer	151
II Analyses bactériologiques	152
II.1 Dénombrement bactérien	152
II.2 Isolement et identification	153
Chapitre III. Optimisation et suivi de la croissance dans les stress environnementaux	163
III Optimisation de la croissance des souches marines	164
III.1 Effet de la température	164
III.2 Effet de pH	166
III.3 Effet du NaCl	167
III.4 Étude de la croissance bactérienne en présence des hydrocarbures	171
III.5 Étude de la viabilité des souches en présences des métaux lourds	173
III.5.1 Détermination de la viabilité cellulaire par la résazurine	173
Chapitre IV. Effet des stress environnementaux sur l'organisation en biofilm	183
IV Mise en évidence de la formation du biofilm	184
IV.1 Méthode de la production de slime sur la gélose au Rouge Congo	184
IV.2 Méthode de microplaque	187
IV.3 Effet des stress environnementaux sur la formation du biofilm	188
IV.3.1 Effet de la salinité sur la formation du biofilm	188
IV.3.2 Effet des hydrocarbures sur la formation du biofilms	191
IV.3.2.1 Effet du pétrole brut sur la formation du biofilm	191
IV.3.2.2 Effet du kérosène sur la formation du biofilm	194
IV.3.3 Effet des métaux lourds sur la structuration en biofilm	196
IV.3.3.1 Effet du cuivre sur la formation du biofilm	196
IV.3.3.2 Effet du plomb sur la formation du biofilm	199
IV.3.3.3 Effet du mercure sur la formation du biofilm	202
Chapitre V. Quorum sensing chez les bactéries marines	201
V Quorum sensing chez les bactéries marines	205
V.1 Mise en évidence des autoinducteurs par biosenseurs	205
V.2 Effet des stress environnementaux sur système quorum sensing	208

V.2.1	Docking moléculaire	208
V.2.1.1.1	Affinité de 3-oxo-C ₁₂ -HSL au récepteur LasR	209
V.2.1.1.2	Affinité de 3-oxo-C ₁₂ -HSL au récepteur LasI	209
V.2.1.1.3	Affinité de 2-nonyl-4-quinolone au récepteur PqsR	211
V.2.1.2	Interaction entre l'acétate de sodium et le système quorum sensing	211
V.2.1.2.1	Affinité de l'acétate de sodium au récepteur LasR	211
V.2.1.2.2	Affinité de l'acétate de sodium au récepteur LasI	213
V.2.1.2.3	Affinité de l'acétate de sodium au récepteur PqsR	213
V.2.1.3	Interaction entre naphthalène et le système quorum sensing	214
V.2.1.3.1	Affinité du naphthalène au récepteur LasR	214
V.2.1.3.2	Affinité du naphthalène au récepteur LasI	214
V.2.1.3.3	Affinité du naphthalène au récepteur PqsR	214
V.2.1.4	Interaction entre le toluène et le système quorum sensing	216
V.2.1.4.1	Affinité du toluène au récepteur LasR	216
V.2.1.4.2	Affinité du toluène au récepteur LasI	216
V.2.1.4.3	Affinité du toluène au récepteur PqsR	218
V.2.1.5	Interaction entre l'o-xylène et le système quorum sensing	218
V.2.1.5.1	Affinité d'o-xylène au récepteur LasR	218
V.2.1.5.2	Affinité d'o-xylène au récepteur LasI	218
V.2.1.5.3	Affinité d'o-xylène au récepteur PqsR	219
V.2.1.6	Interaction entre l'acétate de cuivre et le système le quorum sensing	221
V.2.1.6.1	Affinité de l'acétate du cuivre au récepteur LasR	221
V.2.1.6.2	Affinité de l'acétate de cuivre au récepteur LasI	221
V.2.1.6.3	Affinité de l'acétate de cuivre au récepteur PqsR	223
V.2.1.7	Interaction entre l'acétate de plomb et le système quorum sensing	223
V.2.1.7.1	Affinité de l'acétate de plomb au récepteur LasR	223
V.2.1.7.2	Affinité de l'acétate de plomb au récepteur LasI	223
V.2.1.7.3	Affinité de l'acétate de plomb au récepteur PqsR	225
V.2.1.8	Interaction entre l'acétate de mercure et le système quorum sensing	225
V.2.1.8.1	Affinité de l'acétate de mercure au récepteur LasR	225
V.2.1.8.2	Affinité de l'acétate de mercure au récepteur LasI	225
V.2.1.8.3	Affinité de l'acétate de mercure au récepteur PqsR	227
Chapitre VI.	<i>Mobilité et comportement chimiotactique envers les stress environnementaux</i>	229
VI	Mobilité bactérienne et chimiotactisme	235
VI.1	<i>Mobilité bactérienne</i>	235

VI.1.1	Swimming	235
VI.1.2	Swarming	237
VI.1.3	Twitching	240
VI.2	<i>Étude du chimiotactisme des souches marines</i>	242
VI.2.1	Réponse chimiotactique <i>vis-à-vis</i> du chlorure de sodium	243
VI.2.2	Réponse chimiotactique <i>vis-à-vis</i> des hydrocarbures	245
VI.2.2.1	Réponse chimiotactique <i>vis-à-vis</i> du pétrole brut	245
VI.2.2.2	Réponse chimiotactique <i>vis-à-vis</i> du kérosène	252
VI.2.3	Réponses chimiotactiques <i>vis-à-vis</i> des métaux lourds	257
VI.2.3.1	Réponse chimiotactique <i>vis-à-vis</i> du cuivre	257
VI.2.3.2	Réponse chimiotactique <i>vis-à-vis</i> du plomb	259
VI.2.3.3	Réponse chimiotactique <i>vis-à-vis</i> du mercure	261
Chapitre VII. <i>Potentiel biotechnologique des souches marines</i>		257
VII	Potentiel biotechnologique des souches marines	263
VII.1	<i>Hydrophobicité cellulaire et potentiel émulsifiant</i>	263
VII.1.1	Hydrophobicité cellulaire	263
VII.1.2	Pouvoir émulsifiant	265
VII.2	<i>Biosorption des métaux</i>	267
VII.3	<i>Profil de production des activités enzymatiques</i>	268
<i>Conclusion générale et Perspectives</i>		269
<i>Références bibliographiques</i>		274
<i>Annexes</i>		370

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ADH:	Arginine dihydrolase
ADI:	Acide Adipique
AgSO₄:	Sulfate d'argent
AHLs:	Acyl-Homosérine Lactones
AHQ:	Autoinducteur homosérine quinone
AI-1 et 2 :	Autoinducteur type 1 et 2
AIEC:	<i>Escherichia coli E. coli</i> invasif adhérent
AIs:	Auto-Inducteurs
Al:	Aluminium
ALA:	Alanine
Amy:	Amylase
APEC:	<i>E. coli</i> pathogène aviaire
API:	Index de profil analytique (Système d'identification bactérienne)
ARA:	L-arabinose
ARG:	Arginine
ARNr:	Acide ribonucléique ribosomique
ASN:	Asparagine
ASP:	Aspartate
AT:	Azote Total
ATP:	Adénosine triphosphate
B:	Bore
Ba:	Barium
BH:	Bushnell-Haas
BLAST:	Outil de recherche d'alignement local de base
BPs:	Protéines de liaison
Ca:	Calcium
CAM:	Cycle d'activation méthylée

CAP:	Acide Caprique
CBP:	Cirrhose biliaire primitive
CD14:	Cluster de différenciation 14
CE:	Conductivité électrique
Cel:	Cellulase
CFU:	Colonie formant Unité
Che:	Protéine cytoplasmique impliquée dans la chimiotaxie
Chi:	Chitinase
CIT:	Citrate de trisodium
CMC:	Carboxyméthylcellulose
CMI:	Concentration Minimale Inhibitrice
CPS:	Compétence des signaux peptidiques
CSLM:	Microscopie Laser Confocale à Balayage
Cu:	Cuivre
Cys:	Cystéine
DADPH:	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
DAEC:	<i>Escherichia coli</i> diffusif adhérent
DIP:	Phosphore Inorganique Dissous
DL50:	Dose Létale pour 50% de la population
DOP:	Phosphore Organique Dissous
DPD:	4,5-dihydroxy-2,3-pentanedione
DSF:	Facteur Signal Diffusible
E₂₄:	Indice d'émulsification
EAEC:	<i>Escherichia coli</i> entéro-aggrégatif
EDTA:	Acide Ethylenediaminetetraacetic
EHEC:	<i>Escherichia coli</i> entéro-hémorragique
EIEC:	<i>Escherichia coli</i> entéro-invasif
EPEC:	<i>E. coli</i> entéro-pathogène
EPEC:	<i>Escherichia coli</i> Pathogène extra-intestinale

EPS:	Exopolysaccharides
ESC:	Esculine
Est:	Estérase
ETA:	Exotoxine A
F:	Flore
FADH₂:	Flavine adénine dinucléotide
Fe:	Fer
GC:	Pourcentage de la Guanine et la cytosine dans l'ADN
Gel:	Gélatinase
Gln:	Glutamine
Glu:	Glucose
Glu:	Glutamate
Gly:	Glycine
Gnt:	Gluconate de potassium
GSDL:	Sous-famille d'enzymes hydrolytiques et lipolytiques
H₂O₂:	Péroxyde d'hydrogène
H₂SO₄:	Acide Sulfurique
HAA:	Hybridation ADN-ADN
HAMP:	Histidine Kinase, Adénylyl cyclase, protéin acceptant le méthyle, phosphatase
HAP:	Hook Associated Protein
HAP:	Pneumonies nosocomiales
HBL:	Toxine hémolytique
HBMEC:	Cellules endothéliales microvasculaires du cerveau humain
HCO₃:	Bicarbonate
Hg:	Mercure
HgCl₂:	Chlorure de mercure
HgSO₄:	Sulfate de mercure
HHQ:	2-heptyl-3-hydroxy-4-quinolone
His:	Histidine

HlyA:	α -hémolysine (HlyA)
HPO₄²⁻:	Orthophosphate
HQNO:	2-heptyl-4-hydroxyquinolone-N-oxyde
IAE:	Intensité de l'activité enzymatique
IL:	Interleukine
ILE:	Isoleucine
IS:	Séquence d'Insertion
ITS:	Espaceur Interne Transcrit
ITU:	Infections du tractus urinaire
K:	Potassium
Kdo:	Céto-désoxyotulosonate
KNC:	Cyanure de Potassium
LasA et B:	Métalloprotéase produite par <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
LB:	Milieu Luria Bertani
LBD:	Domaine de liaison au ligand
LepA:	Protéase sécrétée par <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
LEU:	Leucine
Li:	Lithium
Lip:	Lipase
LPS:	Lipopolysaccharides
LRP:	Protéine liée au récepteur des lipoprotéines de basse densité
LTTR:	Régulateur transcriptionnel de type LysR
Lys:	Lysine
MAL:	D-maltose
MAN:	D-mannitol
MATH:	Adhésion microbienne aux hydrocarbures
MCP:	Protéine chimiotactique de méthyle-acceptante
MD₂:	Protéine 2 de différenciation myéloïde
MeHg:	Méthylmercure

MET:	Méthionine
Mg:	Magnésium
MLT:	Acide Malique
Mn:	Manganèse
MNE:	D-mannose
Mo:	Molybdate
MSB:	Bouillon Salé minimal
MyD88:	Gène 88 de réponse primaire à la différenciation myéloïde
Na:	Sodium
NaCl:	Chlorure de Sodium
NADH:	Nicotinamide adénine dinucléotide
NAG:	N-Acétyl-glucosamine
NCBI:	Centre National d'information sur la biotechnologie
NH₄:	Ammonium
NHQ:	2-nonyl-4-quinolone
NLRC4:	NOD-like receptor C4
NMEC:	<i>E. coli</i> méningite néonatale
NO₂:	Nitrite
CO₃:	Carbonate
NO₃:	Nitrate
ONPG:	Ortho- nitro-phényl- galactoside
ORF:	Cadre de lecture ouverte
OX:	Oxidase
PAC:	Acide phénylacétique
PAR:	Récepteurs activés par la protéase
PAS:	LBD cytosoliques de type PAS
PASP:	Protéine de virulence associée à la sécrétion de type III
PAT:	Test d'adhérence au polystyrène
Pb:	Plomb

Pb₂O₃:	Sesquioxyde de plomb
Pb₃O₄:	Tétraoxyde de plomb
PbCl₂:	Chlorure de plomb
PbCO₃:	Carbonate de plomb
PbO:	Oxyde de plomb
PbO₂:	Peroxyde de plomb
PbO₃:	Trioxyde de plomb
PBS:	Solution saline tamponnée au phosphate
PbSO₄:	Sulfate de plomb
PCR:	Réaction de polymérisation en chaîne
PEL:	Type des exopolysaccharides produits par <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
PEP:	Phosphoenolpyruvate
PGPR:	Rhizobactéries favorisant la croissance des plantes
Phe:	Phénylalanine
Phos A et C :	Phospholipase A et C
PIP:	Phosphore Inorganique Particulaire
PLC:	Phospholipase C
PNPG:	4-nitrophényl-βD-galactopyranoside
PO₄:	Phosphate
POP :	Phosphore Organique Particulaire
PQS:	<i>Pseudomonas</i> Quinolone Signal
Pro:	Proline
Pro:	Protéase
PSI et II:	Système photosynthétique I et II
PSL:	Type des exopolysaccharides produits par <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
PTS:	Système phosphotransférase
QS:	Quorum Sensing
Rb:	Rubidium
ROS:	Espèces réactives d'oxygène

Rtx:	Famille des toxines répétées
SAT:	Test d'agrégation aux sels
Se:	Sélénium
SEPEC:	<i>E. coli</i> septique
SER:	Sérine
SH:	Sulfhydryle
SHU:	Syndrome hémolytique et urémique
Si:	Silicium
SO₄:	Sulfate
Sr:	Strontium
SRH:	S-ribosylhomocystéine
SSI:	Infections du site opératoire
STx:	Shiga toxines secrétées par <i>E. coli</i>
T3SSs :	Système de sécrétion III
T6SS2:	Système de sécrétion IV
THR:	Thréonine
TLR4 et 5:	Toll-like receptor 4 et 5
TM1 et 2:	Hélice transmembranaire N terminale
TNF:	Facteur de Nécrose Tumorale
Trp:	Tryptophane
Tyr:	Tyrosine
UFP:	Particules ultrafines
UPEC:	<i>E. coli</i> uropathogène
URE:	Urée
UV:	Rayonnement ultraviolet
VAI-1:	Autoinducteur-1 de <i>V. fischeri</i>
Val:	Valine
VBNC:	Viable mais non cultivable
Xaa:	Acide aminé protéinogène

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Diagramme schématique du quorum sensing chez les bactéries à gram positif (A) et celles à gram négatif (B).	9
Figure 2. Étapes de formation du biofilm (Aliane et Meliani, 2021).	19
Figure 3. Sources et origines des métaux lourds dans l'environnement (Abd Elnabi et <i>al.</i> , 2022).	53
Figure 4. Structure du flagelle bactérien (Morimoto et Morimoto, 2017).	90
Figure 5. Structure de Pili IV bactérien (Burdman et <i>al.</i> , 2011).	92
Figure 6. Structure des lipopolysaccharides chez les bactéries à Gram négatif (Mazgaeen et Gurung, 2020).	93
Figure 7. Localisation des sites d'échantillonnage (Algérie).	117
Figure 8. Dendrogramme de la classification hiérarchique des stations d'études.	149
Figure 9. L'ACP des paramètres physico-chimiques des stations étudiées.	150
Figure 10. Aspect macroscopique de certains isolats marins sur la gélose Luria Bertani (A) et King B (B).	158
Figure 11. Aspect fluorescent de certaines des souches marines.	159
Figure 12. Arbre phylogénétique par assemblage de voisins, basé sur les séquences du gène de l'ARNr 16S, montrant la relation entre les isolats et les espèces étroitement apparentées sur la base de la comparaison des séquences du gène de l'ARNr 16S à l'aide de 1000 répliques bootstrap.	162
Figure 13. Effet de la température sur la croissance des souches marines.	165
Figure 14. Effet du potentiel d'hydrogène sur la croissance des souches marines.	167
Figure 15. Effet de différentes concentrations du chlorure de sodium sur la croissance des souches marines.	169
Figure 16. Croissance des souches marines en présence d'une couche mince de pétrole brut (A) et kérosène (B).	172
Figure 17. Effet de différentes concentrations de cuivre sur la viabilité des souches marines en présence de la résazurine.	174

Figure 18. Effet de différentes concentrations de plomb sur la viabilité des souches marines en présence de la résazurine.	175
Figure 19. Effet de différentes concentrations de mercure sur la viabilité des souches marines en présence de la résazurine.	177
Figure 20. Les différents aspects culturels des colonies développées par certaines souches marines sur la gélose au rouge Congo, après 24h d'incubation à 37°C.	185
Figure 21. Production du slime en présence de saccharose (A), de fructose (B), et de glucose (C) après 24h d'incubation à 37°C.	186
Figure 22. Capacité des souches marines à adhérer et former des biofilms sur la microplaque en polystyrènes.	187
Figure 23. Effet de la salinité sur la formation des biofilms par les souches marines.	189
Figure 24. Effet du pétrole brut sur la formation des biofilms par les souches marine.	193
Figure 25. Effet du kérosène brut sur la formation des biofilms par les souches marine.	195
Figure 26. Capacité des souches à former des biofilms en présence de différentes concentrations de cuivre.	198
Figure 27. Capacité des souches à former des biofilms en présence de différentes concentrations de plomb.	200
Figure 28. Capacité des souches à former des biofilms en présence de différentes concentrations de mercure.	202
Figure 29. Détection des AHLs chez les bactéries marines par la technique en strie T.	205
Figure 30. Zones d'inhibition dues à une activité antibactérienne lors de la détection des AHLs.	206
Figure 31. Docking moléculaire de différentes protéines contrôlant le QS lasR (A1 & A2), lasI (B1 & B2) et PqsR (C1 & C2) avec les ligands natifs: 3-oxo-C ₁₂ -HSL (A and B) et 2-nonyl -4-quinolone (C).	210
Figure 32. Docking moléculaire de différentes protéines contrôlant le QS lasR (A1 & A2), lasI (B1 & B2) et PqsR (C1 & C2) avec l'acétate de sodium.	212

Figure 33. Docking moléculaire de différentes protéines contrôlant le QS lasR (A1 & A2), lasI (B1 & B2) et PqsR (C1 & C2) avec le naphthalène.	215
Figure 34. Docking moléculaire de différentes protéines contrôlant le QS lasR (A1 & A2), lasI (B1 & B2) et PqsR (C1 & C2) avec le toluène.	217
Figure 35. Docking moléculaire de différentes protéines contrôlant le QS lasR (A1 & A2), lasI (B1 & B2) et PqsR (C1 & C2) avec l'o-xylène.	220
Figure 36. Docking moléculaire de différentes protéines contrôlant le QS lasR (A1 & A2), lasI (B1 & B2) et PqsR (C1 & C2) avec l'acétate de cuivre.	222
Figure 37. Docking moléculaire de différentes protéines contrôlant le QS lasR (A1 & A2), lasI (B1 & B2) et PqsR (C1 & C2) avec l'acétate de plomb.	224
Figure 38. Docking moléculaire de différentes protéines contrôlant le QS lasR (A1 & A2), lasI (B1 & B2) et PqsR (C1 & C2) avec l'acétate de mercure.	226
Figure 39. Détermination de la mobilité de type swimming chez les souches marines.	236
Figure 40. Diamètre de la migration bactérienne sur la gélose swimming chez les souches marines.	237
Figure 41. Détermination de la mobilité de type swarming chez les souches marines.	239
Figure 42. Diamètre de la migration bactérienne sur la gélose swarming chez les souches marines.	240
Figure 43. Détermination de la mobilité de type twitching chez les souches marines.	241
Figure 44. Diamètre de la migration bactérienne sur la gélose twitching chez les souches marines.	242
Figure 45. Regroupement hiérarchique de l'effet de chlorure de sodium sur la mobilité de type swarming des souches marines.	244
Figure 46. Réponses chimiotactiques (<i>swarming</i>) des bactéries marines <i>vis-à-vis</i> le pétrole brut.	246
Figure 47. Diamètre de migration bactérienne sur gélose swarming en présence de pétrole brut.	247
Figure 48. Les zones claires autour de l'anneau de croissance en présence de 0.1% de pétrole brut chez certaines souches marines.	248
Figure 49. Réponses chimiotactiques (<i>swarming</i>) de certaines souches marines <i>vis-à-vis</i> le pétrole brut (0.1%), (a): Bande extérieure du chimiotactisme, (b, c): Bande intérieure du chimiotactisme.	250
Figure 50. Réponses chimiotactiques (<i>swarming</i>) des bactéries marines <i>vis-à-vis</i> le kérosène.	253
Figure 51. Diamètre de migration bactérienne sur gélose <i>swarming</i> en présence de kérosène.	254

Figure 52. Réponses chimiotactiques (<i>swarming</i>) de certaines souches marines <i>vis-à-vis</i> le kérosène (0.1%), (a): Bande extérieure du chimiotactisme, (b, c): Bande intérieure du chimiotactisme.	255
Figure 53. Regroupement hiérarchique de l'effet du cuivre sur la mobilité de type <i>swarming</i> des souches marines.	258
Figure 54. Regroupement hiérarchique de l'effet du plomb sur la mobilité de type <i>swarming</i> des souches marines	260
Figure 55. Hydrophobicité des souches marines <i>vis-à-vis</i> du pétrole brut et du kérosène, après 24h d'incubation à 37°C.	264
Figure 56. Potentiel émulsiant des souches marines, <i>vis-à-vis</i> du pétrole brut et du kérosène après 24h d'incubation à 37°C.	266
Figure 57. Potentiel de biosorption de cuivre et de plomb après 40h d'incubation.	267
Figure 58. Détection des activités enzymatiques extracellulaires sur gélose.	269
Figure 59. Carte thermique hiérarchique montrant les activités enzymatiques extracellulaires.	270
Figure 60. Dendrogramme de la classification hiérarchique ascendante des souches marines selon leur significativité biotechnologique.	272
Figure 61. Répartition des bactéries marines en fonction de leur profil biotechnologique a été réalisée, par une analyse en composantes principales (ACP).	273

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Localisation et coordonnées géographiques des cinq stations étudiées.	116
Tableau 2. Caractérisation des protéines réceptrices LasR, LasI, et PqsR	134
Tableau 3. Identification des ligands utilisés pour le docking	135
Tableau 4. Paramètres physico-chimiques des échantillons de l'eau de mers (plages et ports).	145
Tableau 5. Résultats du dénombrement bactérien.	152
Tableau 6. Aspects culturels des souches marines sur la gélose Pseudomonas F	153
Tableau 7. Origines et description macroscopique et microscopique des isolats.	154
Tableau 8. Identification morphologique et biochimique des souches marines.	160
Tableau 9. Résultats des analyses des interactions ligand-protéines <i>in silico</i> .	233
Tableau 10. Tableau de lecture des résultats d'identification par la galerie API 20E.	373
Tableau 11. Tableau de lecture des résultats d'identification par la galerie API 20NE.	375
Tableau 12. Matrice de corrélation entre les différentes températures. Les valeurs marquées en rouges sont significatives ($P < 0.05$).	379
Tableau 13. Matrice de corrélation entre les différents pH. Les valeurs marquées en rouges sont significatives ($P < 0.05$).	379
Tableau 14. Matrice de corrélation entre les différentes concentrations de chlorure de sodium. Les valeurs marquées en rouges sont significatives ($P < 0.05$).	379
Tableau 15. Matrice de corrélation entre les différentes concentrations d'actétate de cuivre pour la viabilité cellulaire, évaluée à l'aide de la résazurine. Les valeurs marquées en rouges sont significatives ($P < 0.05$).	380
Tableau 16. Matrice de corrélation entre les différentes concentrations d'actétate de plomb pour la viabilité cellulaire, évaluée à l'aide de la résazurine. Les valeurs marquées en rouges sont significatives ($P < 0.05$).	380

- Tableau 17.** Matrice de corrélation entre les différentes concentrations d'actétate de mercure pour la viabilité cellulaire, évaluée à l'aide de la résazurine. Les valeurs marquées en rouges sont significatives ($P<0.05$). 380
- Tableau 18.** Matrice de corrélation entre les différentes concentrations de chlorure de sodium et la formation du biofilm. Les valeurs marquées en rouges sont significatives ($P<0.05$). 381
- Tableau 19.** Matrice de corrélation entre les différentes concentrations de pétrole brut et la formation du biofilm. Les valeurs marquées en rouges sont significatives ($P<0.05$). 381
- Tableau 20.** Matrice de corrélation entre les différentes concentrations de kérosène la formation du biofilm. Les valeurs marquées en rouges sont significatives ($P<0.05$). 381
- Tableau 21.** Matrice de corrélation entre les différentes concentrations d'acétate de cuivre et la formation du biofilm. Les valeurs marquées en rouges sont significatives ($P<0.05$). 382
- Tableau 22.** Matrice de corrélation entre les différentes concentrations d'acétate de plomb et la formation du biofilm. Les valeurs marquées en rouges sont significatives ($P<0.05$). 382
- Tableau 23.** Matrice de corrélation entre les différentes concentrations d'acétate de mercure et la formation du biofilm. Les valeurs marquées en rouges sont significatives ($P<0.05$). 382
- Tableau 24.** Matrice de corrélation entre les différentes concentrations de chlorure de sodium et la mobilité de type swarming. Les valeurs marquées en rouges sont significatives ($P<0.05$). 383
- Tableau 25.** Matrice de corrélation entre les différentes concentrations d'acétate de cuivre sur la mobilité de type swarming. Les valeurs marquées en rouges sont significatives ($P<0.05$). 383
- Tableau 26.** Matrice de corrélation entre les différentes concentrations d'actéte de plomb sur la mobilité de type swarming. Les valeurs marquées en rouges sont significatives ($P<0.05$). 383

Introduction générale

Depuis les premières découvertes sur les microorganismes, leur rôle crucial dans les cycles biogéochimiques, la santé des écosystèmes, l'agriculture et l'industrie agro-alimentaire a été reconnu. Ces organismes, qui existent depuis plus de 3.8 milliards d'années, ont démontré une incroyable capacité à coloniser tous les environnements terrestres, y compris les niches les plus extrêmes (Cavicchioli et *al.*, 2019). Les bactéries, en particulier, se distinguent par leur versatilité métabolique et physiologique, un fait qui les place au centre des dynamiques écosystémiques mondiales. L'étude de l'écologie microbienne remonte aux observations d'Antonie van Leeuwenhoek en 1683, lorsqu'il décrivit les bactéries comme de petits « animalcules » (Prosser et *al.*, 2007; Heo, 2016). Cette première perception des bactéries, comme étant des entités asociales, a longtemps prévalu, négligeant le fait que la croissance en colonie constitue une forme d'interaction sociale. Cependant, avec les progrès réalisés dans les domaines de la détection du quorum sensing (QS) et de la recherche sur les biofilms dans les années 1990, cette idée a été bouleversée. Il est désormais admis que les pressions sélectives ont joué un rôle clé dans l'évolution des comportements sociaux chez les bactéries (Greenberg, 2011).

L'une des premières observations suggérant l'existence de communautés bactériennes a été réalisée par Antonie van Leeuwenhoek, qui décrivait la plaque dentaire comme une « communauté d'animalcules vivants ». Cependant, cette idée n'a été pleinement acceptée qu'à la fin du XXe siècle, grâce aux progrès de la biologie moléculaire et des techniques microscopiques. Ces avancées ont révélé l'importance des interactions sociales dans les réponses bactériennes aux stimuli environnementaux. Ces interactions, quorum sensing et formation de biofilms, représentent des stratégies adaptatives cruciales qui permettent aux bactéries, qu'elles soient pathogènes ou bénignes, de coloniser efficacement leurs hôtes et de proliférer (Sharma et *al.*, 2023).

Le concept de quorum sensing, tel qu'il fut théorisé dans les années 1970, repose sur la capacité des bactéries à coordonner l'expression de gènes spécifiques en réponse à des signaux moléculaires, dépendant de la densité cellulaire locale (Connell et *al.*, 2012). Quant au terme « biofilm », il fut utilisé pour la première fois en 1999 par Costerton et ses collaborateurs pour décrire des communautés bactériennes organisées en entités collectives, offrant ainsi une meilleure protection et une croissance accrue à la colonie (Aliane et Meliani, 2021). Il est désormais prouvé que le quorum sensing et la formation des biofilms sont

étroitement liés, notamment en raison de la proximité des cellules au sein des biofilms, créant ainsi un environnement favorable à la signalisation cellulaire (Passos Da Silva et *al.*, 2017).

En 2005, Parsek et Greenberg proposèrent le terme « sociomicrobiologie » pour désigner cette nouvelle discipline scientifique, axée sur l'analyse des interactions au sein des communautés microbiennes, tout en tenant compte des mécanismes évolutifs et écologiques sous-jacents (Parsek et Greenberg, 2005). Cette discipline s'intéresse à la manière dont les bactéries, en tant qu'entités sociales, interagissent entre elles et avec leur environnement. Au-delà de la formation des biofilms, la sociomicrobiologie explore également la régulation de la mobilité bactérienne, illustrée par la régulation de la transition entre les modes de vie motile et sessile (Xavier, 2016).

La mobilité bactérienne est un mécanisme de survie essentiel, permettant aux bactéries de se déplacer dans divers milieux. Cependant, toutes les bactéries ne possèdent pas un mouvement actif. Certaines utilisent des flagelles, tandis que d'autres se déplacent grâce à des pili de type IV. En 1972, Henrichsen décrivit cinq types de mobilité: le swarming, le swimming, le twitching, le gliding et le sliding (Henrichsen, 1972; Zegadło et *al.*, 2023). En outre, les bactéries se sont adaptées à leur environnement en développant la capacité de détecter et de répondre aux variations chimiques locales, notamment à travers le chimiotactisme. Ce mécanisme leur permet de se diriger vers des ressources favorables (chimioattractants) ou de s'éloigner de substances toxiques (chimiorépulsifs). Le chimiotactisme influence non seulement la croissance et la répartition des bactéries, mais également leurs interactions symbiotiques, leur pathogénèse et leur rôle dans les écosystèmes (Seymour et *al.*, 2024).

Enfin, la capacité des bactéries à surveiller et à détecter les perturbations chimiques ou physiques de leur environnement est essentielle pour leur survie dans des niches écologiques dynamiques (Bonilla, 2020). L'adaptation aux conditions stressantes constitue une stratégie clé pour améliorer la tolérance au stress chez les bactéries. Cette adaptation passe par des ajustements progressifs, tels que l'utilisation de substrats alternatifs moins préférés, afin de tolérer les conditions de stress (Tan et *al.*, 2022). Cependant, malgré la hausse des pressions environnementales dans le monde, il reste encore peu de données sur l'impact global de ces stress sur les communautés microbiennes et sur les services écosystémiques qu'elles fournissent (Hernández et *al.*, 2021).

Dans le cadre de cette étude, nous avons concentré notre attention sur les écosystèmes marins du Nord-Ouest de l'Algérie, une région caractérisée par une diversité microbienne riche et une exposition aux stress environnementaux induits par l'activité humaine. Les écosystèmes marins, représentant près de 90% des écosystèmes mondiaux, jouent un rôle fondamental dans la régulation des cycles de l'oxygène et du carbone, contribuant à la production alimentaire et au bien-être humain (Ifraan et Alatawi, 2019; Aloui et Mehalli, 2022). Les communautés microbiennes qui y prospèrent, regroupées en plusieurs phyla bactériens tels que les *Proteobacteria*, *Bacteroidota* et *Cyanobacteria* (Hinthong et al., 2024). Ces écosystèmes se démarquent par la dominance de certains genres bactériens, tels que *Pseudomonas sp.*, *Vibrio sp.*, *Achromobacter sp.*, *Flavobacterium sp.*, et *Micrococcus sp.* (Ameen et al., 2021). Des investigations épidémiologiques ont révélé le lien entre la contamination fécale de milieu marin et les maladies liées à la baignade. Par conséquent, un groupe des indicateurs de pollution fécale, *Escherichia coli* et *Enterococcus sp.* sont utilisées pour la surveillance de la contamination fécale des plans d'eau dans le monde entier. En outre, le *Pseudomonas aeruginosa* sert également d'indicateur très utile pour la détermination de la qualité de l'eau de mer (Karbadehi et al., 2017).

Les environnements marins sont également une source inestimable de nouveaux gènes, enzymes, et produits naturels, revêtant une grande importance dans divers processus industriels (Poli et al., 2017; Chbel et al., 2022). Les bactéries, en particulier, sont considérées comme des réservoirs de bioproduits de valeurs, notamment des enzymes, qui trouvent des applications en biotechnologie et dans de nombreuses industries (Tamano, 2014). Par exemple, le genre *Pseudomonas* est bien connu pour sa capacité à produire diverses biomolécules utiles telles que les lipases, les protéines fluorescentes, les enzymes hydrolytiques, les rhamnolipides, les phénazines, ainsi que d'autres métabolites secondaires (Bollinger et al., 2018). En outre, leur potentiel à émulsifier les hydrocarbures, notamment le pétrole brut et le kérosène, a été largement étudié. Cette capacité est attribuée à la production de bioémulsifiants, des molécules amphipathiques capables d'agir entre des fluides de polarité différente (huile/eau, eau/huile) (Shahaliyan et al., 2015; Nogueira et al., 2020). Ainsi, l'utilisation de bioémulsifiants dans les procédés de bioremédiation des sites pollués par les hydrocarbures offre des perspectives prometteuses (Calvo et al., 2009). En outre, chez *Pseudomonas sp.*, la biosorption des métaux lourds, notamment le cuivre et le plomb, a éveillé un intérêt croissant pour leur utilisation potentielle dans la dépollution des eaux contaminées (Pham et al., 2022). Par ailleurs, des espèces du genre *Escherichia* sont

également reconnues pour leur capacité à produire des enzymes hydrolytiques, telles que la phosphatase alcaline (Srivastava et *al.*, 2021), et pour leur efficacité dans la dégradation des hydrocarbures (Jassim et Al-Nashi, 2017) et la biosorption des métaux lourds (Ueki et *al.*, 2003; Khosravi et *al.*, 2020; Rind et *al.*, 2023).

Face aux stress environnementaux croissants, tels que la salinité élevée, la pollution par les hydrocarbures et les métaux lourds, cette étude s'intéresse à la résilience des communautés bactériennes marines du Nord-Ouest de l'Algérie. Les genres *Pseudomonas* et *Escherichia* sont ciblés pour leur capacité à s'adapter à ces conditions extrêmes. Les mécanismes régulation et d'adaptation, tels que le quorum sensing, la formation de biofilms, la mobilité et le chimiotactisme, jouent un rôle central dans cette réponse.

La problématique soulève l'intérêt de comprendre comment les aspects sociétaux, tels que le quorum sensing, la formation de biofilms, et la coordination de la mobilité bactérienne, sont influencés par des stress environnementaux, comme le stress salin (chlorure de sodium), les hydrocarbures (pétrole brut et kérosène), les métaux lourds (Sulfate de cuivre, nitrate de plomb, et chlorure de mercure). Elle met en évidence le profil biotechnologique des bactéries marines pour la gestion des polluants organiques et métalliques dans le milieu marin.

Dans ce contexte, notre étude se concentre sur plusieurs objectifs clés. Tout d'abord, nous visons à étudier la diversité bactérienne. Ensuite, nous examinons le comportement des souches bactériennes des écosystèmes marins du nord-ouest de l'Algérie face à divers stress environnementaux, en mettant l'accent sur la formation de biofilms, la mobilité et le quorum sensing. Nous réalisons également une analyse *in silico* de l'impact de ces stress sur le système de quorum sensing des bactéries marines. Par ailleurs, nous explorons le potentiel biotechnologique des souches bactériennes marines, en évaluant leur capacité à émulsifier les hydrocarbures, à accumuler les métaux lourds et à produire des enzymes extracellulaires. Enfin, nous proposons des applications biotechnologiques et environnementales pour la valorisation des ressources microbiennes marines et la gestion des sites pollués.

Notre travail est structuré en trois parties principales :

- La première consiste en une revue de littérature organisée en trois chapitres, le premier chapitre assure un aperçu général sur la sociomicrobiologie environnementale et ses deux

composantes majeures, formation du biofilm et communication par quorum sensing, le deuxième chapitre expose la notion du stress environnemental et ses projections sur la communauté bactérienne, en explorant leur réponse en tant qu'une stratégie d'adaptation appuyée sur mobilité et le comportement chimiotactique, et en dernier, le troisième chapitre aborde les modèles bactériens étudiés *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*.

- La deuxième partie présente la partie expérimentale exécutée en plusieurs étapes :
 1. Échantillonnage et analyses physico-chimiques des eaux de mer provenant des stations étudiées.
 2. Isolement bactérien et caractérisation phénotypique, biochimique et moléculaire des souches marines.
 3. Optimisation de la croissance bactérienne par une variation multiparamétrique (température, pH, et salinité) et une étude de la croissance bactérienne et viabilité en présence des stress étudiés (pétrole brut, kérosène, sulfate du cuivre, nitrate du plomb, chlorure du mercure).
 4. Caractérisation phénotypique de la formation du biofilm par la production du slime et par une quantification en utilisant la méthode de la microplaque; étude de l'impact des stress environnementaux sur l'organisation en biofilm.
 5. Étude de la communication bactérienne *via* le quorum sensing, et l'analyse de l'impact des stress étudiés sur la signalisation cellulaire *in silico*.
 6. Étude de la mobilité et du comportement chimiotactique en présence des stress environnementaux.
 7. Valorisation biotechnologique des souches marines (Émulsification des hydrocarbures, biosorption des métaux et profil enzymatique).
- La troisième partie englobe l'ensemble des résultats et leur discussion.

Introduction générale

- Enfin, les résultats obtenus au cours de cette recherche sont discutés avec une proposition des perspectives d'études.

Partie I. Revue de littérature

Chapitre I.
Sociomicrobiologie
(Quorum sensing et biofilms)

*Le passage de l'aspect monocellulaire vers l'aspect
pluricellulaire*

I La sociomicrobiologie environnementale

La sociomicrobiologie environnementale est un axe de recherche sur les aspects sociaux des bactéries, signifiant l'investigation des comportements de la communauté microbienne (Parsek et Greenberg, 2005). La discipline de sociomicrobiologie permet l'étude des interactions microbiennes dans les communautés microbiennes monospécifiques et plurispécifiques, et a comme but de comprendre le fonctionnement de ces communautés. Un scénario complexe dans lequel se produisent à la fois des conflits et des coopérations, ces deux stratégies peuvent être des composantes cruciales de comportement robuste, présentant les micro-écosystèmes (Xavier, 2016). Deux de ces comportements de groupe chez les bactéries sont la formation de biofilms et le quorum sensing (QS) (Passos da Silva et al., 2017).

I.1 Communication et quorum sensing

Les bactéries ont la capacité de communiquer de manière dépendante de leur densité cellulaire en réponse à certaines conditions environnementales (stress) (Turovskiy et al., 2007). Ce phénomène est connu sous le nom de « quorum sensing » ou « perception du quorum » (Hawver et al., 2016). Le quorum sensing permet aux bactéries de communiquer entre elles et de coordonner leur expression génétique grâce à de petites molécules signales, appelées auto-inducteurs (AIs) (LaSarre et Federle, 2013). Le premier système de quorum sensing a été observé chez les organismes marins luminescents, *Vibrio* (Nealson et al., 1970). Les archétypes du quorum sensing chez *Vibrio fischeri* sont régulés par des homologues des protéines régulatrices LuxI et LuxR (Ganish et Rai, 2018).

Ce processus permet à la bactérie de générer, libérer et répondre à des molécules signales (Czajkowski et Jafra, 2009). Plus précisément, les bactéries émettent des molécules signales (auto-inducteur AI) dans leur environnement. Lorsque la concentration de ces molécules signales est élevée, elles sont reconnues par des récepteurs intracellulaires chez les bactéries à Gram négatif et par des récepteurs membranaires chez les bactéries à Gram positif. La perception de ce signal entraîne l'expression de gènes responsables de la virulence, de la bioluminescence, de la formation du biofilm et également de sa dispersion (Tan et al., 2015).

Il existe deux types d'auto-inducteurs, les oligopeptides utilisés par les bactéries à Gram positif et les dérivés des acides gras présents chez les bactéries à Gram négatif. La majorité

des bactéries répondent aux signaux du quorum sensing par deux systèmes: un système dépendant de l'acyl homosérine lactone (AHL), détecté par des facteurs de transcription cytosoliques, et un autre système d'auto-inducteur peptidique, détecté par un système régulateur de réponse à deux composants associé à la membrane (Dong et *al.*, 2005; Bai et Rai, 2015; Monnet et *al.*, 2016).

La littérature confirme l'existence d'un autre type d'auto-inducteur, le AI-2, présent chez les deux groupes bactériens, et nombreuses études se focalisent sur son exploration pour contrôler diverses infections (Scott et Hasty, 2016; Ivanova et *al.*, 2018). Les bactéries pathogènes mettent en œuvre des stratégies pour contourner les mécanismes de défense de l'hôte, impliquant l'utilisation de molécules signales (auto-inducteurs) (Van Delden et Iglewski, 1998). Ces molécules jouent un rôle clé dans la régulation des facteurs de virulence (Ganish et Rai, 2018). Lors de leur communication et de la coordination de l'expression de gènes de virulence, les bactéries font appel à un ensemble de mécanismes moléculaires pour la signalisation bactérienne intracellulaire, notamment par le biais de systèmes de quorum sensing qui ont été décrits par la suite (Irie et Parsek, 2008) (Voir figure 1).

I.1.1 Auto-inducteur de type oligopeptide

Nombreuses bactéries à Gram positif utilisent des peptides en tant que molécules signales dans le mécanisme du quorum sensing. La stratégie la plus courante consiste à produire des oligopeptides résultant de modifications post-traductionnelles. Le signal peptidique peut varier en longueur, avec un nombre d'acides aminés variant entre 5 et 87, et peut comporter des modifications telles que des groupements lactone ou thiolactone (Narendrakumar et *al.*, 2018). La lactonisation contribue à assurer la stabilité du signal dans le milieu extracellulaire (Horswill et *al.*, 2007).

La compétence des signaux peptidiques (CPS) représente un exemple fréquemment observé chez les espèces de staphylocoques. L'accumulation de CPS entraîne l'autolyse et la libération d'ADN chromosomique dans l'environnement. L'absorption de cet ADN par une cellule voisine favorise les transferts horizontaux de gènes (Irie et Parsek, 2008; Narendrakumar et *al.*, 2018). Les bactériocines ont ainsi été classées parmi les AIPs (auto-inducteurs peptidiques) (Zhao et Kuipers, 2016).

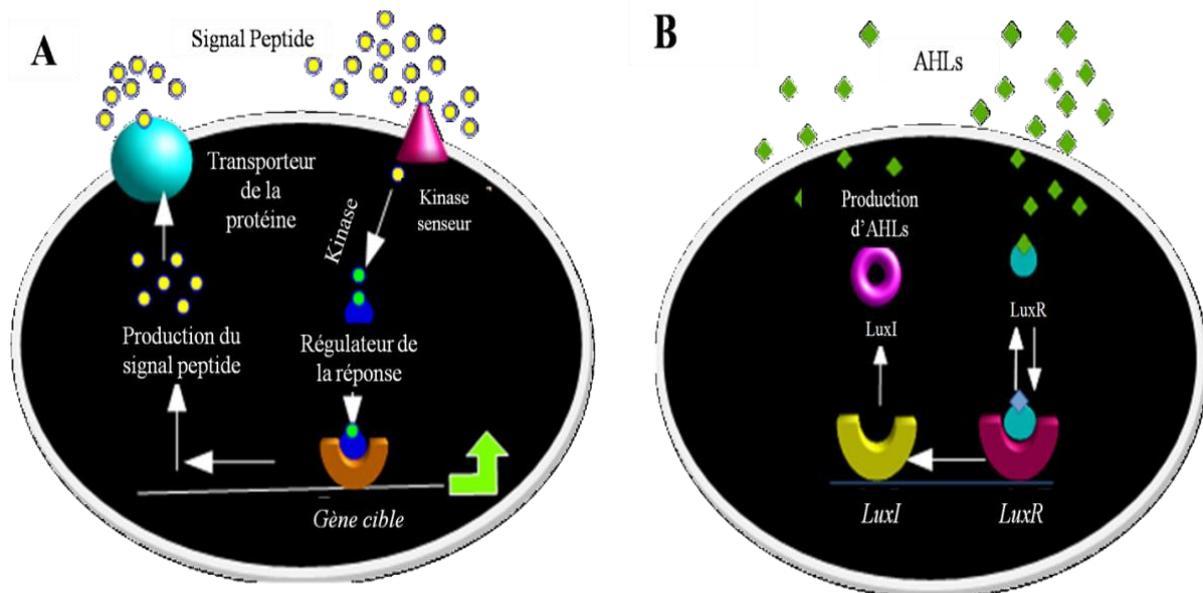


Figure 1. Diagramme schématique du quorum sensing chez les bactéries à Gram positif (A) et celles à Gram négatif (B).

L'auto-inducteur peptidique de type ComX induit la sporulation chez *Bacillus subtilis* en activant la cascade de phosphorylation à deux composants ComP/ComA. L'activation des composants ComP/ComA entraîne à son tour une augmentation de l'expression du gène codant pour l'activateur transcriptionnel ComK. Ce dernier active à son tour l'expression des gènes impliqués dans la sporulation (Narendrakumar et al., 2018).

I.1.2 Système LuxI-LuxR / auto-inducteur-1 (AI-1)

Le quorum sensing dans ce groupe bactérien est régulé par le système LuxI/LuxR, qui code pour une synthase (I) produisant des acyl-homosérines lactones (AHLs) reconnues ultérieurement par un régulateur (R). Lorsque la densité cellulaire est faible, on observe une faible expression de la synthase. Lorsque les AHLs s'accumulent dans le milieu extracellulaire, atteignant un seuil critique, une interaction avec leur récepteur spécifique se produit, formant un complexe récepteur/AHL qui module l'expression des gènes cibles, y compris le gène de la synthase. C'est pourquoi le terme d'auto-inducteur est associé aux AHLs (Khalilzadeh, 2009).

La première mention de cette molécule de signalisation a été rapportée chez *Vibrio fischeri*. La luminescence émise par cette bactérie est dépendante de la densité cellulaire

(Nealson, 1977). La signalisation par les AHLs est également observée chez plusieurs bactéries à Gram négatif, incluant les espèces α , β et γ -protéobactéries. Les molécules d'AHLs peuvent être classées en deux types: les AHLs à courte chaîne latérale et d'autres molécules à longue chaîne latérale. Les AHLs à courte chaîne latérale se diffusent librement à travers la membrane cellulaire, tandis que les molécules d'AHLs à longue chaîne latérale nécessitent des pompes à efflux actives pour être exportées à l'intérieur de la cellule. Il est important de noter que différentes bactéries ont tendance à produire différentes molécules d'AHLs, bien que peu d'entre elles soient capables de produire une diversité de signaux à AHLs (Huma et *al.*, 2011; Narendrakumar et *al.*, 2018).

Le mécanisme du quorum sensing implique la synthèse LuxI qui produit le signal AHL, en l'occurrence, la 3-oxo-hexanoyl homosérine lactone, ainsi qu'un activateur transcriptionnel (LuxR) reconnaissant ce signal, conduisant à l'activation des gènes de l'opéron *Lux* (Irie et Parsek, 2008; Ganin et *al.*, 2015). La synthèse des molécules AHLs est initialement catalysée par une seule enzyme appartenant à la famille LuxI. Simultanément, la perception des signaux par les protéines régulatrices liées à l'ADN fait partie de la famille LuxR (Irie et Parsek, 2008). D'ailleurs, d'autres rapports ont indiqué que certaines bactéries, telles que *P. simiae* et *P. brenneri*, isolées de Ny-Ålesund dans l'Arctique à 79°C, produisent différentes variétés de molécules AHLs à différentes températures (Kalia et *al.*, 2011; Dharmaprakash et *al.*, 2016; Narendrakumar et *al.*, 2018).

I.1.3 Auto-inducteur 2 (AI-2)

Cet auto-inducteur est une molécule signalé composée d'un diester borate furanosyl. L'AI-2 est produit par plusieurs bactéries à Gram positif et à Gram négatif, représentant un lien révolutionnaire entre ces deux systèmes de quorum sensing (Narendrakumar et *al.*, 2018). La protéine périplasmique LsrB agit comme récepteur de la molécule signalé AI-2, qui est ensuite acheminée vers le cytoplasme de la cellule par des transporteurs ABC. Ce transport de la molécule signalé est couplé à leur phosphorylation par la kinase LsrK. La principale fonction de cette phosphorylation est la désactivation d'un répresseur transcriptionnel, LsrR, qui active à son tour une rétroaction positive de l'AI-2. La synthèse de l'AI-2 est soutenue par l'enzyme LuxS, qui convertit la S-ribosylhomocystéine en homocystéine et en 4,5-dihydroxy-2,3-pentanedione (DPD), le précurseur de l'AI-2 (Xavier et Bassler, 2005; Marques et *al.*, 2011; Narendrakumar et *al.*, 2018).

Le système AI-2 représente le système de signalisation le plus répandu chez les bactéries à Gram négatif et à Gram positif. Il est important d'indiquer que la voie AI-2 utilise un réseau récepteur-kinase à deux composants pour une signalisation interbactérienne efficace. Le récepteur de système AI-2 est complexe, une série de produits géniques formant le complexe Récepteur-Kinase-signal-transcription. Chez *Vibrio*, l'AI-2 est détecté par un récepteur membranaire (LuxQ). Toutefois, chez les bactéries entériques, il est détecté par un récepteur soluble par une liaison dans l'espace périplasmique. Ensuite, l'AI-2 subit une phosphorylation, donc le complexe AI-2-P-récepteur qui agit en tant qu'un activateur transcriptionnel. L'impact phénotypique de ce système de signalisation peut être associé à l'activité métabolique de LuxS. En outre, ce système s'avère jouer un rôle dans la virulence bactérienne (Asad et Opal, 2008).

1.1.4 Quorum sensing chez *Pseudomonas aeruginosa*

Le quorum sensing (QS) est un mécanisme utilisé par certaines bactéries pour détecter la densité locale de leur population. À faible densité cellulaire, ces bactéries se comportent généralement en tant que des cellules individuelles. À des densités cellulaires plus élevées, leur comportement devient un mode de coordination accentué sur des processus collectifs tels que la production et l'établissement des coopérations métaboliques au sein de la communauté microbienne, la sécrétion de toxines et le développement d'une résistance accrue les stress environnementaux (Shin et *al.*, 2019; Aliane et Meliani, 2021).

Le LasR est une protéine activatrice de transcription, s'étend sur 175 acides aminés. Sa fonction dépend de la liaison à l'autoinducteur produit par la protéine Las synthase. Vu qu'étant un activateur transcriptionnel, il s'avère évident qu'il joue un rôle crucial dans la régulation de plusieurs gènes associés à la virulence (Kank et *al.*, 2023). LasI est responsable de la synthèse de l'autoinducteur N-(3-oxo-dodécanoyl)-L-homosérine lactone (3-oxo-C₁₂-HSL), qui est impliqué dans la liaison au régulateur transcriptionnel LasR (Ren et *al.*, 2024), régule positivement de nombreuses espèces de bactéries (Lidor et *al.*, 2015). Les enzymes LasI activent les voies Las, impliquées dans la production de molécules de signalisation acyl homosérine lactone (AHL), telles que la 3-oxododécanoyl-homosérine lactone (3-oxo-C₁₂-HSL) et la butyryl-l-homosérine lactone (C₄-HSL). Une liaison entre ces molécules et leurs facteurs de transcription respectifs LasR et RhIR, induisant la formation du biofilm et l'expression de plusieurs facteurs de virulence, tels que la pyocyanine, l'élastase, les lectines, les protéases, les rhamnolipides et les toxines (Kanak et *al.*, 2023) (Voir figure 2).

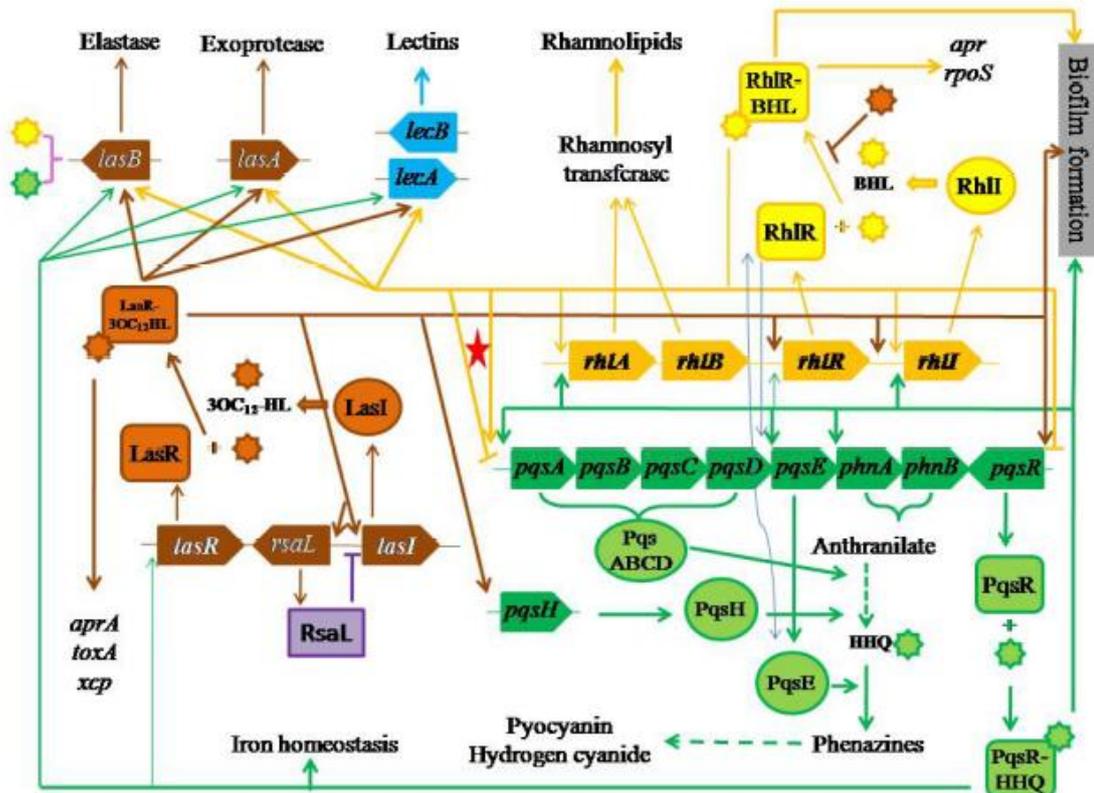


Figure 2. Les trois systèmes QS avec leurs effets et leurs voies de régulation chez *Pseudomonas aeruginosa*. L'étoile rouge met en évidence la régulation bifonctionnelle du système RhII-RhIR pour la synthèse des PQS (Yan et Wu, 2019).

Le signal quinolone de *Pseudomonas* (PQS) où son précurseur est le 2-heptyl-4-quinolone (HQQ), sont des acteurs actifs pour plus de 50 différents 2-alkyl-4-quinolones produits par *P. aeruginosa*. Il est important de noter qu'ils jouent un rôle essentiel dans l'expression de la virulence, et également de l'induction des réponses protectrices contre les stress environnementaux. Il est rapporté que la biosynthèse de ces signaux quinolones implique principalement les gènes de synthèse faisant partie à l'opéron *pqsABCDE*, et la transcription de cet opéron est sous le contrôle du régulateur transcriptionnel de type LysR du système PQS, PqsR (Brouwer et al., 2014).

I.1.4.1 QS dépendant d'AHLs

Revenons au système LuxI/LuxR, initialement découvert chez *V. fischeri* lors de l'étude du phénomène de bioluminescence. Les homologues de ces systèmes se retrouvent chez nombreuses bactéries à Gram négatif, chacune étant capable de produire des AHLs

spécifiques. C'est le cas dans différentes espèces du genre *Pseudomonas*. Outre *P. aeruginosa*, plusieurs systèmes de quorum sensing ont été décrits chez d'autres espèces (*P. fluorescens*, *P. putida*, *P. aureofaciens*, *P. chlororaphis* et *P. syringae*) (Diggle et al., 2008).

Le système de quorum sensing exerce une influence sur l'adhésion de *P. aeruginosa*, initiée pour former le biofilm et régule les facteurs de virulence (Khalilzadeh, 2009). Chez *P. aeruginosa*, le circuit du QS est intégré par un système complet LuxI/LuxR, comprenant deux systèmes de type auto-inducteur-récepteur, représentés par LasI/LasR et RhII/RhIR, qui contrôlent l'expression génétique des facteurs de virulence (Khalilzadeh, 2009; Rutherford et Bassler, 2012; Aswathanarayan et Rai, 2015).

LasR appartient à la famille classique des protéines LuxR, tout en étant associé à un autre système distinct de LasI-LasR, nommé signal quinolone de *Pseudomonas* (PQS) avec la molécule 2-heptyl-3-hydroxy-4-quinolone. L'homologue LuxI, LasI, synthétise la 3-oxo-C₁₂-homosérine lactone (3-oxo-C₁₂-HSL), nécessitant un transport actif *via* les pompes d'efflux. Lorsque la densité cellulaire atteint un niveau élevé, LasR, l'homologue cytoplasmique de LuxR, détecte cet auto-inducteur. Le complexe LasR-3-oxo-C₁₂-HSL active la transcription des gènes cibles, dont ceux codant pour les facteurs de virulence tels que l'élastase, la protéase, l'exotoxine A, ainsi que la formation du biofilm. Il régule positivement certains gènes impliqués dans le système de sécrétion de type II, assurant ainsi la coordination de l'exportation des toxines, tout en activant LasI pour créer une boucle d'auto-induction. Une autre cible de régulation LasR-3-oxo-C₁₂-HSL est le deuxième homologue LuxI appelé RhII (Diggle et al., 2008; Khalilzadeh, 2009; Rutherford et Bassler, 2012).

RhII synthétise l'auto-inducteur de type butanoyl homosérine lactone (C₄-HSL), qui se diffuse librement à travers la structure pariétale de la bactérie. À mesure que sa concentration augmente, l'auto-inducteur se lie à RhIR, formant le complexe RhIR-C₄-HSL qui active les gènes cibles codant pour l'élastase, la protéase, la pyocyanine et les sidérophores (Schuster et al., 2003; Schuster et Greenberg 2007; Khalilzadeh, 2009). Il existe également un système incomplet appelé, QscR, qui n'est pas lié à la protéine 'I' (Lee et al., 2006; Aswathanarayan et Rai, 2015). QscR répond au 3-oxo-C₁₂-HSL en le partageant avec LasR (Liu et al., 2009).

Ces systèmes de QS sont régulés de manière optimale dans une cascade hiérarchique, où LasR active l'expression du système RhII/RhIR et LasI, qui produisent C₄-HSL et 3-oxo-C₁₂-

HSL, activant QscR, lequel active ensuite son propre gène (Ha et *al.*, 2012; Aswathanarayan et Rai, 2015).

I.1.4.2 QS dépendant d’AHQ

Il est rapporté que *P. aeruginosa* utilise d’autres auto-inducteurs que les AHLs dans la communication *via* quorum sensing, notamment la voie de la 2-heptyl-3-hydroxy-4-quinolone, AHQ (les auto-inducteurs de *Pseudomonas* étant alors désignés par PQS) (Deziel et *al.*, 2004). Cette constatation est soutenue par les résultats d’une étude qui a révélé qu’en ajoutant un extrait de milieu de culture épuisé provenant d’une souche sauvage de *P. aeruginosa* PAO1, l’expression de *lasB* était induite chez les mutants *lasR* de la souche PAO1. Tous les mutants utilisés étaient déficients en AHLs, suggérant la présence d’autres molécules signales (Pesci et *al.*, 1999; Diggle et *al.*, 2008).

Le système MvfR/PqsR agit en tant que récepteur pour le PQS et intervient dans la régulation de sa production. Le MvfR, un régulateur transcriptionnel de type LysR (LTTR), orchestre la synthèse de molécules AHQ à faible poids moléculaire telles que la 4-hydroxy-2-heptylquinoline (HHQ), la 3,4-dihydroxy-2-heptylquinoline (PQS), ainsi que le non-AHQ, la 2-aminoacétophénone (2-AA) (Yousuf et *al.*, 2018). PqsR possède deux ligands, HHQ et PQS, favorant la liaison de PqsR à la région promotrice *pqsABCDE* (Lin et *al.*, 2018). En parallèle, PqsA, une anthranilate-coenzyme A ligase, conjugue l’anthranilate au β -cétododécanoate en collaboration avec un complexe de protéines porteuses de l’acyl synthase, PqsBCD, pour synthétiser le HHQ. Ensuite, PqsH convertit le HHQ en PQS. L’expression de PqsH est activée par LasR-3-oxo-C₁₂-HSL, mettant en lumière une connexion étroite entre le système LasR/LasI et PQS (Yousuf et *al.*, 2018).

La détection de molécules signales non-AHLs, ayant la capacité d’activer l’expression de *lasB*, nécessite la présence de LasR et de 3-oxo-C₁₂-HSL pour leur production (Diggle et *al.*, 2008). Le système PQS régule divers facteurs de virulence, notamment les élastases, les rhamnolipides, la lectine galactophilique, la pyocyanine, l’exotoxine A, ainsi que la formation du biofilm (Yousuf et *al.*, 2018).

I.1.5 Quorum sensing chez *Escherichia coli*

Chez *Escherichia coli* la biosynthèse d'auto-inducteur-2 (AI-2) se produit à travers le cycle d'activation méthylée (CAM), en impliquant différents enzymes telles que l'AI-2 synthase (LuxS) (Voir figure 3) (Escobar-Muciño et al., 2022), codée par le gène *luxS*. Le substrat pour cet enzyme est S-ribosylhomocystéine (SRH), utilisée par la suite pour produire l'homocystéine et le DPD (4, 5-dihydroxyl-2,3- pentanedione) (Park et al., 2017), et se cycle spontanément pour former l'AI-2 comme produit final. Le transport de l'AI-2 se fait à travers un complexe protéique (LsrACDBEFG) homologue à certains transporteurs de sucres des bactéries à Gram négatif. Le mécanisme de signalisation est basé sur la liaison de l'AI-2 à la protéine réceptrice périplasmique LsrB initiant le transport intracellulaire de l'AI-2 à travers deux protéines transmembranaires (LsrC et LsrD) et une protéine ATPase (LsrA), assurant l'énergie nécessaire pour le transport de l'AI-2 au cytoplasme de la cellule bactérienne (Escobar-Muciño et al., 2022).

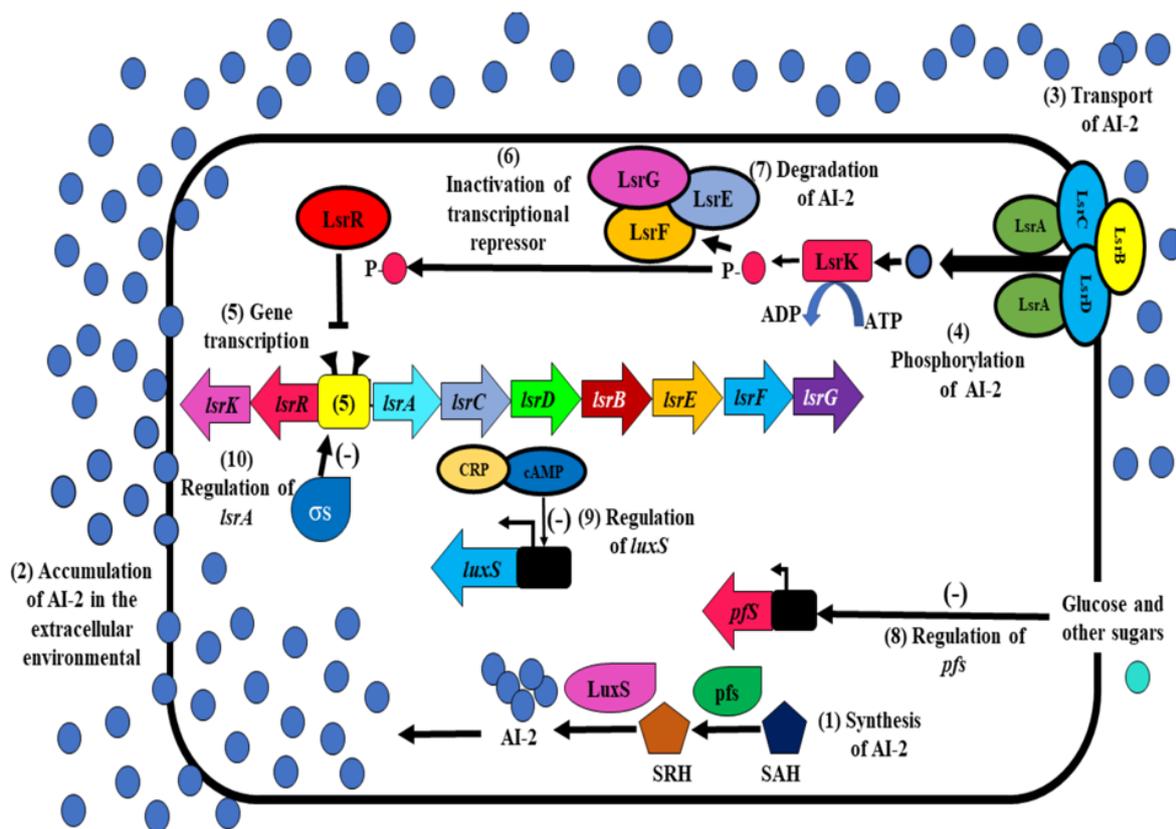


Figure 3. Le modèle de quorum sensing chez *Escherichia coli*, basé sur l'autoinducteur-2.

Une phosphorylation de L'AI-2 se produit dans le cytoplasme par la protéine Kinase (LsrK), ayant AI-2-P comme produit final. L'absence de L'AI-2-P conduit à la répression de

l'opéron *lsrACDBEFG* par la protéine régulatrice LsrR. D'ailleurs, la liaison d'AI-2-P à la protéine régulatrice LsrR en formant un complexe LasrR-AI-2-P provoquant dérépression de l'opéron *lsrACDBEFG*. Cela permet la régulation de l'expression régulatrice LsrR et de plusieurs gènes en réponse à L'AI-2-P. La forme phosphorylée de L'AI-2-P est soumise à l'effet de trois enzymes dégradantes (LsrE, LsrF et LsrG) en la convertissant en 3, 4, 4 trihydroxy-2-pentanone-5-P (P-TPO) tout en empêchant l'accumulation de l'AI-2-P (Escobar-Muciño et al., 2022).

E. coli ne peut pas produire les AHLs à cause de l'absence du gène *luxI*, il possède homologue de LuxR, un récepteur orphelin SdiA, dont il lui conférant une aptitude à répondre aux AHLs libérés par d'autres bactéries. SdiA joue un rôle dans la régulation de l'opéron *ftsQAZ*, impliqué dans la division cellulaire. Comparativement au régulateur LuxR, le SidA est correctement replié en formant un dimère stable en l'absence d'AHLs. Il a la capacité à se lier à une grande gamme d'AHLs et il puisse montrer une activité de base sans AHLs. Sa stabilité est améliorée par son affinité de liaison à l'ADN et sa capacité de régulation transcriptionnelle (Mayer et al., 2023). Chez *E. coli* EHEC, le régulateur SidA régule deux phénotypes critiques, la résistance à l'acidité et la formation des lésions, et l'attachement et la gravité (Styles et al., 2020).

L'aptitude de régulateur SdiA à détecter et à répondre à des signaux produits par des hôtes eucaryotes ou par d'autres espèces bactériennes accentue surtout l'importance de la communication interspécifique en offrant des avantages adaptatifs dans les environnements complexes. Ce régulateur s'avère être un acteur clé dans la régulation des traits bactériens, de l'adaptation et de communication au sein des communautés bactériennes (Mayer et al., 2023). Cela met en évidence la polyvalence d'*E. coli* et sa capacité captivante à s'adapter à divers environnements (Mayer et al., 2023). Il est suggéré que le régulateur SidA est impliqué dans la régulation de nombreux gènes cruciaux dans les fonctions cellulaires, telles que la virulence, la mobilité, la formation du biofilm, la résistance à l'acidité, le métabolisme, la survie et les mécanismes de survie d'une manière dépendante de la densité cellulaire (Mayer et al., 2023; Smith et al., 2011).

I.2 Biofilms microbiens

Les microorganismes démontrent une capacité universelle à coloniser les surfaces biotiques et abiotiques, formant ainsi des structures organisées communément appelées

« biofilms » (Davey et O'Toole, 2000). Toute surface synthétique ou biomatériau est initialement enveloppée par les constituants locaux tels que l'eau, les électrolytes et même des substances organiques. Ce revêtement conditionne la surface avant que les microorganismes ne s'y déposent. La présence d'eau, d'électrolytes et de substances organiques favorise leur croissance et la colonisation ultérieure des surfaces (Tamilvanan, 2010).

L'organisation en biofilm représente une réponse adaptative aux défis environnementaux. Cette différenciation bactérienne entraîne des modifications au niveau du comportement, du métabolisme, de l'expression des facteurs de virulence et de la résistance aux défenses de l'hôte (Davey et O'Toole, 2000).

Le mode de vie en biofilm confère des avantages cruciaux aux bactéries: protection contre les conditions environnementales grâce à la matrice d'exopolysaccharides formant la charpente du biofilm; nutrition et coopération métabolique facilitées par des canaux aqueux permettant l'échange de nutriments, métabolites et déchets entre les espèces du biofilm et le milieu extérieur; échange de matériel génétique entre les cellules voisines pour renforcer la structure du biofilm (Khalilzadeh, 2009).

Les biofilms présentent une grande hétérogénéité en raison de la densité variable des cellules intercalées dans la matrice d'exopolysaccharides. Cela crée des zones ouvertes (canaux) facilitant la circulation de l'eau, des éléments nutritifs et l'élimination des déchets (Davey et O'Toole, 2000; Dunne, 2002; Balaban *et al.*, 2008).

Les bactéries dans un biofilm peuvent être de la même espèce (monospécifique) ou de différentes espèces en fonction de l'environnement (multispécifique) (Balaban *et al.*, 2008). L'hétérogénéité concerne également les différentes substances composant leur matrice (Charackilis et Marshall, 1990).

Le système du biofilm est défini comme un ensemble de compartiments et de composants déterminant la structure et l'activité du biofilm. Il est composé de quatre compartiments: la surface d'attachement des microorganismes, le biofilm lui-même (microorganismes et matrice d'EPS), la solution de nutriments et éventuellement la phase gazeuse (si elle existe) (Lewandowski et Beyenal, 2014).

L'identification des composants dans un compartiment du biofilm dépend des besoins d'une description particulière. Dans certaines études, il peut être approprié d'identifier seulement deux composants (matrice et microorganismes), dans une autre étude, il est

convenu d'identifier trois composants (EPS, microorganismes et matière particulière piégée dans la matrice), ...etc. (Lewandowski et Beyenal, 2014).

Le biofilm est une communauté de microorganismes fixées à une surface et enrobées dans une matrice extracellulaire (Carpentier et Cerf, 1993). Costerton et *al.* (1999) ont défini le biofilm comme une « matrice polymérique, adhérente aux surfaces inertes ou biotiques, composée des polysaccharides extracellulaires, protéines, acides nucléiques ou d'autres substances ». Ce mode de vie confère plusieurs avantages aux cellules par rapport au mode planctonique (Balaban et *al.*, 2008).

Tamilvanan et *al.* (2008) ont défini le biofilm microbien comme un microcosme irréversiblement attaché aux surfaces biotiques et abiotiques, sous forme de population simple ou complexe. Les définitions proposées convergent autour de trois composants majeurs: microorganismes, glycocalyx et surface. L'élimination de l'un de ces éléments entrave le développement du biofilm. Le glycocalyx agit en tant qu'une colle, est composé d'un complexe des polysaccharides extracellulaires d'origine bactérienne et de substances exogènes emprisonnées, telles que les acides nucléiques, les protéines et les minéraux, entre autres (Tamilvanan, 2010).

I.2.1 Processus de la formation du biofilm

La formation du biofilm représente une structuration progressive d'une grande complexité, au cours de laquelle les microorganismes transitionnent de leur mode de vie planctonique à une nouvelle forme, la forme sessile. On a supposé que cette formation dépend de l'expression de gènes spécifiques à ce processus (Sauer et *al.*, 2004; Okada et *al.*, 2005).

L'initiation de développement du biofilm jusqu'à un certain degré de maturité implique une série d'événements. Bien que des débats subsistent sur certains détails du processus de structuration en biofilm, un consensus global existe sur les étapes clés. La formation du biofilm comprend quatre phases : (a) adhésion bactérienne, (b) formation de microcolonies et colonisation, (c) maturation du biofilm, et (d) détachement et dispersion du biofilm (Muhsin et *al.*, 2015; Justin et Jalal, 2018) (Voir figure 4).

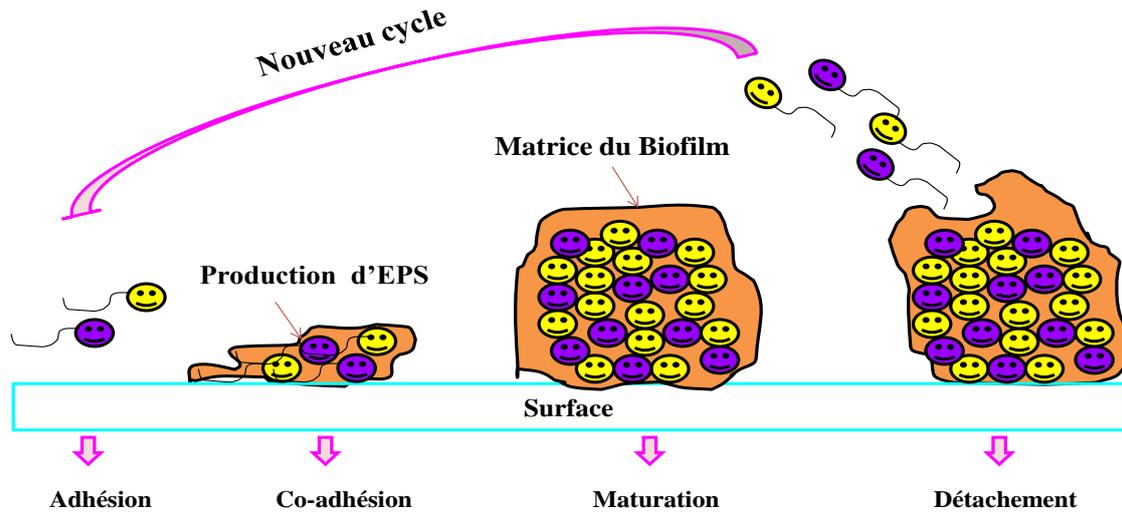


Figure 4. Étapes de formation du biofilm (Aliane et Meliani, 2021).

I.2.1.1 Adhésion bactérienne

Au sein d'un biofilm, lorsque les bactéries sont en proximité de surfaces ou de supports spécifiques, s'attachent de manière réversible puis irréversible, présentant une mobilité réduite. Cette adhésion implique tant la surface que les microorganismes déjà fixés (Costerton *et al.*, 1999; Haras, 2005; Muhsin *et al.*, 2015). Plusieurs variables sont liées aux propriétés du substrat, du fluide et des cellules, interviennent dans l'étape de l'adhésion bactérienne (Donlan, 2002).

Le transport initial et l'adhésion réversible des cellules bactériennes à une surface peuvent se produire par sédimentation et le mouvement brownien des microorganismes. L'attachement réversible crée un équilibre entre les cellules adhérentes et celles en suspension (Tamilvanan, 2010). Cet équilibre est régi par des forces non covalentes telles que les interactions de type Van der Waals, électrostatiques, hydrophobes et stériques entre les bactéries et la surface conditionnée. Les structures locomotrices à la surface cellulaire, comme les flagelles, les pili, les protéines et les EPS, jouent un rôle dans l'adhésion bactérienne (Donlan et Costerton, 2002; Haras, 2005; Muhsin *et al.*, 2015; Justin et Jalal, 2018).

En revanche, l'adhésion irréversible repose sur des interactions covalentes fortes grâce aux biomolécules présentes à la surface bactérienne (polysaccharides extracellulaires, protéines, lipopolysaccharides) (Haras, 2005). Cette étape nécessite des organismes immobilisés vivants, l'expression génétique de certains gènes, et la biosynthèse importante

d'exopolymères organiques contribuant à « l'ancrage irréversible » des bactéries sur le support. L'adhésion irréversible est temporellement dépendante et nécessite la capacité à exprimer des gènes permettant aux microorganismes de développer de nouvelles structures adhésives, telles que les flagelles et les pili de type I et IV. Ces structures jouent un rôle dans le déplacement des bactéries sur la surface, la migration lors de l'adhésion, la formation ultérieure du biofilm, favorisant la recherche d'une niche favorable au développement et pouvant mettre en jeu des mécanismes de compétition, de défense ou de fuite face aux prédateurs (Ayé, 2015).

I.2.1.2 Colonisation, maturation et structuration du biofilm

Une fois les bactéries sont irréversiblement fixées à une surface, le stade final du processus de la formation du biofilm commence avec la colonisation de la surface, impliquant la croissance, la division bactérienne et l'expression du phénotype mucoïde qui conduit à la formation de microcolonies. Ces dernières sont considérées comme l'unité de base du biofilm, une entité à la fois structurale et biologique, susceptible d'exprimer une immunogénicité spécifique (Tamilvanan, 2010; Ayé, 2015; Toyofuku et *al.*, 2016).

La colonisation peut être subdivisée en cinq phases cruciales de croissance de biomasse: (1) Phase de latence, comprenant l'adhésion initiale avec une période d'adaptabilité bactérienne aux nouvelles conditions de vie; (2) Phase d'accélération, caractérisée par une augmentation de la biomasse et une consommation élevée des nutriments (azote et sucres) en réponse adaptative; (3) Phase d'accumulation linéaire, correspondant aux vitesses maximales de production de biomasse, de protéines et de polysaccharides au sein du biofilm; (4) Phase de ralentissement, conditionnée par la nature et la disponibilité du substrat, et dans la phase liquide et la structure, dépendant de la disponibilité de surface et de l'hydrodynamique du système; (5) Phase de stabilisation apparente, où un équilibre dynamique est atteint entre la perte de biomasse (détachement et mortalité bactérienne) et la persistance de la multiplication bactérienne (Capdeville et Nguyen, 1990; Khalilzadeh, 2009).

Cette étape peut durer de 24 heures à 10 jours selon la souche étudiée (Heydorn et *al.*, 2000). Le niveau de colonisation est multiparamétrique, dépendant des propriétés des microorganismes, de la surface et des conditions environnementales (température, substrats, etc.) (Ayé, 2015). Le piégeage des cellules planctoniques dans l'EPS contribue à la formation du biofilm, les polysaccharides extracellulaires constituant environ 90% de son poids sec

(Toyofuku et *al.*, 2016). La colonisation de surface par une bactérie ou une espèce donnée (colonisateurs primaires) peut influencer l'attachement d'autres bactéries (colonisateurs secondaires) (Tamilvanan, 2010).

Dans le biofilm, la croissance bactérienne se traduit par une multiplication exponentielle, conduisant à une structure hétérogène et tridimensionnelle du biofilm (Doghri, 2015). L'ensemble du biofilm présente une architecture complexe, avec des bactéries incluses dans l'EPS et des microcolonies intercalées avec des régions moins denses contenant des canaux d'eau très perméables, transportant à la fois les nutriments et les déchets (Tamilvanan, 2010).

L'étape de maturation est divisée en deux phases: la première est caractérisée par la régulation génétique permettant la différenciation phénotypique des cellules en biofilm. Cependant, la deuxième est marquée par la biosynthèse active de la matrice organique d'exopolymères. Cette matrice occupe environ 75% à 95% de volume du biofilm, et sa production est génétiquement contrôlée (Tamilvanan, 2010; Doghri, 2015).

I.2.1.3 Détachement et dispersion

Le détachement du biofilm, récemment reconnu comme dispersion ou dissolution, marque le retour à la forme planctonique. Des forces de cisaillement turbulentes sont suggérées comme capables de détacher les cellules du biofilm, les transportant ultérieurement pour coloniser de nouvelles surfaces. Cette étape, relevant du quorum quenching, représente un effet programmé régulé, déclenché par le stress environnemental entraînant le détachement des cellules de colonies dans l'environnement (Costerton et *al.*, 1999; Tamilvanan, 2010; Muhsin et *al.*, 2015).

Sauer et *al.* (2002) ont décrit divers mécanismes conduisant à la perte d'intégrité cellulaire, incluant l'épuisement de l'oxygène dans un biofilm épais, les conditions hydrodynamiques créant des forces de cisaillement, ainsi que des changements dans la composition des nutriments et leur épuisement (Ayé, 2015). Il est important de noter que la dispersion du biofilm fait partie du processus de renouvellement de la biomasse microbienne (Khalilzadeh, 2009). Parfois, le détachement du biofilm est causé par une activité enzymatique hydrolysant les EPS, ayant un impact net sur les caractères phénotypiques des

cellules dispersées, qui conservent certaines propriétés du biofilm, comme la résistance aux antibiotiques (Muhsin *et al.*, 2015).

La dispersion du biofilm se déroule virtuellement en trois stades: d'abord, le détachement des cellules de la colonie a lieu, puis les cellules commencent à transloquer vers de nouveaux sites pour s'y attacher. Il est également éclairci que la dispersion provient de deux catégories de mécanismes : la dispersion active dépend de facteurs physiques tels que la force de cisaillement du fluide, la collision de particules solides avec le biofilm, la prédation et l'intervention humaine, tandis que la dispersion passive est induite par des variations des conditions environnementales telles que la température et le manque d'oxygène,...etc (Kaplan, 2010; Toyofuku *et al.*, 2016).

I.2.2 Facteurs favorisant la formation du biofilm

Effectivement, le biofilm peut se former sur une grande variété de surfaces, y compris les tissus vivants, les surfaces abiotiques et les dispositifs médicaux.

I.2.2.1 Caractéristiques de la surface

Characklis *et al.* (1990). ont rapporté que l'étendue de la colonisation microbienne semble augmenter c'est parce que les forces répulsives ou autrement dit les forces de cisaillement sont diminuées parallèlement quand la rugosité superficielle augmente avec la diminution de la surface (Donlan, 2002; Kokare *et al.*, 2007; Bezoui, 2016). L'attachement dépend de l'énergie libre ainsi que la mouillabilité des surfaces. La grande énergie libre de surface comme l'acier inoxydable et le verre qui sont plus hydrophiles. Ces surfaces sont susceptibles de favoriser l'adhésion bactérienne par rapport aux surfaces hydrophobes comme le téflon et hydrocarbures fluorés (Kokare *et al.*, 2007).

La plupart des enquêteurs ont constaté que les microorganismes montrent une forte adhésion aux surfaces hydrophobes et non polaires. Même si l'ensemble de ces résultats ont parfois été contradictoires, c'est dû à l'indisponibilité des méthodes déterminant l'hydrophobicité des surfaces. Il faut signaler que les surfaces sont susceptibles d'être conditionnées par des films organiques ou reconnus par le terme «de film de

conditionnement » ce que peut entraîner des modifications influençant la fixation bactérienne (Donlan, 2002).

I.2.2.2 Caractéristiques du milieu

La formation et la dispersion du biofilm sont fortement influencées par plusieurs paramètres environnementaux. Les variations du pH, en premier lieu, exercent un effet net sur la croissance bactérienne. En outre, la température optimale pour un microorganisme, associée à une augmentation des nutriments, favorise une formation rapide du biofilm, étant donné que les réactions métaboliques dépendent des activités enzymatiques conditionnées par la température (Carrett et *al.*, 2008).

L'hydrodynamique constitue un autre facteur crucial, signalant que la vitesse d'écoulement adjacente à l'interface substrat/liquide est négligeable dans ce que l'on appelle la couche hydrodynamique limite, où les cellules agissent comme des particules dans un liquide. D'autres caractéristiques du milieu, telles que le niveau des nutriments et les forces ioniques, peuvent également influencer la structuration en biofilm. Une étude a révélé que l'augmentation de la concentration de plusieurs cations (sodium, calcium, ...etc.) affecte l'attachement de *P. fluorescens* à la surface en verre (Donlan, 2002). D'autres facteurs à prendre en compte incluent l'osmolarité, la source de carbone disponible et la concentration en oxygène (Bezoui, 2016).

I.2.2.3 Propriétés cellulaires

L'hydrophobicité de la surface cellulaire, la présence de fimbriae et de flagelles, ainsi que la production d'EPS influent sur le taux et l'étendue de la fixation bactérienne. Le caractère hydrophobe de la surface cellulaire démontré une importance significative dans l'adhérence, car les interactions hydrophobes ont tendance à augmenter avec l'augmentation de la nature non polaire de l'une ou des deux surfaces impliquées. En revanche, la majorité des bactéries soient chargées négativement, elles possèdent néanmoins des composants de surface hydrophobe tels que les fimbriae et les appendices non flagellaires (autres que ceux impliqués dans le transfert viral ou bactérien du matériel génétique, appelés pili), contribuant à l'hydrophobicité de la surface cellulaire (Donlan, 2002).

Les stades initiaux de la formation du biofilm dépendent de la mobilité bactérienne assurée par des flagelles polaires et des pili de type IV multiples. Des études ont également révélé que certaines bactéries à Gram négatif subissent des changements structuraux pour altérer ou former un biofilm, cette stratégie visant à améliorer leur pouvoir adhésif à un support ou à une surface spécifique (Bogino et *al.*, 2013). Des rapports indiquent que les souches mobiles de *P. fluorescens* s'attachent en plus grand nombre et résistent au flux par rapport aux souches non mobiles (Donlan, 2002).

I.2.3 Facteurs influençant la dispersion du biofilm

Effectivement, il existe des moments où il est avantageux pour les cellules d'échapper du biofilm, notamment lorsque des provocations environnementales limitent la croissance bactérienne dans le biofilm (Rani et *al.*, 2007). Il est suggéré que le transcriptome de maturité du biofilm est plus similaire à celui des cellules en phase stationnaire qu'aux cultures en phase exponentielle. D'ailleurs, la matrice du biofilm peut prévenir ou au moins dissuader la fuite des cellules des conditions délétères. La dispersion ayant un intérêt en raison de son potentiel à promouvoir la propagation des bactéries dans l'environnement et en raison de la possibilité d'exploiter ces processus pour lutter contre les biofilms préjudiciables. Certaines conditions environnementales pouvant influencer la dispersion du biofilm comprennent les éléments nutritifs disponibles, les niveaux d'oxygène, le pH, ...etc. (Goller et Romeo, 2008).

Le mécanisme dispersif est régulé par la libération d'enzymes extracellulaires agissent en dégradant la matrice extracellulaire du biofilm et libérant les bactéries retenues à l'intérieur de la communauté. Il implique également la perturbation des interactions non covalentes entre les composants de la matrice par des molécules amphipathiques réduisant la tension superficielle ou la formation de cavités au sein du biofilm engendrée par l'autolyse cellulaire (Guilhen et *al.*, 2017).

I.2.4 Avantages de la structuration en biofilm

Plusieurs bactéries ont prouvé leur capacité à basculer entre le mode planctonique et le mode biofilm. Cependant la forme planctonique offre à la bactérie une croissance assez importante, le biofilm demeure le phénotype naturel et dominant. Plusieurs avantages peuvent être associés à cette structuration (Rabin et *al.*, 2015).

I.2.4.1 Stratégie métabolique

La capacité des microorganismes à utiliser les ressources du milieu est assurée grâce à la coopération métabolique. Cette collaboration a lieu entre les cellules spécialisées formant une colonie, soit dans les colonies formant un biofilm qui se dépose sur une surface. Les espèces appartenant à cette nouvelle organisation peuvent être de quelques espèces distinctes, dont les activités métaboliques se complètent (Cavaliere et *al.*, 2017).

Les canaux d'eau fournissent un moyen efficace pour la circulation et l'échange des nutriments avec la phase aqueuse, rendant ainsi les éléments nutritifs disponibles et éliminant les métabolites ayant un potentiel toxiques. Les microcolonies multispécifiques peuvent coopérer métaboliquement (Pandit et *al.*, 2018), cette coopération étant conditionnée par la proximité entre les espèces. Par exemple, la dégradation de la matière organique complexe en méthane et dioxyde de carbone en anaérobiose implique au moins trois bactéries (fermentatives catabolisant la matière organique en acides, utilisés par les bactéries acétogènes et méthanogènes). Les méthanogènes tirent leur énergie de la conversion de l'acétate, du dioxyde de carbone et de l'hydrogène en méthane. Par conséquent, des coopérations efficaces et des dépendances mutuelles peuvent évoluer au sein d'un biofilm, offrant un milieu idéal pour établir des relations syntrophiques (Davey et O'Toole, 2000; Kokore et *al.*, 2009).

I.2.4.2 Stratégie génétique

La structure du biofilm, où les cellules sont en proximité, favorise les échanges génétiques. Les mécanismes intervenant dans ces échanges génétiques dans un biofilm comprennent la conjugaison, la transformation et la transduction (Houvion, 2014). Les transferts horizontaux de gènes jouent un rôle crucial dans l'évolution et la diversité génétique au sein des communautés microbiennes. L'émergence de la multirésistance bactérienne et l'utilisation extensive des antibiotiques ont conduit à l'étude des transferts génétiques (Davey et O'Toole, 2000).

L'aptitude reproductive offre un avantage pour perpétuer le matériel génétique d'un organisme (Jefferson, 2004). Certaines études ont confirmé la fréquence des transferts génétiques horizontaux dans la forme sessile, soulignant que le transfert horizontal de

plasmides mobiles permet aux biofilms de persister en tant que parasites moléculaires, tandis que d'autres éléments génétiques sont transmis verticalement (Madsen et *al.*, 2012).

L'acquisition de nouveaux traits génétiques augmente la probabilité que la population intègre ces gènes essentiels, devenant ainsi des membres actifs du biofilm. De nombreuses études ont montré que l'expression génétique de certains phénotypes est significativement plus élevée au sein du biofilm comparativement à la forme planctonique. Par exemple, la production d'alginate est augmentée quatre fois par les cellules du biofilm (Pandit et *al.*, 2018).

I.2.4.3 Stratégie protective

Les bactéries résidentes du biofilm démontrent une résistance accrue aux agressions environnementales telles que les irradiations UV, la force de cisaillement et les changements d'osmolarité (Mezoui, 2016). Cette résistance est liée à la protection offerte par la matrice extracellulaire, qui agit comme un échangeur d'anions, prévenant le contact avec des agents antimicrobiens et limitant la diffusion de substances nocives de l'environnement vers le biofilm (Roy et *al.*, 2018). En outre, certaines modifications physiologiques contribuent à cette protection (Pandit et *al.*, 2018).

La matrice d'EPS du biofilm assure l'homéostasie aux bactéries résidant dans le biofilm, jouant un rôle structurel et fonctionnel dans les communautés bactériennes. Cette matrice agit comme une barrière, empêchant la pénétration de certains agents antimicrobiens en agissant comme un échangeur d'anions. Cette caractéristique dépend de la nature de l'agent et de la matrice de l'EPS, par exemple, elle se manifeste en présence d'aminoglycosides (antibiotique hydrophile et positivement chargé) (Kokare et *al.*, 2008).

I.2.4.4 Stratégie résistive et adaptative

Revenons à la notion du biofilm, qui représente une organisation cellulaire en communauté. L'émergence des biofilms primitifs semble avoir coïncidé avec les premières preuves d'une transition évolutive de l'unicellulaire à l'organisation multicellulaire. Cette théorie suggère que cette transition confère un avantage pour la survie dans des environnements hostiles. Initialement, un signal du stress environnemental induit l'expression

de certains gènes participant à la réponse adaptative, offrant un phénotype résistant aux défis environnementaux (de la Fuente-Nunez et *al.*, 2013).

Le développement de la résistance au sein de la communauté bactérienne permet d'occuper une position dominante dans des environnements extrêmes. Cette propriété offre au biofilm et aux cellules planctoniques la capacité de survivre, même face aux attaques coordonnées de substances métaboliques toxiques. Deux concepts fondamentaux mettent en lumière la résistance des bactéries au stress environnemental : la communauté évoluant de manière adaptative et la force motrice de ces communautés, les incitant à coloniser différentes surfaces dans des écosystèmes propices (Costerton, 2007).

I.3 Biofilms entre bons et mauvais: coopérations ou conflits?

L'évolution des réponses coopératives est une veille problématique avait captivé l'attention de Darwin, mais il y'a 18 ans que ce problème a été déclaré comme l'un de « 125 inconnus » dans la revue « Science » (Xavier, 2016). Les biofilms sont des systèmes complexes où se produisent des coopérations, permettant de partager des biens publics, tels que les enzymes, sidérophores et des polymères extracellulaires (Xavier et Foster, 2007). La notion des biens publics est inspirée de l'économie, désignant une ressource accessible pour tous les membres d'une population. La tricherie signifiant les individus ne produiraient pas les biens publics malgré sa consommation constante des ressources produites par d'autres (Xavier, 2016). Ces coopérations contribuent à l'évolution des espèces tricheuses qui utilisent les molécules produites par les autres membres de la population, sans aucune contribution (Xavier et Foster, 2007). En revanche, l'organisation des espèces apparentées en biofilms favorisent le développement des conflits évolutifs pour la contribution aux biens publics partagés (Xavier et Foster, 2007).

Les biofilms sont généralement réputés pour leur impact négatif sur la santé humaine en engendrant des lésions tissulaires locales, provoquant ensuite des infections aiguës. Les bactéries résidentes du biofilm adoptent des stratégies de survie pour échapper aux défenses immunitaires de l'hôte, notamment la modulation du métabolisme, de l'expression génétique ainsi que la production des protéines en tant qu'une stratégie d'adaptation à l'anoxie et à la limitation des nutriments. Ces adaptations confèrent une résistance notable aux traitements antimicrobiens, en rendant les maladies associées aux biofilms des infections persistantes

(Vestby et *al.*, 2020). Les biofilms présentent des risques dans différents secteurs tels que l'industrie agroalimentaire, où leur capacité à héberger des espèces pathogènes pour l'homme ou à dégrader les matériaux faisant partie du système de production ou de la transformation est préoccupante (Galié et *al.*, 2018). En outre, dans les systèmes de distribution de l'eau potable, la formation des biofilms peut entraîner la libération des bactéries pathogènes d'origine hydrique, entraînant potentiellement des problèmes tels que la biocorrosion et la dégradation des matériaux de la canalisation. Cela souligne la nécessité de trouver des solutions efficaces pour éliminer ces biofilms (Erdei-Tombor et *al.*, 2024). En revanche, les biofilms s'avèrent jouer des rôles cruciaux dans l'amélioration de la qualité du sol, facilitant la colonisation des plantes et stimulant leur croissance et leur productivité (Wu et *al.*, 2019; Musa et *al.*, 2024; Ajijah et *al.*, 2023). En outre, certains biofilms peuvent contribuer au traitement des eaux usées et la dégradation des polluants, en assurant des applications environnementales précieuses (Olanbiwoninu et Popoola, 2023).

I.3.1 Biofilms et milieu hospitalier

Environ 80% des infections microbiennes dans le corps humain sont associées à des biofilms bactériens (Sharma et *al.*, 2019), y compris les infections associées ou non à des dispositifs médicaux (Jamal et *al.*, 2018). La formation de biofilms est l'un des traits pathogènes des souches cliniques, c'est pourquoi les infections associées aux biofilms sont plus difficiles à guérir par antibiothérapie, en plus de réduire l'action des réponses immunitaires de l'hôte (Mittal et *al.*, 2015; Lima et *al.*, 2018). Il convient de noter que les cellules du biofilm sont plus résistantes aux antibiotiques que les cellules planctoniques (Madsen et *al.*, 2012). La contamination des cathéters et des prothèses induit la formation de biofilms à haute tolérance aux biocides et génère des infections systémiques. Il est clair que les cellules bactériennes incluses dans les biofilms sont plus résistantes aux réactions immunitaires (Lebeaux et Ghigo, 2012).

Les bactéries formant un biofilm adhérent à l'uro-épithélium peuvent envahir le tissu rénal, provoquant une pyélonéphrite, et être responsables d'une prostatite bactérienne chronique. Il a été rapporté que le biofilm était associé au cathéter, soulignant que les infections urinaires associées aux cathéters (CAUTI : Catheter-associated urinary tract infection) sont l'une des infections associées aux soins les plus courantes dans le monde (Soto, 2014). En outre, les biofilms formés sur les implants médicaux (cathéters, valves cardiaques,

lentilles de contact, prothèses articulaires, dispositifs intra-utérins et unités dentaires) sont à l'origine d'infections des voies urinaires et de la circulation sanguine. Il convient de mentionner que le traitement de ces infections repose sur le retrait des implants médicaux, ce qui augmente le coût du traitement (Sharma et al., 2018).

Une étude antérieure a démontré que la formation de biofilms était impliquée dans les plaies humaines aiguës. Il a été constaté que des biofilms de *Staphylococcus aureus* étaient présents dans des échantillons isolés de patients atteints d'impétigo bulleux, de dermatite atopique et de pemphigus foliacé (Akiyama et al., 2003). La ventilation mécanique est une méthode de ventilation artificielle, utilisée pour assurer le maintien des échanges gazeux indispensables chez les patients souffrant de faiblesse respiratoire et métabolique. Ce soutien thérapeutique expose le patient à l'acquisition d'une pneumonie associée au ventilateur (PAV). La formation de biofilms par les bactéries responsables de la PAV contribue à la pathogenèse de la PAV et rend la thérapie antimicrobienne plus difficile, ce qui augmente la morbidité et la mortalité associées à cette infection (Lima et al., 2017).

La parodontite est une infection des gencives, dans laquelle les tissus mous et ceux des os soutenant les dents sont endommagés. Il convient de noter qu'elle est causée par une mauvaise hygiène bucco-dentaire. Les principaux agents responsables sont *Porphyromonas gingivalis* et *Fusobacterium nucleatum*. Ces micro-organismes peuvent former des biofilms sur diverses surfaces, en particulier les surfaces muqueuses de la cavité buccale (Lamont et Jenkinson, 1998; Jamal et al., 2018).

En effet, la fibrose kystique (FK) est définie comme une maladie génétique autosomique récessive, causée par une mutation sur le chromosome humain 7. La formation de biofilms est considérée comme la principale caractéristique physiopathologique importante de *Pseudomonas aeruginosa*. Il a été rapporté que les conditions pathophysiologiques des poumons des patients atteints de fibrose kystique sont favorables au développement du biofilm. Il peut s'avérer que de nombreuses études ont rapporté que la structuration en biofilm renforce la protection des bactéries encastrées contre les agents antimicrobiens et les réponses immunitaires de l'hôte (Asbury et Jazayeri, 2018).

L'hétérogénéité de la communauté bactérienne augmente les chances de survie. La croissance bactérienne et l'activité métabolique dans le biofilm sont affectées par la disponibilité des nutriments et de l'oxygène (Rodis et al., 2020). L'hétérogénéité du biofilm a

généralisé une hétérogénéité physiologique qui conduit à l'apparition de sous-populations génétiquement similaires mais physiologiquement différentes, en particulier en ce qui concerne leur tolérance aux antibiotiques. Il convient de mentionner que la présence fréquente de différentes espèces dans le biofilm est à l'origine de l'hétérogénéité biologique (Lebeaux et Ghigo, 2012).

La formation de biofilms est récalcitrante aux traitements antibiotiques et constitue la principale cause d'infections persistantes par les principaux pathogènes cliniques. Il convient de noter que la formation de biofilms et le piégeage des cellules dans la matrice du biofilm renforcent la résistance aux antibiotiques (Abebe, 2020). La résistance élevée des biofilms aux antibiotiques a attiré l'attention des microbiologistes cliniques (Fuente-Nunez et al., 2013). Plusieurs mécanismes ont été proposés pour expliquer la résistance remarquable des bactéries formant des biofilms aux antibiotiques et à la phagocytose (Li et al., 2020).

Nous avons déjà mentionné que la matrice EPS du biofilm joue un rôle clé dans la structuration du biofilm et qu'elle agit comme une barrière contre différents antibiotiques. La tolérance du biofilm aux antibiotiques augmente grâce à leur inactivation par la matrice du biofilm, mais certains antibiotiques qui n'ont pas d'interaction avec l'EPS peuvent pénétrer à travers les biofilms. Il a été suggéré que d'autres raisons empêchent la diffusion des antibiotiques, telles que la dégradation des antibiotiques par les enzymes présentes dans la matrice du biofilm, la chélation des antibiotiques par les composants de la matrice, ce qui explique pourquoi les antibiotiques ont perdu leur capacité à atteindre la cible à une concentration adéquate (Goel et al., 2021).

Il se peut que de nombreuses études aient rapporté que le biofilm de *Pseudomonas aeruginosa* s'est formé sur une membrane de dialyse, et que la diffusion de la pipéracilline dans le biofilm a été mesurée parallèlement. Ces résultats pourraient indiquer que le biofilm de *P. aeruginosa* a empêché la diffusion de l'antibiotique. Cependant, dans les mêmes conditions, le biofilm de *Staphylococcus epidermidis* a permis la diffusion de la rifampicine et de la vancomycine (Mah et O'Toole, 2001).

Il a été signalé qu'il existe une corrélation entre la formation de biofilms et la production de β -lactamases PER1 (Lee et al., 2007). Les β -lactamases ont la capacité d'inactiver les antimicrobiens, β -lactames, en cassant le cycle β -lactame, en rompant la liaison amide, ce qui fait que le produit obtenu perd son activité antibactérienne. En outre, l'hydrolyse des

antibiotiques par l'activité de la β -lactamase consiste en la formation d'une liaison ester entre le site actif de la sérine des enzymes β -lactamase et le cycle β -lactame de l'antibiotique (Rocha et al., 2019).

La modification structurelle de la cible de l'antibiotique est le processus le plus impliqué dans la résistance bactérienne aux antibiotiques. Une étude a montré que des souches de *Staphylococcus aureus* ont démontré une résistance élevée à la vancomycine en raison de la substitution du dipeptide D- alanine-D- alanine par le dipeptide D- alanine-D- lactate. Cette résistance peut être transmise par transfert de plasmide portant l'opéron *van A* de résistance à la vancomycine précédemment rencontré chez *Enterococcus faecalis* (Daddi et Oubekka, 2012).

Les caractéristiques les plus importantes de l'évolution des biofilms sont le degré élevé de diversité de la population et le processus d'hypermutateur. Le phénotype hypermutateur dans les biofilms de *P. aeruginosa* a été détecté dans des infections chroniques telles que la mucoviscidose et a pour conséquence le développement d'une résistance lors de l'exposition aux antibiotiques (Ciofu et al., 2017; Uruén et al., 2020).

Les bactéries au sein du biofilm développent différentes stratégies afin de protéger leurs cellules du stress antibiotique, c'est pourquoi l'interaction entre l'antibiotique et la matrice du biofilm peut réduire leurs activités et leurs taux de croissance dans lesquels l'antibiotique perdra son efficacité et produira des cellules persistantes avec une haute tolérance aux antibiotiques (Abebe, 2020).

Les cellules persistantes sont métaboliquement inertes et très tolérantes aux antibiotiques (Lee et al., 2016). Les persistants jouent un rôle important dans les infections chroniques et leur présence prouve l'hétérogénéité de la population et assure de nombreux avantages à la population microbienne dans des environnements fluctuants. Ils constituent une stratégie de survie pour les populations microbiennes exposées à un stress environnemental tel que les antibiotiques (Posada et al., 2020).

La capacité de survie du biofilm dépend de la formation de sous-populations de persistants; nous avons l'exemple de variantes phénotypiques tolérantes à divers stress tels que les antibiotiques. Il convient de noter que la tolérance diffère de la résistance, car elle est temporaire et réversible. Un autre point à souligner est que quelques cellules peuvent être

transformées en cellules persistantes dans une population isogénique; inversement, les cellules persistantes peuvent revenir à l'état sensible (Carvalho, 2018).

I.3.2 Biofilms et industrie alimentaire

Différents microorganismes ont démontré leur capacité à se développer dans les matrices alimentaires et au cours de différentes étapes des processus de l'industrie agro-alimentaires. En raison de la richesse de cet environnement en nutriments, les biofilms se développent rapidement. Il est important de souligner que généralement les espèces formant des biofilms sont pathogènes pour l'homme. Ces espèces pathogènes peuvent s'organiser en biofilm sur différents substrats artificiels utilisés couramment dans cette industrie, tels que le polyéthylène, l'acier inoxydable, le polypropylène, le verre et le bois (Galié et al., 2018).

Aux États-Unis, 80% des infections bactériennes sont associées aux espèces pathogènes d'origines alimentaires, structurées en biofilms. Il est crucial de noter que les déchets alimentaires riches en nutriments (glucides, protéines et graisses), c'est le cas des exsudats de lait et de viande, favorisant la croissance des bactéries et ensuite l'organisation en biofilm chez *E. coli* et *S. aureus*. D'ailleurs, le lactose du lait influence positivement la formation du biofilm chez le *Bacillus subtilis*. Les biofilms les plus pertinents dans le domaine alimentaire sont associés à certains agents pathogènes, tels que *Bacillus cereus*, *Campylobacter jejuni*, *E. coli* entérohémorragique (EHEC), *Listeria monocytogenes*, *Salmonelle enterica*, *S. aureus*, *Pseudomonas spp*, *Geobacillus stearothermophilus*, *Anoxybacillus flavithermus* et *Pectinatus spp* (Carrascosa et al., 2021).

En 2015, l'organisation mondiale de la santé (OMS) a déclaré qu'environ 600 millions de maladies d'origine alimentaire à l'échelle mondiale, résultant environ 4.20000 décès chaque année. Il s'avère évident que la contamination des aliments est probablement produite à n'importe quel stade de processus de la fabrication (Sharan et al., 2022).

Les bactéries formant des biofilms sont hautement nuisibles à la sécurité et à la qualité du lait et ses dérivés. Ces agents pathogènes sont une cause de la corrosion des tuyaux métalliques, en réduisant ensuite le transfert de la chaleur et ensuite perturbant le flottement des fluides (Friedländer et al., 2019). Les biofilms d'origine alimentaire réduisent de l'efficacité de l'échange thermique, de diamètre des tuyaux, et augmentant la pression interne, l'énergie nécessaire pour le traitement, la rétention des odeurs et la contamination récurrente

(Jiménez-Pichardo et al., 2021). Les biofilms bactériens peuvent altérer les propriétés organoleptiques à cause de la sécrétion des lipases ou des protéases, également les produits de poissons frais sont négativement affectés par la formation du biofilm par *Aeromonas hydrophila* et *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica* ou *Vibrio spp*, entraînant des graves problèmes de santé et économiques (Galié et al., 2018).

Il est évident que certains biofilms sont connues pour leur importance dans l'industrie agroalimentaire et particulièrement le traitement des eaux usées provenant de cette industrie. D'ailleurs, les communautés microbiennes peuvent être positivement impliquées dans différents mécanismes d'élimination et la dégradation des contaminants, tels que la biosorption, biominéralisation, bioaccumulation et la biodégradation. Certains composés azotés, phosphorés et carbonés ainsi que les espèces pathogènes sont piégés à partir des eaux usées et digérés par ces communautés constituant le biofilm (Olanbiwoninu et Popoola, 2023).

I.3.3 Biofilms et eaux

La contamination des systèmes industriels de l'eau potable par les bactéries formant des biofilms représente une préoccupation mondiale en raison des infections bactériennes d'origine hydriques, prenant l'exemple des gastro-entérites, étant considérées une cause majeure des maladies et de décès inévitables. Les usines de traitement de l'eau potable assurent aux consommateurs de l'eau potable sûre *via* des canalisations. Souvent, ces canalisations de distributions d'eaux sont recouvertes par des biofilms, contribuant à l'introduction des bactéries dans l'eau destinée à la consommation (Erdei-Tombor et al., 2024). Les genres bactériens les plus dominants sont généralement *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Pseudomonas*, *Legionella* (Li et al., 2023), *Sphingomonas*, *Aeromonas*, *Methylobacterium*, *Acinetobacter*, *Calcoaceticus*, *Mycobacterium* (Tsagkari et al., 2017).

Les biofilms dans l'écosystème marin peuvent être définis comme des communautés bactériennes attachées à la surface des matériaux solides immergés. Il rapporté que ces biofilms sont caractérisés par leur richesse microbienne et leur spécificité (Wang et al., 2022). L'avantage de cette structuration est l'augmentation de l'accessibilité aux ressources et la protection des cellules contre le stress environnemental. En outre, les microorganismes formant des biofilms sont également capables d'être impliqués dans micro-encrassement

biologique, c'est-à-dire ils peuvent adhérer à toutes surfaces immergées dans l'eau de mer, tels que les canalisations et les coques de navires, et également impliqués dans la biocorrosion (Carvalho, 2018).

Les biofilms bactériens constituent une menace majeure en aquaculture, agissant comme un réservoir constant des infections bactériennes pour les espèces élevées, puisque ces biofilms peuvent héberger des communautés bactériennes pathogènes. Il est important de rappeler que la formation du biofilm assure une résistance accrue aux désinfectants et aux stress environnementaux. Après la désinfection, certaines bactéries persistent, pouvant donner naissance à des nouveaux biofilms et disperser ultérieurement dans la phase liquide après la réduction du niveau des antibiotiques ou de désinfectants (Schoina et al., 2022).

Les biofilms microbiens sont intégrés dans différents processus de traitement des eaux usées. Les nutriments contenus dans les eaux usées sont utilisés par la communauté microbienne, dans le but d'élimination des contaminants des eaux usées. Les réacteurs à biofilm tels que la cuve d'oxydation biologique par contact, le disque rotatif biologique, le filtre biologique aéré, le lit fluidisé à biofilm (BFB), le réacteur à biofilm à lit mobile (MBBR) et le réacteur à boues activées à film fixe intégré sont impliqués dans les processus d'élimination des polluants des eaux usées domestiques et industrielles. Les réacteurs à biofilms ont démontré leur capacité élevée à éliminer les polluants de nature organique azotée avec une production réduite des boues dans le traitement des eaux usées (Chattopadhyay et al., 2022).

I.3.4 Biofilms et sol

Il est décrit que le sol abrite une grande variété des microorganismes, prouvant leur aptitude à former des biofilms en tant que le mode le plus dominant pour les microorganismes telluriques. Les biofilms du sol peuvent être monospécifiques ou plurispécifiques, avec une grande capacité à coloniser les surfaces minérales, les pores et les racines des plantes. Le développement des biofilms dans le sol contribue à l'amélioration des propriétés physico-chimiques locales des sols. Cette faculté provoque le biocolmatage dans les pores du sol, influençant ainsi la perméabilité du sol. Les substances polymériques extracellulaires améliore la connexion entre les minéraux et la cohésion internes des microagrégats du sol (Wu et al., 2019; Musa et al., 2024).

Dans le sol, un écosystème complexe par excellence, les surfaces regorgent de nutriments rapidement consommés. En profondeur, les communautés bactériennes dominantes coopèrent dans un processus complexe pour utiliser leurs ressources dans des environnements anaérobies et toxiques (Crawford et *al.*, 1977). Bien que la prédation soit un stress constant, la matrice sert à exclure les bactéries des prédateurs (Kadouri et O'Toole, 2005).

Les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR) ayant la capacité de former des biofilms, sont considérées comme des candidats promoteurs pour les applications agricoles. Ces biofilms résultent de la colonisation microbienne du système racinaire, en conférant une résilience intéressante face aux stress environnementaux (Li et *al.*, 2024). Les PGPR formant des biofilms confèrent plusieurs avantages aux plantes, tels que la protection du site colonisé, le recyclage des nutriments, renforcement de la défense contre les agents pathogènes avec une tolérance aux stress abiotique, conduisant à une bonne productivité agricole et l'augmentation du rendement des cultures (Ajijah et *al.*, 2023).

I.3.5 Biofilms et bioremediation

La bioremediation est une technologie verte, écologique, durable, rentable, basée sur l'utilisation des microorganismes afin d'éliminer les polluants environnementaux en les transformant en substances moins toxiques (Biswal et Malik, 2022). Les biofilms impliqués dans la bioremediation constituent une biotechnologie attractive, visant l'élimination des polluants, cela est lié à leur capacité captivante à dégrader ou minéraliser les polluants dangereux dans différents sites contaminés. Prenant l'exemple de genre *Bacillus*, *Rhodococcus*, *Arthrobacter*, *Cyclolasticus* et *Alcanivorex*. D'ailleurs, les biofilms peuvent s'engager dans la biosorption et la dégradation des polluants organiques et des métaux lourds grâce à la production des enzymes extracellulaires, régulée par le système quorum sensing. Récemment, les biofilms sont appliqués en tant que des biocatalyseurs, intégrés avec succès dans les processus de biotransformation. Les biofilms bactériens représentent des bio-indicateurs et des biomarqueurs cruciaux de la pollution métallique dans les écosystèmes marins (Mishra et *al.*, 2022).

Le système QS module des traits essentiels à des fins environnementales, tenant en compte la formation du biofilm, la synthèse des tensioactifs, la production enzymatiques lié au catabolisme, et le chimiotactisme. Ces traits sont nécessaires pour les bactéries au cours de

la dégradation ou la transformation du contaminant en forme moins toxique. Les biofilms bactériens peuvent être intégrés dans la biorestauration des composés organiques, tels que les biofilms formés par *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Alcaligenes*, *Sphingomonas* et *Methylosinus*. Il est rapporté qu'une souche de *Pseudomonas sp.* isolée de l'eau de mer contaminée par le pétrole brut est capable de former des biofilms en présence du pétrole brut avec une capacité notable à dégrader ce polluant *ex situ*. En addition, le biofilm de *P. stutzeri* T102 a été efficacement impliqué dans la dégradation du naphthalène dans le sol (Mangwani et al., 2016).

Une étude a démontré que les biofilms formés par *Bacillus* et *Lysinibacillus sphaericus* ont prouvé leur performance notable dans l'élimination des métaux lourds, tels que le plomb, nickel, Manganèse, zinc, cuivre et cobalt. En outre, le biofilm de *P. putida* a significativement contribué à la décoloration de la liqueur noire (Liaqat et al., 2023a). Concernant la bioremediation des pesticides, les biofilms mixtes des bactéries autochtones (*Bacillus thuringiensis* + *Bacillus sp.* (P7)), ont révélé une capacité importante à dégrader 46.2% de cyperméthrine comparativement aux biofilms d'une culture mixte de *B. thuringiensis*, *Enterobacter hormaechei*, *B. cereus*, *Bacillus sp.*, prouvant une dégradation intéressante (70%) de l'imidaclopride. En ce qui concerne la bioremediation des colorants, un biofilm mixte de *Bacillus sp.*, *Bacillus sp.*, a pu dégrader 86.76% du vert de malachite par rapport aux biofilms mixtes de *Lysinibacillus sphaericus*, *Bacillus sp.* qui ont démontré une dégradation moins importante (30.78%) du rouge Congo (Liaqat et al., 2023b).

Les déchets plastiques représentent une menace réelle à l'environnement. Ce polluant se décompose en microplastiques, une forme encore plus persistante dans l'environnement, perturbant les écosystèmes et la santé publique (Howard et McCarthy, 2023). Dans l'écosystème marin, les microplastiques peuvent être colonisés par des bactéries, généralement de phyla *Proteobacteria*, *Bacteroidetes* et *Firmicutes*. Certains microorganismes colonisant les microplastiques sont reconnus pour leur aptitude à sécréter des enzymes dégradant ce type de polluant, tels que les estérases, cutinases et lipases. Il est rapporté que la colonisation et l'incubation de polyéthylène avec le *P. aeruginosa* 30 jours à 44°C entraîne la réduction de son poids à 6.25% (Moyal et al., 2023).

I.4 Rôle du quorum sensing dans la vie sociale des microorganismes

Plusieurs recherches ont été intéressées à l'étude des traits sociaux, comme étant des comportements individuels ainsi que leur environnement. Le quorum sensing dépendant de

la densité cellulaire régule la production des biens collectifs extracellulaires (Whiteley *et al.*, 2017). L'ensemble des idées qui suit, décrivant les différents aspects de régulation de la sociomicrobiologie par le quorum sensing.

I.4.1 Régulation de la résistance microbienne

Naturellement, les bactéries sont soumises à des stress environnementaux, c'est pourquoi elles ont développé un ensemble des mécanismes d'adaptation visant l'amélioration de leur résistance. La régulation des réponses bactériennes aux stress a lieu au niveau transcriptionnel, traductionnel, et post-traductionnel, déclenchant des modifications de l'expression génétique, l'activité de protéine et le métabolisme cellulaire. D'ailleurs, les réponses bactériennes au stress renforcent la résistance aux stress et la réparation des dommages cellulaires (Dawan et Ahn, 2022).

Le système quorum sensing s'avère jouer un rôle essentiel dans la détermination de la résistance bactérienne et l'amélioration de la tolérance bactérienne aux stress biotiques et abiotiques. Il est décrit que ce système confère une résistance accrue au stress biotique, la prédation par les protistes chez le *P. aeruginosa*, en améliorant sa capacité à former des biofilms qui le rend plus résistant à telle situation, comparativement aux mutants déficients des produits de quorum sensing. En outre, la production des biens publics contrôlés par le système QS, tels que les sidérophores et les protéases, subvient les besoins de tous les membres de la population, indépendamment à leur contribution à cette production (García-Contreras *et al.*, 2015).

Chez les bactéries, les pompes d'efflux actif joue un rôle crucial dans l'élimination des antibiotiques, offrant une multirésistance aux médicaments. Ces pompes sont constituées de trois parties principales: de l'extérieur vers l'intérieur, protéine de canal de la membrane externe, protéine de fusion et la protéine d'efflux de la membrane cytoplasmique. L'expression des pompes multirésistantes est régulée par le quorum sensing. Cela suppose qu'une forte expression des pompes à efflux peut induire le système quorum sensing, déclenchant la régulation de la synthèse des facteurs de virulence et l'expression des pompes multirésistantes, ce qui renforce l'infectivité et l'invasivité bactérienne. D'ailleurs, plusieurs chercheurs ont lié le potentiel de la résistance bactérienne à la régulation de la formation du

biofilm par le quorum sensing, en augmentant leur résistance aux stress (Abebe, 2020; Zhao et al., 2020).

En outre, le *P. aeruginosa* est connu pour sa résistance aux principales familles des antibiotiques, telles que les β -lactames, les aminosides, les carbapénèmes et les quinolones. La résistance bactérienne comprend divers mécanismes, notamment la résistance adaptative, la résistance acquise et la résistance intrinsèque. D'abord, la formation du biofilm protège le *P. aeruginosa* des effets délétères des antibiotiques, c'est le cas de la résistance adaptative. Cette bactérie peut acquérir des gènes de résistance aux antibiotiques *via* les transferts horizontaux des gènes et des mutations, ce mécanisme est connu par la résistance acquise (Quddus et al., 2023). Le *P. aeruginosa* présente quatre pompes à efflux, MexXY, MexAB-OprM, MexCD-OprJ, et MexEF-OprN, contribuant à l'extrusion des substances toxiques et réduisant la sensibilité aux antibiotiques. Il est crucial de noter que la surexpression de ces pompes est associée à la multirésistance de cette bactérie à une grande gamme d'antibiotiques (Lorusso et al., 2022). Cette surexpression des pompes à efflux entraîne une réduction la perméabilité de la membrane externe et la production des enzymes d'inactivation des antibiotiques, constituant ensuite la résistance intrinsèque (Quddus et al., 2023).

Chez *Escherichia coli*, la résistance aux substances antimicrobiennes fait impliquer un ensemble de mécanismes, accumulation des mutations impliquées dans des cibles antimicrobiens donnés, production des enzymes dégradant l'antibiotique (β -lactamases; carbapénémases), l'acquisition des éléments génétiques mobiles, modification de la composition de la paroi cellulaire, réduction de l'expression des porines de la paroi cellulaires, et la surproduction des pompes à efflux (Anes et al., 2015; Arbab et al., 2022).

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), la multirésistance aux antibiotiques constitue un des dix problèmes majeurs, menaçant la santé publique, caractérisée par un taux de morbidité et mortalité élevé dans le monde. D'ailleurs, le monde a marqué sept épidémies causées par des agents infectieux, *Vibrio cholerae*, *P. aeruginosa*, *E. coli* et *Candida albicans* étaient responsables d'un nombre important de décès au niveau des hôpitaux et des unités de soins intensifs (Naga et al., 2023). La mauvaise utilisation ou excessive des antibiotiques, l'augmentation de la multirésistance bactérienne aux antibiotiques, et les limitations de l'antibiothérapie à contrôler les infections bactériennes et leur persistance dans l'environnement imposent une nécessité urgente à mettre en place des approches alternatives. Il est crucial de noter que l'inhibition, l'atténuation, et l'interruption de la communication

bactérienne *via* le quorum sensing, est connue sous le terme « quorum quenching ». Le quorum quenching est l'une des solutions proposées, il est important de rappeler que la pathogénicité bactérienne et la formation du biofilm, qui rend la communauté de plus en plus résistante aux antibiotiques, sont orchestrées par le quorum sensing. C'est pourquoi, plusieurs études récentes ciblent le quorum sensing comme une stratégie alternative aux antibiotiques pour contrôler et éradiquer les organismes pathogènes, capables de former des biofilms (Rather et *al.*, 2022).

I.4.2 Régulation de la formation du biofilm

Depuis l'antiquité, les bactéries ont été considérées comme des organismes unicellulaires. Cependant, récemment, l'organisation multicellulaire a été élucidée comme une stratégie, qu'elle soit coopérative ou compétitive. Ces bactéries démontrent leur compétition pour les nutriments, l'espace et les paramètres de croissance, ce qui peut conduire à la formation d'un biofilm. Différents acteurs peuvent être impliqués dans la formation du biofilm, et leur expression est régulée par le quorum sensing, comprenant des éléments tels que les adhésines, les récepteurs et les EPS (Zhang et *al.*, 1995; Lie et Tian, 2012).

Parallèlement, le quorum sensing contrôle la biosynthèse des exopolysaccharides, jouant un rôle crucial dans la structuration du biofilm, particulièrement, les EPS qui participent à la construction de la matrice, rendant ainsi le biofilm plus résistant. Une étude récente a rapporté que plusieurs facteurs, tels que les flagelles intervenant dans la mobilité, sont régulés par le quorum sensing, influençant ainsi la formation du biofilm avec leurs activités qui participent à l'attachement initial (Chug et *al.*, 2015; Pessos da Saliva et *al.*, 2017).

Une étude a détaillé les différents rôles du quorum sensing dans la formation du biofilm. Dans la phase initiale du processus de formation du biofilm, l'attachement est sous le contrôle du QS. Par exemple, chez *S. aureus*, la répression de nombreuses adhésines de surface, qui jouent un rôle dans le contact avec la cellule hôte, est due au peptide cyclique dépendant du gène régulateur accessoire (*agr*) du système quorum sensing. Des recherches récentes ont éclairci le rôle des AHLs dans la maturation du biofilm chez certaines bactéries. Prenant l'exemple du gène d'acyl-HSL synthase, *swrI*, chez *Serratia liquefaciens*, qui contribue à l'agrégation cellulaire et à la formation de filaments au sein du biofilm. Le quorum sensing

régule deux gènes, *bsmA* pour l'activation de l'agrégation et *bsmB* qui contrôle la taille de l'agrégation (Labbate et al., 2004; Parsek et Greenberg, 2005).

Le système *cepI/R* chez *Burkholderia cepacia* et le système *ahyR/ahyI* chez *Aeromonas hydrophila*, tous deux régissent la maturation du biofilm. Chez *Xanthomonas campestris*, la dispersion du biofilm est coordonnée par le système quorum sensing, dont le signal est représenté par le DSF (Facteur Signal Diffusible). Le gène *rpf* joue un rôle crucial en réduisant les niveaux de production d'EPS et d'enzymes extracellulaires, y compris les protéases et les cellulases, tout en étant responsable de la production de ce signal. Il est à noter que le système de quorum sensing DSF/*rpf* participe activement à la dispersion du biofilm (Parsek et Greenberg, 2005; He et Zhang, 2008).

I.4.3 Régulation de la stratégie coopérative

Il convient de rappeler que bactéries établissent plusieurs relations coopératives pour favoriser leur croissance et résister aux stress environnementaux, parmi lesquelles la coopération occupe une place privilégiée. Cette coopération au sein du groupe ou de la communauté génère des biens publics, tels que des facteurs de virulence endommageant la cellule hôte, des enzymes favorisant la digestion des sources nutritives, des surfactants influençant la mobilité bactérienne, et des molécules de capture du fer comme les sidérophores (Czàràn et Hoekstra, 2009). Néanmoins, cette interaction n'est pas stable, car chaque membre de la communauté tend à satisfaire égoïstement ses propres besoins. L'importance de la coopération repose sur le fait qu'elle augmente la reproductibilité des producteurs individuels et la transmission de leurs gènes aux générations suivantes, tout en réduisant simultanément la productivité globale de la population (West et al., 2006).

Plusieurs espèces, identifiées comme des « tricheurs » se développent au détriment des coopérateurs, perturbant ainsi la dynamique de coopération au sein de la population (Abisado et al., 2018). Cette présence excessive menace l'équilibre des besoins au sein de la communauté. Le système de quorum sensing peut être considéré comme un système compétitif, comme le suggère le cas de *P. aeruginosa* présentant des mutations au niveau du gène régulateur central *lasR*. Les mutations observées pourraient être interprétées comme des indications suggérant que le quorum sensing n'est pas directement lié à une infection spécifique issue des souches isolées. Plutôt, ces mutations pourraient être considérées comme

des variantes déficientes du quorum sensing, agissant potentiellement en tant que tricheurs sociaux (Sandoz et *al.*, 2007).

Il est confirmé que dans des cultures séparées, les coopérateurs peuvent prospérer, alors que dans des cultures mixtes, les tricheurs exploitent leurs partenaires coopérateurs tout en proliférant (Abisado et *al.*, 2018). Dans le quorum sensing, les cellules individuelles libèrent des molécules signales. Lorsque la concentration de ces molécules atteint un seuil critique, les cellules modifient leur expression génique en réponse. Ainsi, les bactéries peuvent percevoir la densité locale, favorisant ainsi la coordination de leurs réponses coopératives (Czàràn et Hoekstra, 2009).

I.4.4 Régulation de la stratégie compétitive

Certaines situations comme l'augmentation de la densité cellulaire et la rareté des ressources mènent à une compétition brutale en vue de récupérer les ressources limitées, prenant l'exemple de la lumière du soleil, nutriments, et l'espace. Le potentiel compétitif permet à la bactérie de diminuer les aptitudes des souches concurrentes. Les compétiteurs doivent se chevaucher lors de l'utilisation des ressources afin d'éviter certains comportements comme la prédation et le parasitisme (Ghoul et Mitri, 2016).

Dans cette stratégie, les bactéries exploitent un large éventail de toxines en tant qu'acteurs compétitifs, favorisant ainsi la concurrence avec d'autres bactéries (Abisado et *al.*, 2018). Dans des environnements offrant diverses niches écologiques, que ce soit dans une culture liquide statique ou dans un biofilm, l'objectif principal de cette stratégie compétitive réside dans la sélection de variants démontrant une aptitude à coloniser ces environnements particuliers. Plusieurs études prouvent que des mutations jaillissent de l'adaptabilité de ces variants à des niches particulières, favorisées par une sélection basée sur une fréquence négative. Ces variants se distinguent par une surproduction des polysaccharides extracellulaires, leur permettant de flotter à la surface de la culture afin d'améliorer leur accès à l'oxygène (Hibbing et *al.*, 2010).

Au sein des communautés du sol, *P. fluorescens* et *P. aureofaciens*, agissant en tant qu'agents du biocontrôle, utilisent le quorum sensing (QS) pour réguler la production d'antibiotiques de type phénazines. Cette régulation vise à coloniser les plantes et à lutter contre le champignon *Gaeumannomyces graminis* var. *Tritici* (Abisado et *al.*, 2018). Dans le

contexte de la compétition, divers comportements adaptatifs sont observés. Par exemple, *Saccharomyces cerevisiae* et *E. coli* peuvent ajuster leur métabolisme, passant de la fermentation à métabolisme oxydatif (respiration), en fonction de la disponibilité en oxygène, dans le but d'augmenter leur taux de croissance. Ce changement métabolique assure une capacité d'absorption des éléments nutritifs plus rapide que celle de leurs concurrents (Ghoul et Mitri, 2016).

L'hypothèse de compétition sensing est définie comme la capacité bactérienne à détecter et à répondre à une compétition écologique. Les bactéries ont recours au quorum sensing pour percevoir la production sécrétoire en corrélation avec la densité cellulaire. Par conséquent, les molécules liées au quorum sensing sont utilisées dans la signalisation cellulaire et la détection d'indices spécifiques produits par d'autres génotypes (Cornforth et Foster, 2013). *P. aeruginosa* utilise le quorum sensing pour réguler la production de composés antistaphylococciques, dont la pyocyanine qui fait partie des phénazines (Abisado et al., 2018).

La pyocyanine inhibe la respiration oxydative en ciblant la quinolone oxydoréductase (NADH), une enzyme importante dans le système respiratoire de plusieurs organismes. C'est pour cela, le *S. aureus* répond à cette inhibition en adoptant un métabolisme fermentatif, et réduit le rendement en ATP et entraîne la formation de petites colonies (Biswas et al., 2009; Petri et al., 2018). La régulation du quorum sensing implique la protéase LasA, qui dégrade la pentaglycine de la paroi de *S. aureus*. En fait, *P. aeruginosa* utilise d'autres composants, tels que la pyoverdine, les rhamnolipides et la pyocyanine, lors de ses interactions avec les protéobactéries (Abisado et al., 2018).

I.4.5 Régulation de la bioluminescence

La bioluminescence est un phénomène où la lumière est émise par des organismes vivants, résulte d'enzymes catalysant une réaction oxydative, codées par l'opéron *lux* avec l'ordre de gènes *luxCDABEG*. Les fonctions principales de la bioluminescence peuvent être classées en quatre catégories: défense, offense, attraction de proie et communication intraspécifique (Nunes-Halldorson et Duran, 2003; Brodl et al., 2018; Timsit et al., 2021). Les débris fécaux lumineux attirent la majorité des poissons, qui sont ensuite consommés. Après être ingéré, les bactéries prolifèrent dans l'intestin qui construit un milieu favorable et riche (Brodl et al., 2018).

V. fischeri colonise l'organe émetteur de lumière dans son hôte calmar hawaïen, *Euprymna scolopes*. À ce niveau, il se multiplie et lorsque la population atteint une densité élevée, ce qui induit l'expression des gènes de bioluminescence (Lupp et al., 2003; McCann et al., 2003; Castillo-Juare et al., 2015; Visick et al., 2021). À partir de la culture de *V. fischeri*, le composant responsable de l'auto-induction a été extrait et purifié. Ce composé est identifié comme étant le 3-oxohexanoyl-L-homosérine lactone (auto-inducteur-1 de *V. fischeri*, VAI-1) (Eberhard et al., 1981). L'opéron *lux* englobe plusieurs gènes. Commenant par le *luxI*, qui code pour la synthase produisant le VAI-1. Ensuite, *luxA* et *luxB* spécifient les sous-unités α et β de la luciférase. En revanche, les gènes *luxC*, *luxD* et *luxE* participent à la synthèse et au recyclage du substrat d'aldéhyde nécessaire à la luciférase. En dernier, *luxG* code pour la flavine réductase (Dunlap, 1999).

Une étude comparative des différentes espèces lumineuses, *Aliivibrio fischeri*, *Vibrio campbellii* et *Photobacterium phosphoreum* ANT-2200, a rapporté que les gènes *luxCDABEG* sont communs aux trois espèces. Cependant, *Photobacterium phosphoreum* ANT-2200 présente un gène supplémentaire, *luxF*, situé entre *luxB* et *luxE*. Il est suggéré que *luxF* code pour des protéines impliquées dans l'augmentation de l'intensité de la bioluminescence. Il est également important de souligner que les espèces de *Photobacterium* possèdent des gènes *ribs* en aval de *luxG*, participant à la synthèse de la riboflavine (Tanet et al., 2019).

I.4.6 Régulation de la fixation d'azote

Le quorum sensing joue le rôle d'un système de communication lors de la symbiose, de la défense, et des interactions plantes-microorganismes. Plusieurs rapports ont abordé la relation entre les rhizobia fixatrices d'azote et leurs hôtes légumineuses, considérée comme le résultat d'un réseau de signalisation entre ces deux partenaires (Gonzalez et Marketon, 2003). Chez les rhizobia, le quorum sensing s'avère réguler la production d'EPS (Pellock et al., 2002; Marketon et al., 2003), la formation du biofilm, la mobilité (Dixit et al., 2017; Calatrava-Morales et al., 2018), ainsi que la nodulation et la fixation d'azote (Rinaudi-Marron et González, 2015).

La disponibilité de l'azote est cruciale pour le recyclage de l'azote et la productivité des plantes. Prenant l'exemple des deux types de bactéries du sol, *Sinorhizobium sp.* et *Rhizobium sp.*, qui ont prouvé leur capacité à former des nodules avec la plante alfalfa (*Medicago sativa*

L.) (Zhuang et *al.*, 2013; Shi et *al.*, 2022). Des études récentes ont confirmé l'implication du quorum sensing dans les échanges de signalisation, supposant la possibilité pour le quorum sensing de contrôler les comportements des rhizobia fixatrices d'azote. Au cours de la nodulation rhizobiale, les bactéries subissent une chimiotaxie à travers la racine de la plante, tout en augmentant ainsi la densité cellulaire des rhizobia et menant à d'autres phénomènes tels que la fixation d'azote, la production d'EPS et la nodulation (Gonzalez et Marketon, 2003).

Chapitre II. Stress
Environnemental et Mobilité
bactérienne

II Stress environnementaux et mobilité bactérienne

Dans des environnements extrêmes, les microorganismes font appel un ensemble de processus cellulaires. Ces organismes ont été exposés à un stress susceptible d'influencer leur taux de croissance, la durée de la phase lag, voire de provoquer une cessation métabolique, voire la mort cellulaire. Généralement, la plupart des microorganismes sont reconnus pour leur capacité à survivre et à s'adapter aux changements modérés, de sorte que cette aptitude peut être induite et améliorée (Guan et *al.*, 2017; Thakur et *al.*, 2022).

Les stress environnementaux ont joué et continuent de jouer un rôle important dans l'évolution des systèmes biologiques. Historiquement, ils ont été considérés comme des éléments pivotaux du développement des théories évolutionnaires. Bien que l'adaptation d'un individu à son environnement physique ou biotique soit le cœur de la théorie de l'évolution de Darwin, exprimée dans le livre intitulé « *De l'origine des espèces par le moyen de la sélection naturelle* » en 1859, Darwin pensait que la compétition intracellulaire et intercellulaire s'avère plus significative que le stress environnemental (Bijlsma et Loeschcke, 1997).

La notion du stress environnemental est définie comme une action, un agent ou une condition affectant la structure ou la fonction d'un système biologique. De sorte que cette définition inclut le processus d'interaction entre le stress et son récepteur (le système biologique) (Cairns, 2013). Selon Hoffmann et Parsons (1991), la définition s'appuie sur la présence de forces externes et internes appliquées à un organisme ou un système biologique, induisant des changements à ce niveau. Le stress est dépendant d'un niveau spécifique, à titre d'exemple, un stress donné peut affecter le niveau moléculaire, physiologique, individuel ou populationnel. D'autres définitions rapportent que le terme stress est lié à l'intensité du stress (Hoffmann et Parsons, 1991; Bijlsma et Loeschcke, 1997).

Selon Selye (1973), le stress est défini comme un syndrome de réponses physiologiques aux stress environnementaux. Sibly et Calow (1989) ont décrit le stress comme une « condition environnementale, lorsqu'elle est appliquée pour la première fois, affecte le fitness darwinien ». Le terme fitness darwinien désigne la capacité d'un organisme à envahir et à déplacer la population résidente comme stratégie compétitive pour les ressources disponibles (Demetrius et Ziehe, 2007). Koehn et Bayne (1989) ont considéré le stress

comme « n’importe quel changement environnemental agit en réduisant les aptitudes d’un organisme » (Bijlsma et Loeschcke, 1997).

Plusieurs groupes bactériens, y compris les acidophiles, thermophiles et halophiles, ont évolué afin de s’adapter aux environnements extrêmes. Les microorganismes ont développé des stratégies sophistiquées de résistance ainsi que des mécanismes évolués par les microorganismes en vue de survivre et s’adapter aux multiples stress environnementaux (Guan *et al.*, 2017). Plusieurs types du stress peuvent être rencontrés dans le sol, tels que le stress thermique, hydrique, acide, oxydatif et biotique (Reva *et al.*, 2006). La capacité d’un microorganisme à coordonner et à apporter des changements au niveau génétique en réponse à un stress environnemental est cruciale pour maintenir l’homéostasie (Chalancon et Madan Babu, 2011).

II.1 Types du stress environnemental

La présence des bactéries dans un environnement particulier est constamment conditionnée par des changements environnementaux comme l’épuisement des nutriments, le stress thermique et cryotique, l’irradiation UV, le stress aux hydrocarbures, le stress oxydatif, la dessiccation, le stress salin, le stress acide, le stress nitrosatif, l’exposition aux métaux lourds, le stress osmotique, et d’autres. Dans le but de survivre, les bactéries doivent répondre à ces conditions en adaptant leur physiologie par le biais de modifications génétiques (Kasotia *et al.*, 2015; de Bruijn, 2016; Esbelin *et al.*, 2018).

II.1.1 Stress abiotique

II.1.1.1 Stress chimique

II.1.1.1.1 Stress salin

Le stress salin est reconnu comme un indicateur conservateur ayant un impact significatif sur l’écologie aquatique, jouant un rôle déterminant dans la composition des communautés microbiennes. La salinité exerce une influence majeure sur les propriétés physiologiques des cellules en renforçant leur potentiel osmotique, tout en restreignant les activités et la biomasse des microorganismes (Lew *et al.*, 2022). Elle influe sur la diversité bactérienne et la structure des communautés. Les interactions microbiennes, lors de la sélection pour ou contre certains microorganismes, impliquent un filtrage biotique dans la

structuration de la communauté. Le stress salin principalement explique les variations de la structure des communautés bactériennes dans les lacs salés. En revanche, dans les lacs d'eau douce et hypersalée, la variation de la structure des communautés bactériennes a été liée à la température de l'eau et à la distance géospatiale (Ji et al., 2019; Xia et al., 2023).

Le stress salin peut également s'étendre aux sols agricoles, affectant leur fertilité, stabilité, biodiversité et productivité en réduisant la croissance des plantes et leur rendement (Petric et al., 2022). Les sols salés sont définis par la mesure de la concentration des sels solubles dans leur eau, avec des ions minéraux solubles majeurs tels que le sodium (Na^+), le calcium (Ca^{+2}), le magnésium (Mg^{+2}) et le potassium (K^+), et des anions tels que le chlorure (Cl^-), le sulfate (SO_4^{-2}), le bicarbonate (HCO_3^-), le carbonate (CO_3^{-2}) et le nitrate (NO_3^-). L'eau des sols hypersalés contient également du bore (B), du sélénium (Se), du strontium (Sr), du lithium (Li), du silicium (Si), du rubidium (Rb), du fluor (F), du molybdène (Mo), du manganèse (Mn), du baryum (Ba) et de l'aluminium (Al), certains pouvant être toxiques pour les plantes et les animaux (Shahid et al., 2018). Un sol considéré comme salé présente une conductivité électrique (EC) supérieure à 4 dS à 25°C (équivalent à 40 mM de NaCl ou 2,4g/l), et cela concerne largement les régions arides et semi-arides du globe. La conductivité électrique des sols salés peut atteindre jusqu'à 200 dSm^{-1} (Rath et al., 2019).

La salinité des sols affecte une grande fraction des zones terrestres, et marque sa présence tant dans les pays développés que dans les pays en développement, à cause de l'intensification agricole associée à des conditions naturelles défavorables (Kasotia et al., 2015).

La salinité des sols est entraînée par plusieurs facteurs, tels que la salinité inhérente des sols (à cause des altérations des roches ou du matériau parental); l'irrigation avec de l'eau salée (Blaylock et al., 1994); l'intrusion d'eau de mer dans les terres côtières et les aquifères; le drainage restreint et l'élévation des nappes phréatiques; l'évaporation des surfaces et la transpiration des plantes; la pulvérisation des eaux de mer et la condensation des vapeurs qui tombent sur le sol sous forme de précipitations; la surutilisation des engrais; l'utilisation d'amendements du sol (comme la chaux et le gypse); les vents chargés de sels; l'utilisation de boues d'épuration des eaux usées; et l'élimination des saumures industrielles sur les sols (Shahid et al., 2018).

Les PGPR (bactéries promotrices de la croissance des plantes) sont des bactéries rhizosphériques ou endophytes (de Andrade et *al.*, 2023). Il est rapporté que le genre *Pseudomonas* fait partie de ce groupe bactérien. Ces bactéries favorisent la tolérance des plantes aux stress abiotiques par un ensemble des mécanismes directs ou indirects, citant la production de gibbérellines, d'acide indole acétique, d'exopolysaccharides (EPS), de sidérophores, et particulièrement leur capacité à solubiliser le phosphate et d'autres éléments non identifiés, cela entraîne une augmentation de la surface et de la longueur des racines. Leur contribution la plus significative réside dans l'amélioration de la teneur en éléments nutritifs et la promotion de la santé des plantes en présence de stress salin (Abbas et *al.*, 2018; Asif et *al.*, 2023; de Andrade et *al.*, 2023).

Un vaste éventail de bactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPB) endophytes a été étudié et documenté en raison de leur contribution à l'amélioration de la croissance des plantes (Asif et *al.*, 2023). Divers microorganismes tels qu'*Acinetobacter*, *Azotobacter*, *Bacillus sp.*, *Serratia sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Rhizobium sp.*, ont été inclus dans le groupe des PGPB. Ces bactéries ont démontré leur importance en favorisant la tolérance à la salinité chez certaines plantes telles que le riz (*Oryza sativa L.*), la tomate (*Solanum lycopersicum L.*), le concombre (*Cucumis sativus L.*), et le maïs (*Zea mays L.*) (Lotfi et *al.*, 2022; Asif et *al.*, 2023).

Les bactéries halophiles ou halotolérantes se retrouvent dans un large éventail d'habitats salés (Das et *al.*, 2019; Didari et *al.*, 2020), avec une prévalence plus marquée des bactéries modérément halotolérantes par rapport à celles extrêmement halotolérantes. Une compétition bactérienne intéressante émerge comme une stratégie d'adaptation et de survie dans des environnements sujets à des fluctuations d'osmolarité (Aliane et Meliani, 2021), permettant ainsi aux espèces compétentes d'occuper diverses niches écologiques. Cette capacité découle de l'évolution, mettant en avant une expression étendue des gènes bactériens impliqués dans la tolérance à la salinité. L'isolement et la classification des microorganismes halotolérants dans les océans revêtent une grande importance pratique et réaliste pour des applications biotechnologiques, notamment la production de biomolécules fonctionnelles telles que les EPS, les enzymes hydrolytiques et les osmolytes, ...etc (Rahman et *al.*, 2017; Das et *al.*, 2019).

Plusieurs bactéries marines ont été exploitées en tant que bactéries promotrices de la croissance des plantes, tirant avantage de leur adaptabilité au milieu salin et de leur halotolérance (Rangseekaew et *al.*, 2021). Les actinobactéries d'origine marine ont particulièrement démontré un potentiel intéressant pour favoriser la croissance des plantes et atténuer les effets du stress salin. À cet effet, elles mettent en œuvre divers mécanismes tels que la production de phytohormones, de sidérophores et la solubilisation du phosphate. En outre, ces microorganismes sont considérés comme des agents puissants de biocontrôle, leur potentiel étant étroitement lié aux activités enzymatiques et antimicrobiennes visant à inhiber la croissance des espèces phytopathogènes (Rangseekaew et *al.*, 2021; Ebrahimi-Zarandi et *al.*, 2023).

II.1.1.1.2 Stress aux hydrocarbures

Les hydrocarbures dérivés du pétrole émergent comme l'une des sources majeures de pollution environnementale. Une fois introduits dans un écosystème intact, ils engendrent rapidement des modifications significatives en restreignant les fonctionnalités naturelles de cet environnement (Truskewycz et *al.*, 2019). Les hydrocarbures pétroliers sont des molécules organiques constituées de carbone et d'hydrogène, présentes dans le pétrole brut. Leur présence dans l'environnement issue des activités humaines, citant les marées noires, les fuites des réservoirs de stockage et les accidents du transport. Cette contamination exerce des conséquences néfastes sur l'écosystème, en particulier, la pollution des sols, de l'eau et de l'air, les sols agricoles n'étant pas épargnés (Adipah, 2019; Mohanta et *al.*, 2023). Les hydrocarbures dérivés du pétrole présentent une toxicité envers diverses formes de vie en raison de leurs propriétés mutagènes et carcinogènes (Skrypnik et *al.*, 2021).

Ce type de polluant est connu pour son potentiel inhibiteur envers une variété d'espèces microbiennes, entraînant ainsi une perturbation d'équilibre au sein de la communauté microbienne (Truskewycz et *al.*, 2019). La majorité des hydrocarbures pétroliers rencontrés dans l'environnement sont dégradés ou métabolisés par des bactéries indigènes en raison de leurs besoins énergétiques et en source de carbone nécessaire pour la croissance et la reproduction, ainsi que de la nécessité d'alléger le stress physiologique causé par la présence d'hydrocarbures pétroliers dans l'environnement microbien (Das et Chandran, 2011).

II.1.1.1.2.1 Stress au pétrole brut

Le pétrole brut est un polluant organique persistant, principalement composé d'hydrocarbures à courte chaîne, constituant une mixture de paraffine, d'hydrocarbures alicycliques et aromatiques, ainsi qu'une petite proportion de composés non hydrocarbures tels que les acides naphthéniques, les phénols, les thiols, les azotes hétérocycliques, les composés sulfuriques, les métallo-propyrines et les asphaltènes. Cet hydrocarbure, un mélange complexe, résulte d'une décomposition incomplète des débris végétaux et animaux au fil du temps. La fréquence du carbone dans ce composé varie entre 83 à 87%, bien que la teneur en hydrogène fluctue entre 10 à 14%. Il est important de souligner la présence de ratios d'azote, d'oxygène, de soufre et de métaux dans le pétrole brut (Ramirez et *al.*, 2017; Ahmed et Fakhruddin, 2018).

Les fuites accidentelles de pétrole sont fréquentes dans la plupart des cas, résultant de l'exploitation pétrolière, de dommages aux pipelines de transport, de déversements provenant des installations côtières et d'accidents de réservoirs de pétrole (Zhang et *al.*, 2021). La contamination par le pétrole touche plusieurs compartiments environnementaux, tels que l'air, les eaux superficielles, les plantes, les sols et les eaux souterraines (Adeniran et *al.*, 2023).

La contamination des sols et de l'eau devient de plus en plus grave. Les fuites de pétrole déclenchent des événements de pollution dans le sol et l'environnement, constituant une problématique mondiale. Ce problème suscite des préoccupations, car il n'affecte pas seulement le sol, mais également ses propriétés physiques et mécaniques (Zhang et *al.*, 2021). Les hydrocarbures peuvent affecter le métabolisme microbien et remodeler la structure et la fonction de la communauté bactérienne. D'ailleurs, les hydrocarbures pétroliers représentent des matières organiques réfractaires, directement et indirectement toxiques pour de nombreux microorganismes du sol. Ce polluant entraîne différentes conséquences au sein de la communauté microbienne, notamment des dommages à la membrane cellulaire, une modification de la fluidité et de l'intégrité de la membrane cellulaire, ainsi qu'une inhibition des activités métaboliques. Seule une proportion des microbes a la capacité de s'adapter aux environnements affectés par ce polluant (Jia et *al.*, 2023).

La présence de microorganismes dans un sol pollué par les hydrocarbures entraîne des changements au niveau de la composition et de la fonction des communautés microbiennes telluriques en raison de l'exposition prolongée aux hydrocarbures et de la résistance à la

biodégradation. Plusieurs microorganismes ont démontré leur capacité à tolérer et à s'adapter aux environnements affectés, notamment leur aptitude à utiliser ces composés comme sources de carbone pour leur développement (Abena et *al.*, 2020).

Les communautés de bactéries spécialisées dans la dégradation des hydrocarbures coexistent en adoptant des dynamiques de coopération, associées à des effets synergiques, et/ou de compétition, engendrant des effets antagonistes. Cette coexistence vise à assurer leur survie dans des milieux contaminés par les hydrocarbures. Néanmoins, il est important de noter que la compétition bactérienne, qu'elle se manifeste à l'échelle interspécifique (entre bactéries et champignons) ou intraspécifique (entre différentes espèces bactériennes), émerge comme un élément limitatif crucial pour l'efficacité globale du processus de biodégradation (Kebede et *al.*, 2021). Il est déduit qu'une monospèce microbienne ne peut pas dégrader tous les composants du pétrole brut. Cela nécessite plutôt l'application d'un consortium constitué de plusieurs populations microbiennes, pourvu d'un arsenal enzymatique, utilisé pour améliorer l'efficacité des processus de la biodégradation (Abena et *al.*, 2020).

II.1.1.1.2.2 Stress au kérosène

Le kérosène est une mixture liquide de substances chimiques, bouillant dans un intervalle de température variant entre 200 et 300 °C. Il est transparent, modérément huileux, et un liquide combustible obtenu par la distillation du pétrole brut. Le kérosène représente un composant majeur (> 60%) des hydroréacteurs d'aviation, principalement utilisé pour les systèmes de chauffage central au mazout, et il peut également servir de détergent ou de solvant. Il contient des hydrocarbures de C₁₁ à C₁₅, connus pour leur inflammabilité et leur insolubilité dans l'eau (Ahmed et Fakhruddin, 2018; Bekeshev et *al.*, 2023).

Le kérosène est largement utilisé en tant que carburant pour l'aviation et solvant général. En Afrique et dans certaines régions d'Asie, il est courant d'utiliser le kérosène comme principal combustible pour la cuisson. Des rapports indiquent qu'environ 80% des ménages à Djibouti et entre 25 et 34% en Guinée équatoriale, en Érythrée et au Nigeria utilisent le kérosène à cette fin. Initialement considéré comme un combustible propre par rapport aux combustibles solides, cette perception a changé en 2014 lorsque le kérosène a été déclaré un combustible polluant. Des études ont montré des niveaux élevés de particules fines (PM) provenant de la combustion du kérosène, comparables à ceux du gaz de pétrole liquéfié

(GPL) et du charbon, ce qui a conduit à décourager son utilisation en cuisine (Arku et *al.*, 2020).

Des bactéries provenant de fermes de fleurs, garages et anciennes routes asphaltées ont montré une capacité à dégrader le kérosène. Trois genres ont été identifiés: *Pseudomonas*, *Bacillus* et *Acinetobacter*. La croissance en présence de 1% et 3% de kérosène a démontré la capacité de ces bactéries à métaboliser le kérosène comme source d'énergie. Chez *Bacillus*, la dégradation du kérosène s'appuie sur des gènes et des enzymes cataboliques (Bekele et *al.*, 2023).

II.1.1.1.3 Stress aux métaux lourds

Les métaux lourds, définis comme des éléments métalliques ayant une densité plus importante que l'eau (5 g/cm^3) (Tchounwou et *al.*, 2014), caractérisés par leur haute conductivité, malléabilité et éclat. Ils perdent volontairement leurs électrons pour former des cations. Présents naturellement dans la croûte terrestre, leur composition varie selon la localité (Jaishankar et *al.*, 2014). Les métaux lourds particulièrement le mercure, le cadmium, l'arsenic, le chrome, le nickel, le cuivre et le plomb, sont présents dans l'environnement et nécessaires à la survie, mais deviennent dangereux quand ils s'accumulent dans l'organisme (Mitra et *al.*, 2022).

La contamination de l'eau et de l'air par les métaux toxiques est une inquiétude environnementale mondiale, qui menace des centaines de millions de personnes. Dans l'industrie alimentaire, la préoccupation liée à la contamination par les métaux lourds est associée aux conséquences sur la santé humaine et animale. Ces métaux peuvent se trouver naturellement dans l'eau et l'air, persistant dans l'environnement. Les métaux lourds peuvent réagir avec des systèmes biologiques en perdant un ou plusieurs électrons pour former des cations métalliques présentant une forte affinité avec les sites nucléophiles des macromolécules vitales (Tchounwou et *al.*, 2014; Balali-Mood et *al.*, 2021). L'introduction de métaux lourds dans l'environnement est principalement liée aux activités humaines, représentant la principale source d'exposition humaine à ces substances (Jaishankar et *al.*, 2014; Abd Elnabi et *al.*, 2022) (Voir Figure 5).

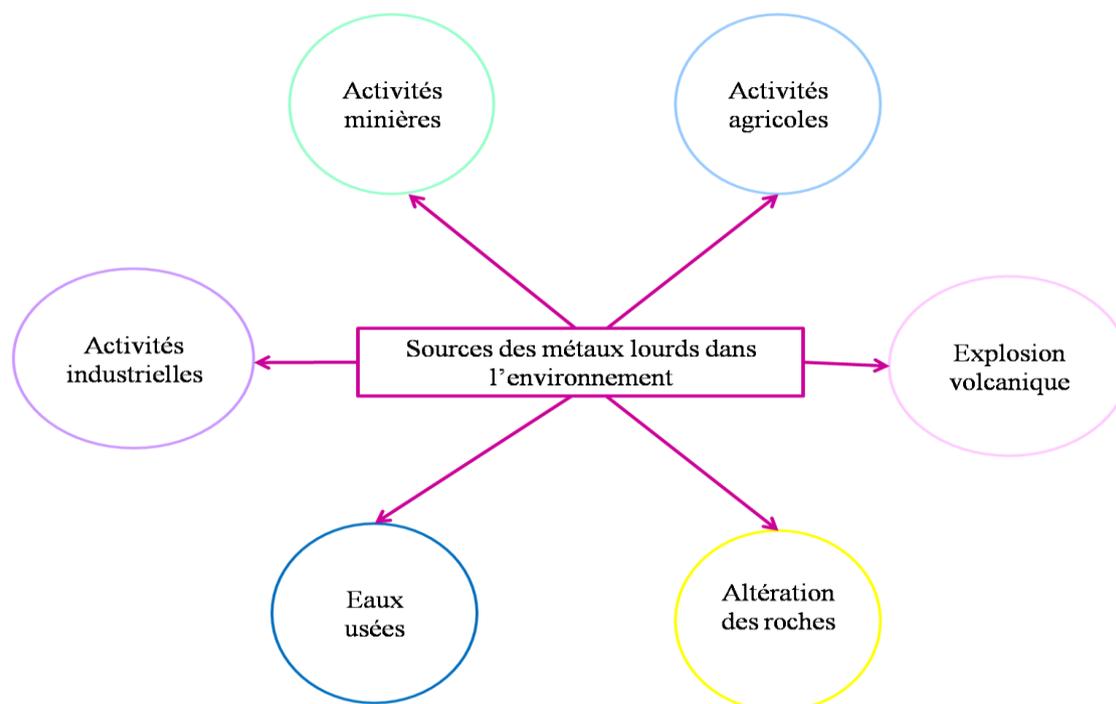


Figure 5. Sources et origines des métaux lourds dans l'environnement (Abd Elnabi et *al.*, 2022).

II.1.1.1.3.1 Stress au cuivre (Cu)

Le cuivre est un métal essentiel pour l'homme, les animaux et les plantes, bien qu'il puisse être toxique à des doses élevées (Tchounwou et *al.*, 2014). Il est le troisième métal plus abondant après le zinc et le fer (Mustafa et AlSharif, 2018). Le cuivre joue un rôle crucial en tant que micronutriment essentiel pour la croissance des bactéries, qui agit comme porteur d'électron et catalyseur redox dans diverses cuproenzymes. Il existe en équilibre chimique entre deux formes, étant facilement complexé par des ligands biologiques. L'ion cuivrique Cu (II) est favorisé dans des compartiments oxydants tels que le périplasme des bactéries à Gram négatif. En revanche, l'ion cuivreux Cu (I) est fréquemment présent lors de la croissance anaérobie et dans des compartiments réducteurs tels que le cytoplasme. L'ion cuivrique est biologiquement plus inerte que l'ion cuivreux, les rendant plus sûrs pour les cellules. Il est à noter que les réducteurs intracellulaires contribuent à la génération de Cu (I) à partir de Cu (II), et une quantité enzymatique supplémentaire de Cu (I) est produite pour l'incorporer dans les cytochromes oxydases contenant de cuivre (Samanovic et *al.*, 2012; Giachino et Waldron, 2020).

Il est crucial de noter que la forme toxique du cuivre est reconnue comme le Cu (II). En anaérobiose, la conversion du Cu (II) en Cu (I) peut réduire la survie des espèces bactériennes. La toxicité du cuivre est influencée par des facteurs tels que le pH, le potentiel redox, l'humidité, la température et la liaison du cuivre aux constituants environnementaux, ainsi que les interactions avec d'autres ions. La toxicité du cuivre n'est pas limitée à des zones fortement polluées; même la présence de 0,006 mg de Cu^{2+} .ml⁻¹ dans l'eau distillée a provoqué une diminution de la viabilité d'*Aerobacter aerogenes*, et la croissance et la survie de *Klebsiella aerogenes* ont été inhibées à des concentrations de 10^{-8} à 10^{-6} M (Trevors et Cotter, 1990; Igiri et al., 2018; Virieux-Petit et al., 2022).

Les mécanismes de toxicité de Cu(II) impliquent des interactions avec des protéines, des enzymes, des acides nucléiques et d'autres métabolites. L'ajout de sulfate de cuivre entraîne spécifiquement une diminution de la consommation d'oxygène par les microorganismes dans l'eau usée, ainsi qu'une diminution de l'oxygène dans un système de boues activées exposé aux ions cuivriques. Ces ions exercent une autre toxicité sur la survie, la respiration et les activités métaboliques des microorganismes (Trevors et Cotter, 1990; Ochoa-Herrera et al., 2011).

II.1.1.1.3.2 Stress au plomb (Pb)

Le plomb peut être libéré tout au long du cycle de vie de la production, de la consommation, de l'utilisation et du recyclage, sous forme de déchets solides, de scories, de cendres, de cendres volantes, de boues, d'érosion et d'autres formes. Les principales substances sont Pb, PbO, Pb₃O₄, PbCO₃, PbCl₂, PbO₂, Pb₂O₃, PbSO₄, et bien d'autres. Ces composés peuvent se disséminer dans le sol, l'eau et l'air, générant ainsi une pollution au plomb (Yang et al., 2020). Le plomb existe sous deux formes, organique et inorganique, toutes deux toxiques. Il est crucial de noter que les formes organiques sont caractérisées par leur potentiel mortel pour les êtres vivants. En revanche, les formes inorganiques sont généralement présentes dans le sol, les particules de poussière, les anciennes peintures, etc (Wan et al., 2015; Raj et Das, 2023).

Le plomb est un élément néfaste pour les microorganismes, étant létal même à faible concentration pour les cellules bactériennes (Ashka, 2023). Il est important de souligner l'impact de la contamination par le plomb sur les communautés microbiennes, aussi bien du

point de vue de l'activité que de la composition, étant donné que les microorganismes peuvent agir en tant qu'indicateurs directs ou indirects des modifications de l'écosystème résultant des perturbations. La toxicité microbienne du plomb se manifeste par le déplacement ou la substitution d'éléments essentiels au sein des protéines nucléaires, l'inhibition de l'activité enzymatique, ainsi que la détérioration des membranes cellulaires ou des structures de l'ADN (Elizabeth George et al., 2019).

Il est rapporté qu'une concentration de chlorure de plomb de 3 mg/mL a inhibé la croissance de *Desulfovibrio desulfuricans* G20. Le plomb pénètre dans les cellules microbiennes par absorption des métaux divalents nécessaires tels que le Mn^{2+} et Zn^{2+} . L'empoisonnement au plomb entraîne des modifications structurelles au niveau des protéines et des acides nucléiques, une inactivation de l'action enzymatique, une perturbation des fonctions membranaires, des phosphorylations oxydatives et des modifications de l'équilibre osmotique (Ashakan, 2023). C'est pourquoi les microorganismes ont développé certains mécanismes pour surmonter le stress au plomb et inhiber ces effets négatifs sur leur croissance et leur métabolisme. Certaines bactéries sont connues pour leur résistance au plomb, comme le *Citrobacter sp.*, *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Bacillus pumilus*, *P. aeruginosa*, *Pseudomonas sp.* Les bactéries adoptent plusieurs stratégies, telles que la biosorption, la précipitation, la chélation, la séquestration extracellulaire, la bioaccumulation intracellulaire et la compartimentalisation (Elizabeth George et al., 2019; Mitra et al., 2021).

II.1.1.1.3.3 Stress au mercure (Hg)

Le mercure est un métal lourd appartenant à la série des éléments de transition du tableau périodique (Tchounwou et al., 2012), caractérisé par sa toxicité, persistance et mobilité (Gworek et al., 2020). Ce polluant est présent dans l'air, l'eau et le sol (Balali-Mood et al., 2021). Le mercure peut se présenter sous plusieurs formes, incluant le mercure inorganique tel que le mercure métallique, volatile (Hg^0) et les ions mercureux (Hg^+) ou mercuriques (Hg^{2+}), ainsi que le mercure organique incorporé dans des structures contenant des atomes du carbone (méthyl, éthyl, phényl ou des groupements similaires) (Bernhoft, 2012). Ce métal ne se dégrade pas facilement dans l'environnement et est mobile en raison de sa volatilité (Gworek et al., 2020). Le mercure est émis par la nature, les activités anthropiques et des réémissions. Depuis le début de la révolution industrielle, la quantité de mercure atmosphérique est en augmentation (dix fois) et que depuis l'ère postindustrielle

jusqu'aujourd'hui, il rapporté que la quantité du mercure accumulées dans les sols et sédiments a augmenté de 3 à 10 fois (González-Reguero et al., 2023).

Même les communautés microbiennes n'ont pas été épargnées par les effets du mercure. La croissance des microorganismes telluriques est inhibée par la contamination des sols par le mercure, affectant négativement leurs activités vitales et la structure de leurs communautés (Zheng et al., 2022). Il est rapporté que le mercure a inhibé la croissance et le taux de respiration chez la souche *Cupriavidus Metallidurans* MSR33 dans un milieu liquide en aérobiose. Ces observations ont été renversées après 5 heures; cette souche a pu éliminer le mercure dans le milieu liquide en anaérobiose, notant que l'efficacité de cette élimination est augmentée en aérobiose. Ce résultat suggère la possibilité d'utiliser cette souche comme outil de bioremediation des eaux contaminées par le mercure (Bravo et al., 2020).

Dans un environnement pollué par ce métal lourd, les bactéries tentent de se défendre contre le mercure en le détoxifiant, leur permettant de survivre dans un tel environnement (Kusumawati, 2021). Les bactéries et les archées disposent plusieurs mécanismes pour faire face aux niveaux élevés de mercure dans les sols. Chez ces microorganismes, l'opéron *mer* code pour la détoxification. Le gène central de la résistance au mercure dans l'opéron *mer* est *merA*. Ce dernier code pour l'enzyme mercurique réductase qui catalyse la conversion du mercure divalent (Hg^{+2}) en mercure élémentaire (Hg^0). La conversion d' Hg^{+2} en MeHg est effectuée par certaines bactéries et archées. Il est important de signaler que le rôle physiologique du méthylmercure reste toujours inconnu et n'est pas clair, car la méthylation du mercure n'attribue pas une résistance à la toxicité du mercure (Frey et al., 2022).

II.1.1.2 Stress physique

Les microorganismes sont constamment exposés aux stress physiques, tels que les variations de températures, de pH, le rayonnement ultraviolet (Otto, 2014). D'abord, la température constitue l'un des paramètres vitaux pour les microorganismes, pouvant affecter leur croissance et leur survie. En cas du stress thermique, les températures élevées influencent négativement le repliement des protéines, induisant la formation des agrégats qui interfèrent leur fonctionnement. Et donc, pour résister cette situation, les bactéries développent à la réponse au stress thermique, en renforçant l'expression des protéines chaperonne, telles que les protéases dégradant ces agrégats formés. La compréhension de la réponse microbienne au froid n'est pas encore claire, mais semble être commune en raidissement du matériel

génétique, ce qui conduit au ralentissement de la réplication de l'ADN, de la synthèse protéique et lipidique (Bullivant et al., 2024). La majorité des microorganismes a démontré une capacité à survivre et s'adapter aux changements légers de pH dans leur environnement. Chez les espèces pathogènes, la tolérance à l'acidité représente un problème majeur pour la santé, puisque ces espèces adoptent cette stratégie comme une mesure préventive. En revanche, chez les espèces utilisées comme probiotiques, la tolérance à l'acide est hautement souhaitée pour un meilleur fonctionnement physiologique. Il s'avère clair que la tolérance à l'acidité est un trait recommandé chez les espèces bactériennes productrices des produits de valeur, conférant une grande stabilité au cours des processus de la synthèse (Guan and Liu, 2020). Le rayonnement UV est le stress le plus néfaste pour la communauté microbienne, parce qu'elle affecte la diversité, la dynamique et la structure microbienne, entraînant des dommages au niveau moléculaire, en particulier l'ADN, les protéines et lipides. Dans les environnements hostiles, les bactéries sont exposées inévitables au rayonnement solaire néfaste, c'est pourquoi, elles ont développé certaines réponses afin de faire face au stress UV, basées sur des mécanismes de réparation de l'ADN, la tolérance au stress oxydatif induit par le stress UV et une régulation protéomique (Pérez et al., 2017).

II.1.2 Stress biotique (stress biologique)

Le stress biotique fait référence au stress induit par des organismes vivants, tels que les bactéries, les champignons, les virus et les nématodes (Teiba et al., 2024). Dans les communautés bactériennes, la compétition construit un exemple solide du stress biotique, au sein de laquelle, et dans un environnement assurant une grande diversité des niches écologiques, c'est le cas des cultures statiques ou en biofilm, la compétition favorise la sélection des variantes présentant une meilleure adaptation, et ensuite une meilleure colonisation de ces niches. Le *P. fluorescens* en culture statique donne naissance à plusieurs variantes avec une tendance à coloniser des niches particulières, leur surproduction des exopolysaccharides, améliorant sa flottabilité et ainsi son accès à l'oxygène (Hibbing et al., 2010). Diverses interactions antagonistes entre les bactéries ont été documentées, qui visent l'inhibition de la croissance, et la production et la sécrétion des enzymes hydrolytiques, des antibiotiques afin de lyser, envaser, et se développer au détriment des cellules détruites (Pérez et al., 2016). Les bactéries sont souvent exposées à la prédation, l'exemple le plus célèbre est le *Bdellovibrio bacteriovorus*, qui a la capacité de s'attacher à la paroi extérieure des proies à Gram négatif (Wucher et al., 2021), en s'installant dans le périplasme et ensuite tuant son

hôte. Dans un milieu épuisé en nutriment, les bactéries prédatrices sont plus efficace en terme de tuer leur proie par rapport aux phages. Les bactéries prédatrices sont classées en deux catégories, prédateurs obligatoires et prédateurs facultatifs, en fonction de leur dépendance aux proies. Les bactéries prédatrices obligatoires incluent le genre de *Bdellovibrio* et organismes apparentés (BALO: *Bdellovibrio like organisme*). Leur mode de vie dépend de la présence de la proie dans l'environnement naturel, et leur viabilité réduite est signalée après quelques heures de l'indisponibilité de la proie. Tandis que, les prédateurs facultatifs englobent certains genres bactériens tels que *Myxococcus*, *Lysobacter* et *Herpetosiphon*. Ces prédateurs tuent leur proie *via* la sécrétion des substances antimicrobiennes dans l'environnement. Les prédateurs facultatifs peuvent maintenir le présence en culture bactérienne pure et vivre librement indépendamment de leur proie dans l'environnement naturel (Mu et *al.*, 2020).

II.2 Mobilité et Chimiotactisme

En 1683, Antony Leenwenhoek fut le premier à observer les bactéries, qu'il désigna alors par le terme animalcules. La mobilité des bactéries a depuis attiré l'attention des chercheurs (Heo, 2016). D'ailleurs, les bactéries sont des organismes unicellulaires doués de la capacité à coloniser des différents environnements, dépendant de la disponibilité des nutriments ainsi que les caractéristiques de la surface colonisée. Ainsi, les bactéries peuvent demeurer sur une surface ou se déplacer vers d'autres en quête de conditions propices, voire en attente de saisons favorables (Harshey, 2003).

La mobilité est définie comme l'aptitude à se déplacer, utilisée par les organismes procaryotes, qui recourent aux flagelles et à des fibrilles spéciales pour le gliding. Seules les bactéries spirales et la moitié des bacilles sont mobiles, tandis que les bactéries cocciques ne le sont pas (Aygan et Arikan, 2007). La mobilité bactérienne joue un rôle crucial dans la virulence des bactéries pathogènes, comme *Salmonella enterica* et *Helicobacter pylori*, et les interactions symbiotiques (Nakamura et Minamino, 2019). On recense six types de mobilité, à savoir le swarming, swimming, gliding, twitching, sliding et darting (Henrichsen, 1972).

La mobilité bactérienne ne se limite pas à un moyen de déplacement, mais constitue également la première étape du développement des biofilms. Cette phase est décrite dans le cas de l'organisme modèle *P. aeruginosa* (Prub, 2017). Il est signalé que la mobilité est extrêmement liée au comportement chimiotactique, qui est défini comme la capacité d'un

microorganisme à s'orienter en réponse à certains gradients chimiques (Aygan et Arikan, 2007). Les bactéries mobiles sont attirées par certaines substances chimiques (chimiotaxie positive) et repoussées par d'autres (chimiotaxie négative). En résumé, la chimiotaxie représente la mobilité dirigée d'un organisme selon des conditions environnementales spécifiques, où il peut détecter des substances attractives (chimio-attractantes) ou répulsives (chimio-répulsives) (Al-der, 1975).

Le chimiotactisme est le meilleur exemple du comportement unicellulaire, permet la nage bactérienne pour suivre un gradient chimique dans l'environnement. Les études approfondies sur la chimiotaxie se sont concentrées particulièrement sur *E. coli* et *S. enterica serovar Typhimurium* (Vladimirov et Sourjik, 2009; Wadhams et Armitage, 2004).

Différentes espèces bactériennes utilisent un filament à rotation hélicoïdale, communément appelé flagelle, pour générer des forces propulsives qui orientent la bactérie vers l'avant. La modélisation de la dynamique de la population microbienne suppose que la mobilité et les capacités chimiotactiques pourraient jouer un rôle important dans la compétition évolutive en influençant le taux de croissance cellulaire (Vladimirov et Sourjik, 2009).

La mobilité et le chimiotactisme ont démontré leur importance pour la colonisation des plantes, notamment grâce au rôle clé des flagelles polaires dans l'adhésion aux racines. Cependant, les flagelles latéraux s'avèrent ne pas jouer un rôle majeur dans les premiers stades de la colonisation. En perturbant la rotation du flagelle polaire, on observe une induction de l'expression des gènes structuraux codant pour les flagelles latéraux (McCarter, 2004).

II.2.1 Types de mobilité bactérienne

La mobilité est l'une des caractéristiques des microorganismes, en leur conférant l'aptitude à s'adapter et survivre dans l'environnement externe. Il est important de noter que toutes les bactéries n'ont pas la capacité de mouvements actifs. Les flagelles permettent majoritairement le mouvement. Les cellules bactériennes possèdent des flagelles avec une variabilité de quantité et d'emplacement. Toutefois, il existe des modes de mobilité, tels que ceux générant des pili IV, font constamment l'objet des études approfondies (Zagadło et al., 2023).

Selon Henrichsen (1972), seuls les types de mobilité swarming et swimming dépendent de l'implication des flagelles, tandis que le type twitching dépend à la fois de la force motrice intrinsèque et des fimbriae (Henrichsen, 1972; Harshey, 2003). La forme de mobilité la plus abordée est le swimming, où les cellules nageuses se déplacent individuellement dans des environnements aquatiques en utilisant leur système chimiotactique pour se diriger vers des zones riches en nutriments (Tremblay, 2007).

Le type de mobilité swarming nécessite impérativement la présence et l'implication de flagelles fonctionnels (Harshey, 2003). En revanche, la mobilité de type twitching, qui implique une translocation bactérienne sur une surface solide, dépend de l'intégrité des pili de type IV (Mattick, 2002). Il est important de noter que le swarming et le twitching sont régulés par le quorum sensing (Tremblay, 2007).

D'après une étude, le mécanisme du déplacement appelé gliding dépend des forces motrices intrinsèques et des interactions cellulaires, tandis que le sliding nécessite une croissance basée sur la dispersion par expansion. Enfin, le darting est lié à la croissance au sein d'agrégats capsulés, se dispersant par éjection (Henrichsen, 1972). Cependant, les détails concernant le sliding et le darting restent limités d'après les informations disponibles (Harshey, 2003).

Selon McBride (2001), le gliding est défini comme une translocation fluide des cellules sur une surface par un processus actif. Ce mode du déplacement est observé chez *Myxococcus xanthus*, *Flavobacterium johnsoniae* et *Phormidium uncinatum*. Il est à noter que *P. aeruginosa* et *Neisseria gonorrhoeae* se déplacent via le mode twitching. En revanche, *Proteus mirabilis*, *V. parahaemolyticus* et *Serratia marcescens* sont associés à une translocation de type swarming (McBride, 2001).

Le gliding, le sliding et le darting sont tous abordés comme des modes de translocation chez les staphylocoques. Il est important de noter que le sliding et le darting sont des formes passives de mobilité, tandis que le gliding est perçu comme une force active (Pollitt et Diggle, 2017).

II.2.1.1 Mobilité de type Swimming

La mobilité de nage représente l'une des compétences de base dans le cycle de vie des bactéries, leur permettant de survivre dans des environnements défavorables (Zegadlo et al., 2023). Henrichsen a caractérisé la mobilité de type swimming comme étant un motif micromorphologique non organisé. Durant ce mode, les cellules se déplacent de manière individuelle et aléatoire, similaire au déplacement des bactéries flagellées sur une surface humide. Ce phénomène est observé chez *E. coli* et *P. aeruginosa* (Henrichsen, 1972; Pollitt et Diggle, 2017).

Dans un environnement aqueux, les bactéries nagent le long de la surface en mettant en œuvre différents mécanismes (Vicario et al., 2015). Les bactéries nageuses ont développé des systèmes de propulsion efficaces dans des environnements isotropes caractérisés par de faibles nombres de Reynolds, utilisant des rotations de flagelles hélicoïdaux (Zhou et al., 2017). Généralement, entre cinq et huit flagelles péritriches émergent de manière aléatoire à la surface cellulaire, chacun étant entraîné par un moteur situé à sa base. Ce moteur agit comme un dispositif rotatif réversible, exploitant le potentiel transmembranaire (force proton-motrice) comme source d'énergie (Harshey, 2003).

Il est important de noter que le flagelle se compose de trois unités structurales: le corps basal, englobant le moteur rotatoire ainsi qu'un complexe de protéines stationnaires jouant un rôle crucial dans la génération de la force motrice et la rotation du flagelle. Le crochet constitue la structure flexible entre le corps basal et le filament rigide (Deditius et al., 2015).

Les études classiques ont emphasized l'importance qualitative du mode swimming pour les bactéries, le présentant comme les premiers microsenseurs des gradients chimiques (Mitchell et Kogure, 2005). Cette mobilité se produit lorsque des cellules individuelles nagent dans une direction aléatoire, propulsées par leur flagelle rotatoire (Heo, 2016).

Durant la nage des cellules propulsées, tous les flagelles se regroupent en un faisceau à une extrémité du corps cellulaire, propulsant ainsi la bactérie vers l'avant. L'avantage de la possession de plusieurs flagelles réside non pas dans le renforcement de la propulsion, mais dans la capacité de changer la direction par culbutage. Ce phénomène survient lorsque le dernier moteur rotatif ralentit ou inverse sa direction, provoquant la dispersion du faisceau, connue sous le terme « unbundling » ou dégroupage (Riley et al., 2018).

La rotation du moteur dans le sens antihoraire (CCW) induit la formation d'ondes hélicoïdales se propageant du proximal au distal, en exerçant ainsi une poussée sur la cellule. Les forces mécaniques et hydrodynamiques favorisent l'assemblage des filaments flagellaires en un faisceau autour d'un axe le long du corps cellulaire. La coordination du faisceau flagellaire résulte en une course ou une nage fluide propulsant la bactérie le long de trajectoires linéaires à des vitesses atteignant jusqu'à 40 $\mu\text{m/s}$ (Harshey, 2003).

Les bactéries adoptent différentes stratégies locomotives tout dépend de leur flagellation, en particulier courir et culbuter, courir et reculer, courir et tourner. Les bactéries péritriches, telles que les souches d'*E. coli*, ont fréquemment présenté le mécanisme de courir et culbuter, induit par le regroupement des flagelles autour du corps cellulaire. En revanche, les bactéries monotriches, comme le *P. aeruginosa*, ne peuvent pas culbuter à cause de la présence d'un seul flagelle polaire. Ces bactéries nagent principalement par deux mécanismes, la course et la marche-arrière, qui est contrôlés par l'ajustement de la fréquence de basculer entre le mouvement en avant et en arrière (Vater et al., 2014).

Les filaments flagellaires d'*E. coli* mesurent plusieurs micromètres de longueur avec un diamètre de 20 nm, s'agencent en un faisceau de quatre ou cinq filaments. Chaque filament est lié à un moteur rotatif réversible à sa base, et tourne à une fréquence d'environ ≈ 100 Hz. Les propriétés fascinantes des bactéries nageuses, telles que la vitesse moyenne de nage, la rotation du faisceau flagellaire et le couple généré par le moteur moléculaire, ont été également étudiées (Chattopadhyay et al., 2006).

Les bactéries telles qu'*E. coli* avec des flagelles péritriches présentent un mouvement de nage tridimensionnelle dans les milieux aqueux. Ce modèle de marche aléatoire 3D est caractérisé par des cycles du mouvement rectiligne, appelé course, interrompus par des virages soudains, ou culbutes. La course s'est produite lorsque les flagelles tournent dans le sens antihoraire, en formant un faisceau hélicoïdal. Les culbutes apparaît lorsque les flagelles tournent dans le sens horaire, ce qui entraîne le désassemblage du faisceau (Huo et al., 2021).

L'importance du modèle « courir-inverser-arrêter » chez *P. aeruginosa* est encore controversée, cela suppose que l'arrêt du moteur flagellaire peut entraîner un changement de direction grâce aux mouvements browniens internes. Une étude sur le comportement dynamique des flagelles de cette bactérie utilisant la fluorescence pour marquer les flagelles, a démontré un mode de nage, le mode d'enroulement. Au cours de ce mode, le filament

s'enroule autour du corps cellulaire induisant une direction de nage clairement aléatoire, observée également chez d'autres bactéries possédant des flagelles polaires comme *Helicobacter suis*, *P. putida* et *Shewanella putrefaciens* (Tian et al., 2022).

Une fraction des bactéries associées aux hôtes animaux soit mobile, cette mobilité et la chimiotaxie sont des mécanismes clés pour une colonisation réussie et la virulence de certains pathogènes, comme *Campylobacter jejuni* gastro-intestinal, *S. enterica* serovar Typhimurium, *H. Pylori* et *V. cholerae*. Des fois les bactéries non flagellés et non mobiles utilisent des bactéries nageuses, comme le genre *Staphylococcus* est traditionnellement connu comme non mobile dans les environnements fluide à cause de l'absence des flagelles. Il est indiqué que les espèces staphylocoques atteignent efficacement et prospèrent dans leurs niches écologiques, ce qu'a supposé que *S. aureus* a acquis par l'intermédiaire de *P. aeruginosa* une capacité accrue de parcourir de plus longues distances, et marqué leur colonisation dans des niches relativement inaccessibles en absence des bactéries porteuses nageuses. Ce qui introduit la théorie de covoiturage de *S. aureus* sur *P. aeruginosa*, et signale l'aptitude de *P. aeruginosa* de transporter une autre charge staphylococcique *S. epidermidis* (Zagadło et al., 2023).

II.2.1.2 Mobilité de type Swarming

La mobilité de type swarming ou en d'essaimage est principalement basée sur la différenciation des cellules végétatives en cellules essaimantes avec plusieurs flagelles, permettant d'adopter une migration rapide et coordonnée sur les surfaces solides (Zagadło et al., 2023). Le terme swarming ou essaimage est dérivé du verbe essaimer, qui signifie se déplacer en grand nombre, ce qui est associé au déplacement rapide en groupe plus important (Kearns, 2010). Le swarming représente une forme de translocation à la surface, induite par l'action des flagelles, se distinguant de type swimming. Son motif micromorphologique présente une organisation remarquable sous forme de tourbillons et de bandes, où le mouvement est continu et suit régulièrement un axe le long des cellules, regroupées principalement en faisceaux pendant le déplacement (Henrichsen, 1972).

En d'autres termes, cette mobilité se définit comme un déplacement rapide (2 à 10 $\mu\text{m/s}$) et coordonné d'une population bactérienne sur une surface semi-solide. Comme mentionné précédemment dans la section sur les différents types de mobilité bactérienne, le

swarming un est exemple clair sur l'organisation multicellulaire régulée par le quorum sensing (Tremblay, 2007). Différents phénotypes sont présentés au cours de l'essaimage, mais ne sont pas tous égaux. A titre d'exemple, le *P. aeruginosa* n'exprime pas un phénotype typique, cellules allongées et hyperflagellées, hautement similaires à d'autres bactéries en essaime. Les phénotypes d'essaim dévoilent une grande variabilité non seulement au sein d'une espèce mais aussi au sein d'une souche. Cela est mis en pratique lorsque différentes souches de *P. aeruginosa* cultivées dans des conditions similaires présentent différents patterns d'essaim (Zagadło et al., 2023).

La mobilité de type swarming nécessite la présence du flagelle, une observation soutenue par plusieurs études ayant utilisé des mutants déficients de la synthèse ou la fonction du flagelle, conduisant à l'élimination de la diffusion des colonies. Il est à noter que les bactéries individuelles se déplacent par swimming, tandis que celles utilisant le swarming se caractérisent par un mouvement en groupes, communément appelé rafting ou radelage. La formation dynamique de ces radeaux implique un déplacement coordonné des cellules incluses, contrastant avec l'immobilité rapide des cellules perdues d'un radeau. Une autre caractéristique à renforcer est la production et la sécrétion de surfactants par les bactéries lors du déplacement de type swarming (Kearns, 2010).

Il est important de noter que l'essaim bactérien s'avère jouer un rôle crucial dans l'interaction pathogène-hôtes et est signalé comme un facteur de virulence assez important. Chez *P. mirabilis*, la différenciation au cours d'essaim en une cellule allongée hyperflagellée est couplée à la capacité de la bactérie à pénétrer dans les cellules hôtes corrélée avec une expression accrue des protéines de virulence comme la protéase, l'hémolysine et l'uréase (Zagadło et al., 2023).

Diverses études suggèrent une corrélation entre le quorum sensing, la formation de biofilms et la mobilité de type swarming. L'analyse de cette forme de translocation a permis de distinguer deux groupes bactériens. Le premier groupe présente une mobilité optimale sur l'agar semi-solide (0.5% à 0.7%) (Tremblay, 2007), incluant des genres tels que *Serratia* (O'Rear et al., 1992; Tremblay, 2007; Soo et al., 2008; Shanks et al., 2013), *Salmonella*, (Kim et Surette, 2005; Deditius et al., 2015), *Aeromonas* (Kirov et al., 2002; Tremblay, 2007), *Bacillus* (Kearns et Losick, 2003; Tremblay, 2007; Salvetti et al., 2011), *Yersinia* (Atkinson et al., 2006; Tremblay, 2007) et *Pseudomonas* (Tremblay, 2007; Yeung et al., 2009)

En revanche, le deuxième groupe utilise le « swarming » sur des milieux solides avec une concentration d'agar plus élevée (1.5% à 2%), comprenant des genres comme *Proteus* (Belas et al., 1998; Tremblay, 2007; Armbruster et al., 2013), et *Vibrio* (Jaques et McCarter, 2006; Tremblay, 2007; Bottcher et al., 2016).

Le swarming lag ou le retard d'essaimage, l'allongement cellulaire et la formation de colonies sont des phénotypes principalement associés à la mobilité de type swarming. Le swarming lag se définit comme la période nécessaire pour que les bactéries deviennent physiologiquement compétentes pour manifester une mobilité de type swarming (Kearns, 2010; Patrick et Kearns, 2012).

La mobilité en swarming est caractérisée par la formation de motifs dendritiques en fractales, et le phénotype swarming varie en fonction du milieu nutritionnel, présentant par exemple une configuration circulaire autour du point d'inoculation chez *P. mirabilis* (Tremblay, 2007). La croissance des colonies bactériennes sur un milieu favorable à l'essaimage entraîne la différenciation des cellules végétatives en cellules essaimantes qui sont hyperflagellées et plus longues que les cellules végétatives. D'ailleurs, les cellules essaimantes isolées ne manifestent leur mobilité que dans des concentrations d'agar faibles ou en présence d'un surfactant dans le milieu (Harshey, 2003).

Plusieurs signaux environnementaux peuvent influencer la transition de la nage vers l'essaimage ont été observés chez plusieurs espèces bactériennes. La différenciation collective des cellules nageuses en cellules d'essaim dépend de manière critique de la densité des signaux cellulaires, supposant un rôle potentiel des surfactants dans cette transformation vers la forme d'essaimage (Calvio et al., 2005). Les stimuli nécessaires pour le contrôle de mouvement swarming sont sensibles à la densité cellulaire, activent la biogenèse des flagelles via l'opéron flagellaire *flhDC* (Zagadło et al., 2023).

Ces signaux évoquent une réponse chimiotactique qui pourrait influencer la différenciation en cellules essaimantes. L'initiation de cette mobilité est associée à des changements dans l'expression des gènes liés au métabolisme, à l'acquisition et au transport du fer chez plusieurs espèces bactériennes. La limitation en fer induit la différenciation des cellules en swarmer et perturbe le système d'acquisition du fer (Lin et al., 2016). Fondamentalement, l'initiation du swarming est conditionnée par le contact bactérien avec une surface solide (Calvio et al., 2005).

La mobilité en swarming est hautement liée à la fonction des flagelles. L'expression des gènes responsables de la biosynthèse des flagelles est hiérarchiquement organisée, avec un sommet conduit par un facteur de transcription maître, également connu sous le nom de régulateur maître. Ces régulateurs servent d'un point d'intégration des signaux environnementaux, activant l'expression des gènes flagellaires et régulant la formation des corps basaux du flagelle (Patrick et Kearns, 2012).

Les lipopolysaccharides (LPS) jouent un rôle déterminant dans la mobilité en swarming des bactéries à Gram négatif, comme acteur d'osmolarité et facilitant le phénomène d'essaims. Au cours d'essaim typique, après le contact avec la surface, les cellules bactériennes peuvent s'étendre jusqu'à 40 fois et augmenter le nombre de flagelles. L'étape suivante consiste à une division en cellule courte qui ne peuvent pas se transloquer. Les cycles d'allongement des cellules, de mouvement et de division se répètent constamment, tout en créant un motif caractéristique (Zagadło et al., 2023).

La relation entre la morphologie unicellulaire, le comportement cellulaire et l'expansion des colonies d'essaims à l'échelle de la population initiale est peu discutée (Little et al., 2018). *P. aeruginosa* nécessite des flagelles et éventuellement des pili du type IV dans le phénomène du swarming. Il est important de mentionner que la production des surfactants, prenant l'exemple des rhamnolipides et l'acide 3-(3-hydroxyalcanoyloxy) alcanoïque (HAAs), est assez importante dans la mobilité de type swarming. Ces surfactants contribuent à surmonter la forte tension superficielle entre les bactéries et leur environnement. L'exigence des surfactants suppose que le système de quorum sensing joue un rôle crucial dans la propagation cellulaire sur la surface, vue que ce système régule la production des surfactants (Yeung et al., 2009). Néanmoins, d'autres travaux proposent que des processus biologiques tels que la chimiotactisme et le quorum sensing ne sont pas impliqués dans la mobilité de type swarming (Yang et al., 2017).

Chez certaines espèces bactériennes, la mobilité de type swarming entraîne une augmentation de l'expression/sécrétion de déterminants de la virulence. Parallèlement, elle réduit la sensibilité aux antibiotiques et à d'autres agents antimicrobiens. Un exemple concret est observé chez *Bacillus cereus*, où une sécrétion significative de l'entérotoxine de type HBL est constatée lorsque la bactérie adopte la forme swarmer (Salvetti et al., 2011).

Toutes les formes d'essaims partagent des caractéristiques communes, citant la mobilité collective et coopérative dans un film épais, l'hyperflagellation, la sécrétion de tensioactifs et une densité élevée de la population de cellules d'essaim. En fait, les essaims sont caractérisés par la formation d'une monocouche avec une largeur de quelques millimètres. Dans la majorité des cas, cette forme monocouche évolue rapidement vers une croissance multicouche derrière la zone d'essaims, ce qui constitue par la suite la biomasse de l'essaim (Hamouche et *al.*, 2017).

Ces différenciations cellulaires engendrent des modifications substantielles au niveau métabolique et génétique. Le swarming est décrit comme un mode de vie complexe et adaptatif, répondant à des stimuli spécifiques de leur environnement plutôt qu'à un simple phénomène locomotif (Overhage et *al.*, 2008). Les cellules en mode swarming surexpriment des milliers des gènes associés à la virulence, notamment ceux codant pour le système de sécrétion de type III. En addition, les swarmers ont dévoilé une forte résistance adaptative aux antibiotiques (ciprofloxacine, gentamicine et polymyxine) (Yeung et *al.*, 2009).

E. coli forme des essaims sur la gélose Eiken en conditions d'humidité et des nutriments, en adoptant le comportement caractéristique des bactéries pérित्रiches. Le mouvement en essaim diffère de celui en milieu liquide, où *E. coli* adopte un modèle de marche aléatoire avec des culbutes. Sur une surface humide, les bactéries évitent les culbutes, se réorientant par des collisions et tout en effectuant des inversions tête-queue pour maintenir leur trajectoire. Ces inversions sont importantes pour échapper aux environnements confinés, aligner les cellules et faciliter l'écoulement à travers le bord de l'essaim. Les inversions d'*E. coli* s'accompagnent d'une transformation du filament, passant de l'état normal à frisé, induite par des moteurs changeant de rotation dans sens antihoraire vers le sens horaire (Wu et *al.*, 2020). Le swarming bactérien se propage le plus souvent vers l'extérieur à partir d'un point d'inoculation et sert de témoin au chimiotactisme. Cependant, le chimiotactisme ne sert pas d'un trait décisif de la mobilité de type swarming. Les bactéries présentant une mobilité de type swimming sont caractérisées par une réponse chimiotactique individuelle, ou des mouvements biaisés de course et de culbute, c'est le cas pour *E. coli* (Yang et *al.*, 2017).

II.2.1.3 Mobilité de type Twitching

Le concept de mobilité de type twitching a été initialement introduit par Lautrop (1961) pour décrire le déplacement indépendant du flagelle chez *Acinetobacter calcoaceticus* (Semmler et al., 1999). Certains chercheurs ont défini le twitching comme étant une forme de mobilité sociale similaire au gliding. Cette forme de mobilité semble favoriser une colonisation rapide de nouvelles surfaces par des communautés bactériennes, dépendant d'une abondance élevée de nutriments (Harshey, 2003). Durant ce processus et sur une surface solide, les cellules se déplacent principalement individuellement tout en formant de petits agrégats. Ce mouvement intermittent et saccadé, ne suit pas un axe régulier le long de la cellule (Henrichsen, 1972; Pollitt et Diggle, 2017).

La mobilité de type twitching consiste en un mouvement à travers des surfaces abiotiques et biotiques comme le verre, le plastique ou les tissus cutanés par le biais des composés multi-sous-unités ressemblant aux poils appelés Pili de type IV (Zagadło et al., 2023). Le phénomène de twitching a été observé chez *Neisseria gonorrhoeae*, *P. aeruginosa* et certaines souches d'*E. coli*. En général, cette translocation nécessite une surface fortement humide, et les cellules se déplacent sur plusieurs micromètres lorsqu'elles sont éloignées les unes des autres. Henrichsen (1972) a constaté l'éventuelle implication des pili polaires, signalant une corrélation entre la présence de ces pili et la capacité à manifester une mobilité de type twitching (McBride, 2001). L'attachement et la rétraction des pili de type IV sont à l'origine de ce type du mouvement, découvert avant même l'identification du pili de type IV (Pollitt et Diggle, 2017).

La mobilité en twitching est basée sur des cycles d'extension rapide, d'adhérence à la surface et des rétractions de pili type IV à des vitesses d'environ 1 $\mu\text{m/s}$. La vitesse de ce type de mobilité fluctue entre 0.02 et 0.16 $\mu\text{m/s}$, peut être influencée par certaines conditions telles que le nombre des pili, la surface, et la disponibilité d'oxygène. Il est supposé que cette signalisation est orchestrée par l'opéron *Chp* chez *P. aeruginosa* (Zagadło et al., 2023).

Les pili guident la mobilité à travers des cycles de polymérisation, d'adhésion et de rétraction. Lorsqu'ils sont attachés à une surface, la rétraction d'un pili dans le corps cellulaire, suivie de sa dépolymérisation pousse la bactérie vers l'avant. Il est important de noter que chaque pili de type IV génère une force dépassant les 100 pN. La rétraction dépend de la présence de la protéine PilT, une ATPase localisée à la base du pili (Marathe et al., 2014).

Les pili de type IV sont des filaments mesurant 4 µm de longueur et environ 6 nm de diamètre. Ils peuvent se trouver à un seul pôle cellulaire ou aux deux pôles (Harshey, 2003), constitués de petites sous-unités structurelles (piline ou pilA chez *P. aeruginosa*). Ces sous-unités présentent une région hautement conservée et une région amino-terminale très hydrophobe formant le noyau de la structure hélicoïdale. La face extérieure de la sous-unité est composée de domaines très hydrophiles et d'autres variables (Semmler et al., 1999). Les pili de type IV fonctionnels sont nécessaires pour les infections par bactériophage, la transformation, la conjugaison et la réponse des cellules hôtes (Harshey, 2003).

La mobilité par twitching semble prédominer, voire être exclusivement observée chez les bactéries à Gram négatif, en particulier dans les subdivisions β, γ et δ des Protéobactéries. Toutefois, il existe un lien entre ce mode de mobilité et la présence de pili polaires chez les bactéries à Gram positif, particulièrement l'espèce *Streptococcus sanguis*, cela n'a pas encore été confirmé par des données moléculaires. Il est suggéré que la présence de la mobilité en twitching est observée chez différentes espèces telles qu'*A. hydrophila*, *Azoarcus spp.*, *Bacteroides ureolyticus*, *Branhamella catarrhalis*, *Comomonas testosteroni*, *Dichelobacter nodosus*, *Eikenella corrodens*, *Kingella denitrificans*, *Kingella kingae*, *Legionella pneumophila*, *Moraxella bovis*, *P. stutzeri*, *P.s putida*, *P. syringae*, *Ralstonia solanacearum*, *Shewanella putrefaciens*, *V. cholerae*, *Wolinella spp.*, dont plusieurs sont des agents pathogènes spécifiques pour les animaux, les plantes et les champignons (Mattick, 2001). En revanche, peu de bactérie à Gram positif possède le pili IV et donc le la mobilité en twitching, c'est le cas de *Clostridium perfringens* (McBride, 2019).

Cette forme de mobilité est principalement impliquée dans la translocation bactérienne, où la bactérie utilise le twitching pour explorer la surface. Si l'environnement est jugé inhospitalier, la bactérie peut s'échapper. Cette translocation joue un rôle crucial dans la formation du biofilm, où les pili de type IV servent adhésines facilitant l'attachement initial. Des études suggèrent également que ces pili sont impliqués dans la différenciation du biofilm. Enfin, ces structures jouent un rôle majeur dans l'établissement du contact initial avec les cellules hôtes, les transformant en des facteurs de virulence importants (Burrows, 2012). Les recherches menées sur *P. aeruginosa* ont identifié au moins 35 gènes impliqués dans la mobilité de type twitching et la biogenèse des pili de type IV. Parmi ceux-ci, les gènes *pilS*, *pilR*, *fimS*, *algR*, *rpoN* jouent un rôle important dans la régulation transcriptionnelle des gènes nécessaires à la biosynthèse des pili et à leur fonction (McBride, 2001).

Il est rapporté que le twitching est associé à l'invasion tissulaire et à la virulence. Une étude a démontré que des souches cliniques de *P. aeruginosa* isolées à partir des sujets brûlés, démontrant la possession de pili de type IV en tant qu'un déterminant de virulence essentiel pour la colonisation des plaies brûlées. En outre, ce mode s'avère favoriser la formation des microcolonies et ensuite des biofilms, ce qui induit l'établissement des infections chroniques des plaies. Les mutations affectant le pili de type IV conduit aux formations des formes matures et incorrectes du biofilm. La mobilité en twitching favorise la dispersion des cellules du biofilm, permettant leur libération en formes sensibles à l'action des agents antimicrobiens. Différents facteurs peuvent stimuler ce mode de mobilité, tels que les peptides antibiofilm synthétique 1037 et naturel LL-37 et la lactoferrine (Zagadło et al., 2023).

La contraction, équivalente au glissement communautaire chez *Myxococcus Xanthus*, est significative dans la colonisation de l'hôte. Ce mode de mobilité est décrit chez plusieurs pathogènes, tels que *P. stutzeri*, *P. putida*, *P. syringae*, et d'autres pathogènes associés aux plantes, aux animaux et aux champignons. La biogenèse et la fonction des pili IV sont régulées et contrôlées par plusieurs gènes, dont environ 40 ont été identifiés chez *P. aeruginosa* (Mattich, 2022).

II.2.2 Système chimiotactique chez la bactérie modèle *Escherichia coli*

Il devient essentiel d'approfondir l'étude des systèmes microbiens en les considérant comme des machines. Une cellule typique est pourvue d'environ une demi-douzaine, voire plusieurs flagelles ancrés de manière indépendante aux moteurs rotatoires répartis de manière aléatoire sur sa surface (Melinda et al., 2005). *Escherichia coli* est le modèle traditionnel pour les études de signalisation basée sur les chimiorécepteur. Ce microorganisme est doté de 5 chimiorécepteurs dont 4 contiennent un faisceau périplasmique à quatre hélices LBD (Ligand Binding Domain : Domaine de liaison au ligand). D'ailleurs, le cinquième Aer, est le responsable de l'aérotaxie et possède un LBD cytosoliques de type PAS. Les chimiorécepteurs sont impliqués dans la chimiotaxie vers des composés tels que les sucres, acides aminés ou dipeptide (Martin-Mora et al., 2016).

Chez *E. coli*, le flagelle canonique est composé d'un filament extracellulaire, d'un moteur rotateur traversant l'enveloppe cellulaire et d'un crochet flexible reliant le filament au

moteur. Le moteur qui alimente la rotation du filament, est composé de 25 protéines (Guo et Liu, 2022). Chaque moteur présente une alternance entre le sens horaire et antihoraire, comme mentionné précédemment. Les entraînements thermodynamiques induisent des rotations flagellaires dans le sens horaire favorisant ainsi l'agrégation en un faisceau coopératif qui pousse le corps cellulaire à des vitesses d'environ 20 microns par seconde (Melinda et al., 2005).

Les gradients spatiaux sont perçus par la comparaison des concentrations de chimio-effecteurs au fil de la nage cellulaire. Les cellules sont capables d'évaluer instantanément les concentrations de chimio-effecteurs mesurées. Les récepteurs utilisant les protéines chimiotactiques méthyle-acceptantes (MCPs : Methyl Accepting Chemotaxis Proteins), couramment appelées transducteurs du signal, mémorisent l'étendue de la méthylation des résidus spécifiques de glutamate dans la partie cytoplasmique du transducteur transmembranaire (Weerasuriya et al., 1998).

Le nombre des chimiorécepteurs varie d'une espèce à une autre, à titre d'exemple *Mezorhizobium loti* ne possède qu'un seul chimiorécepteur, bien que le *V. cholerae* en possède 45. Les MCP sont composé d'un domaine de liaison au ligand périplasmique, de deux hélices traversant la membrane et d'un domaine de signalisation cytoplasmique (Zatakia et al., 2018). L'occupation par des chimio-attractants entraîne une augmentation du taux de méthylation, tandis que l'occupation par des chimio-répulsifs induit une déméthylation. Il est important de noter que la réaction de méthylation dépend de la liaison et de la dissociation au ligand, fournissant ainsi des informations sur l'occupation du ligand dans un passé récent (Othmer et al., 2013).

Les stimuli chimiques sont extrêmement variés. Pour certaines bactéries telles qu'*E. coli* et *S. typhimurium*, les stimuli communs comprennent divers sucres, acides aminés, alcools, ions, oxygènes, et d'autres substances. Ces stimuli se répartissent en chimio-attractants et chimio-répulsifs. La distinction entre les acides aminés agissant comme chimio-attractants ou chimio-répulsifs n'est pas claire. Certains acides aminés, tels que la L-proline et la L-thréonine, peuvent agir comme de faibles chimio-attractants en raison de leurs effets sur le métabolisme cellulaire. En revanche, les acides aminés hydrophobes sont souvent des chimio-répulsifs efficaces. La réponse des bactéries aux environnements acides ou basiques peut varier entre répulsion et attraction, selon les conditions (Eisenbach et al., 2004).

En absence de stimuli attractifs ou répulsifs, la concentration reste constante, indiquant l'absence du gradient. À titre d'exemple, les bactéries comme *E. coli* et *S. typhimurium* nagent dans une trajectoire rectiligne pendant quelques secondes, connue sous le nom de course. Ensuite, elles deviennent brièvement, effectuant une culbute (ou changement brusque de direction). Comparativement à cette phase non stimulée, il a été observé que les cellules effectuent moins de culbutes en présence de concentrations élevées d'attractifs (Berg et Brown, 1972; Macnab et al., 1972; Alder, 1975). En ce qui concerne les répulsifs, les bactéries rencontrent des concentrations significatives dans leur environnement, entraînant une augmentation des culbutes. Néanmoins, une diminution des concentrations réduit le nombre de culbutes (Tsang et al., 1973; Alder, 1975).

Les bactéries diffèrent dans leurs mécanismes utilisés en vue de changer leur direction, prenant l'exemple d'*E. coli* qui possède un moteur bidirectionnel. Une rotation dans le sens antihoraire entraînant une nage fluide. Toutefois, la rotation dans le sens horaire engendre une culbute aléatoire (Porter et al., 2011). En revanche, *Rhodobacter sphaeroides* présente un niveau de complexité dans l'organisation du système chimiotactique. Signalant que *E. coli* répond à une augmentation dans la concentration des attractants, ce n'est pas le cas chez *R. sphaeroides*, dont la majeure réponse chimio-sensorielle est en répondant à une diminution de la concentration des attractants comme un acide organique, l'oxygène, ou la lumière (Sourjik et Armitage, 2010). Le *R. sphaeroides* est doté de 13 chimiorécepteurs, un caractère intéressant est constaté chez cette bactérie, c'est qu'elle est capable d'ajuster sa réponse tactique à certains stimuli (Porter et al., 2008).

Il est rapporté que le *R. sphaeroides* est doté d'un seul mécanisme unidirectionnel d'arrêt/démarrage du moteur flagellaire. L'action du mouvement brownien réoriente le corps cellulaire pendant les phases d'arrêt, permettant à la bactérie de nager le long de la nouvelle direction une fois que la rotation flagellaire reprend. La fréquence des changements de direction est régulée par les voies chimiotactiques (Porter et al., 2011), résultant de la commutation ou de l'arrêt du moteur de rotation (Armitage et al., 1999). Lorsque la nage est dirigée favorablement (avec le chimio-attractant vers l'avant), les changements de direction sont supprimés. En revanche, lorsque la nage va dans la direction défavorable (vers un répulsif), la probabilité de changement directionnel augmente, permettant à la cellule de modifier sa trajectoire et de se déplacer vers des environnements favorables (Porter et al., 2011).

Chez la majorité des bactéries, la rotation est alimentée par un flux interne de protons, présumée passer à travers ou entre les composants du flagelle associés à la membrane cytoplasmique. Cependant, chez certaines espèces basophiles, la rotation est alimentée par un flux des ions de sodium (Na^+) (Manson, 1989). Les bactéries effectuent des comparaisons le long de leurs trajectoires de nage, avec deux types de mouvements observés chez les bactéries adaptatives : la course, une période de nage rectiligne, et la culbute, un trajet où les bactéries s'arrêtent brusquement et modifient rapidement leur orientation (Berg et Brown, 1972; Vladimirov et Sourjik, 2009).

Afin d'effectuer des comparaisons temporelles, les cellules doivent percevoir leur environnement tout en se souvenant de leur passé récent. Les bactéries s'avèrent capables à combiner efficacement ces deux fonctions grâce à leurs récepteurs, qui détectent le ligand et se souviennent également du passé *via* le statut de la méthylation à des résidus spécifiques de glutamate. Ces récepteurs forment des complexes multi-protéiques organisés en grands groupes dans la cellule, intégrant et amplifiant les signaux chimiotactiques. Il est important de noter que l'efficacité de la chimiotaxie est limitée par la capacité des récepteurs à détecter la concentration locale des ligands (Berg et Pucell, 1977; Sourjik et Wingreen, 2012).

II.2.2.1 Diversité et régulation des mécanismes senseurs

Les bactéries utilisent des systèmes chimiosenseurs pour détecter divers stimuli environnementaux. *E. coli*, par exemple, possède au moins quatre systèmes chimiosenseurs distincts (Bi et Sourjik, 2018). Le mécanisme chimiotactique d'*E. coli* est décrit en détails, impliquant des MCPs, six protéines cytoplasmiques (CheZ, CheY, CheA, CheB, CheV et CheR), ainsi que le flagelle. CheA, une protéine histidine kinase, et CheB, un régulateur de réponse à deux composants, jouent des rôles clés dans ce processus (Kato et *al.*, 2008) (Voir figure 6).

Le processus recrute un ensemble des interactions entre des ligands et les récepteurs transmembranaires. Ces récepteurs se lient soit directement aux ligands (aspartate, sérine) soit interagissent avec des protéines auxiliaires périplasmiques de liaison (maltose, ribose, galactose, ou oligopeptides). La protéine auxiliaire CheW agit en tandem avec les récepteurs pour réguler le taux d'autophosphorylation de la protéine histidine kinase CheA (Lukat et Stock, 1993).

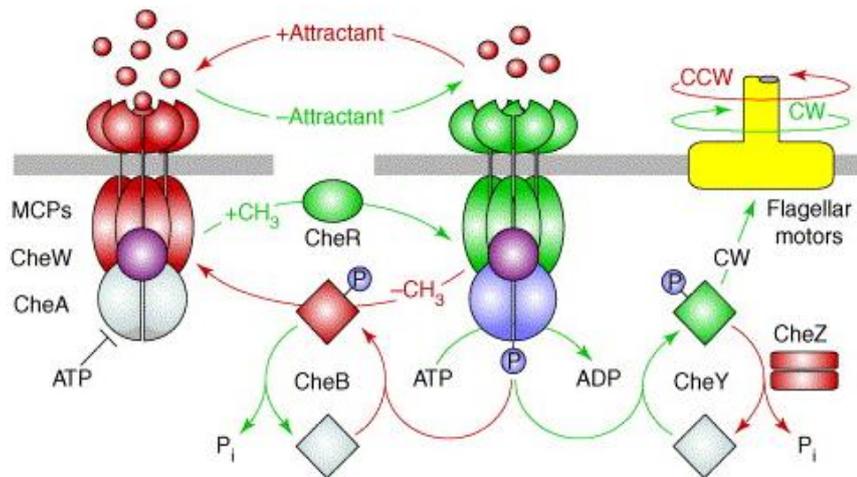


Figure 6. Sources Modèle à Deux États de la Signalisation des Récepteurs et de la Voie de Phosphorelay en Chimiotaxie (Parkinson *et al.*, 2005).

CheA s'autophosphoryle à des résidus spécifiques d'histidine, entraînant ensuite le transfert du groupement phosphoryl à CheY. La forme phosphorylée de CheY interagit directement avec le moteur flagellaire, ce qui induit une modification de la direction du mouvement de sens horaire au sens antihoraire et déclenchant une culbute (Lukat et Stock, 1993; Kato *et al.*, 2008). Le phospho-CheA représente le centre des mécanismes d'excitation et d'adaptation (Lukat et Stock, 1993). L'autophosphorylation est inhibée par les attractifs et favorisée par la présence de répulsifs liés aux récepteurs (Vladimirov et Sourjik, 2009).

Revenant à l'excitation, elle constitue une réponse immédiate aux stimuli attractifs et répulsifs, suivie d'une phase d'adaptation où le comportement restaure son état pré-stimuli malgré une stimulation continue. Dans le processus d'excitation, le phospho-CheA sert de substrat à CheY, qui agit en tant qu'un régulateur de réponse phospho-activée (Lukat et Stock, 1993).

CheZ joue un rôle crucial dans la déphosphorylation de CheY phosphorylé. Il est important d'indiquer que les MCPs et CheW modulent l'autophosphorylation de CheA en réagissant aux changements temporaires dans l'intensité des stimuli. Les MCPs subissent une méthylation réversible à plusieurs résidus de glutamate par la méthyltransférase CheR et la méthylestérase CheB, ce dernier agissant comme régulateur de réponse en recevant le groupement phosphoryl de CheA phosphorylé (Kato *et al.*, 2008).

Des études sont accentuées sur les liaisons directes des ligands chimiques aux domaines senseurs périplasmiques des chimio-récepteurs. Cette liaison engendre une réponse sensitive sur une large gamme de concentrations de ligands. Les modifications dépendantes de la méthylation, visant l'affinité du récepteur, peuvent prévenir une saturation par le ligand (Bi et Sourjik, 2018).

Le génome d'*E.coli* a dévoilé la présence de cinq senseurs chimiotactiques, particulièrement Trg (pour le ribose et le galactose), Tar (pour l'aspartate), Tsr (pour la sérine), Tap (pour des peptides), Tcp (pour le citrate), et un autre senseur découvert, Aer, un détecteur de redox. Tsr, Tar et Trg sont présents chez *E. coli* et *S. typhimurium* (Bi et Sourjik, 2018).

Chez *E. coli*, l'attractant « aspartate » se lie à la protéine Tar, l'un des cinq membres des MCPs. L'augmentation subséquente de l'occupation des récepteurs Tar améliore la rotation dans le sens antihoraire, favorisant ainsi la nage prolongée générée par l'augmentation de la stabilité du faisceau des flagelles. Cette réponse implique des médiateurs phosphorelais intracellulaires, en particulier, CheA, CheY et CheZ, ce dernier accélérant la déphosphorylation des CheY-CheP. Ces phosphorelais font partie de la super famille histidyl-aspartyl, prouvant une importance dans la transduction du signal (Jasuja et al., 1999; Bertheau, 2013). Les domaines senseurs périplasmiques détectent une large gamme des chimio-effecteurs tels que les sucres, les dipeptides et l'auto-inducteur 2 du système quorum sensing, grâce à des interactions indirectes avec des protéines de liaison périplasmique (BPs : binding proteins) (Bi et Sourjik, 2018). La partie cytoplasmique des récepteurs est caractérisée par un domaine hautement conservé, contenant de quatre à six résidus de glutamate spécifiques, méthylés par CheR et déméthylés par CheB (Vladimirov et Sourjik, 2009).

Les mécanismes impliqués dans la détection des chimio-répulsifs et des chimio-attractants demeurent mystérieux, avec peu de détails connus sur ces processus. Cela suggère des perturbations au niveau des domaines périplasmiques et cytoplasmiques des récepteurs. En fin, un seul mode de signalisation indépendante du récepteur a été détecté chez *E. coli*, créant un lien entre la réponse chimiotactique et l'acquisition de divers sucres *via* le système phosphotransférase (PTS) (Vladimirov et Sourjik, 2009).

II.2.3 Système chimiotactique chez *Pseudomonas aeruginosa*

Rappelant la profonde étude du système chimiotactique chez la bactérie *E. coli* en tant qu'organisme modèle, il convient de souligner que la spécificité de la réponse chimiotactique s'appuie principalement sur le ligand qui se lie à un chimiorécepteur. Ces ligands peuvent se lier soit directement à un domaine de liaison du ligand LBD ou former un complexe avec des protéines de liaison du ligand (Matilla et Krell, 2017). Les bactéries chimiotactiques présentent en moyenne une quinzaine de récepteurs. À l'heure actuelle, la majorité des ligands reconnus par les chimiorécepteurs demeurent inconnus. Les chimiorécepteurs diffèrent par leur topologie et utilisent une grande variété de LBDs différents pour la reconnaissance des chimio-effecteurs (Matilla et Krell, 2018).

La rotation dans le sens horaire est induite par les protéines phosphorylées Che (CheYp), qui se lient à la protéine motrice FliM, modifiant la déviation du moteur vers un mode hautement sensible. CheYp est une petite molécule, se diffuse librement dans le cytoplasme entre le groupe de récepteurs et le moteur flagellaire. CheY est phosphorylé par l'histidine kinase CheA, liée aux récepteurs membranaires et à la protéine adaptatrice CheW. Chaque récepteur peut adopter une conformation active et/ou inactive, dépend de la liaison au domaine externe et du niveau de méthylation de leur domaine interne. Le récepteur actif stimule l'autophosphorylation de CheA, ce qui conduit à la phosphorylation en aval du régulateur de réponse CheY. CheYp est déphosphorylé par la phosphatase CheZ, qui augmente la rotation de CheYp. Les récepteurs sont méthylés par l'enzyme CheR et déméthylés par son opposé CheB, cela indique que la méthylation régule l'activité des récepteurs (Vladimirov et Sourjik, 2009).

Les MCPs représentent des protéines transmembranaires chimiosenseurs, détectant des stimuli environnementaux. En collaboration avec CheW, les MCPs régulent l'activité d'autophosphorylation de CheA en réponses aux variations temporelles d'un stimuli intense. Ces MCPs subissent une méthylation réversible sur plusieurs résidus de glutamates grâce à la méthyltransférase CheR et à la méthylestérase CheB. CheB, en tant que régulateur de réponse, reçoit des groupements phosphoryls de CheA phosphorylé, ce qui augmente ainsi son activité de méthyltransférase. La méthylation des MCPs est donc contrôlée en réponse à un stimuli environnemental (Kato et al., 2008).

Les espèces de *Pseudomonas* prouvent la possession de plus de 25 protéines de type MCP encodées par leur génome et peu d'entre elles sont identifiées fonctionnellement à cause

de la difficulté de l'identification de leurs ligands correspondants. En outre, des gènes codants pour les chimiorécepteurs ont été identifiés sur plusieurs plasmides isolés des souches de *Pseudomonas* tout comme le récepteur chimiotactique McpT du plasmide PGRT1 réagit envers les hydrocarbures (Sampedro et al., 2015).

Le séquençage du génome a identifié diverses espèces de *Pseudomonas*, démontrant la présence de gènes codant pour les MCPs et des homologues de six protéines Che. Une caractéristique majeure du génome des *Pseudomonas* est le nombre important de gènes putatifs liés à la chimiotaxie. *P. aeruginosa* PAO1 est considéré comme possédant le meilleur système chimiotactique parmi les pseudomonades. Des études ont montré que la machinerie chimiotactique des *Pseudomonas* est similaire à celle d'*E. coli*, à l'exception du système de *P. aeruginosa*, qui présente un nombre significatif de gènes impliqués dans la chimiotaxie (Kato et al., 2008).

II.2.3.1 MCPs chez *Pseudomonas aeruginosa*

Les éléments structurels des MCP comprennent une hélice transmembranaire N terminale (TM1), un domaine de liaison au ligand extracellulaire caractérisé par une grande variabilité, une deuxième hélice transmembranaire (TM2), un domaine HAMP cytoplasmique et un domaine C-terminal qui se plie en un long faisceau antiparallèle de 4 hélices, avec deux hélices assurés par chaque sous-unité (Pollard et al., 2010). La spécificité des MCPs envers différents ligands reflète la diversité des séquences d'acides aminés dans leur domaine périsplasmique, en plus d'un domaine C-terminal variable (Kato et al., 2008).

Une étude a démontré que les MCPs forment des homodimères, ces dimères représentant l'unité principale et fonctionnelle en raison de la stabilité de la structure dimétrique après liaison au ligand ou méthylation. Les MCPs exercent diverses fonctions dans la chimiotaxie bactérienne, en particulier la liaison aux ligands, la transduction du signal chimiotactique à travers la membrane cytoplasmique, et leur implication dans l'adaptation, où ils subissent des processus de méthylation et de déméthylation (Eisenbach et al., 2004).

Bien que les séquences d'acides aminés constituant le domaine de liaison du ligand ne soient pas homologues, le site de liaison de la sérine et de l'aspartate sur les récepteurs Tsr et Tar, respectivement, présente une structure similaire (Wang et al., 1997). L'affinité des MCPs

envers leur ligand dépend fortement du degré de méthylation de celui-ci (Li et Weis, 2000). Pendant la liaison du ligand à leur récepteur, le domaine de liaison subit des modifications de conformation (Eisenbach et *al.*, 2004).

Les acides aminés jouent un rôle significatif en tant que chimio-attractants puissants pour différentes espèces de *Pseudomonas*, étant donné qu'ils proviennent de graines et d'exsudats racinaires. Dans les interactions entre les microorganismes et les plantes, la chimiotaxie aux acides aminés peut jouer un rôle crucial (Kato et *al.*, 2008).

Les acides aminés, les acides organiques et les sucres représentent les principales familles de chimio-attractants. *P. putida* KT2440 est un colonisateur efficace des racines des plantes, en protégeant la plante hôte contre les espèces phytopathogènes et induisant la résistance systémique. Cette souche réagit à plusieurs acides organiques, acides aminés, sucres, polyamines et acide gamma-aminobutyrique (Feng et *al.*, 2021).

Il est important de signaler que *P. aeruginosa* est devenu un organisme modèle pour l'étude de la chimiotaxie, en particulier sa chimiotaxie envers les acides aminés à travers trois récepteurs paralogues PctA, PctB et PctC (Martin-Mora et *al.*, 2016), codés par les clusters de gènes *pctA*, *pctB* et *pctC* présents dans le génome de PAO1. Ces MCPs ont la capacité de détecter différents acides aminés, PctA réagit envers 18 acides aminés, PctB envers 7 acides aminés et PctC envers 2 acides aminés (Kato et *al.*, 2008). D'ailleurs, *P. aeruginosa* est également connu pour sa réponse au phosphate inorganique par les récepteurs CtpL et CtpH; le TlpQ est responsable de la chimiotaxie envers la phytohormone éthylène (Martin-Mora et *al.*, 2016).

Des homologues de TlpQ ont été décrits chez différentes espèces, *P. syringae*, *P. fluorescens* et *P. putida*. Aussi la souche PAO1, présente encore deux MCPs détectant le phosphate, CtpH (détecte des concentrations élevées de phosphate) et CtpL (détecte des faibles concentrations de phosphate) en raison de sa chimiotaxie positive *vis-à-vis* le phosphate. D'autres types de MCPs ont été encore révélés chez cette souche, Aer et Aer-2 détectant et contrôlant l'aérotaxie (Kato et *al.*, 2008). *P. aeruginosa* possède également deux chimiorécepteurs, WspA et BdlA, connus pour leur rôle crucial dans la formation et la dispersion des biofilms. En outre, la fonction de 26 chimiorécepteurs chez *P. aeruginosa* demeure inconnue (Martin-Mora et *al.*, 2016).

II.2.4 Chimiotactisme et résistance bactérienne aux stress environnementaux

Le chimiotactisme est un mécanisme clé permettant aux bactéries de détecter et de répondre aux substances chimiques présentes dans leur environnement en suivant un gradient chimique. Cela se manifeste par la capacité des souches à se diriger vers des environnements favorables tout en évitant les substances potentiellement toxiques. Par exemple, l'aptitude du pathogène opportuniste *Pseudomonas aeruginosa* à se déplacer sur des surfaces en direction des nutriments et d'autres substances attractives *via* la mobilité de type twitching a été bien documentée (Oliveira et al., 2022). Dans le contexte du stress salin, la mobilité de type swarming augmente parallèlement à la concentration de NaCl chez les souches rhizosphériques de *Pseudomonas sp.* Ce constat suggère l'importance de ce type de mobilité dans la phase initiale de formation du biofilm comme stratégie de protection en cas de stress (Cappellari et al., 2023). Néanmoins, il est rapporté que la chimiotaxie bactérienne est inhibée par le stress induit par les hydrocarbures. Par contre, les réponses chimiotactiques des bactéries aquatiques n'ont pas été affectées par la présence des hydrocarbures, ce qui suggère une résistance acquise aux hydrocarbures dans ces milieux (Bitton et al., 1979). La chimiotaxie, en attirant les bactéries vers des concentrations élevées d'hydrocarbures, pourrait aussi améliorer l'efficacité de leur dégradation. Le pétrole brut contient également des ions de métaux lourds qui peuvent repousser les bactéries (Zhao et Ford, 2022). Concernant le stress cuprique, les bactéries sont capables de déclencher des réponses chimiotactiques négatives envers les milieux riches en cuivre. L'augmentation de la concentration des ions cuivre dans le cytoplasme induit un stress oxydatif dose-dépendant, par la génération d'espèces réactives d'oxygène (ROS). Certaines enzymes, telles que la superoxyde dismutase et la catalase, réduisent ce stress oxydatif, favorisant ainsi la croissance bactérienne et diminuant la chimiotaxie envers le cuivre. Un chimiorécepteur, McpR, interagit avec les ions cuivre et influence la chimiotaxie bactérienne (Louis et al., 2023). En outre, le stress mercurique inhibe le développement des flagelles, la mobilité bactérienne et la chimiotaxie chez la souche marine *P. stutzeri* 273 (Zheng et al., 2018).

Chapitre III. *Modèles bactériens*

Bactéries à Gram négatif

III Modèles bactériens (*Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*)

Le *Pseudomonas aeruginosa* est considéré comme l'organisme modèle pour l'étude de la formation du biofilm grâce au progrès de la compréhension des mécanismes cruciaux impliqués dans ce mode de vie (De Kievit, 2009). Les espèces de *Pseudomonas* sont dotées d'un un génome codant pour plus de 25 MCP, certaines sont fonctionnellement caractérisées (Sampedro et al., 2015). Chez *Pseudomonas aeruginosa* POA1, 13 à 26 MCP sont fonctionnellement caractérisées. Dix MCPs sont impliquées dans des réponses positives à l'oxygène (Aer et Aer-2), au phosphate inorganique (CtpH et CtpL), au malate (PA2652), aux acides aminés et au gamma aminobutyrate (GABA) (PctA/B/C), à l'éthylène (TlpQ) et aux chloroéthylènes, et trois sont négativement impliquées dans des réponses au chloroforme et au méthylthiocyanate (Bouteiller et al., 2021). Il est rapporté que *Pseudomonas* possède de chimiorécepteurs du groupe II, présentant des LBR bimodulaires avec deux sites permettent une reconnaissance directe de différents ligands (Sampedro et al., 2015). Les MCP ont été la base de l'étude du comportement chimiotactique chez les archées et les bactéries, tandis qu'elles sont mieux étudiées et compris chez *Escherichia coli*, constituant le modèle de l'étude de la chimiotaxie (Parkinson et al., 2015).

III.1 *Pseudomonas*

III.1.1 Aperçu taxonomique

Le phylum des Protéobactéries englobe l'ensemble des *Pseudomonas* et des espèces apparentées. Ils font partie de la classe des *Gammaproteobacteria*, de l'ordre des Pseudomonales (Meliani, 2012) et de la famille des *Pseudomonaceae*, créée par Winslow et ses collaborateurs en 1917. Les membres de cette famille se caractérisent par l'absence de gaine et présentent d'autres propriétés physiologiques telles qu'une nutrition de type chimioorganotrophique, un métabolisme généralement respiratoire, l'absence de fermentation et de photosynthèse, une incapacité à fixer le diazote, ainsi qu'une capacité à croître sur une large gamme de substrats organiques (Palleroni, 1981).

Les pseudomonades aérobies représentent un vaste groupe bactérien. Il a été prouvé que certains membres de ce groupe appartiennent au genre *Pseudomonas*. Ces derniers étaient généralement classés dans d'autres genres, tels que *Xanthomonas*, *Methanomonas*, *Hydrogenomonas*, *Comamonas*, *Vibrio sensu lato*, *Acetomonas* (*Gluconobacter*), et probablement encore *Alginomonas*, *Cellulomonas*, et *Cellvibrio* (Stanier et al., 1966).

Selon Palleroni, la classification de *Pseudomonas* a évolué au fil du temps. Ce genre est décrit et nommé par le professeur Migula en 1984 et 1990, le genre *Pseudomonas* était indiqué comme une cellule dotée d'un organe de mobilité, avec la formation de spores chez certaines espèces. Néanmoins, il est maintenant confirmé que les souches de *Pseudomonas* ne forment pas de spores (Palleroni, 2010).

Le genre *Pseudomonas* représente le groupe majeur au sein de la famille des *Pseudomonaceae*, est considéré comme l'un des ensembles bactériens les plus diversifiés et ayant une grande importance écologique. Les membres de ce genre sont connus pour leur aptitude à coloniser une grande variété des niches écologiques, qu'elles soient terrestres ou marines. Il est important de signaler que les espèces de *Pseudomonas* établissent un ensemble des interactions avec les plantes et les animaux. La distribution du *Pseudomonas* prouve sa diversité génomique et son adaptabilité génétique (Gacesa et Russell, 1990; Kiil et al., 2008).

L'analyse du genre *Pseudomonas* a été révisée, apportant plus de détails, avec une classification des espèces fondée sur des caractéristiques phénotypiques. Le *Pseudomonas* est initialement classé comme une bactérie à Gram négatif, de forme bacillaire, aérobie, non sporulée et mobile grâce à un flagelle polaire (Peix et al., 2009).

Ce genre appartient à la famille des Gammaprotéobactéries, qui englobe environ 60 espèces reconnues pour leur capacité à coloniser différents milieux tels que le sol, les plantes, et les eaux douces et marines (Gross et Loeper, 2009), incluant principalement des espèces fluorescentes, ainsi que quelques-unes non fluorescentes. Selon Bossis et al. (2000) ce groupe bactérien se divise comme suit:

1. Des *Pseudomonas* fluorescents phytopathogènes à cytochrome C oxydase positif comme *P. cichorii*, *P. marginalis*, *P. totaasii*.
2. Des souches non phytopathogéniques et non nécrogéniques, citant *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. chlororaphis*, *P. aureofaciens* et l'espèce type *P. aeruginosa*.
3. Des souches nécrogéniques, phytopathogènes et fluorescentes de *Pseudomonas spp* avec une absence de cytochrome C oxydase: *P. syringae*, et *P. viridiflava*.

4. Des souches des *Pseudomonas* spp non fluorescentes trouvant *P. stutzeri*, *P. mendocina*, *P. alcaligenes*, et *P. pseudoalcaligenes* (Bossis *et al.*, 2000).

Une analyse taxonomique approfondie de ce genre est basée sur le séquençage de l'ARNr 16S. L'examen de 128 espèces de *Pseudomonas* a confirmé que seules 57 espèces font partie du groupe des *Pseudomonas sensu stricto*, subdivisé en 7 classes en fonction des comparaisons nucléotidiques. Ces classes incluent les groupes des *P. syringae*, *P. chlororaphis*, *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. stutzeri*, *P. aeruginosa* et *P. pertucinogena* (Mezaache, 2012).

Plusieurs espèces de *Pseudomonas* ont été regroupées en cinq clusters, désignés comme « groupes d'homologie d'ADN » (Palleroni *et al.*, 1973). Une caractérisation phénotypique a été exposée par des travaux de Stanier et ses collaborateurs. Ensuite, l'attention s'est portée sur des études génétiques mettant en place l'hybridation ADN-ADN, ont confirmé ainsi les caractéristiques phénotypiques. C'est à ce stade que les chercheurs ont pu calculer le coefficient de similitude (Palleroni, 1981; Stanier *et al.*, 1966).

III.1.1.1 Panorama des méthodes taxonomiques

Le nombre d'espèces de *Pseudomonas* a connu une augmentation, passant de 149 dans la 7^e édition du manuel *Bergey's* (1957) à 235 dans la 8^e édition (1974). Selon Parte (2014), Actuellement, la liste des procaryotes mentionne 213 espèces, bien que seulement 147 soient officiellement reconnues sur le plan taxonomique (Dahah, 2017). Mezaache (2012) a offert un aperçu des différentes étapes de la classification de ce genre, débutant par la classification contemporaine qui repose sur des méthodes telles que la détermination des caractéristiques phénotypiques, la chimiotaxonomie, les caractéristiques génétiques et écologiques, la sensibilité à certaines substances, ainsi que le pouvoir pathogène et antigénique (Peix *et al.*, 2009; Mezaache, 2012).

III.1.1.2 Caractérisation phénotypique

Cette approche s'accroît sur l'analyse des propriétés nutritionnelles, telle qu'il est proposé par den Dooren de Jong en 1926 (Palleroni, 1981). Plusieurs tests ont été adoptés pour caractériser ces propriétés, incluant la forme cellulaire, le type de flagelle, l'utilisation de sources de carbone, la capacité de croissance dans des conditions variables, ainsi que la

biosynthèse des exo-enzymes et des antibiotiques (Bossis *et al.*, 2000; Mezaache, 2012). Ces tests s'avèrent jouer un rôle majeur dans la description des taxons, des espèces, des sous-espèces, des genres et des familles (Vandamme *et al.*, 1996).

III.1.1.3 Caractérisation génotypique

Le *Pseudomonas* présente un genre bactérien phylogénétiquement diversifié (Agaras et Valverde, 2018). Les études phénotypiques effectuées ont trouvé une base déterminante de la composition d'ADN des souches, cette méthode s'appuie sur le pourcentage en G+C (Palleroni, 1984). En 1984, ce genre a été révisé pour l'organiser en cinq groupes sur la base d'hybridation d'ADN-ADN (HAA) et l'hybridation ARNr-ADN. Après, il est reconnu que les cinq groupes faisant partie de la classe de Protéobactéries. Les membres de genre *Pseudomonas sensu stricto* appartiennent au groupe ARNr-ADN de type I dans la sous-classe des Gammaprotéobactéries. La liste approuvée inclut 96 espèces bien que seulement 31 sont considérées comme des espèces vraies et acceptées dans la taxonomie (Palleroni, 1984; Peix *et al.*, 2009; Gomila *et al.*, 2015).

L'équipe belge De Ley a validé les résultats de Palleroni et de son équipe en appliquant avec succès la technique d'hybridation ARNr-ADN. Cette méthode, suivie d'un séquençage, a optimisé l'exploitation des données d'ARNr, confirmant sa division par le biais d'analyses approfondies, particulièrement des quinones, des profils d'acides gras 3-hydroxy, ainsi que de certaines protéines (EF-G et Hsp 40) et enzymes cellulaires, ...etc. (Bossis *et al.*, 2000).

L'ARNr 16S est traditionnellement considéré comme le gène de base pour la classification, mais il présente des limitations dans la distinction entre espèces apparentées. C'est pour cette raison, d'autres séquences génétiques telles qu'*aptD*, *gyrB*, *rpoB*, *recA* et *rpoD* ont été utilisées comme marqueurs moléculaires phylogénétiques dans des études taxonomiques. Une recherche a démontré que l'analyse de quatre séquences génétiques (ARNr 16S, *gyrB*, *rpoB* et *rpoD*) chez des espèces connues a permis une caractérisation précise de leur phylogénie, tout en facilitant l'identification de nouvelles espèces (Mulet *et al.*, 2012a; Gomila *et al.*, 2015).

Différentes séquences géniques prometteuses ont été étudiées par de nombreux chercheurs, Toutefois le nombre d'espèces étudiées soit limité. Parmi ces séquences, on trouve la région ITS (Espaceur Interne Transcrit), *gacA*, *oprI*, *oprL*, *carA*, *FliA*, *Rpos*, *RpoH*,

rrs, *dsbA*, *fdxA*, *fusA*, *rpsL*, *rpsG*, *oriC*, *citS*, *ampC*, *fliC* et *pilA* (Garcia-Valdés et Lalucat, 2016). En ce qui concerne la région ITS, située entre les ADNr 16S-23S présente une grande variabilité, elle permet de différencier les espèces apparentées. Des amorces universelles ont été intégrées dans plusieurs protocoles pour l'analyse de cette séquence chez les souches environnementales (Mezaache, 2012).

III.1.1.4 Caractérisation chimiotaxonomique

Cette méthode vise à analyser les profils en acides gras, lipides, protéines, quinones et polyamines, en tant que des marqueurs chimiotaxonomiques pour reclasser certaines espèces de *Pseudomonas* dans d'autres genres. Citant l'exemple, *P. mephitica* peut être reclassifié en *Janthinobacterium lividum*, et *P. echinoïde* en *Sphingomonas echinoïde* (Peix et al., 2009).

Le profil des lipides polaires est caractérisé par la présence de trois phospholipides principaux: phosphatidylglycérol, diphosphatidylglycérol et phosphatidyléthanolamine. À titre d'exemple, l'analyse de *P. aeruginosa* a montré des quantités considérables de phosphatidylcholine (Camara et al., 2007).

Néanmoins, les profils des acides gras divulguent des variations importantes entre les espèces de *Pseudomonas*. Les acides gras abondants sont l'acide hexadécénoïque (16:0), l'acide hexadécénoïque (16:1) et l'acide octadécénoïque (18:1). Les acides gras issus de *P. aeruginosa* et *P. testosteroni* sont hautement similaires, avec des concentrations élevées en acide plasmique, acide hexadécénoïque et acide octadécénoïque (Moss et al., 1972).

Les polyamines sont considérées comme des marqueurs chimiotaxonomiques de grande valeur pour les bactéries à Gram négatif et aérobies, particulièrement au sein de la classe des Protéobactéries. Les analyses de polyamines s'avère être un outil de différenciation entre les bactéries phytopathogènes, en permettant une définition phylogénétique précise des genres *Pseudomonas* et *Xanthomonas*, tout en confirmant le transfert de *Pseudomonas maltophilia* vers *Xanthomonas maltophilia*. Les principales polyamines chez les Pseudomonades fluorescents sont la purescine et la spermidine (Auling, 1992; Peix et al., 2009).

Une nouvelle méthode est présentée dans cette approche, appelée le sidérotypage, s'accentue sur la caractérisation des sidérophores majeurs par iso-électrophorèse et la

détermination de la structure des pyoverdines impliquées dans l'acquisition du fer, tout en identifiant la spécificité de chaque espèce (Meyer *et al.*, 1998; Peix *et al.*, 2009).

La taxonomie actuelle de *Pseudomonas* est principalement appuyée sur l'analyse des biomolécules, en réalisant des empreintes génétiques par spectroscopie à fluorescence. Bien que cette méthode ait produit des résultats pertinents, le séquençage des gènes demeure l'outil décisif dans la taxonomie de *Pseudomonas* (Mezaache, 2012).

III.1.2 Aperçu écologique

Les *Pseudomonas* sont des bactéries ubiquitaires présentes dans différents milieux tels que le sol, l'eau, la surface des plantes et les tissus humains (Fernandez *et al.*, 2015). Le *Pseudomonas putida* et le *Pseudomonas fluorescens* sont fréquemment retrouvés dans l'eau, le sol, et particulièrement dans la rhizosphère des plantes. La majorité de ces bactéries coopèrent pour améliorer la croissance et la santé des plantes (Bossis *et al.*, 2000).

La bactérie *Pseudomonas aeruginosa* occupe les mêmes habitats, ainsi qu'elle se présente dans le tube digestif et sur la peau des mammifères. Sa présence remarquable en milieu hospitalier a été signalée comme étant un agent causal de plusieurs infections nosocomiales (Chaker *et al.*, 2012).

Les espèces fluorescentes de *Pseudomonas* sont caractérisées par leur capacité à supprimer les pathogènes signalés dans le système racinaire des plantes. Il est important de noter que les *Pseudomonas* pathogènes sont majoritairement isolés à partir des lésions des plantes. Par ailleurs, il s'avère clair que les animaux sont une source importante de *Pseudomonas spp.* responsable d'infections, autrement reconnus comme pathogènes opportunistes (Bergey's Imhoff, 2005).

III.1.3 Aperçu métabolique

Le genre *Pseudomonas* représente des bacilles à Gram négatif, aérobies stricts, généralement mobiles grâce à des flagelles polaires (monotriche et multitriche). Ils sont chimiotrophes et possèdent un métabolisme oxydatif, comme en témoigne la présence de cytochrome oxydase C chez le genre *Pseudomonas*, à l'exception de souches nécrogéniques, phytopathogènes et fluorescentes comme précédemment signalé (Meghdas *et al.*, 2004;

Lelliot, 1966; Latour et Lemanceau, 1997). Les *Pseudomonas spp* fluorescents exhibent un métabolisme hétérotrophe. Généralement, le donneur d'électrons est un composé issu du cycle de Krebs, en particulier, le NADH, le DADPH, le FDADH₂, ou le succinate. En outre, le glycérol et le glucose peut également jouer ce rôle. L'oxygène atmosphérique agit comme accepteur final des électrons (Latour et Lemanceau, 1997).

En conditions d'anaérobiose, les nitrates ou certaines formes d'azote réduites peuvent être utilisés comme accepteurs d'électrons, et puis donnent naissance à des oxydes nitriques, nitreux et d'azote, *via* un processus connus sous le terme de dénitrification dissimulatrice (Stanier et *al.*, 1966; Latour et Lemanceau, 1997). D'ailleurs, les *Pseudomonas sp.* sont capables d'obtenir de l'énergie par l'hydrolyse de l'arginine grâce à une arginine dihydrolase (ADH) (Meliani, 2012).

La plage de température de croissance varie de 4°C à 42°C, avec le *Pseudomonas aeruginosa* étant capable de se développer à 42°C. Certaines espèces saprophytes se développent dans une fourchette de 28°C à 30°C (Dahah, 2017). En outre, toutes les espèces de ce genre ne peuvent croître qu'à un pH inférieur à 4.5 (Mezaache, 2012).

Les souches de *Pseudomonas* séquencées confirment la présence des gènes nécessaires au métabolisme du glucose, une abondance de voies dans ce processus est indiquée, ce qui conduit à la transformation du sucre en 6-phosphogluconate *via* la voie d'Entner Doudoroff (Del Castillo et *al.*, 2007; Dadaoua et *al.*, 2009).

Le glucose pénètre dans l'espace périplasmique à travers des porines OprB. Une fois dans le périplasma, le sucre peut être transféré vers le cytosol ou converti en gluconate et en 2-cétogluconate. Ce dernier peut ensuite être transféré vers le cytosol par divers transporteurs (GntP et KguT respectivement). En revanche, le gluconate peut être phosphorylé par la gluconokinase pour donner naissance au 6-phosphogluconate, cette conversion recrute deux réactions enzymatiques intermédiées par KguK et KguD, signalant ainsi le début de la voie d'Entner Doudoroff (Udaondo et *al.*, 2018).

Certaines espèces de groupes de *Pseudomonas sp.* fluorescents, telles que *P. aeruginosa*, *P. putida* et *P. fluorescens*, ont démontré une voie d'assimilation du fructose. D'abord, l'entrée du fructose implique le système de phosphoenolpyruvate (PEP), qui inactive le fructose en le convertissant en fructose-1-P grâce à l'activité enzymatique d'une

phosphotransférase. Ce composé subit ensuite une seconde phosphorylation (1-6-biphosphofructose). Sous l'action de l'aldolase, il est clivé et transformé en fructose 6-P, puis en glucose 6-P, rejoignant ainsi la voie d'Entner Doudoroff. Par l'intermédiaire de mannose isomérase, le mannose et le fructose peuvent être interconvertis, rejoignant ensuite la même voie. D'autres sucres tels que le D-galactose, L-arabinose et D-xylose suivent des voies oxydatives similaires à celle d'Entner Doudoroff observée dans le cas du glucose (voie De Ley Doudoroff) (Palleroni et Doudoroff, 1956; Latour et Lemanceau, 1997).

Ce membre est connu par leur métabolisme protéinique, le *P. aeruginosa* est caractérisé par la dégradation du tryptophane par la voie oxydative de Kynurenine médiées par la tryptophane-2-3-dioxygénase, conduit à la synthèse de Kynurenine (Bortolotti et al., 2016). Les acides aminés servent d'une source de carbone et d'azote en l'absence de facteurs de croissance organiques. comme il est signalé chez *P. fluorescens* et *P. aeruginosa*, dont la croissance dépend de la présence d'un seul acide aminé, tel que l'histidine, L-arginine, L-thréonine, L-tryptophane, L-hydroxyproline, cystéine, leucine, proline, sérine, glutamine, et glutamate, comme source unique de carbone et d'azote (Shou et Rodwell, 1972; Babaei et al., 2014).

Les membres de ce genre sont strictement reconnus pour leur capacité à dégrader de manière aérobie certains composés aromatiques naturels tenant l'exemple de benzoate et de tryptophane (Bergey's Imhoff, 2005). La tolérance de *Pseudomonas putida* aux solvants organiques a signalé son importance pour la production de composés aromatiques, qui constituent l'unité fondamentale pour la synthèse de petites molécules bioactives, de résines et de polymères (Loeschcke et Thies, 2015). Cette bactérie exhibe une grande capacité à métaboliser une grande gamme des composés biogéniques et xénobiotiques (Fernandez et al., 2015).

Certaines souches de *Pseudomonas aeruginosa* ont démontré leur capacité à dégrader plusieurs fractions d'hydrocarbures présentes dans les déchets d'huiles issues d'engins (Salam et al., 2016). Cette bactérie est hautement impliquée dans la dégradation des lipides présents dans les eaux usées et les effluents industriels (Prasad et Manjunath, 2011). L'identification des espèces de *Pseudomonas* est confirmée par leur incapacité à métaboliser le lactose sur le milieu de McConkey, ainsi que par la négativité aux tests de rouge de méthyle et de Voges-Proskauer (Mezaache, 2012).

III.2 Espèce type *Pseudomonas aeruginosa*

L'espèce *Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie à Gram négatif, ayant une forme bacillaire fine et droite. Généralement, elle est caractérisée par sa grande mobilité grâce à une ciliature monotriche, dépourvue de la sporulation et de l'encapsulation, ce micro-organisme est reconnu comme étant un opportuniste environnemental (Floyd et al., 2016).

L'adaptabilité d'un microorganisme à un environnement hostile détermine le succès de son mode de vie. *P. aeruginosa* s'avère être extrêmement polyvalente, plusieurs rapports ont décrit cette bactérie comme un organisme ubiquitaire, tant présent dans des milieux inanimés que chez l'hôte humain. Cette polyvalence est due à un énorme arsenal enzymatique, qui lui permet d'utiliser une large gamme de substances comme éléments nutritifs et de moduler son apparence (Botzenhart et Döring, 1993).

Pseudomonas aeruginosa se développe dans un intervalle de température assez important, pouvant ainsi croître dans des températures allant jusqu'à 42°C, avec une croissance optimale à 37°C (Klockgether et al., 2008). En tant qu'une bactérie aérobie, elle se caractérise par un métabolisme oxydatif. En anaérobiose, le nitrate (NO₃) et l'arginine peuvent substituer l'oxygène en tant qu'accepteur respiratoire d'électron, entraînant une croissance plus lente. Le glucose sert de source d'énergie pour la croissance, empruntant principalement la voie d'Entner-Doudoroff. Le glucose est métabolisé en glucose-6-phosphate, puis le 6-phosphogluconate est converti en 2-céto-3-désoxy-6-phosphogluconate. Ce dernier rejoint la voie d'Entner-Doudoroff, où il est scindé par l'aldolase en pyruvate et glyceraldéhyde 3-phosphate. Le carbone peut être directement oxydé en gluconate et 2-cétogluconate. D'autres sucres peuvent subir des catabolismes similaires (Clarke, 1990).

Le *P. aeruginosa* a la capacité d'utiliser d'autres glucides pour sa croissance, tels que les hydrocarbures aliphatiques, les acides carboxyliques, les hydroxyacides et les composants aromatiques (Clarke et Ornston, 1975). D'ailleurs, plusieurs acides aminés peuvent servir de substrats pour la croissance de *P. aeruginosa*. Parallèlement, des mécanismes de régulation ont évolué pour prévenir le recyclage des acides aminés nouvellement synthétisés, tout en permettant le catabolisme des acides aminés présents librement dans l'environnement (Clarke, 1990).

Le *P. aeruginosa* isolé forme des colonies lisses et muqueuses de grande taille, ayant la tendance de se disperser sur la surface de la gélose. Cette bactérie présente une forte affinité

pour le fer grâce à une production fréquente de sidérophores. L'excès de complexe fer-sidérophores favorise son développement dans des milieux à faibles concentrations de fer (Clarke, 1990).

Ce microorganisme est caractérisé par la production de différents pigments, tels que la pyocyanine (bleu-vert), la fluorescéine (jaune-vert fluorescent) et la pyorubrine (brun rouge). L'identification de cette bactérie repose sur son incapacité à dégrader le lactose, ainsi que sur une odeur caractéristique de raisin (syringa) émanant *in vitro*. L'observation macroscopique et microscopique permet de déterminer certains critères, en plus de la détection des enzymes oxydase, élastase et protéase. Il est crucial de mettre en évidence la production de deux pigments, la pyocyanine et la fluorescéine. Cette identification est confirmée par le test de croissance à 42°C (Khalizadeh, 2009).

III.2.1 Pouvoir pathogène et virulence

Le *Pseudomonas aeruginosa* est reconnu pour sa pathogénicité, définie comme la capacité d'un parasite à causer une maladie. Cette pathogénicité est étroitement liée à la production d'un grand nombre de facteurs de virulence. Parmi ceux-ci, la virulence des souches pathogènes dépend de deux facteurs principaux. Le premier concerne l'envahissement ou la capacité à se proliférer dans l'hôte, tandis que le second concerne la toxigénicité, c'est-à-dire la capacité de produire des substances chimiques (toxines) qui endommagent les tissus de l'hôte. Ces facteurs de virulence sont liés à la membrane, impliqués dans l'adhérence, la mobilité, et sont également excrétés hors des cellules sous forme de toxines et de protéases. Ces éléments ciblent plusieurs niveaux lors d'une infection, pour qu'il puisse survivre dans leurs hôtes ou leurs environnements (Roger et al., 1977; Khalizadeh, 2009; Ben Haj Khalifa et al., 2011).

III.2.1.1 Facteurs de la virulence cellulaire

Le potentiel pathogène du *Pseudomonas aeruginosa* est bien connu, et il est associé à différents paramètres, particulièrement sa flexibilité physiologique, sa régulation génétique étendue, sa capacité à former des biofilms, ainsi que sa mobilité et son pouvoir adhésif. Le processus de pathogénicité chez ce microorganisme fait impliquer certains facteurs de virulence (Høiby et al., 2008).

III.2.1.1.1 Flagelle

Le *Pseudomonas aeruginosa* est doté d'une ciliature monotriche et polaire, responsable de la mobilité de type « swimming » en milieu aqueux, et contribue ainsi à la mobilité de type « swarming » sur les surfaces semi-solides (Ben Haj Khalifa et *al.*, 2011; Chaker, 2012). Plusieurs études menées sur *Pseudomonas aeruginosa*, ont signalé l'implication des flagelles dans la pathogénicité bactérienne, où les mutants dépourvus des flagelles présentent une virulence atténuée, cela suppose une association entre mobilité et virulence (Ben Haj Khalifa et *al.*, 2011; Chaker, 2012).

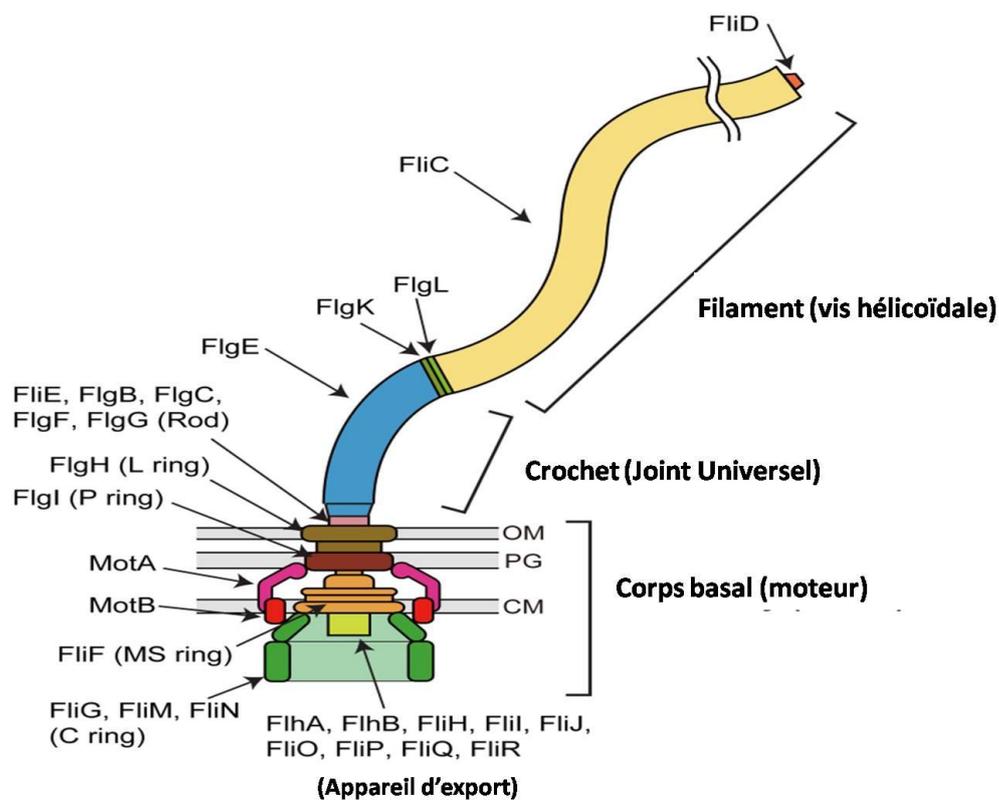


Figure 7. Structure du flagelle bactérien (Morimoto et Morimoto, 2017).

En outre, les flagelles sont impliqués dans le mécanisme d'adhésion bactérienne, spécialement dans les stades précoces de la formation du biofilm (Sauer et *al.*, 2002). Ces flagelles sont fortement immunogènes lors d'infections chroniques telles que la mucoviscidose (Ben Haj Khalifa et *al.*, 2011). Par ailleurs, les flagelles participent à la reconnaissance de la bactérie par l'hôte en induisant une réponse inflammatoire, ceci est dû à

l'interaction entre les monomères de la flagelline soluble (FliC) libérée par la bactérie, et les récepteurs Toll TLR5 ou les protéines NLRC4 de l'inflammasome (Chaker, 2012).

Enfin, il est à noter que ces organelles ont marqué leur importance dans le processus de chimiotaxie, où certaines souches mobiles ont démontré un potentiel chimiotactique positif envers divers chimio-attractants (Horder, 1993). Il convient de rappeler que l'organisation structurelle des flagelles comprend trois éléments: le filament bactérien assurant le mouvement de la bactérie, ainsi que des éléments ancrés dans la membrane bactérienne, le crochet et le corps basal (Voir figure 7). La biosynthèse des flagelles, de même que les mécanismes flagellaires, est soumise à une régulation coordonnée par environ 50 gènes. Mettant en évidence que la flagelline constitue la principale protéine du flagelle, et cette organelle prend de l'ampleur suite à l'addition séquentielle des sous-unités à l'extrémité éloignée du corps basal (Chaker, 2012). La rotation du flagelle, soit dans le sens horaire (CW) soit dans le sens antihoraire (CCW), dépend d'un gradient de protons à travers la membrane cytoplasmique. Ce processus implique la protéine associée au crochet (HAP: Hook Associated Protein) (Jyot et Ramphal, 2008; Chaker, 2012).

III.2.1.1.2 Pili de type IV

Le pili de type IV représente une organelle impliquée la mobilité cellulaire, composé de la piline (PilA). Contrairement au flagelle, le pili assure une capacité de rétraction, conduisant à deux types de mouvements, le Swarming et le Twitching, favorisant la dispersion bactérienne sur des surfaces humides. Il est reconnu en tant qu'adhésine principale de *Pseudomonas aeruginosa*, responsable de l'adhérence aux cellules épithéliales. Son expression est régulée par le système de transcription à deux composants, *pilS* et *pilR*. La perturbation des pili entraîne une diminution de l'adhérence bactérienne *in vitro* (Khalizadeh, 2009; Ben Haj Khalifa et al., 2011) (Voir figure 8).

Une colonisation rapide des surfaces en conditions de forte disponibilité nutritionnelle résulte d'une translocation indépendante du flagelle, connue sous le nom de twitching. Cette capacité est importante non seulement pour la colonisation des hôtes, mais aussi pour d'autres comportements complexes tels que la formation de biofilm. L'étude structurale des pili chez *P. aeruginosa* révèle un filament attaché à la surface, avec un diamètre de 6 nm, une longueur

de plusieurs micromètres et une tension importante due aux liaisons hydrophobes et ioniques entre les sous-unités (Jyot et Ramphal, 2008).

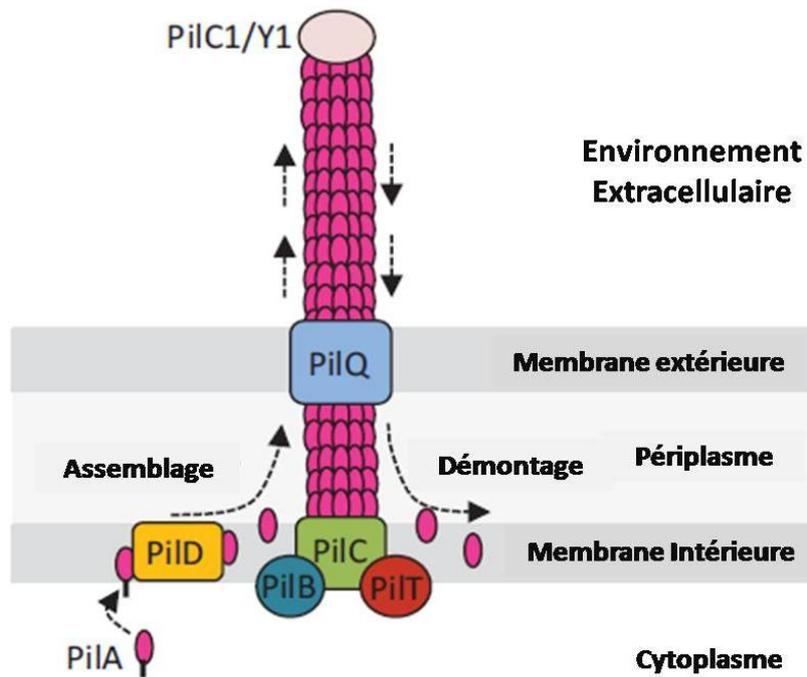


Figure 8. Structure de Pili IV bactérien (Burdman et *al.*, 2011).

Récemment, la découverte d'autres types de chez *P. aeruginosa* a mis en lumière leur rôle important dans l'adhésion aux surfaces inertes et la structuration en biofilm, en particulier les pili de type fimbriae assemblés par la voie « chaperone/usher/pathway » (Cup). Trois systèmes Cup, nommés CupA, CupB et CupC, ont été identifiés chez *P. aeruginosa*. Ces facteurs d'attachement sont essentiels pour l'adhérence aux surfaces abiotiques et la formation du biofilm (Vallet et *al.*, 2001; Ruer et *al.*, 2007; Khalizadeh, 2009; Ben Haj Khalifa et *al.*, 2011).

III.2.1.1.3 Lipopolysaccharide (LPS)

Le lipopolysaccharide (LPS) est le composant majeur de la paroi des bactéries à Gram négatif. D'une part, il est reconnu pour son rôle protecteur contre la lyse induite par le sérum, tandis que d'autre part, il exhibe une activité endotoxique. Le récepteurs TLR4 dans la cellule hôte est responsable de sa reconnaissance. La molécule de LPS est composée de trois parties: le lipide A, aussi appelé endotoxine, est responsable d'une stimulation excessive du système

immunitaire pouvant provoquer un choc septique et conduire à la mort. Les autres composants sont le cœur oligosaccharidique et l'antigène O, une région polysaccharidique variable (Poltorak et *al.*, 1998; Ben Haj Khalifa et *al.*, 2011) (Voir figure 9).

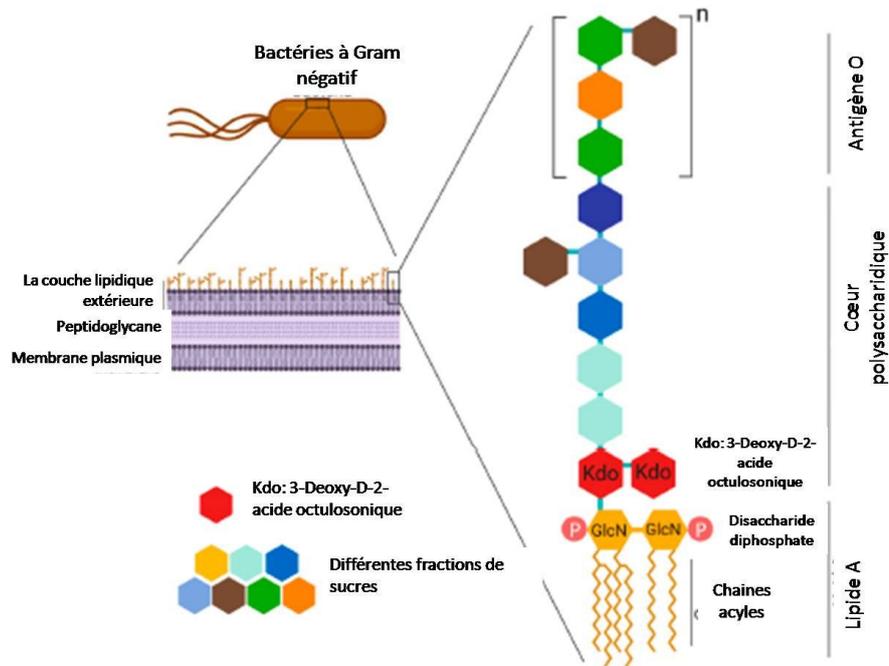


Figure 9. Structure des lipopolysaccharides chez les bactéries à Gram négatif (Mazgaen et Gurung, 2020).

L'interaction LPS-TLR4 est médiée aux deux protéines adaptateur MD2 et CD14, ce qui déclenche l'activation de voie de signalisation dépendante de MyD88 (à la surface cellulaire) et Trif (dans l'endosome) (Visintin et *al.*, 2001; Rowe et *al.*, 2006; Kagan et *al.*, 2008). La capacité du LPS à activer les voies de signalisation de l'hôte est influencée par l'état d'acylation des chaînes latérales liées à sa composante centrale, le lipide A. Cela résulte en une variation de la capacité immunostimulante du LPS selon les bactéries à Gram négatif (Zughaier et *al.*, 1999; Gangloff et *al.*, 1999). En fait, Les mimiques triacylées de LPS ont été suggérées comme molécules anti-inflammatoires prometteuses en raison de leur incapacité à induire une signalisation lors de la liaison au TLR4 (Dunn-Siegrist et *al.*, 2012).

P. aeruginosa est reconnu pour son aptitude à synthétiser deux formes de LPS, A et B. La différence entre ces formes est basée sur la présence ou l'absence de l'antigène O sur le cœur oligosaccharidique, conduisant respectivement aux phénotypes lisse ou rugueux, le

phénotype lisse est souvent associé à une virulence accrue comparativement aux mutants isogéniques ayant phénotype rugueux. Il est important à signaler que les souches rugueuses de *P. aeruginosa* sont lysées par le sérum humain, tandis que les souches avec un LPS lisse ont montré une résistance au sérum. La variabilité des chaînes polysaccharidiques des antigènes O définit le sérotype de *P. aeruginosa*, les rendant ainsi des cibles évidentes pour l'immunothérapie. Cependant, l'immunisation active basée sur des vaccins d'antigènes O présente un faible pouvoir protecteur lors de la conjugaison de plusieurs antigènes O de sérotypes différents (Ben Haj Khalifa et al., 2011).

III.2.1.1.4 Polysaccharides extracellulaires (EPS)

Les polysaccharides extracellulaires sont des macromolécules qui forment la capsule ou des couches de slime chez certaines bactéries. Typiquement, les bactéries produisant des ces macromolécules ont une apparence muqueuse et lisse sur la gélose. La composition des EPS bactériens varie considérablement selon leur complexité structurelle. Prenant l'exemple de la cellulose, un homopolymère constitué d'un seul type d'unité monosaccharide liée par des liaisons glucosidiques. En revanche, le polysaccharide le plus complexe est sécrété par la souche *Rhizobium trifolii* (Gacesa et Russel, 1990).

Pseudomonas aeruginosa produit une couche de slime extracellulaire qui rend le milieu de culture visqueux après quelques jours d'incubation. L'alginate, extrait pour la première fois des algues brunes par Stanford (1883), le composant majeur de l'alginate, est identifié ultérieurement par Schoeffel et Link (1933) comme étant un acide uronique. Fisher et Dorfel (1955) ont ensuite découvert la présence d'un second acide uronique, α -L-gulonate. *Azotobacter viniandii* et *P. aeruginosa* ont été identifiés comme producteurs d'alginate, de même que d'autres espèces de *Pseudomonas* (*P. fluorescens*, *P. mendocina*, *P. putida* et *P. syringae* pv. *Glycinea*) (Muhammadi et Ahmed, 2007). *Pseudomonas aeruginosa* produit au moins trois types d'EPS en fonction des conditions de croissance: l'alginate, PEL et PSL. Le système de production de l'alginate est gouvernée par le gène *alg*, tandis que les clusters de gènes *pelA-G* et *pelA-O* codent pour la machinerie de biosynthèse des PEL et PSL (McDougald et al., 2008).

Avant le transfert périplasmique de l'alginate, celui-ci subit une acétylation et une épimérisation, donnant naissance à un homopolymère ou à des hétéropolymères. L'alginate joue un rôle important dans l'adhésion et la formation du biofilm. Une protection du *P.*

aeruginosa contre la phagocytose, les agents antimicrobiens et les réponses de l'hôte, est assurée par une surexpression de l'alginate. La surproduction d'alginate est constatée chez les souches isolées de patients atteints de mucoviscidose. D'ailleurs, la matrice du biofilm est composée de sels, de protéines et d'EPS, représentant de 50 à 90% de la matière organique totale (Khalizadeh, 2009).

III.2.1.2 Facteurs de virulence secrétés

III.2.1.2.1 L'exotoxine A

L'exotoxine A (ETA) de *P. aeruginosa*, codée par le gène *toxA*, est la protéine la plus cytotoxique, présentant une DL₅₀ de 0.2 mg chez la souris (Ben Haj Khalifa et al., 2011). Cette enzyme de 71 kDa est sécrétée dans l'espace extracellulaire *via* le système de sécrétion de type II sous forme d'une pro-protéine inactive (Ben Haj Khalifa et al., 2011; Chaker, 2012).

Lorsque l'exotoxine A se lie au récepteur LRP (LDL related protein), cela induit le clivage et l'internalisation de la partie active, ciblant le facteur d'élongation E2 (Khalizadeh, 2009). Cette exotoxine est composée de deux domaines, le domaine A (26 kDa) exerce une activité mono-ADP-ribosyltransférase inhibant le facteur d'élongation E2, tandis que le domaine B (45 kDa) interagit avec le récepteur cellulaire, bloquant la synthèse protéique et entraînant la mort de la cellule suite à la nécrose (Ben Haj Khalifa et al., 2011).

L'exotoxine A inhibe la sécrétion de cytokines pré-inflammatoires telles que TNF- α , IL-10, IL-6 et IL-8, affaiblissant ainsi les réponses immunitaires de l'hôte et aggravant l'infection. Des mutants déficients en exotoxine A sont moins virulents que les souches sauvages. Il faut mentionner que la présence de fer dans le milieu influence la production d'exotoxine A, une production maximale a été observée dans un milieu pauvre en fer (Chaker, 2012).

III.2.1.2.2 Enzymes lipolytiques

III.2.1.2.2.1 Phospholipase

Les phospholipases englobent un ensemble hétérogène d'enzymes partageant la capacité d'hydrolyser un ou plusieurs liaisons phosphodiester dans le glycérophosphodiester. Leur diversité fonctionnelle inclut des contributions à la virulence microbienne, surtout la classe

PLC, démontrant une importance majeure dans la pathogénicité (Shérif Elleboudy et *al.*, 2014).

P. aeruginosa produit diverses phospholipases, classifiées en quatre groupes: phospholipase A (PLA), B (PLB), C (PLC), et D (PLD) (Chaker, 2012). Une autre source rapporte deux types de phospholipases C chez cette bactérie, PlcH (hémolytique) et PlcN (non hémolytique). Toutefois, le PlcN n'a pas encore été établi comme un facteur de pathogénicité, le PlcHR semble être un élément crucial de virulence (Terada et *al.*, 1999).

Depuis longtemps, de nombreux rapports ont examiné la production et la sécrétion des phospholipases par *P. aeruginosa*. Une protéine de 78 kDa, possédant une activité phospholipase et hémolytique, a été décrite et identifiée par Kurioka et Liu (1967) ainsi que Lui (1979), désignée sous le nom de phospholipase C (PLC). Elle est décrite comme une toxine hémolytique, associée à la virulence de *P. aeruginosa*. PLC prouve leur capacité à dégrader les phospholipides membranaires des cellules eucaryotes, et à produire du diacylglycérol avec des effets toxiques chez les animaux (Galloway, 1993).

La libération des PLCs s'effectue *via* le système de sécrétion de type II, ces dernières ont d'autres cibles. Elles hydrolysent la phosphatidylcholine (PC) qui est connue par leur abondance dans le surfactant pulmonaire. D'ailleurs, certaines phospholipases (PlcH) démontrent une activité hémolytique, tandis que d'autres (PlcB) interviennent dans la mobilité de type twitching. Les PLCs ont l'aptitude à supprimer la réponse oxydative des neutrophiles. Les rhamnolipides sont des biosurfactants, qui agissent sur les phospholipides membranaires des eucaryotes, facilitant ainsi l'activité des phospholipases (Khalizadeh, 2009).

III.2.1.2.2.2 Lipase

Les lipases ont été initialement identifiées dans le suc pancréatique en 1856 par Claude Bernard (Sangeetha et *al.*, 2011). Ces lipases (glycérol ester hydrolase) sont des hydrolases, agissent en milieu aqueux sur liaisons carboxyl-ester des triacylglycérols afin de libérer des acides gras et du glycérol. Les lipases ciblent les chaînes longues des triacylglycérols, peu solubles dans l'eau, catalysant la réaction à l'interface lipide-eau (Gupta et *al.*, 2004).

Les sources microbiennes de lipases surpassent celles des animaux et des plantes. Les lipases commerciales sont extraites des bactéries, des champignons et des actinomycètes de

champignons et d'actinomycètes. Les lipases bactériennes ont été observées pour la première fois, 1901 chez *Serratia marescens* et *P. aeruginosa*. Différentes espèces sont largement documentées quant à leur capacité à produire des lipases, selon de nombreux rapports, telles que *P. fluorescens*, *Bacillus pumilus*, *B. thermocatenulatus*, *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. halodurans*, *B. cereus*, *B. coagulans*, ainsi que d'autres genres tels que *Actinobacter*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Burkholderia*, *S. marescens*, *Achromobacter*, *Arthrobacter*, *Alcaligenes* et *Chromobacterium* (Sangeetha et al., 2011).

Au-delà de l'implication des lipases dans la virulence bactérienne, elles sont également reconnues pour leur importance biotechnologique (Rosenau et Jaeger, 2000). Généralement, les lipases sont réparties en deux catégories, extracellulaire (majoritairement d'origine microbienne) et intracellulaire. Leur classification englobe également les lipases thermophiles et psychrophiles en fonction de leur température d'activité optimale (Andualema et Gessesse, 2012). Une autre classification a été mise en évidence tout en basant sur leur spécificité, citant les lipases non spécifiques, les lipases 1-3 spécifiques et les lipases spécifiques pour les acides gras (Javed et al., 2018).

Les lipases font partie de la famille des sérine hydrolases, les lipases de *Pseudomonas* appartenant à la classe I avec un pentapeptide catalytique conventionnel Gly-Xaa-Ser-Xaa-Gly (Sangeetha et al., 2011). Plusieurs facteurs peuvent affecter la production des lipases, particulièrement la concentration en fer chez *P. fluorescens*, où une concentration élevée réprime la lipase. Une étude démontre que la production de lipase chez *P. aeruginosa* est influencée par la limitation des sources de carbone et d'énergie, favorisant ainsi la production de lipases (Jaeger et al., 1994).

III.2.1.2.2.3 Estérase

Les estérases représentent un groupe d'hydrolase catalysant le clivage des liaisons ester et sont potentiellement produites par divers organismes tels que les animaux, les plantes et les microorganismes. La haute spécificité régionale et stéréochimique les positionne comme des biocatalyseurs captivants pour la synthèse chimique des composés purs (Bornscheuer, 2002).

Chez *P. aeruginosa*, les estérases se trouvent au niveau de la membrane externe et ont pour fonction l'hydrolyse du palmitoyl-CoA. Un rapport de Christensen et ses collaborateurs en 1999 a divulgué que la sécrétion de l'estérase EstA dans cette bactérie est effectuée par le

système de sécrétion de type IV. D'ailleurs, l'estérase EstA est impliquée dans différents processus tels que la mobilité, la biosynthèse des rhamnolipides et la formation du biofilm (Christensen et al., 1999; Wilhelm et al., 2007; Lemieux, 2012).

Les estérases et les lipases ont démontré une stabilité et une activité intéressante dans les solvants organiques. Comme mentionné précédemment, la majorité de ces enzymes possèdent le motif (Gly-x-Ser-x-Gly), où « x » représente un résidu d'acide aminé arbitraire (Bornscheuer, 2002). Une nouvelle sous-famille d'enzymes hydrolytiques et lipolytiques, appelée GSDL (anciennement GDSLS), présente un motif différent avec un site sérine actif près de la terminaison N. Les membres de cette sous-famille incluent les lipases/acyltransférases d'*Aeromonas hydrophyla*, l'hémolysine/phospholipase de *Vibrio parahemolyticus*, la lipase de *Xenorhabdus luminescens*, l'ORF de *P. putida* dans la région trpE-trpG, et la protéine riche en proline d'*Arabidopsis thaliana*, entre autres (Akoh et al., 2004).

III.2.1.2.3 Enzymes protéolytiques

III.2.1.2.3.1 Protéase

Les protéases rassemblent un groupe d'enzymes capables de catalyser le clivage hydrolytique des liaisons peptidiques. Selon leur emplacement par rapport à la protéine cible, elles sont classées en exoprotéases lorsqu'elles agissent près des extrémités carboxylique ou amine terminale, et en endoprotéases lorsqu'elles agissent à distance par cinq résidus de ces extrémités (Lebrun et al., 2009).

Les microorganismes synthétisent une grande variété de protéases, qu'elles soient extracellulaires ou intracellulaires. Les protéases intracellulaires ont une importance significative dans plusieurs processus cellulaires tels que la sporulation, la différenciation, la dégradation/biosynthèse des protéines, la maturation des protéines et des hormones, ainsi que dans le maintien des réserves protéiques. En revanche, les protéases extracellulaires jouent un rôle essentiel dans l'hydrolyse des protéines des cellules libres, permettant à la cellule d'absorber et d'utiliser les produits hydrolytiques, d'où leur exploitation étendue dans l'industrie (Hamza, 2017). Les protéases bactériennes englobent une collection diversifiée, exercent des rôles cruciaux pour la viabilité cellulaire, les réponses aux stress et la pathogénicité (Culp et Wright, 2017).

Une classification supplémentaire basée sur les groupements fonctionnels présents dans le site catalytique des enzymes a été mise en évidence. Selon cette classification, quatre groupes de protéases sont adoptés: les sérinoprotéases, les protéases aspartiques, les cystéine-protéases et les métalloprotéases (qui dégradent différentes composantes du système immunitaire en ciblant principalement les compléments et les cytokines pro-inflammatoires). Certaines protéases ne rentrent pas dans cette classification, comme la protéase dépendante d'ADP (Lebrun et *al.*, 2009).

Les protéases produites par *P. aeruginosa* sont classées en deux groupes: les métalloprotéases et les sérine-protéases (Chaker, 2012). Il est décrit que le rôle des protéases dans la croissance de *P. aeruginosa* dans l'environnement naturel n'est pas clairement défini. Une protéase alcaline est issue du système de sécrétion de type I, hydrolyse la fibrine et est impliquée dans les infections cornéennes ainsi qu'à la physiopathologie des pneumopathies aiguës (Galloway, 1991; Ben Haj Khalifa et *al.*, 2011).

LepA est une protéase sécrétée par *P. aeruginosa*, induit la transactivation du NF- κ B par les récepteurs activés par les protéases (PARs) humains, impliqués dans la réponse immune et inflammatoire. LepA clive les PARs à leur site spécifique, exposant le ligand attaché de manière similaire à la thrombine et à la trypsine, ce qui induit la production d'Interleukine-8 (Kida et *al.*, 2008).

La protéine PASP a été caractérisée comme une protéase de 18.5 kDa chez *P. aeruginosa*. Son implication dans l'érosion de l'épithélium cornéen est signalée. Le séquençage du gène codant pour PASP est conservé à 99.5% chez PAO1 et PA14, avec des séquences partagées (80 à 86%) chez d'autres microorganismes. Il est suggéré que cette protéase utilise le système de sécrétion de type II (Lemieux, 2012).

III.2.1.2.3.2 Élastase

Une métalloprotéase à zinc est une protéase sensible, chélatrice de métaux, et neutre (Wretlind et Pavlovskis, 1983; Khalizadeh, 2009). L'activité de l'élastase chez *P. aeruginosa* est modulée par l'action combinée de deux enzymes protéolytiques, LasA et LasB. L'élastase B, également appelée protéase staphylotytique ou staphylolysine, agit synergiquement avec LasA afin d'augmenter le potentiel de dégradation, tandis que la protéase B, également connue sous le nom de pseudolysine, joue un rôle similaire (Ben Haj Khalifa et *al.*, 2011).

L'élastase (LasB) est produite et sécrétée par *P. aeruginosa* via le système de sécrétion de type II. Cette enzyme dégrade l'élastine qui représente un composant majeur de l'épithélium respiratoire, tout en engendrant une perméabilisation de ce dernier et favorisant l'action d'autres facteurs. Il est important de noter que LasA est également impliquée dans la dégradation de l'élastine (Khalizadeh, 2009).

À un certain pH, l'élastase est active contre la caséine, l'élastine, l'hémoglobine, le fibrinogène et d'autres protéines. Son activité est inhibée par la présence d'ions de métaux lourds, particulièrement le zinc. Des inhibiteurs tels que le plasma, la macroglobuline et la phosphoramidon ont été testés (Wretlind et Pavlovskis, 1983). L'élastase participe à la modification des réponses immunitaires en détruisant les surfactants A et D, en augmentant la production d'interleukine-8 et en activant les immunoglobulines A, immunoglobulines G et les composés du complément (Khalizadeh, 2009).

Le système signal *Pseudomonas* quinolone (PQS) peut induire LasB et RhII chez *P. aeruginosa*. Le système *las* contrôle l'expression des gènes des élastases (*lasA* et *lasB*), de la protéase alcaline, de l'exotoxine A et des protéines du système de sécrétion de type II (Ben Haj Khalifa et al., 2011).

III.2.1.3 Pyocyanine

Le *P. aeruginosa* a suscité un intérêt particulier en raison de sa capacité à produire plusieurs pigments, tout comme la pyocyanine (bleu-vert), la fluorescéine (jaune, vert et fluorescente), la pyomélanine (marron clair) et la pyorubrine (rouge-marron). Environ de 90 à 95% des isolats de cette espèce produisent la pyocyanine, un pigment synthétisé en présence de faibles concentrations de fer, jouant ainsi un rôle très important dans le métabolisme ferrique (Jayaseelan et al., 2013).

La pyocyanine appartient au groupe des phénazines, est un pigment bleu-vert hydrosoluble produit abondamment par des cultures actives de *P. aeruginosa*. Son action inhibitrice est due de son potentiel redox unique. Pendant la respiration, la pyocyanine est réduite, générant ainsi des radicaux superoxydes toxiques en réduisant l'oxygène (El-Shouny et al., 2011).

Ce pigment est impliqué dans la répression des réponses immunitaires de la cellule hôte, favorisant l'apoptose des neutrophiles et la production d'IL-8. Ses propriétés oxydoréductrices permettent d'oxyder de la glutathion, de désactiver la catalase des cellules bronchiques et participer aux lésions liées au stress oxydatif. En outre, la pyocyanine inhibe l'ATPase vacuolaire et le transport mitochondrial, entraînant des perturbations des canaux chlorures dans la mucoviscidose (Khalizadeh, 2009; Ben Haj Khalifa et al., 2011).

D'un point de vue génétique, sept gènes (*phzC*, *phzD*, *phzE*, *phzF*, *phzG*, *phzM* et *phzS*) sont identifiés comme responsables de la biosynthèse de la pyocyanine chez *P. aeruginosa*. Les gènes *phz M* et *phz S* jouent un rôle majeur dans la conversion de l'acide carboxylique-1-phénazine en pyocyanine. En revanche, des informations limitées sur les enzymes soient disponibles (Abou Raji El Feghali et Nawas, 2018).

La production de pyocyanine est influencée par plusieurs facteurs, par exemple, l'épuisement du phosphate et du fer, qui peuvent améliorer sa production. Des études ont également montré que l'appauvrissement des éléments nutritifs stimule la production de cette phénazine, appuyant ainsi sur la dépendance de sa production vis-à-vis de la composition du milieu (Jayaseelan et al., 2013).

L'effet antibactérien de la pyocyanine a été mis en évidence en 1940, lorsqu'elle a inhibé la croissance d'*Escherichia coli*, anciennement qualifiée de colicine. La pyocyanine cible la chaîne respiratoire au niveau de la membrane cellulaire, perturbant le transport métabolique. Son traitement sur *E. coli* entraîne la production de H₂O₂, l'épuisement de l'oxygène et le détournement du flux d'électrons, ce qui provoque ainsi la toxicité pour la bactérie (Raji El Feghali et Nawas, 2018). Actuellement, son effet antibactérien est prouvé contre *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* et *Bacillus cereus* (Barakat, 2012; Noto et al., 2017; Raji El Feghali et Nawas, 2018).

III.2.1.4 Pyoverdine

Les pyoverdines sont des pigments fluorescents vert-jaunes, hydrosolubles, et représentent les sidérophores prédominants chez les *Pseudomonas spp* (Trapet, 2015). Ces sidérophores représentent des molécules de faible poids moléculaire, démontrent une affinité élevée pour les ions ferriques (Fe⁺³) et sont synthétisés en conditions de carence en fer. Le *P. fluorescens* produit des sidérophores, tels que la pyoverdine ou la pseudobactine caractérisée

par leur forte affinité envers les ions (Fe^{+3}) et la stabilité constante du complexe pyoverdine ferrique (Trapet et *al.*, 2016).

En situation de carence en fer, les pseudomonades fluorescents, surtout *P. aeruginosa*, *P. putida* et *P. fluorescens*, produisent différentes pyoverdines peptidiques (Baysse et *al.*, 2002). Les pyoverdines se composent de trois éléments structuraux: un chromophore dihydroxyquinoline fluorescent, préservé dans toutes les pyoverdines, assurant la liaison avec Fe^{+3} par sa fonction catéchol; une chaîne latérale acyl reliée en position C₃ du chromophore; et une chaîne peptidique variable également liée au chromophore par le groupe amine (Baysse et *al.*, 2002; Trapet, 2015).

La pyoverdine est contributive à la virulence, particulièrement e à l'acquisition ferrique. La pyoverdine intervient dans la formation du biofilm (Kang et *al.*, 2018) et est impliquée dans la sécrétion de certains facteurs de virulence tels que l'exotoxine A et les protéases, ainsi que dans sa propre sécrétion (Lamont et *al.*, 2002; Khalizadeh, 2009; Ben Haj Khalifa et *al.*, 2011).

III.3 *Escherichia coli*

III.3.1 Aspect taxonomique

En 1885, le médecin bavarois Theodor Escherich décrit pour la première fois *Bacterium coli commune* comme un microorganisme commun commensal du tractus gastro-intestinal (Martinson et Walk, 2020; Foster-Nyarko et Pallen, 2022), isolé à partir des matières fécales des nouveau-nés et des jeunes enfants. Bien qu'en 1894, ce chercheur ait signalé cette bactérie parmi les agents causatifs des infections urinaires. Au début, cette bactérie était connue sous le nom de *Bacillus coli*, c'était en 1895 (Arshad et Seed, 2015; Grimont, 1987; Yu et *al.*, 2021). En 1919, la nomenclature en *Escherichia coli* fut proposée par les chercheurs Castellani et Chalmers. Beaucoup d'efforts ont été consacrés à la compréhension de la génétique et de la biologie moléculaire de cette bactérie (Grimont, 1987; Yu et *al.*, 2021).

La nomenclature a connu plusieurs révisions jusqu'en 1958, cette nomenclature a été officiellement établie, définissant le genre comme *Escherichia* et *Escherichia coli* comme première espèce. Depuis sa découverte, *Escherichia coli* demeure l'un des microorganismes

les plus étudiés, caractérisés, et construisant un modèle fondamental en microbiologie (Foster-Nyarko et Pallen, 2022). Il est clair qu'*E. coli* a attiré l'attention des chercheurs, faisant l'objet d'examen génotypiques et phénotypiques approfondis. En outre, cette bactérie est l'espèce type la mieux étudiée, caractérisée, et la plus représentative du genre, cependant que la caractérisation des autres espèces est récemment achevée. Le statut taxonomique des autres membres a connu une évolution intéressante avec l'avancement des outils d'étude biochimique et moléculaire (Yu et al., 2021). Le genre *Escherichia* appartient à la famille des *Enterobacteriaceae* et à la classe des *Gammaproteobacteria* (Jang et al., 2017).

L'identification de nouvelles espèces appartenant au genre *Escherichia* repose sur le profilage biochimique. En 1962, le chercheur Leclerc a observé certaines caractéristiques biochimiques d'un groupe spécifique de souches d'*Escherichia*, en se basant sur la détermination des profils de réactions à l'indole, au rouge méthyle, au Voges-Proskauer et au citrate. Cela a permis leur classification en une nouvelle espèce connue sous le nom d'*Escherichia adecarboxylata* (Brenner et al., 1982; Abbott et al., 2003; Yu et al., 2021). Pareil, l'étude biochimique des souches isolées de l'intestin postérieur de *Blatta orientalis* a identifié une nouvelle espèce, *Escherichia Ballae*. Les études biochimiques révèlent plusieurs groupes atypiques supplémentaires au sein de la famille *Enterobacteriaceae*. Le groupe atypique I est fréquemment associé aux infections des plaies chez l'homme, contrairement au groupe atypique II, où les souches sont couramment isolées à partir d'échantillons cliniques, se compose de souches entériques produisant un pigment jaune, ayant la capacité de croître sur des milieux contenant du cyanure (KCN) et de métaboliser le cellobiose, les distinguant comme des espèces distinctes d'*E. coli* (Brenner et al., 1982; Yu et al., 2021).

Escherichia coli est une bactérie de forme bacillaire à Gram négatif, anaérobie facultative, résidant habituellement dans le tractus intestinal (Gomes et al., 2016; Foster-Nyarko et Pallen, 2022). Cette bactérie est intensivement étudiée, c'est pourquoi elle est reconnue comme un modèle essentiel en microbiologie et biologie moléculaire. *E. coli* est considérée comme un microorganisme commensal, parmi les premières bactéries à coloniser l'intestin après la naissance. *E. coli* peut causer des infections systémiques chez les individus immunodéprimés (Ramos et al., 2020; Pokharel et al., 2023). Grâce à sa grande variabilité génétique, certaines souches d'*E. coli* sont distinctes par rapport à leurs homologues commensales. Certaines de ces souches codent des traits de virulence spécifiques, leur conférant la capacité de provoquer des maladies chez plusieurs animaux (Pokharel et al.,

2023). *E. coli* fait partie des coliformes fécaux et sert d'indicateur de la contamination fécale (Ishii et Sadowsky, 2008).

E. coli a été le modèle choisi pour 11 prix Nobel. En 1965, le lauréat du prix Nobel Jacques Monod a dévoilé la régulation de l'expression des gènes chez cette bactérie, immortalisant l'aphorisme célèbre « *Tout ce qui est vrai pour le colibacille est vrai pour l'éléphant* » (Guillou, 2016). Cette reconnaissance met en évidence le statut d'*E. coli* en microbiologie en tant qu'espèce modèle (Foster-Nyarko et Pallen, 2022). La majorité des souches d'*E. coli* sont inoffensives, seules quelques-unes étant pathogènes. Cette bactérie est connue pour son adaptabilité significative, lui permettant de survivre dans des niches hostiles (Blyton et Gordon, 2017; Bong et al., 2022). Les souches d'*E. coli* isolées des environnements aquatiques fluviaux sont génétiquement diversifiées. L'utilisation d'outils de diagnostic basés sur la PCR révèle huit groupes phylogénétiques majeurs (A, B1, B2, C, D, E, F et G) et cinq clades cryptiques. L'ensemble de ces phylogroupes est fortement associé aux traits phénotypiques et génotypiques, au profil métabolique, à l'écotype, au mode de vie, et à la pathogénicité (Legerstrom et al., 2021; Bong et al., 2022).

Cette bactérie fait partie d'une vaste communauté microbienne constituant le microbiote, qui renferme environ 100 000 milliards de bactéries, principalement anaérobies. Cependant qu'elle se présente en minorité, *E. coli* joue un rôle crucial grâce à ses performances métaboliques, citant sa consommation d'oxygène, contribuant ainsi au maintien de la croissance des espèces anaérobies (Guillou, 2016; Martinson et Walk, 2020).

Cette bactérie est dotée de plusieurs caractéristiques qui en font un organisme hôte important en biotechnologie (Blount, 2015; Allocati et al., 2013), telles que sa facilité de manipulation, la disponibilité de données sur la séquence complète de son génome, et son aptitude à se croître en aérobiose ou anaérobiose. *E. coli* est largement exploité dans les domaines industriel, médical, et surtout dans la filière de la technologie de l'ADN recombinant (Allocati et al., 2013; kleiner-Grote et al., 2018; Liu et al., 2019).

III.3.2 Distribution écologique et adaptabilité aux environnements

Antérieurement, *Escherichia coli* avait montré des faibles aptitudes à survivre en dehors de son hôte et une incapacité à se répliquer dans l'environnement. Néanmoins, des travaux récents ont prouvé que cette bactérie peut survivre pendant une longue période à l'extérieur

du tractus gastro-intestinal et se reproduire dans le sol, le sable et les sédiments des régions tropicales, subtropicales et tempérées (Ishii et Sadowxsky, 2008; Jang et al., 2017). Certaines souches d'*E. coli* peuvent devenir naturalisées, c'est-à-dire indigènes de la microflore dans ces environnements (Jang et al., 2017). Les génotypes naturalisés diffèrent de ceux qui colonisent les animaux ou qui sont originaires. Ces populations ont démontré une capacité intéressante à coloniser différentes niches écologiques, comme l'eau, les sables, les sols et les sédiments, ainsi qu'en association avec les algues macrophytes et le periphyton (Zhi et al., 2016; Jang et al., 2017; Nandakafle et al., 2023).

Il est décrit que cette bactérie est un colonisateur de l'homme (90%), des mammifères (56%), des oiseaux (23%), et des reptiles (10%). Dans le tractus gastro-intestinal des vertébrés, *E. coli* habite la couche muqueuse, recouvrant les cellules épithéliales tout au long du tractus. Cette couche muqueuse est riche en mucine, principalement constituée de glycoprotéines avec divers glycanes liés par liaison O, conférant des sites d'adhésion propices à la colonisation d'*E. coli* (Hews et al., 2017; Yu et al., 2021). Ce microorganismes est limité dans sa croissance à utiliser les mono ou disaccharides, et ne peut pas dégrader les polysaccharides complexes construisant la mucine (Bertin et al., 2013). D'ailleurs, *E. coli* ne possède pas d'enzyme complémentaire qui peut dégrader directement les polysaccharides. Cette faculté est assurée par l'activité mucolytique d'autres résidents anaérobies du tractus gastro-intestinal, facilitant la libération des mono- et disaccharides nécessaires au métabolisme d'*E. coli* (Yu et al., 2021).

E. coli fait face à plusieurs stress environnementaux, prenant l'exemple des variations de température, l'humidité limitée, les changements de texture des sols, la faible teneur en matière organique, la forte salinité, les radiations solaires et la prédation (Ishii et Sadowsky, 2008). D'autres rapports ont signalé que la survie de cette bactérie est également affectée par la matière organique en suspension et décantée, les conditions hydrologiques comme les précipitations, la chimie de l'eau, disponibilité des nutriments et les pratiques de l'utilisation du sol (Petersen et Hubbart, 2020).

Notant que la température élevée et la forte teneur en nutriments dans les régions tropical et subtropicales favorisant la survie et la croissance de cette bactérie en dehors de son hôte. Une étude a rapporté que la supplémentation en nutriments entraîne une augmentation de la concentration de cette bactérie dans le pétrole d'Ontario (Shehata et Marr, 1971; Ishii et Sadowsky, 2008), cela suppose qu'*E. coli* peut se développer et maintenir sa communauté

dans des environnements tempérés lorsque les conditions sont favorables. Il est également observé qu'*E. coli* peut se présenter dans un état viable non cultivable (VBNC) dans les eaux naturelles à 4°C (Ishii et Sadowsky, 2008).

Le développement urbain rapide dans les régions littorales est dû à l'augmentation des volumes de rejets d'eaux usées et des ruissellements urbains vers l'océan côtier, diverses souches d'*E. coli* sont libérées dans les eaux de baignade marines. Depuis longtemps, il est supposé que cette bactérie mourrait rapidement dans les eaux de mer, sans avoir aucune aptitude à coloniser et proliférer dans les écosystèmes marins. En revanche, il est démontré que ce microorganisme peut se développer dans des eaux de mer nutritives enrichies (Gerba et McLeod, 1976; Hughes, 2008).

Un travail sophistiqué est basé sur l'analyse des génomiques fonctionnelles afin de déterminer les motifs d'expression des gènes chez les cellules d'*E. coli*, qui se développent sur un milieu riche comparativement à un milieu minimal. Tous les 4290 gènes codant pour des protéines ont été analysés par hybridation sur puces à ADN. Cette étude a révélé que les cellules se divisent rapidement dans les milieux riches, ayant une expression élevée des gènes impliqués dans la traduction et n'ayant pas besoin d'exprimer les gènes responsables de la biosynthèse des acides aminés comparativement aux cellules se développant sur un milieu minimal (Tao et al., 1999; Chang et al., 2002).

En conséquence, les conditions environnementales ont clairement dirigé l'expression des gènes vers une croissance optimale. La croissance d'*E. coli* dans les environnements naturels est souvent limitée par la disponibilité des nutriments et des sources d'énergie (van Elsas et al., 2011; Löffler et al., 2016). En cultures, la famine est entraînée par la limitation de certains glucides ou d'autres substrats (Shimizi, 2014; van Elsas et al., 2011). En une telle situation, les cellules commencent à métaboliser progressivement leurs glucides cellulaires, suivis des protéines et de l'ARN, tout en protégeant leur ADN. Il s'avère évident qu'*E. coli* peut se comporter d'une manière similaire dans des environnements ouverts (van Elsas et al., 2011).

III.3.3 Diversité génétique

E. coli est une bactérie génétiquement versatile, peut coloniser plusieurs habitats (Blount, 2015) en tant que niches secondaires. La grande plasticité de son génome assure un profil évolutif intéressant, en raison du gain et de la perte de gènes par le biais de modifications génétiques, ce qui entraîne l'émergence de souches pathogènes à partir des souches résidentes (Foster-Nyarko et Pallen, 2022; Pokharel et al., 2023).

Les espèces pathogènes d'*E. coli* montrent un génome élargi (Geurtsen et al., 2022), grâce à des processus d'adaptation, et surtout liés aux facteurs de virulence. Les facteurs de virulence sont situés au niveau des éléments génétiques transmissibles (Pokharel et al., 2023), comme les îles de pathogénicité (Östblom et al., 2011; Zakaria et al., 2022), les bactériophages (Rodríguez-Rubio et al., 2021; Styles et al., 2022), les intégrons (Dehkordi et al., 2020), les plasmides (Werbowy et Kaczorowski, 2016; Li et al., 2019) ou les transposons (Cong et al., 2022), ou également transmis par des transferts horizontaux. Les transferts horizontaux de gènes entre différentes souches représentent une source de diversité et de polyvalence, permettant de créer de nouvelles espèces pathogènes et la disséminer les gènes de virulence acquis dotés d'une fonction (Pokharel et al., 2023).

Les gènes acquis par transferts horizontaux sont caractérisés par une composition atypique des bases, prenant l'exemple du contenu en GC différent par rapport aux gènes natifs d'un génome particulier. Ces variations sont issues des pressions sélectives divergentes subies par les différents génomes, résultant des modèles d'évolution distincts, cela est traduit par la composition en base pour chaque génome. L'analyse des séquences génomiques d'*E. coli* K-12 MG1655, par une approche combinée étudiant la composition en base et des analyses phylogénétiques, a démontré que 24.5% des gènes étaient acquis par des transferts horizontaux (Baran et Ko, 2008; Bohlin et al., 2010; Yu et al., 2021).

Rappelons l'existence de huit phylogroupes d'*E. coli*, identifiés comme A, B1, B2, C, D, E, F, et le plus récent G, ainsi que cinq clades cryptiques. Une étude visant l'identification d'*E. coli* dans des échantillons fécaux issus d'animaux sauvages et l'examen des traits génétiques a révélé une grande diversité génétique par rapport à la majorité des bactéries découvertes. Il est rapporté que certaines souches d'*E. coli* isolées à partir de 2300 vertébrés sauvages en Australie, renferment des mammifères, des oiseaux, des poissons et des reptiles, ont prouvé une diversité importante des phylogroupes, classés en un à quatre phylogroupes

(15% A; 33% B; 35% B1; 17% D). En outre, des souches d'*E. coli* d'origine animale (mammifères), humaine et environnementale ont démontré une grande diversité de phylogroupes (23% A; 47% B1 13% B2; 6% D; 9% E; 2% F) (Legerstrom et al., 2021; Koh et al., 2022).

Chaque phylogroupe joue un rôle écologique; les groupes A, B2 et D sont fréquemment observés chez l'homme; le phylogroupe A inclut plusieurs souches commensales chez l'homme (Legerstrom et al., 2021). Le groupe B1 est commun aux animaux et aux environnements abiotiques; les groupes B2 et D sont majoritairement commensaux chez les animaux, avec des propriétés capricieuses qui permettent une bonne adaptation à l'intestin des mammifères (Koh et al., 2022), et plus susceptibles de porter des facteurs de virulence que les groupes A et B1 (Legerstrom et al., 2021).

Les Shiga toxines, l'entérohémolysine, les toxines cytolétale de distension, la superoxydase, et quelques protéines de la membrane externe sont des facteurs de virulence codés par des phages chez *E. coli*. Les ressources de données sur les séquences génomiques ont permis de mieux comprendre les facteurs de virulence d'*E. coli* et les mécanismes sous-jacents à la diversité des espèces, et de suivre les épidémies de maladies d'origine alimentaire (Bielaszewska et al., 2009; Pokharel et al., 2023).

Tous les mécanismes adoptés contribuent au caractère mosaïque des génomes de différentes souches d'*E. coli* (Sabri, 2008). Chez cette bactérie, la plasticité génétique confère un caractère évolutif très marqué (Sabri, 2008; Braz et al., 2020), permettant à ce microorganisme d'occuper diverses niches écologiques et de s'adapter ainsi que de survivre à une grande variabilité des conditions environnementales, que ce soit à l'intérieur de l'hôte ou dans des environnements ouverts (Sabri, 2008; Foster-Nyarko et Pallen, 2022).

Une analyse comparative des génomes entiers de trois souches d'origine humaine, *E. coli* K12 MG1655 (commensale), *E. coli* CFT073 (pathogène), et *E. coli* 0157: H7 EDL933 (entérohémorragique), a été réalisée (Willenbrock et al., 2006; Sabri, 2008). Le traitement bioinformatique des données a démontré que les trois souches n'avaient en commun qu'environ 39% des protéines non redondantes totales, déduites à partir des séquences de leur génome. Environ 12% des protéines étaient communes à deux souches sur trois, tandis qu'environ 47% des protéines restantes étaient spécifiques à une seule souche. Cela comprenait 8% des protéines spécifiques à *E. coli* MG1655, 18% des protéines

caractéristiques d'EDL933, et 21% des protéines exclusives à CFT073. Ces résultats attestent de l'hétérogénéité de l'information génétique au cours de l'évolution (Sabri, 2008; Cooper et al., 2014).

III.3.4 Clonalité

La structure génétique d'une espèce bactérienne se base principalement sur l'équilibre entre les taux de mutations et de recombinaison. Une structure clonale se révèle quand la recombinaison est faible, tandis qu'une structure panmictique est observée en présence lorsqu'une recombinaison est élevée. Cette bactérie est largement reconnue pour son aptitude à coloniser et occuper différentes niches en adoptant un ensemble de modes de vie. Les études sur la structure de la population ont mené à la conception qu'*E. coli* est hautement susceptible d'être une espèce clonale (Dixit et al., 2017; Yu et al., 2021).

Les investigations génotypiques d'*E. coli* ont proposé une diversité de lignées clonales où une faible recombinaison s'est produite. D'ailleurs, une première étude visant la détermination de la variabilité de la mobilité électrophorétique des enzymes provenant des différentes souches d'*E. coli*, ayant comme origine les sources naturelles diverses, a dévoilé un résultat surprenant consiste en une très faible variation entre les cinq locus examinés. Ce résultat établit une preuve nette de la structure clonale chez *E. coli* (Yu et al., 2021; Koh et al., 2022; Pokharel et al., 2023).

La versatilité de ce groupe bactérien est liée à son caractère clonal. Cette population s'est composée de groupes clonaux provenus d'un ancêtre commun, ont divergé grâce à des tentatives évolutives. Cette divergence s'est produite par la sélection des mutations, donnant ensuite une grande adaptabilité aux conditions des niches occupées par d'autres clones (Sabri, 2008). La structure des populations clonales chez *E. coli* coïncide aux études antérieures de sérotypage qui ont mis en lumière la distribution universelle et non aléatoire de certains sérotypes d'*E. coli* (Yu et al., 2021).

III.3.5 Pathogénicité

Escherichia coli est largement reconnu pour sa pathogénicité, en tant qu'un agent causal de plusieurs maladies, y compris des désordres intestinaux et extra-intestinaux chez l'homme et certains animaux. Neuf pathovars d'origine humaine ont été décrit chez *E. coli*, d'origine

humaine, causant des maladies diarrhéiques et extra-intestinales (Riley, 2020; Pakbin et al., 2021). Sept sérovars ont été signalés en tant que des pathogènes entériques, comprenant *E. coli* entéropathogène (EPEC), *E. coli* entérohémorragique (EHEC), *E. coli* entérotoxigénique, *E. coli* entéroinvasif (EIEC), *E. coli* entéroaggrégatif (EAEC), *E. coli* adhérent diffusif (DAEC), et un nouveau sérovar, *E. coli* adhérent invasif (AIEC), entraînant des diarrhées et des troubles intestinaux. La majorité de ces pathogènes présente une inquiétude pour la santé publique en tant que sources de maladies d'origine alimentaire et des agents responsables d'épidémies mortelles dans les pays en développement et développés (Darbandi et al., 2016; Pakbin et al., 2021).

E. coli extra-intestinale est susceptible de causer d'environ 80% des infections du tractus urinaire chez les patients ambulatoires. Ces infections sont souvent nosocomiales (50%), l'agent principal des abcès et sont la cause d'environ 30% des méningites chez les nouveau-nés (Desvaux et al., 2020; Gruszecka et Filip, 2023). Le lien entre les lignées évolutives d'*E. coli*, l'existence de certains gènes de virulence extra-intestinaux, et certains sites d'infection a mené aux concepts d'*E. coli* entéropathogène (EPEC), *E. coli* septique (SEPEC), *E. coli* méningite néonatale (NMEC), *E. coli* pathogène aviaire (APEC) qui représente un agent causal des infections extra-intestinales chez les volailles, et enfin, un pathovar non diarrhéique appelé *E. coli* adhérent invasif (AIEC), associé aux maladies inflammatoires de l'intestin, telle que la maladie de Crohn. *E. coli* AIEC est signalé comme une bactérie pathobionte plutôt qu'une bactérie responsable d'une infection et fait partie du phylogroupe B2 (Picard et al., 1999; Desvaux et al., 2020).

Les études précédentes ont pu identifier 171 antigènes somatiques (O), 55 antigènes flagellaires (H) et 80 antigènes capsulaires (K), et plus de 160 types sérologiques d'*E. coli*. Ce groupe bactérien est impliqué dans les infections telles que les infections du tractus urinaire (IVU), les pneumonies nosocomiales (HAP), le sepsis, les infections du site opératoire (SSI), les infections du tractus gastro-intestinal, le syndrome hémolytique et urémique (SHU), la méningite et les inflammations des méninges (Sarowska et al., 2019). Récemment, il est indiqué l'identification de 173 antigènes somatiques et 56 antigènes flagellaires (Sora et al., 2021). La distinction entre les espèces pathogènes et commensales s'appuie sur l'ensemble des facteurs de virulence, cette distinction est évoluée grâce à l'utilisation des outils de typage moléculaire sophistiqués et surtout disponibles (Bisi- Johnson et al., 2011; Braz et al., 2020).

III.3.6 Facteurs de virulence

Comme précédemment indiqué, les gènes de virulence se situent sur des éléments génétiques transmissibles tels que les îlots génomiques, les bactériophages, les séquences d'insertion (IS), les intégrons, les plasmides et les transposons, ce qui facilite leur échange entre différentes bactéries (Braz et *al.*, 2020). Au fil de l'évolution, les souches pathogènes ont acquis certains déterminants de pathogénicité, autrement dit des facteurs de virulence qui interviennent au cours du processus infectieux (Sabri, 2008).

Les souches pathogènes d'*E. coli* peuvent produire plusieurs adhésines, des structures de surface jouant un rôle clé dans le processus d'adhésion (Sora et *al.*, 2021). L'expression des adhésines de surface augmente la virulence des espèces pathogènes en facilitant un contact restreint entre la bactérie et la membrane de la cellule hôte. Différentes adhésines bactériennes ont été adaptées en vue de faciliter la colonisation de niches spécifiques. Les adhésines fimbriales de type S (Sfa), les Fimbriae F1C (Pseudotype I), les pili de type P, Papc, et Iha (iha) sont fréquemment détectées chez les souches d'*E. coli* d'origine humaine isolées à partir des infections urinaires (Sabri, 2008; Sora et *al.*, 2021).

Les sérotypes pathogènes pour l'homme sont potentiellement capables de former des biofilm, cela est prouvé chez, *E. coli* K-12 et *E. coli* 0157:H7, (Nesse et *al.*, 2014). Cette capacité des souches pathogènes d'*E. coli* contribue aux complications des infections. La formation de biofilms pathogènes sur des implants médicaux ou des tissus représente la cause principale des infections persistantes. Puisque ce mode sessile confère une haute tolérance aux agents antimicrobiens et une résistance au système immunitaire, ce qui peut mener à la réapparition des infections et à un recours fréquent à l'antibiothérapie (Aliane and Meliani, 2021). *E. coli* formant des biofilms est un agent majeur des infections urinaires, c'est le cas des cystites simples. La formation de biofilm dans les cathéters vasculaires induit la résistance d'*E. coli* aux antibiotiques, générant des infections chroniques (Ballen et *al.*, 2022).

L'adhésion d'*E. coli* aux récepteurs membranaires de l'organisme hôte provoque des voies de signalisation de l'hôte, ce qui entraîne un réarrangement du cytosquelette d'actine de la cellule hôte, essentiel pour l'invasion bactérienne des cellules endothéliales microvasculaires du cerveau humain (HBMEC) (Maruvada et Kim, 2012). La régulation de ce réarrangement par *E. coli* K1 indique un processus multifactoriel et complexe, faisant appel à des protéines de liaison à l'actine, des molécules de signalisation de l'hôte, et d'autres

déterminants microbiens. Il est important de noter que les interactions entre le microorganisme et l'hôte dans l'invasion des HBMEC ne sont pas encore comprises ni élucidées (Sora et al., 2021).

Chez *E. coli*, trois gènes sont hautement nécessaires pour la chélation du Fe^{2+} *feoABC*. Le gène *feoB* code pour une protéine (84 kDa) située dans la membrane cytoplasmique, semble une protéine de transport du fer. Cependant, les fonctions des gènes *feoA* et *feoC* ne sont pas encore connues. Le fer peut également être transporté par le système codé par le gène *mntH*. (Braun, 2003; Lau et al., 2013). La chélation du fer est exécutée par un grand nombre des chélateurs, autrement connus sous le terme sidérophores. Le transport du fer à travers la membrane externe est assuré par le transport de citrate, ferrichrome, entérobactine, aérobactine, salmocheline, yersiniabactine et hème est catalysé des protéines spécifiques. Toutefois, le transport à travers la membrane cytoplasmique est effectué par des systèmes ABC de transport avec une spécificité plus faible. L'énergie nécessaire pour le transport à travers la membrane externe est fournie par la force motrice protonique de la membrane cytoplasmique, transmise par des protéines TonB-ExbB-ExbD (Braun, 2003).

La structure antigénique d'*E. coli*, contribue à sa grande virulence. Commenant par les lipopolysaccharides (LPS), se trouve dans le feuillet extérieur de la membrane des bactéries à Gram négatif, consiste en trois régions structurales majeures: lipide A, un glycolipide hydrophobe encrant les LPS dans la membrane bactérienne; le corps oligosaccharidique central, représentant un oligosaccharide non répétitif contenant des sucres tels que l'heptose et le céto-désoxytulose (Kdo); et l'antigène O est un polysaccharide composé de multiples unités répétitives d'oligosaccharides (unités O). Chaque unité O, composée de deux à sept résidus de sucres communs ou rares et de leurs dérivés, caractérisée par une grande variabilité en raison de la variation des sucres, et constituant l'unité O et des liaisons entre les unités O (Bertani et Ruiz, 2018; Liu et al., 2019). L'antigène O est acteur essentiel dans la virulence, et sa perte entraîne une atténuation de la virulence, tout en rendant les espèces sensibles au sérum. Ce facteur de virulence pourrait exhiber une suppression immunitaire, en permettant à *E. coli* uropathogène (UPEC) d'affaiblir l'induction de cytokines et de chimiokines au niveau des cellules épithéliales, et d'assurer ainsi la protection contre la phagocytose et la destruction par les neutrophiles et les monocytes (Sarkar et al., 2014; Liu et al., 2019).

L'antigène flagellaire H ou flagelline, est la sous-unité protéique du filament flagellaire et le déterminant de la spécificité de l'antigène flagellaire (Feng et al., 2008). Par exemple, l'antigène H12 contribue largement à l'hydrophobicité cellulaire et à l'attachement à des surfaces abiotiques comparativement à l'antigène H7 (Goulter et al., 2014). La structure combinée de la structure de l'antigène O et H définit le stéréotype d'une souche (Stenutz et al., 2006).

La capsule bactérienne est une structure extracellulaire, composée uniquement de longues chaînes de polysaccharides. Elle est majoritairement impliquée dans la prévention des réponses immunitaires, sachant que les souches dépourvues de capsule sont généralement non pathogènes (Hsieh et Allen, 2020; Sora et al., 2021). Plus de 80 antigènes capsulaires ont été identifiés, parmi lesquels K1 et K2 sont les principaux déterminants de la résistance au sérum. Chez *E. coli*, les espèces exprimant l'antigène capsulaire K sont associées au sepsis néonatal. L'antigène capsulaire recouvre la surface cellulaire et inhibe l'adhésion bactérienne aux cellules épithéliales (Sora et al., 2021).

Plusieurs toxines sont produites par *E. coli*, α -hémolysine (HlyA) faisant partie de la famille des toxines répétées (RTX), est une cytotoxine puissante et hautement investiguée et décrite. Cette toxine provoque des graves lésions cellulaires. En revanche, les mécanismes d'induction d'alfa hémolysine des lésions rénales ne sont pas encore élucidés et restent flous (Schwidder et al., 2019; Wang et al., 2020). Une corrélation entre la sévérité des infections urinaires et l'expression de l'alfa hémolysine chez *E. coli* uropathogène (UPEC) a été signalées. D'ailleurs la quantification de cette toxine chez les souches UPEC indique une augmentation de l'opéron *hlyA* dans le génome. Signalant qu'un ratio varie entre 31 à 48% des cystites provoquées par l'UPEC codent pour l'hémolysine et 78% des souches produites des pyélonéphrites codent cette toxine (Ristow et Welch, 2016).

E. coli est également capable de produire des facteurs nécrosants cytotoxiques signalés chez les souches uropathogènes et associées aux méningites (Carlini et al., 2021). Ces dernières engendrent une perturbation des cycles cellulaires et l'interruption des voies de signalisation cellulaire. Ces facteurs nécrosants cytotoxiques sont plus associés aux souches UPEC, et responsables des infections urinaires sévères. Il est rapporté qu'une fréquence de 48% des souches isolées à partir des pyélonéphrites possède le gène *cnf1* (Sora et al., 2021). Les Shiga toxines sont également produites par *E. coli*, en deux type Stx 1 et Stx2 encodées par les gènes *stx1* et *stx2* respectivement. Les souches productrices des Shiga toxines

provoquent des colites hémorragiques, le syndrome urémique et hémolytique chez l'homme (Etcheverria et Padola, 2013).

Les systèmes de sécrétion III (T3SSs) sont effectivement cruciaux et clés dans les infections bactériennes, en raison de leur rôle de délivrer les protéines effectrices dans les cellules hôtes pour assembler les flagelles, signalant que la mobilité facilite les infections bactériennes. Le système de sécrétion III type 2 d'*E. coli* est ubiquitaire chez la majorité des souches, régulant la virulence bactérienne (Wang et al., 2016). En revanche, le système de sécrétion IV (T6SS2) joue presque le même rôle et renforce la virulence, conduisant à une résistance accrue aux antibiotiques. Parmi les rôles surprenants du système T6SS2 chez *E. coli*, il est signalé l'influence de l'expression des fimbriaes de type 1, l'induction de la pathogénicité, la formation des biofilms, l'interaction entre la bactérie et la cellules hôte, et la compétition bactérienne (Navarro-Gracia et al., 2019).

*Partie II. Matériel et
méthodes*

**Chapitre I. *Échantillonnage
et analyses physico-
chimiques***

I Échantillonnage et analyses physico-chimiques

I.1 Choix de la Zone d'étude

Les écosystèmes marins constituent des zones stratégiques aux enjeux significatifs pour les applications biotechnologiques, communément appelées « bleues ». Ainsi, cette étude se concentre sur plusieurs zones du nord-Ouest de l'Algérie. Toutefois, la diversité microbienne de ces écosystèmes marins est menacée par la pollution, quelle qu'en soit la nature. Cette situation entraîne des modifications notables dans la résilience des communautés bactériennes marines, rendant ces sites particulièrement pertinents pour l'étude de leurs comportements et de leurs interactions.

Dans ce contexte, l'exploration du comportement des bactéries marines et de leur potentiel biotechnologique face à des stress environnementaux ou des perturbations d'origine anthropique constitue un domaine de recherche relativement nouveau et en pleine expansion, offrant des perspectives prometteuses pour des avancées biotechnologiques. L'objectif principal de cette étude est de mieux comprendre la régulation génétique du quorum sensing (QS) et son impact sur le comportement et le profil biotechnologique des souches marines isolées. Nous aborderons également la formation de biofilms et les signaux chimiques, qui influencent non seulement l'état physiologique des cellules microbiennes, mais également leur communication intra- et interspécifique. Ce choix d'étude des écosystèmes marins s'inscrit également dans le cadre du projet TASSILI 2020, développé dans le cadre de deux programmes de recherche franco-algériens.

I.1.1 Zone d'étude

La zone d'étude inclut plusieurs sites situés le long de la côte nord-ouest de l'Algérie. Le port d'Arzew, localisé à Arzew dans la wilaya d'Oran, se trouve aux coordonnées 35°51'38.196" N et 0°18'26.1864" W. À proximité, la plage Saint-Michel, également à Arzew, est située à 35°51'51.066" N et 0°17'40.2468" W. Dans la wilaya de Mostaganem, la plage Ouréah à Mazagran se trouve aux coordonnées 35°52'14.0016" N et 0°02'04.9992" E. Toujours dans la wilaya de Mostaganem, le port de pêche et de plaisance de Salamandre est localisé à 35°55'19.3548" N et 0°03'29.538" E, tandis que le port commercial de Plateau se trouve à 35°56'19.7808" N et 0°04'54.282" E. Plusieurs raisons ont déterminé le choix de ces

sites, qui constituent une zone côtière diversifiée en termes de fonctions portuaires et de loisirs et leur accessibilité.

I.2 Échantillonnage spatio-temporel

Lors des prélèvements d'échantillons, nous avons essayé d'obtenir un échantillon représentatif qui constitue une image fidèle de l'ensemble d'un lot homogène, en prélevant à une profondeur de 20 cm. Les eaux de mer issues des ports ont été collectées à partir de quatre sites différents et réunies dans un seul échantillon (Lu et *al.*, 2019).

Notre étude repose sur l'analyse d'échantillons d'eau de mer prélevés à cinq sites sélectionnés (Tableau 1, figure 10). Quant à la période, les échantillons ont été collectés pendant le mois de décembre 2020 et 2021. Des mesures strictes d'asepsie ont été appliquées pour éviter toute contamination des échantillons destinés à une analyse de qualité microbiologique. Ils ont été immédiatement placés dans une glacière et acheminés au laboratoire de l'ADE, unité de Relizane. À leur arrivée au laboratoire, des analyses bactériologiques et physico-chimiques ont ensuite été effectuées pour évaluer la qualité de l'eau dans ces différentes zones côtières.

Tableau 1. Localisation et coordonnées géographiques des cinq stations étudiées.

	Site	Localisation	Cordonnées géographiques
1	Port d'Arzew	Arzew, Oran, Algérie	35°51'38.196" N 0°18'26.1864 2" W
2	Plage Saint-Michel	Arzew, Oran, Algérie	3°95°51'51.066" N 0°17'40.2468" W
3	Plage Ouréah	Mazagran, Mostaganem, Algérie	35°52'14.0016" N 0°02'04.9992" E
4	Port de pêche et de plaisance	Salamandre, Mostaganem, Algérie	35°55'19.3548"N 0°03'29.538" E
5	Port commerciale plateau	Plateau, Mostaganem, Algérie	35°56'19.7808" N 0°04'54.282" E



Figure 10. Localisation des sites d'échantillonnage (Algérie). **Site 1** : Port d'Arzew; **Site 2** : plage Saint Michel; **Site 3** : Plage Ouréah; **Site 4** : Port commercial de Mostaganem; **Site 5** : Port de pêche de Mostaganem (Map Data© 2023, Google Maps).

I.3 Analyses physico-chimiques des échantillons

À leur arrivés au laboratoire, les échantillons ont été soumis à une analyse des paramètres physico-chimiques à l'aide d'une Mallette multiparamètre (Ref. SL1000, HACH, États-Unis). Les mesures ont été effectuées pour la température, le pH, la conductivité et la salinité (TDS). Parallèlement, une analyse chimique a eu lieu en mettant l'accent sur la détection d'indicateurs clés de la pollution, tels que les nitrites (NO_2^-), les nitrates (NO_3^-), l'ammonium (NH_4^+), et les phosphates (PO_4^-). Les résultats sont exprimés en mg/L (Munene et al., 2023).

I.3.1 Dosage de l'azote

Afin de quantifier la teneur en azote de nos échantillons, trois protocoles ont été choisis pour mettre en évidence les concentrations de nitrites, de nitrates et d'ammonium.

I.3.1.1 Détermination de nitrites

En vue de mesurer la teneur en nitrites, un volume de 50 mL d'échantillon a été mélangé avec 1 mL de réactif mixte de nitrite, puis le mélange réactionnel a été laissé à reposer 20 min. L'apparition d'une couleur rose indique la présence de NO_2^- . Par la suite, l'absorbance de chaque échantillon a été mesurée à une longueur d'onde de 540 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV/visible (Ref. DR 3900, HACH, Allemagne). Un essai à blanc a également été réalisé avec de l'eau ultra pure en suivant le même protocole opératoire. Les résultats obtenus sont exprimés en mg/L de nitrites (Norwitz et Keliher, 1984).

I.3.1.2 Détermination de nitrates

Pour quantifier la teneur en nitrates, un volume de 25 mL d'échantillon a été versé dans un bécher, auquel un sachet de poudre d'ajustement de la force ionique du nitrate a été ajouté sous agitation, conformément aux instructions du fournisseur Hach. La concentration en nitrates a ensuite été mesurée à l'aide de la mallette multiparamètre (Ref. SL1000, HACH, États-Unis). Les résultats obtenus sont exprimés en mg/L (Baezzat et al., 2011).

I.3.1.3 Détermination d'ammonium

Pour déterminer la teneur en ammonium, un volume de 25 mL d'échantillon a été introduit dans un bécher, suivi de l'ajout de 0.5 mL de solution destinée à ajuster la force ionique d'ammonium sous agitation, conformément aux instructions du fournisseur (Hach company, USA). La mesure de la concentration d'ammonium a été réalisée à l'aide de la mallette multiparamètre (Ref. SL1000, HACH, États-Unis). Les résultats obtenus sont exprimés en mg/L (Sasongko et *al.*, 2018).

I.3.2 Dosage du phosphate

Pour évaluer la concentration en phosphates, un volume de 40 mL d'échantillon a été transféré dans un bécher, suivi de l'ajout de 1 mL d'acide ascorbique et de 2 mL de réactif (molybdate d'ammonium). Après une incubation de 30 minutes, la teneur en phosphate a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre UV/visible (Ref. DR 3900, HACH, Allemagne), à une longueur d'onde de 880 nm. Les résultats obtenus sont exprimés en mg/L (Ismail, 2023).

**Chapitre II. *Isolement et
caractérisation des souches
marines***

II Étude bactériologique

II.1 Dénombrement bactérien

Une étude sur les plages de la côte nord-ouest de l'Algérie a classé les sites en fonction de la qualité de l'eau et a révélé une contamination par *E. coli*, *Salmonella* et *Vibrio* pathogènes résistantes aux antibiotiques couramment utilisés, avec une multirésistance accrue dans les installations d'aquaculture (Dewi et al., 2022). Une autre étude a démontré une corrélation positive entre la fréquence d'*E. coli* et *P. aeruginosa*, suggérant que *E. coli* pourrait servir d'indicateur de la présence de *P. aeruginosa* dans les écosystèmes marins, tandis que *P. aeruginosa* pourrait être utilisé pour détecter la présence de certains agents pathogènes non fécaux dans les eaux de baignade (Januário et al., 2020). Le dénombrement a été précédé par un enrichissement, suivi d'une série de dilutions. Tous les produits et réactifs utilisés dans cette étude provenaient de Sigma Aldrich.

II.1.1 Enrichissement

Des cultures par enrichissement ont été réalisées afin de sélectionner les bactéries capables de dégrader les hydrocarbures. Le pétrole brut et le kérosène, des contaminants fréquemment présents dans les écosystèmes marins, ont été choisis comme substrat d'enrichissement. Pour ce faire, des techniques classiques d'enrichissement ont été appliquées en utilisant un milieu minéral contenant du pétrole brut, du kérosène, et le chlorure de sodium. Un volume de 1 mL de l'échantillon a été introduit dans un tube à essai contenant 9 mL du bouillon minéral Bushnell-Haas (Voir annexe I) supplémenté de 1% du pétrole brut, 1% de kérosène, 3% de chlorure de sodium. Ces tubes ont ensuite été soigneusement incubés sous agitation rotative à 30°C pendant 48h. Les cultures d'enrichissements ont été suivies par une mesure de la densité optique à 600 nm, ainsi que par des repiquages successifs après la période d'incubation (Vimont et al., 2006; Greñ et al., 2009).

II.1.2 Préparation des dilutions

À partir des cultures d'enrichissement, des séries de 2 à 3 dilutions successives au 1/10^{ème} dans du bouillon tryptone salin (Voir Annexe I) ont été réalisées sous agitation. Les échantillons étaient généralement visuellement limpides, à l'exception de ceux provenant des ports, qui présentaient certaines impuretés.

II.1.3 Ensemencement et Dénombrement

Les dilutions réalisées ont été utilisées pour ensemercer (100 µl) par étalement en surface sur des boîtes de Pétri contenant de la gélose Luria Bertani (Ref. 610080. Sigma-Aldrich) additionnée de 1% substrat (pétrole brut ou kérosène). Les boîtes ont ensuite été incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures. Les colonies développées ont été dénombrées.

Le nombre des germes par millilitre d'eau de mer a été déterminé en calculant la moyenne arithmétique des résultats obtenus, en tenant en compte les facteurs de dilution selon la formule (Bhuyan et *al.*, 2023):

$$N = n/d.v$$

Où:

N: nombres des microorganismes en UFC/mL

n: nombres des colonies dénombrées

v: volume prélevé

d: dilution

II.2 Isolement bactérien

II.2.1 Filtration des eaux de mer

Après la détermination des paramètres physico-chimiques, un processus de filtration sous vide a été réalisé. Pour cela, 100 mL de chaque échantillon a été filtré à l'aide d'un système de filtration sous vide multiple à 6 entonnoirs (Ref. 168M6-SS100, Sartorius Stedim Biotech™, Allemagne) équipé d'un filtre de 0.22 µm, dans des conditions stériles. Ce processus a été poursuivi jusqu'à ce que l'eau soit entièrement épuisée et que le filtre devienne complètement sec. Ensuite, le filtre a été récupéré soigneusement dans la zone stérile, et déposé sur une boîte de Pétri contenant le milieu de culture, gélose *Pseudomonas* F (Ref.610309. Sigma-Aldrich). Les boîtes de Pétri ont été incubées à 37°C pendant 24 heures (Capo et *al.*, 2020).

II.2.2 Purification

Les colonies présentant des aspects macroscopiques ont été sélectionnées et purifiées par une série de repiquages successifs par la méthode des stries sur la gélose *Pseudomonas* F.

La sélection des colonies s'est fondée sur des critères macroscopiques tels que l'odeur, la couleur, la forme, le diamètre et l'opacité (Martinneau, 1996).

II.2.3 Conservation des souches isolées

II.2.3.1 Conservation à court terme

Les souches pures ont été conservées sur gélose inclinée, suivie d'une incubation à 30°C pendant 18 heures pour obtenir des cultures jeunes. Après une croissance bactérienne satisfaisante, les tubes ont été transférés à une température de 4°C pour une durée de trois mois. Un repiquage périodique est essentiel pour maintenir la viabilité des souches (Khelil-Radji, 2015).

II.2.3.2 Conservation longue durée

Les colonies pures ont été inoculées dans du bouillon *Pseudomonas* F (Ref. 610310. Sigma-Aldrich), enrichi en glycérol (Ref. G5516. Sigma-Aldrich) (25%), puis conservés à une température de -20°C. Un nouveau repiquage est nécessaire tout les six mois pour maintenir la viabilité des cultures (Mezaache, 2012).

II.3 Caractérisation des isolats marins

Les souches pures sont soumises à une caractérisation morphologique, physiologique et biochimique et moléculaire.

II.3.1 Étude morphologique

Pour déterminer certains critères phénotypiques, une étude morphologique a été menée, incluant des examens macroscopiques et microscopiques des souches. L'examen macroscopique porte sur une description précise des colonies, englobant leur forme, leur contour, leur couleur, leur odeur, leur élévation et leur diamètre, sur gélose. En parallèle, l'examen microscopique a été réalisé à l'état frais ainsi qu'après fixation et coloration, en utilisant un microscope optique (Bansal et *al.*, 2013).

II.3.2 Étude physiologique et biochimique

Selon les schémas d'identification dichotomique des principaux Gram négatifs décrits par Sutter (1968) et Porschen et Stalons (1976), le diagnostic a été effectué en sélectionnant un ensemble restreint de caractères significatifs permettant une identification plus précise. Ces caractères incluent l'activité oxydase, catalase, ainsi que la production de pigments fluorescents ou non sur les milieux chromogènes. En outre, la croissance des isolats à 4°C et 42°C a été évaluée afin de caractériser les aspects physiologiques des *Pseudomonas*.

La détermination de profil biochimique a ensuite porté sur l'étude du métabolisme des sucres, des acides aminés, de l'urée et de l'indole, ainsi que sur le type respiratoire (Mwajitan et al., 2013). Cette étude biochimique l'étude a été complétée par l'utilisation des galeries miniaturisés API 20E (Ref. 20100. Biomerieux) et 20NE (Ref. 20050. Biomerieux) (Peladan et Monteil, 1988; Djerbaoui, 2011).

II.3.3 Caractérisation moléculaire

II.3.3.1 Extraction d'ADN et amplification d'ARNr S16 par PCR

Selon le protocole de Weinsburg et al. (1991), l'ADN génomique des bactéries marines a été extrait et analysé. La réaction en chaîne de la polymérase (PCR) a été effectuée en utilisant l'amorce directe (fd1) avec la séquence de nucléotides AGAGTTTGATCCTGGCTCAG et l'amorce inverse (rd1) avec la séquence AAGGAGGTGATCCAGCC dans un thermocycleur Biometra (Allemagne). Chaque réaction (volume final de 25 µL) contenait 10 pmols de chaque amorce, 1.5 mM de MgCl₂, 0.2 mM du mélange de dNTP, 5 µL de tampons Taq 10×, 1 unité d'ADN polymérase Taq et 1 µL d'ADN matrice, le tout ajusté à 25 µl avec de l'eau stérilise. Après une dénaturation initiale à une température de 95°C pendant 2 minutes, le programme de PCR consistait en 30 cycles réplicatifs constitués de variations rapides de température: dénaturation à 94°C pendant 30 secondes, hybridation à 55°C pendant 30 secondes, et élongation à 72°C pendant 2 minutes, suivi d'une extension finale de 10 minutes à 72°C. Ensuite, 5 µL des produits PCR ont été déposés sur un gel d'agarose à 1.2% (p/v) et soumis à une électrophorèse à 80 V dans un tampon TBE 1×. Le gel, imprégné de bromure d'éthidium à 0.01 g/mL, a été visualisé sous une lampe transilluminatrice UV (S. No. 76S/64069, Bio RAD, Italie) et photographié. Un marqueur d'ADN de 1 Kb (Fermentas, Allemagne) a été utilisé comme référence. Les produits PCR ont été ensuite extraits du gel, purifiés à l'aide du kit JET quick (Gel Extraction

Spin Kit, GENOMED), et séquencés automatiquement. L'identification des organismes a été réalisée en comparant les séquences obtenues à la base de données NCBI via l'outil BLAST (Naseem et Bano, 2014).

II.3.3.2 Analyse phylogénétique

Les séquences obtenues des souches les plus performantes ont été soumises à une recherche d'homologie dans la base de données en ligne NCBI, en utilisant l'outil BLAST de similarité nucléotidique, comme mentionné précédemment. Les espèces présentant des séquences étroitement apparentées (identité $\geq 97\%$) ont été sélectionnées pour un alignement de séquences multiples, réalisé par le programme CLUSTALW (Larkin et *al.*, 2007).

À partir de cet alignement, un arbre phylogénétique basé sur ARNr 16S a été construit en utilisant une méthode de regroupement voisin (neighbor-joining) avec 1000 répliques bootstrap, et visualisé à l'aide de logiciel MEGA11 selon la méthode du maximum de vraisemblance (Özan and Ussery, 2012). Les séquences du gène ARNr 16S ont été soumises à la base de données GenBank de NCBI, où des numéros d'accession ont été attribués.

Chapitre III. *Optimisation de la croissance bactérienne*

III Optimisation de la croissance bactérienne

III.1 Effet de la température

Dans le but d'optimiser la croissance des souches marines, nous avons étudié l'impact de la température sur la croissance bactérienne à des valeurs de 25°C, 37°C et 44°C. Pour cela, nous avons utilisé le milieu LB (Voir annexe I) pour remplir des microplaques en polystyrène à 96 puits transparents. Chaque puits a étéensemencé avec une préculture jeune de 18 heures ($OD_{600} = 0.6$) préparée à partir des souches étudiées, tandis que les puits témoins ont été remplis avec du bouillon LB stérile. Les microplaques ont ensuite été incubées à 25°C, 37°C et 44°C pendant 24 heures. Les résultats ont été évalués en mesurant l'absorbance à une longueur d'onde de 630 nm à l'aide d'un lecteur Eliza (Ref. RT-6100, YSENMED, Chine) (Kim et *al.*, 2018).

III.2 Effet du pH

Nous avons également investigué l'effet du pH sur la croissance bactérienne, en testant différents niveaux de pH (5, 6, 7, 8, 9, 10). Cette évaluation a été réalisée dans des microplaques contenant du bouillon Luria Bertani, inoculées par des précultures jeunes (18h) ($OD_{600} = 0.6$), à l'exception des puits témoins qui ne contenaient que le bouillon LB stérile. Les résultats ont été mesurés en déterminant l'absorbance à une longueur d'onde de 630 nm à l'aide d'un lecteur Eliza (Ref. RT-6100, YSENMED, Chine) (Kim et *al.*, 2018).

III.3 Effet de la salinité

Afin d'optimiser la croissance des souches marines, celles-ci ont été exposées à des concentrations variables de chlorure de sodium (0, 1%, 2%, 4%, 6%, 8%, et 10%). Le milieu LB a été utilisé pour remplir des microplaques en polystyrène comportant 96 puits transparents. Chaque puits a étéensemencé avec une préculture jeune (18 heures) ($OD_{600} = 0.6$) préparée avec les souches testées, tandis que les puits témoins ont été remplis avec de bouillon LB stérile. L'évaluation de la tolérance bactérienne à la salinité a été réalisée par incubation à 37°C pendant 24 heures. L'absorbance a été mesuré à une longueur d'onde de 630 nm à l'aide d'un lecteur Eliza (Ref. RT-6100, YSENMED, Chine) (Abdulkarim et *al.*, 2009).

**Chapitre IV. *Croissance
bactérienne et viabilité dans
les stress environnementaux***

IV Viabilité cellulaire sous les stress environnementaux

IV.1 Croissance bactérienne et viabilité en présence des hydrocarbures

IV.1.1 Croissance bactérienne et viabilité en présence de pétrole brut

Les souches marines ont été soumises à une évaluation de croissance en présence d'hydrocarbures en utilisant la méthode de couche mince. Le pétrole brut a été filtré à l'aide d'un filtre seringue stérile (45 μm). Un volume de 20 μL des précultures ($\text{OD}_{600} = 0.3$), préparées dans un bouillon minéral Bushnell-Haas, supplémenté de 1% de pétrole brut, est ensemencé par la méthode de spotting en surface sur la gélose minérale Bushnell-Haas (Voir annexe I) recouverte d'une fine couche de 1% de pétrole brut. Les boîtes ont ensuite été incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures. L'observation de la croissance bactérienne et la formation d'une zone claire autour des colonies ont révélé la capacité des bactéries à tolérer et utiliser le pétrole brut (John et Okpokwasili, 2012; Araújo et *al.*, 2020; Stancu, 2020).

IV.1.2 Croissance bactérienne et viabilité en présence de kérosène

De manière similaire, la croissance des souches marines en présence de kérosène a été étudiée en appliquant la méthode de couche mince. Le kérosène a été filtré à l'aide d'un filtre seringue stérile (45 μm). Un volume de 20 μL des précultures ($\text{OD}_{600} = 0.3$), préparé dans un bouillon minéral Bushnell-Haas (Annexe I), supplémenté de 1% de kérosène est ensemencée par la méthode de spotting sur une gélose minérale Bushnell-Haas recouverte d'une fine couche de 1% de kérosène. Les boîtes de culture ont été incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures. L'observation de la croissance bactérienne et la formation d'une zone claire autour des colonies ont permis d'évaluer la capacité des bactéries à utiliser le kérosène (de John et Okpokwasili, 2012; Araújo et *al.*, 2020; Stancu, 2020).

IV.2 Croissance bactérienne et viabilité en présence des métaux lourds

Les métaux lourds sont reconnus comme étant des polluants menaçant l'écosystème aquatique à certaines concentrations (Tolku et *al.*, 2023). Parmi ces métaux lourds, le cuivre (Cu^{2+}) est présent en faibles concentrations dans le milieu marin, mais ses niveaux augmentent en raison de l'industrialisation. À des concentrations élevées, le cuivre devient toxique et affecte le métabolisme des organismes marins (Leal et *al.*, 2018). Le mercure et le plomb sont également des polluants majeurs et nuisibles pour le milieu aquatique, et ils

figurent parmi les « dix principaux produits chimiques préoccupants ». Le plomb est un indicateur important de l'activité humaine dans ces écosystèmes (Al-Sulaiti et al., 2022; Ren et al., 2023).

L'étude la viabilité cellulaire par la résazurine constitue une méthode classique pour évaluer la viabilité cellulaire et la cytotoxicité en présence des substances antimicrobiennes (Métaux lourds). La résazurine est un indicateur redox, caractérisé par sa perméabilité aux cellules. Ce colorant bleu non fluorescent est converti en résorufine rose fluorescente, ce qui indique une viabilité cellulaire (Costa et al., 2021). Les solutions des trois métaux lourds et de la résazurine ont été stérilisées à l'aide des filtres seringues stériles (0.45 µm). Tous les essais suivants ont été effectués en triplicata afin de garantir la fiabilité des résultats.

IV.2.1 Croissance bactérienne et viabilité en présence de Cuivre

La toxicité du cuivre a été évaluée à l'aide de la résazurine, en utilisant des microplaques en polystyrène de 96 puits transparents. Un volume de 200 µL de bouillon LB, supplémenté en cuivre à différentes concentrations (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM, 2 mM, 2.5 mM et 3 mM), a été utilisé pour remplir les puits. Le choix de cet intervalle de concentration se base sur des études décrivant la tolérance bactérienne aux concentrations de cuivre supérieures à 2.5 mM (Yong et al., 1993; Vulpe et al., 2023). Chaque puits a ensuite étéensemencé par 200 µL d'une suspension cellulaire ($OD_{600} = 0.3$) préparée préalablement avec la souche étudiée. Les puits témoins ont été remplis avec du bouillon LB stérile. Un volume de 20 µL de solution de la résazurine (0.15 mg/mL) (Annexe I) a été ajouté dans chaque puits. Les microplaques ont été incubées à 37°C, à l'obscurité, pendant 24 heures. Après incubation, les mesures de l'absorbance ont été effectuées à l'aide d'un lecteur ELIZA (Ref. RT-6100, YSENMED, Chine), en utilisant des longueurs d'onde d'excitation ($\lambda_{ex} = 520$ nm) et d'émission ($\lambda_{em} = 590$ nm) (Teitzel and Parsek, 2003; Barbosa et al., 2015; Braissant et al., 2020 Costa et al., 2021; Zheng et al., 2021).

IV.2.2 Croissance bactérienne et viabilité en présence de plomb

L'évaluation de la toxicité du plomb a été réalisée à l'aide de la résazurine, en utilisant des microplaques en polystyrène de 96 puits transparents. Un volume de 200 µL de bouillon LB, supplémenté de plomb à différentes concentrations (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM, 2 mM, 2.5

mM et 3 mM) a été utilisé pour remplir chaque puits. Les concentrations de plomb, allant de 0 à 3 mM, ont été choisies en fonction de la tolérance des souches de *Pseudomonas aeruginosa* à des concentrations supérieures à 2.75 mM, identifiées comme étant des concentrations minimales inhibitrices (Hafeez et al., 2018). Chaque puits a étéensemencé par 200 μ L d'une suspension cellulaire ($OD_{600} = 0.3$) préparée avec la souche étudiée. Les puits témoins ont été remplis avec le bouillon LB stérile. Ultérieurement, 20 μ L de solution de la résazurine (0.15 mg/mL) (Annexe I) a été ajouté à chaque puits. Les microplaques ont été incubées à 37°C, à l'obscurité, pendant 24 heures. Après incubation, la lecture a été effectuée à l'aide d'un lecteur ELIZA (Ref. RT-6100, YSENMED, Chine) à l'excitation ($\lambda_{ex} = 520$ nm) et à l'émission ($\lambda_{em} = 590$ nm) (Teitzel and Parsek, 2003; Barbosa et al., 2015; Braissant et al., 2020 Costa et al., 2021; Zheng et al., 2021).

IV.2.3 Croissance bactérienne et viabilité en présence de mercure

La toxicité du mercure a également été évaluée. Le test est réalisé en microplaque en polystyrène de 96 puits transparents. 200 μ L du bouillon LB supplémenté de mercure à différentes concentrations (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM, 2 mM, 2.5 mM et 3 mM), a été utilisé pour remplir les puits. Le choix de la gamme des concentrations du mercure est basé sur le protocole décrit par Hall et al., (2015). Chaque puits a été inoculé avec 200 μ L d'une suspension cellulaire ($OD_{600} = 0.3$) préparée avec la souche testée. Les puits témoins ont été remplis uniquement de bouillon LB stérile. Ensuite, 20 μ L de solution de la résazurine (0.15 mg/mL) (Annexe I) a été ajouté aux puits. Les microplaques sont incubées à 37°C, à l'obscurité, pendant 24 heures. Après incubation, les valeurs de la densité optiques sont enregistrées à l'aide d'un lecteur ELIZA (Ref. RT-6100, YSENMED, Chine) à l'excitation ($\lambda_{ex} = 520$ nm) et à l'émission ($\lambda_{em} = 590$ nm) (Teitzel and Parsek, 2003; Barbosa et al., 2015; Braissant et al., 2020 Costa et al., 2021; Zheng et al., 2021).

**Chapitre V. *Formation des
biofilms sous les stress
environnementaux***

V Caractérisation phénotypique de la formation du biofilm

L'étude de la formation du biofilm a été réalisée en utilisant deux méthodes complémentaires, une méthode qualitative, vise à mettre en évidence de la production du slime sur la gélose au rouge Congo, en variant la source du carbone. La seconde méthode repose sur la quantification de l'adhérence cellulaire à la surface en polystyrène. Nous avons évalué la capacité de souches marines à former des biofilms en présence de différentes concentrations de chlorure de sodium (NaCl), de pétrole brut, de kérosène, de sulfate de cuivre, de nitrate de plomb, et de chlorure de mercure.

V.1 Production de slime sur la gélose au rouge Congo

Dans le but de mettre en évidence la production de slime des souches étudiées, nous avons appliqué une méthode de détection qualitative décrite par Freeman et *al.* (1989) utilisant le rouge Congo. La gélose au rouge Congo a été préparée avec la gélose Cœur cerveau enrichie de 1% de sucre (glucose, fructose et saccharose) et 0.08% de rouge Congo (Voir annexe I). Les boîtes de gélose au rouge Congo ont été incubées à 37°C pendant 24 à 48h. Après incubation, l'aspect macroscopique des colonies a été observé. Les souches productrices de slime se caractérisent par des colonies de couleur noire, tandis que les souches non productrices développent des colonies rouges ou roses (Freeman et *al.*, 1989; Lima et *al.*, 2017; Torlak et *al.*, 2017).

V.2 Méthode de microplaque en polystyrène

La mise en évidence de la formation du biofilm a été réalisée sur microplaque en polystyrène de 96 puits transparents en triplicata. Un volume de 200 μ L de milieu LB stérile a été utilisé pour remplir chaque puits. L'adhérence bactérienne a ensuite été mesurée en fonction de différentes concentrations de NaCl (0, 1%, 2%, 4%, 6%, 8%, et 10%), d'hydrocarbures (pétrole brut et kérosène) (0, 0.5%, 1%, 1.5%, 2%, 3%, et 4%), et de métaux lourds (nitrate de plomb, chlorure de mercure, et sulfate de cuivre) (0, 0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM, 2 mM, 2.5 mM, 3 mM). L'évaluation de la capacité d'une souche à former un biofilm repose sur la comparaison de la densité optique du biofilm formé avec celle des témoins négatifs. La capacité de formation du biofilm est exprimée en fonction de la valeur seuil (DOc). Les solutions d'hydrocarbures et de métaux lourds ont été stérilisées à l'aide de filtres seringues stériles.

V.3 Impact des stress environnementaux sur la formation des biofilms

V.3.1 Effet de la salinité sur la formation du biofilm

Nous avons investigué l'effet des différentes concentrations de chlorure de sodium (0, 1%, 2%, 4%, 6%, 8%, et 10%) sur la capacité des souches à former des biofilms. Un volume de 200 μL de milieu LB a été utilisé pour remplir les puits de la microplaque. Chaque puits a été inoculé avec 200 μL d'une préculture jeune ($\text{OD}_{600} = 0.2 - 0.3$) préparés avec la souche étudiée, tandis que les puits témoins ont été remplis par 400 μL de bouillon LB stérile. Les microplaques ont ensuite été incubées à 37°C pendant 24h. Après incubation, les microplaques ont été vidées de leurs contenus et puis rincées trois fois avec 400 μL de tampon phosphate (PBS). Les microplaques ont été renversées pour les sécher, puis colorées avec 400 μL d'une solution de cristal violet à 0.5% (P/V) (Annexe I). Après 15 min de coloration, l'excès de colorant a été éliminé, et les puits ont été rincés trois fois avec de l'eau bidistillée stérile. Les microplaques ont été séchées pendant 15 min à température ambiante. La récupération du cristal violet retenu par les cellules adhérentes à la surface en polystyrène a été effectuée par l'éthanol 95%, puis l'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de $\lambda = 595\text{nm}$ à l'aide d'un lecteur ELIZA (Ref. RT-6100, YSENMED, Chine) (Stepanovic et al., 2007; Wijesinghe et al., 2019).

V.3.2 Effet des hydrocarbures sur la formation du biofilm

L'évaluation de l'impact des hydrocarbures sur la formation des biofilms chez les souches marines étudiées a été effectuée en utilisant une gamme de concentrations de pétrole brut et de kérosène (milieu exempt des hydrocarbures, 0.5%, 1%, 1.5%, 2%, 3%, et 4%). D'ailleurs, 200 μL de milieu LB a été utilisé pour remplir les puits de la microplaque. Ensuite, les puits ont été inoculés avec 200 μL des précultures jeunes ($\text{OD}_{600} = 0.1 - 0.2$), préparées avec les souches étudiées, tandis que les puits témoins ont été remplis avec 400 μL de bouillon LB stérile. L'incubation a ensuite été effectuée à 37°C pendant 24 heures. Après incubation, les microplaques ont été vidées de leur contenu, puis rincées trois fois avec 400 μL du tampon phosphate (PBS). Les microplaques ont été séchées, puis colorées au cristal violet à 0.5% (P/V) (Annexe I). Après 15 min de coloration, l'excès de colorant a été éliminé, et les puits ont été rincés trois fois avec de l'eau bidistillée stérile. Les microplaques ont été séchées pendant 15 min à température ambiante. Le cristal violet retenu par les cellules adhérentes à la surface en polystyrène a été récupéré par l'éthanol 95%, l'absorbance a été

mesurée à $\lambda = 595\text{nm}$ par lecteur ELIZA (Ref. RT-6100, YSENMED, Chine) (Stepanovic et *al.*, 2007; Wijesinghe et *al.*, 2019).

V.3.3 Effet des métaux lourds sur la formation du biofilm

En vue de déterminer l'effet de trois métaux lourds testés (sulfate de cuivre, nitrate de plomb, et chlorure de mercure) sur la formation du biofilm, une série de concentrations des métaux lourds a été choisie (milieu exempt du métal, 0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM, 2 mM, 2.5 mM, 3 mM). Un volume de 200 μL de milieu LB a été utilisé pour remplir les puits. Chaque puits a été inoculé par 200 μL d'une préculture jeune ($\text{OD}_{600} = 0.1 - 0.2$) préparée avec la souche étudiée, tandis que les puits témoins ont été remplis avec 400 μL de bouillon LB stérile. Les microplaques ont été ensuite incubées à 37°C pendant 24h. Après incubation, le contenu de la microplaque a été vidé et subi trois rinçage successifs avec le tampon phosphate (PBS). Les microplaques ont été séchées, puis colorées au cristal violet à 0.5% (P/V). Après élimination de l'excès de colorant et trois rinçages à l'eau bidistillée stérile, les microplaques ont été séchées pendant 15 min à température ambiante. Le cristal violet retenu par les cellules adhérentes à la surface en polystyrène a été récupéré par l'éthanol 95%, l'absorbance a été ensuite mesurée à $\lambda = 595\text{ nm}$ par lecteur ELIZA (Ref. RT-6100, YSENMED, Chine) (Stepanovic et *al.*, 2007; Wijesinghe et *al.*, 2019).

**Chapitre VI. *Quorum sensing*
*chez les bactéries marines***

VI Quorum sensing

VI.1 Détection de système quorum sensing par les biosenseurs

Les souches marines ont été soumises à une détection de la production des AHLs (Acyl Homosérine Lactones), au laboratoire de Programme du Contrôle et d'Analyse de la Qualité Alimentaire, Université Muğla Sıtkı Koçman, en Turquie. Le croisement des isolats avec le biosenseur *Chromobacterium violaceum* 026 sur la gélose LB a été réalisé pour détecter le système de quorum sensing des souches marines. Les boîtes ont été incubées pendant 24 à 48 heures à 37°C. Après incubation, le développement d'une pigmentation violette au niveau des colonies de *C. violaceum* 026 indique que la souche testée produisait des AHLs exogènes à courte chaîne (Lim et al., 2014).

VI.2 Effet des stress environnementaux sur le quorum sensing par docking moléculaire

Des analyses de docking moléculaire ont été effectuées à l'aide du logiciel AutoDock Vina. Divers stress environnementaux ont été modélisés pour se lier aux sites actifs de trois systèmes de quorum sensing (*Pseudomonas aeruginosa*): LasR (PDB ID: 2UV0), LasI (PDB ID: 1RO5), et PqsR (PDB ID: 4JVD). L'objectif de ces analyses était d'évaluer les mécanismes de liaison, les activités inhibitrices et les modes d'interaction des composés. La structure cristalline des protéines a été obtenue à partir de la Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>), tandis que la structure chimique des composés stressseurs a été récupérée à partir de la base de données PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>). Les interactions potentielles entre les composés stressseurs et les récepteurs LasR, LasI, et PqsR ont été analysées à l'aide de Discovery Studio Visualizer (BIOVIA, Dassault Systèmes, v21.1.0.20298). La molécule auto-inductrice 3-oxo-C₁₂-HSL (CID 3246941) a servi de modèle d'interaction pour les récepteurs LasR et LasI, tandis que la 2-nonyl-4-quinolone (CID 126421925) a servi de ligand modèle pour le récepteur PqsR.

VI.2.1 Préparation des récepteurs et des ligands

La structure des substances étudiées a été récupérée à partir de la base de données PubChem, puis analysée à l'aide du logiciel Discovery Studio Visualizer (BIOVIA, Dassault

Systemes, v21.1.0.20298). Les conformations finales, correspondant à des énergies minimales et ne présentant pas des fréquences imaginaires, ont été sélectionnées comme conformations initiales pour les essais de docking. Les trois récepteurs ont été obtenus à partir de la banque des données des protéines (PDB). Il est à noter que les répétitions structurelles et les molécules d'eau cristallisée ont été éliminées (Xue et *al.*, 2022) (Tableau 2 et 3).

Tableau 2. Caractérisation des protéines réceptrices LasR, LasI, et PqsR

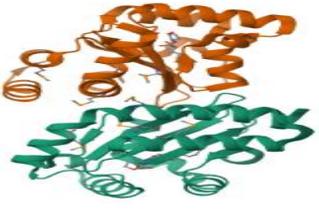
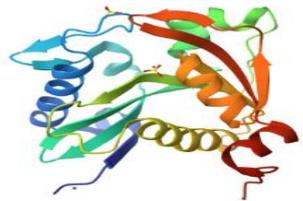
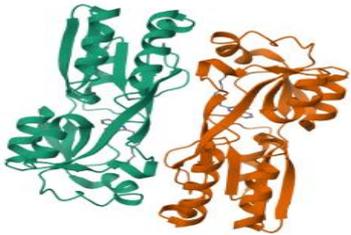
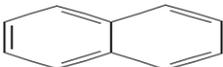
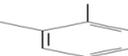
Récepteur	ID	Structure 3D
LasR	2UV0	
LasI	1OR5	
PqsR	4JVD	

Tableau 3. Identification des ligands utilisés pour le docking

CID	Composé	Structure chimique	MM	Nombre d'atomes	Atomes lourdes
3246941	N-3-Oxo-Dodecanoyl-L-Homoserine Lactone		297.39	48	21
126421925	2-nonyl-4-quinolone		271.4	45	20
517045	Acétate de sodium		82.03	8	5
931	Naphtalène		128.169	18	10
1140	Toluène		92.14	15	7
7237	O-xylène		106.16	18	8
8895	Acétate de cuivre		181.63	15	9
9317	Acétate du plomb		325	15	9
16685160	Acétate du mercure		318.68	15	9

Nous avons sélectionné différents composés afin d'analyser l'impact de stress environnementaux sur le système quorum sensing chez nos souches à Gram négatif (LasR et LasI), et particulièrement le récepteur PqsR pour le *Pseudomonas aeruginosa*. Le choix des ligands repose sur la disponibilité de la structure chimique en 3D du composé, c'est pourquoi nous avons utilisé l'acétate de sodium (CID 517045) comme stress salin, naphthalène (CID 931), toluène (CID 1140), o-xylène (CID 7237) (stress aux hydrocarbures) ces composés sont identifiés comme des composants aromatiques typiques du pétrole brut et du kérosène (Zheng et al., 2001; Kumari et al., 2018); l'acétate de cuivre (CID 8895) (stress au cuivre), l'acétate de plomb (CID 9317) (stress au plomb), et l'acétate de mercure (CID 15337) (stress au mercure).

Chapitre VII. *Mobilité*
bactérienne et chimiotactisme
sous les stress
environnementaux

VII Étude de la mobilité bactérienne et chimiotactisme

Les microorganismes sont caractérisés par leur capacité à répondre aux stimuli environnementaux grâce à des systèmes complexes de transduction des signaux (Wang *et al.*, 2020). Les bactéries hétérotrophes marines, telles qu'*E. coli*, possèdent un système sensoriel (chimiotactisme) qui leur permet de percevoir et se déplacer le long des gradients chimiques (Clerc *et al.*, 2023; Tamar *et al.*, 2016). La mobilité bactérienne est essentielle à la survie dans des environnements défavorables, comme observé chez *E. coli* et *P. aeruginosa* (Henrichsen, 1972; Pollitt et Diggle, 2017; Zegadlo *et al.*, 2023).

VII.1 Mobilité de type swimming

Le milieu LB (Luria-Bertani) (Annexe I) à 0.3% d'agar (m/v) a été utilisé pour évaluer la mobilité de type swimming. Les boîtes contenant la gélose LB ont été inoculées avec 5 μ L d'une préculture jeune (18 h) ($OD_{600} = 1$) de la souche étudiée, en effectuant un spot central à l'aide d'une micropipette. L'incubation a été réalisée à 37°C pendant 24 heures (Borah *et al.*, 2019; Zhu *et al.*, 2019).

VII.2 Mobilité de type swarming

Un milieu de swarming à 0.5% d'agar (m/v) (Annexe I) a été utilisé pour l'évaluation de la mobilité de type swarming. Le milieu a été inoculé avec 5 μ L d'une préculture jeune de 18h ($OD_{600} = 1$), préparée avec la souche étudiée, en utilisant la méthode de spotting central en avec une micropipette stérile. Les boîtes ont ensuite été incubées à 37°C pendant 24 heures (Gani et Gopinath, 2016; Borah *et al.*, 2019).

VII.3 Mobilité de type twitching

Pour évaluer la mobilité de type twitching, une gélose LB à 1% d'agar (m/v) a été préparée, puis coulée en boîte (épaisseur de 3 mm). L'inoculation a été réalisée en effectuant un spot central avec 5 μ L d'une préculture jeune ($OD_{600} = 1$) de la souche étudiée, à l'aide d'une micropipette. L'incubation a eu lieu à 30°C pendant 24 heures (Patriquin *et al.*, 2008; Borah *et al.*, 2019).

VII.4 Étude du comportement chimiotactique

VII.4.1 Swarm plate agar

Des précultures jeunes ($OD_{600} = 1$) des souches étudiées ont été préalablement préparées dans 10 ml de bouillon tryptone salin, puis incubées à 30 °C pendant 24 heures. Les cellules ont ensuite été récoltées par centrifugation à 8000 g pendant 5 minutes, rincées deux fois avec un volume de 2 mL du tampon de chimiotaxie (Annexe I). Les cellules ont été resuspendues dans le même tampon à une densité optique égale 0.4 à 600 nm. Ensuite, 5 μ L de la suspension bactérienne a été inoculé au centre de boîtes de Pétri contenant de la gélose de swarming (0.5% d'agar). Les boîtes ont été incubées à 30°C pendant 24 heures (Panaley et *al.*, 2012; Liang et *al.*, 2021; Borah et *al.*, 2019).

VII.4.1.1 Effet de la salinité sur la mobilité de type swarming

Dans le but de tester l'effet de la salinité sur la mobilité du type swarming, une série de concentration a été choisie (0, 2%, 4%, et 6%). Comme test préliminaire, la méthode capillaire a été effectuée afin d'évaluer le comportement chimiotactique. Il a été observé que les concentrations élevées de chlorure de sodium (8% et 10%) inhibaient totalement la mobilité bactérienne. Par conséquent, nous avons décidé de réduire l'intervalle des concentrations de NaCl à 0-6% pour évaluer la mobilité bactérienne. Il est recommandé d'identifier le pic de détection de la mobilité (Sampedro et *al.*, 2015). Des précultures jeunes ($OD_{600} = 1$) ont été préparées dans le 10 mL de bouillon tryptone salin, puis incubées à 30 °C pendant 24 heures. Après incubation, les cellules ont été récoltées par centrifugation à 8000 g pendant 5 minutes et rincées deux fois avec 2 mL de tampon de chimiotaxie (Annexe I). Les souches ont été resuspendues dans le tampon de chimiotaxie à une densité optique de 0.4 à 600 nm. Ensuite, 5 μ L de la suspension bactérienne a été inoculé au centre de la boîte contenant de la gélose de swarming (0.5% d'agar), et incubé à 30°C pendant 24 heures (Panaley et *al.*, 2012; Liang et *al.*, 2021).

VII.4.1.2 Effet des hydrocarbures sur la mobilité de type swarming

L'effet du pétrole brut sur la mobilité de type swarming a également été investigué dans un milieu de swarming (0.5% d'agar) (Annexe I) supplémenté de 0.1% de pétrole brut et kérosène (Liang et *al.*, 2021). Comme test préliminaire, la méthode capillaire a été utilisée

pour évaluer le comportement chimiotactique en commençant par les concentrations élevées des hydrocarbures. Il a été observé que les niveaux élevés d'hydrocarbures (0.5% et 4%) inhibaient totalement la mobilité bactérienne. Par conséquent, nous avons choisi une concentration de 0.1% des hydrocarbures testés pour évaluer la mobilité bactérienne. Cette étape est recommandée pour identifier le pic de détection de la mobilité, comme l'ont signalé Sampedro et ses collaborateurs (Sampedro et *al.*, 2015). Les hydrocarbures ont été filtrés à l'aide des filtres seringues stériles (0.45 μm). Des précultures jeunes ($\text{OD}_{600} = 1$) des souches étudiées ont été préparées dans 10 mL de bouillon tryptone salin, puis incubées à 30°C pendant 24 heures. Les cellules ont ensuite été soumises à une centrifugation à 8000 g pendant 5 minutes, suivie de deux rinçages avec 2 mL de tampon de la chimiotaxie. Le culot a été resuspendu dans le même tampon ($\text{OD}_{600} = 0.4$). En outre, 5 μL de la suspension bactérienne a été inoculé au centre de boîte de Pétri contenant la gélose de swarming (0.5% d'agar). L'incubation a été effectuée à 30°C pendant 24 heures (Panaley et *al.*, 2012; Liang et *al.*, 2021).

VII.4.1.3 Effet des métaux lourds sur la mobilité de type swarming

L'impact des trois métaux lourds (sulfate de cuivre, nitrate de plomb, et chlorure de mercure) sur la mobilité bactérienne de type swarming a été étudié à quatre concentrations (0, 0.25 mM, 0.5 mM, 1 mM). La méthode capillaire a été utilisée pour évaluer le comportement chimiotactique aux concentrations élevées des trois métaux. Les niveaux élevés des métaux (1.5 mM, 2 mM, 2.5 mM et 3 mM) ont totalement inhibé la mobilité bactérienne. En conséquence, nous avons élargi l'intervalle compris entre 0 et 1 mM pour chaque métal afin d'évaluer plus précisément la mobilité bactérienne. Cette étape est cruciale pour déterminer le pic de détection de la mobilité (Sampedro et *al.*, 2015). Les solutions des métaux ont été stérilisées à l'aide des filtres seringues de 0.45 μm . Ensuite, des précultures jeunes ($\text{OD}_{600} = 1$) des souches étudiées ont été préparées dans le bouillon tryptone salin, puis incubées à 30°C pendant 24 heures. Les cellules ont été récoltées par centrifugation à 8000 g pendant 5 minutes, puis rincées deux fois avec de tampon de la chimiotaxie. Le culot a été resuspendu dans le même tampon ($\text{OD}_{600} = 0.4$). Un volume de 5 μL de la suspension des souches a été inoculé au centre de boîte de Pétri contenant la gélose de swarming (0.5% d'agar). Les boîtes de Pétri ont ensuite été incubées à 30°C pendant 24 heures (Panaley et *al.*, 2012; Liang et *al.*, 2021).

Chapitre VIII. *Valorisation*
Biotechnologique des souches
marines

VIII Profil Biotechnologique

VIII.1 Hydrophobicité cellulaire et pouvoir émulsifiant

VIII.1.1 Adhésion Bactérienne aux Hydrocarbures (BATH)

L'essai d'adhésion bactérienne aux hydrocarbures permet d'évaluer l'hydrophobicité d'une suspension cellulaire bactérienne (Rosenberg *et al.*, 1980). Brièvement, les bactéries ont été cultivées dans un bouillon Luria Bertani à 30 °C pendant 18 heures jusqu'à atteindre la phase exponentielle ($OD_{600} = 0.6$), un volume de 2 mL de suspension bactérienne ensuite été centrifugé à 1500 g pendant 10 minutes. Le surnageant a été éliminé et le culot a été remis en suspension dans 2 mL de tampon de chimiotaxie frais. Cette opération a été répétée trois fois avant de transférer la suspension bactérienne dans des tubes à essai à fond rond. Ensuite, 15 μ L de l'hydrocarbure testé ont été ajoutés, formant ainsi une fine couche d'huile recouvrant la suspension bactérienne. Après 2 minutes d'agitation, le mélange a été laissé 15 minutes à décanter pour permettre la séparation des phases. Un volume de 1 mL de phase aqueuse a été transféré dans une cuvette pour la mesure de la densité optique à 600 nm (Chao *et al.*, 2014; May *et al.*, 2019).

$$RH = (DO_{\text{Initiale}} - DO_{\text{Résiduelle}}) / DO_{\text{Initiale}} \times 100\%$$

RH: hydrophobie relative

OD_{initiale} : Densité optique de la préculture avant l'ajout des hydrocarbures.

$OD_{\text{résiduelle}}$: Densité optique de la préculture après ajout des hydrocarbures

VIII.1.2 Pouvoir émulsifiant

Afin de déterminer l'activité émulsifiante des souches bactériennes, un tube contenant 2 mL de préculture jeune ($OD_{600} = 0.3$) des souches étudiées, préalablement inoculée dans un bouillon LB (Luria Bertani), a été préparé. Un volume équivalent (2 mL) de pétrole brut et de kérosène a été ajouté sous agitation par vortex pendant 3 minutes à vitesse maximale. Un tube contenant de bouillon stérile avec un volume équivalent de la phase hydrophobe a été utilisé comme contrôle négatif. L'incubation a été réalisée à 37°C pendant 24 heures. Après incubation, l'indice d'émulsification (E_{24}) a été calculé selon la formule suivante (Cooper *et al.*, 1987).

$$E_{24} = (H_e / H_t) \times 100$$

H_e: hauteur de l'émulsion

H_t: Hauteur totale de la mixture

VIII.2 Biosorption des métaux lourds

La biosorption du cuivre et du plomb a été évaluée en utilisant de la biomasse vivante. Ces essais ont été réalisés sur les isolats S5A2, S8, S9A3, S10 et S30A1, préalablement sélectionnées en fonction de leur profil de résistance au cuivre et au plomb. La préculture bactérienne a été préparée dans 4 mL de bouillon tryptone soja (TSB) (OD₆₀₀ = 0.3). Les milieux ont été complétés avec 20 mL de la solution de cuivre et de plomb à 20 mg/L. La préparation a été incubée sous agitation à 120 rpm à 37°C, et des échantillons ont été prélevés après 40 heures.

Le contrôle négatif comprenait des échantillons avec du milieu TSB, et d'autres avec uniquement des solutions de cuivre et de plomb. Les échantillons ont été centrifugés à 5000 g pendant 10 minutes. Le surnageant a ensuite été recueilli pour déterminer la concentration résiduelle de cuivre et de plomb. La concentration résiduelle du métal dans les échantillons est mesurée à l'aide de la spectroscopie d'absorption atomique (SAA) (Ref. 200 series AA, Agilent, États-Unis) (Ballardo de la Cruz et *al.*, 2015; Véles et *al.*, 2021). L'efficacité de biosorption, notée R(%), a été calculée par la formule suivante:

$$R = ([C_0 - C_f] \cdot C_0^{-1}) \times 100$$

C₀: la concentration initiale du métal

C_f: la concentration finale du métal

VIII.3 Profil de la production des enzymes extracellulaires

Toutes les bactéries marines ont été criblées pour la production de neuf enzymes. En tant qu'un criblage qualitatif, le milieu de culture a été supplémenté des substrats appropriés et 6% de NaCl. Tous les tests ont été réalisés en triplicata. Les résultats sont exprimés qualitativement selon l'intensité de l'activité enzymatique: forte, modérée, faible ou absence de l'activité enzymatique. L'intensité de l'activité enzymatique (IAE) a été calculée selon la formule suivante:

IAE= Diamètre de zone Claire (mm)/ diamètre de la colonie (mm)

VIII.3.1 L'activité Amylase

L'hydrolyse de l'amidon a été déterminée sur la gélose à base d'amidon, supplémentée de 6% de chlorure de sodium, incubé à 37°C pendant 24 à 48 heures. Après incubation, les boîtes ont été inondées avec une solution d'iode ou lugol. Un résultat positif est indiqué par le développement d'un halo incolore autour des colonies bactériennes (Al-Naamani *et al.*, 2014).

VIII.3.2 L'activité Cellulase

L'essai de détection des cellulases a été réalisé sur la gélose à base de CMC, additionnée de 6% de NaCl. Après 48 heures d'incubation, les boîtes ont été inondées avec une solution de rouge Congo (0.1%). Une zone claire autour des colonies développées indique une activité d'hydrolyse de cellulose (Fayad *et al.*, 2022).

VIII.3.3 L'activité Chitinase

L'hydrolyse de chitine a été mise en évidence sur une gélose à base de la chitine colloïdale, supplémentée de 6% de chlorure de sodium et le violet de bromocrésol. Après 48 à 72 heures d'incubation, les colonies violettes sont considérées comme souches productrices de chitinase (Sayed *et al.*, 2019).

VIII.3.4 L'activité Gélatinase

L'hydrolyse de la gélatine a été réalisée sur une gélose nutritive à base de gélatine, additionnée de 6% de chlorure de sodium. Après 24 heures d'incubation, les boîtes ont été inondées avec le réactif de Frasier (HgCl₂ (15%) dans une solution concentrée à 20% (v/v) d'HCl). L'activité hydrolytique est indiquée par une zone claire autour des colonies bactériennes (Frasier, 1926; dela Cruz and Torres, 2016).

VIII.3.5 L'activité Protéase

La détection des protéases a été effectuée sur une gélose supplémentée de 1% de lait écrémé et de 6% de chlorure de sodium. Après 48 heures d'incubation, l'apparition d'un halo incolore autour des colonies indique une activité protéolytique (Manonmani *et al.*, 2015).

VIII.3.6 L'activité Phospholipase

Les souches productrices de phospholipase ont été criblées sur une gélose contenant une émulsion de jaune d'œuf et 6% de NaCl. L'incubation a été effectuée à 37°C pendant 24 à 48 heures. La phospholipolyse est indiquée par une zone claire (production de phospholipase A) ou zone opaque (production de phospholipase C) (Chrisope et *al.*, 1976; Sharaf et *al.* 2014).

VIII.3.7 L'activité Lipase

L'activité lipolytique a été réalisée sur une gélose à base d'huile d'olive (2.5%) et additionnée de 6% de chlorure de sodium, les boîtes ayant été incubées à 37°C pendant 24 heures. Les colonies avec une zone bleue apparue sous lampe UV à 350 nm témoignent d'une production de lipase (Susilowati et *al.*, 2018).

VIII.3.8 L'activité Estérase

La production des estérases a été effectuée par la méthode de diffusion sur une gélose à base de Tween 80 et 6% de chlorure de sodium, l'incubation est effectuée à 37°C pendant 24 heures. Une zone claire ou turbide autour des colonies indique une activité estérase (Sierra, 1957).

IX Traitement statistique

Toutes les expériences ont été réalisées en triplicata. Les résultats ont été analysés par ANOVA à sens unique ($P < 0.05$). Toutes les données ont été présentées sous forme de moyenne \pm écart-type (SD), les résultats ont été suivis d'un test de Bonferroni ($P < 0.05$) pour les groupements. Les statistiques descriptives, la Classification Ascendante Hiérarchique (CAH), l'Analyse en Composantes Principales (ACP) et la corrélation ont été exécutées. Tous les traitements statistiques ont été effectués à l'aide du logiciel STAISTICA (version 10).

*Partie III. Résultats et
discussion*

**Chapitre I. *Analyses
physico-chimiques des
échantillons***

I Analyses physico-chimiques

Afin d'évaluer la qualité des eaux provenant des stations sélectionnées, un ensemble d'analyses physico-chimiques a été réalisé. Nos échantillons ont été soumis à ces analyses à l'aide d'une mallette multiparamètre, permettant d'appréhender la nature des niches écologiques en termes de température, pH, conductivité et TDS (solides totaux dissous). La détermination des concentrations en nitrates, nitrites, ammonium, phosphate a été réalisée en tant qu'indicateurs de pollution. Les résultats sont présentés en mg/L (voir tableau 2).

Les valeurs mentionnées représentent la moyenne obtenue lors des deux saisons de prélèvement (décembre 2020 et décembre 2021). Ces valeurs moyennes se rapportent aux eaux de mer provenant des plages et des ports. La température mesurée oscille entre $15.4 \pm 0.28^\circ\text{C}$ et $19.05 \pm 4.17^\circ\text{C}$. Ce constat est lié à la saison et aux conditions météorologiques, puisque les eaux superficielles sont directement affectées par le climat de la région (saison hivernale) (Chaouay et *al.*, 2016). Selon ces auteurs, la température de l'eau présente un facteur écologique qui engendre des répercussions écologiques. Elle contrôle plusieurs paramètres, tels que la densité, la viscosité, la solubilité des gaz dans l'eau, la dissociation des sels dissous, et agit également sur les réactions chimiques et biochimiques, le développement et la croissance des organismes habitant dans l'écosystème marin, en particulier les microorganismes (Chaouay et *al.*, 2016).

Par ailleurs, les valeurs moyennes de pH rapportées dans cette étude varient entre 7.79 ± 0.30 et 7.995 ± 0.07 , étant assez similaires à celle de l'eau de mer, qui est d'environ 8.3 (Chaouay et *al.*, 2016). Le potentiel d'hydrogène (pH) émerge comme l'un des facteurs cruciaux dans l'environnement marin, mesurant la concentration des protons H^+ dans l'eau. Ce dernier contrôle un certain nombre d'équilibres physico-chimiques, et dépend de plusieurs facteurs. Il est important de rappeler que de nombreuses activités biologiques n'ont lieu que dans une gamme étroite de pH (Hentati, 2018). Ce paramètre donne un aperçu sur la pollution et de la productivité (Al-Mur, 2020).

Tableau 4. Paramètres physico-chimiques des échantillons de l'eau de mers (plages et ports).

Station	Température	pH	CE (ms/cm)	TE (mV)	TDS (g/L)	Nitrate NO ₃ ⁻ (mg/L)	Nitrite NO ₂ ⁻ (mg/L)	Ammonium NH ₄ ⁺ (mg/L)	Phosphate PO ₄ ⁻ (mg/L)
1	15.8 ± 0.14	7.995 ± 0.07	53.15 ± 4.87	218.8 ± 3.96	33.62 ± 3.36	25.85 ± 2.33	0.395 ± 0.13	69.65 ± 1.77	0.29 ± 0.01
2	19.05 ± 4.17	7.895 ± 0.14	30.55 ± 2.61	224.85 ± 7.56	18.83 ± 2.34	21.85 ± 2.90	0.47 ± 0.06	62.15 ± 1.34	0.13 ± 0.02
3	15.55 ± 0.21	7.88 ± 0.15	42.7 ± 5.8	217.95 ± 5.16	22.96 ± 1.046	25.35 ± 1.34	0.34 ± 0.06	66.45 ± 2.05	0.2 ± 0.04
4	15.4 ± 0.28	7.79 ± 0.30	41.1 ± 0.42	219.85 ± 2.33	23.55 ± 2.9	8.4 ± 1.13	0.135 ± 0.02	55.95 ± 1.77	0.15 ± 0.03
5	16.8 ± 2.62	7.83 ± 0.07	44.45 ± 1.77	219 ± 0.42	26.35 ± 0.64	11.55 ± 1.20	0.235 ± 0.02	41.5 ± 1.70	0.08 ± 0.01

pH : potentiel d'hydrogène; **CE** : conductivité électrique; **TE** : Tension électrique; **TDS** : Solides totaux dissous

Il est important de noter que la vie biologique dans le milieu marin se produit habituellement dans une plage de pH varie entre 6.5 et 8. Des niveaux de pH acides dans les eaux superficielles ont été observés à cause de l'exposition au rayonnement solaire. En effet, le rayonnement solaire renforce l'activité photosynthétique et augmente la température de la surface. Ces phénomènes tendent à réduire les taux d'acide carbonique libre, ce qui entraîne ensuite une augmentation de pH (Hentati, 2018).

Les valeurs de la conductivité électrique varient en fonction de la station étudiée. La station 1 a enregistré la meilleure valeur (53.15 ± 4.87 ms/cm), suivie de près par les stations 5, 3 et 4 (44.45 ± 1.77 , 42.7 ± 5.8 et 41.1 ± 0.42 ms/cm respectivement). Néanmoins, la station 2 a révélé une faible conductivité (30.55 ± 2.61 ms/cm) par rapport aux autres stations. La conductivité des eaux de mer correspond à la capacité à conduire l'électricité et contribue à définir les propriétés électromagnétiques des océans. Des études récentes montrent que la distribution verticale de la conductivité est significativement liée à la salinité, à la température et à la pression. Il a été observé que la conductivité des eaux de mer est proportionnelle à la salinité et fortement influencée par la température; ce paramètre est également lié à l'augmentation de la mobilité des ions (Tyler et al., 2017; Zheng et al., 2018).

Nos résultats concordent avec les observations de Chaouay et ses collaborateurs. Une conductivité de 55.4 ms/cm a été enregistrée en novembre, diminuant à 47 ms/cm en janvier. Ils ont supposé la diminution de la conductivité pendant la période pluvieuse peut être associée à la dilution des eaux par l'apport des eaux pluviales (Chaouay et al., 2016). Bien que la tension électrique varie entre 217.95 ± 5.16 et 224.85 ± 7.56 , le pH et la tension électrique sont pratiquement similaires dans les cinq stations.

La quantification des TDS (solides totaux dissous) de différentes stations nous a permis de constater que les valeurs varient entre 18.83 ± 2.34 et 33.62 ± 3.36 g/L. Le premier site a enregistré une quantité des solides totaux dissous égale à 33.62 ± 3.36 g/L. Les trois autres sites (5^{ème}, 4^{ème}, 3^{ème}) affichent des quantités variant entre 22.96 ± 1.046 et 26.35 ± 0.64 g/L. La plus petite quantité des solides dissous totaux a été mesurée à la 2^{ème} station d'étude. Les solides dissous totaux (TDS) sont naturellement présents dans l'eau et servent à mesurer les minéraux et molécules organiques dissous. Ce paramètre ne distingue pas entre les ions. Leur toxicité est liée à l'augmentation de la salinité, les changements dans les compositions ioniques de l'eau, et à la toxicité des individus ioniques (Weber-Scannell et Duffy, 2007). Une salinité élevée pourrait provoquer des changements dans les communautés, limiter la

biodiversité et restreindre aussi la croissance des espèces moins tolérantes à la salinité, et entraînant même des effets aigus ou chroniques à des niveaux spécifiques de vie (Weber-Scannell et Duffy, 2007).

Il est évident que l'azote est un élément crucial dans le milieu marin. Son rôle majeur dans la productivité primaire est particulièrement significatif, car le cycle de l'azote exerce une forte influence sur les cycles du carbone, interagissant avec d'autres éléments (Zakem et *al.*, 2018). L'azote total (AT), qui comprend les formes organique et inorganique, permet d'évaluer la quantité des eaux (Zhang et *al.*, 2020). Dans les échantillons analysés, l'azote peut être présent sous forme organique, participant ainsi à la biosynthèse des protéines, des polypeptides, des acides aminés et de l'urée. En revanche, l'azote inorganique, ou minéral inclut l'ammonium (NH_4^+), les nitrites (NO_2^-), et les nitrates (NO_3^-) (Hentati, 2018).

Les valeurs des nitrates mesurées oscillent entre 8.4 ± 1.13 et 25.85 ± 2.33 mg/L, montrant une concentration significative dans les eaux portuaires (loisirs et commerciaux). Ce niveau élevé des nutriments peut engendrer un « changement de phase », où les récifs coralliens se retrouvent envahis par les macroalgues (Mosley et Aalbersberg, 2003). Les concentrations des nitrates observées cette étude demeurent inférieures à la norme algérienne fixée à 50 mg/L (Radouane et Mourad, 2017). De plus, la présence accrue des nitrates pourrait être liée au phénomène de dénitrification, au cours duquel le nitrate NO_3^- est transformé en azote (N_2) en présence de la matière organique (Bengherbia et *al.*, 2014).

La concentration de nitrites oscille entre 0.135 ± 0.02 et 0.47 ± 0.06 mg/L, les valeurs les plus élevées étant enregistrées par les trois premières stations. Le nitrite est considéré comme un nutriment limitant, dont la concentration dans l'environnement marin permet d'évaluer la qualité de l'eau et d'estimer la biomasse du phytoplancton marin. Des niveaux élevés de nitrites peuvent nuire à l'élevage intensif de certaines espèces de poissons (Kroupova et *al.*, 2005; Zahedi et *al.*, 2017). Bien que les nitrites soient des molécules instables et transitoires au cours des processus de nitrification ou de dénitrification, leur concentration reste généralement faible dans les milieux naturels (Bengherbia et *al.*, 2014).

L'analyse montre une fluctuation de la concentration d'ammonium entre 41.5 ± 1.70 et 69.65 ± 1.77 mg/L, avec des concentrations maximales dans les eaux portuaires, indiquant une pollution critique (Bengherbia et *al.*, 2014). L'ammonium, bien que présent naturellement à faible concentration dans l'eau de mer, peut voir ses niveaux augmentés par l'excrétion des

animaux marins (Roleda et Hurd, 2019). Ainsi, nous constatons une prévalence de l'ammonium, suivie du nitrate et du nitrite. La contamination marine par l'azote pose une menace sérieuse, provoquant l'eutrophisation et la prolifération du phytoplancton. Les environnements côtiers subissent l'impact de l'apport important d'azote organique et inorganique, provenant d'effluents industriels, d'eaux usées domestiques et de déchets solides (Hentati, 2018).

Les concentrations du phosphate varient entre 0.08 ± 0.01 et 0.29 ± 0.01 mg/L, des valeurs relativement basses comparées aux résultats de Bengherbia et *al.*, qui ont rapporté un pic de phosphates atteignant 12.008 mg/L, principalement dû aux lessivages et contribuant au premier stade d'eutrophisation (Bengherbia et *al.*, 2014). Dans le cycle du phosphore, les principales formes incluent le phosphore inorganique dissous (DIP), le phosphore particulaire inorganique (PIP), le phosphore organique (POP) et le phosphore organique dissous (DOP) (Nausch et *al.*, 2018). L'orthophosphate (HPO_4^{2-}) est considéré comme la forme de phosphore la plus essentielle dans l'écosystème marin, car il est biologiquement disponible (Patey et *al.*, 2008). Il est important de noter que la carence en phosphore peut limiter la croissance marine, tandis qu'un excès de phosphore peut contribuer à l'augmentation de l'eutrophisation dans les eaux naturelles (Badamasi et *al.*, 2019).

L'ensemble des résultats obtenus indique que les échantillons des eaux de mer analysés démontrent une certaine variabilité des paramètres en fonction de leur localisation ainsi que des influences externes, telles que les activités portuaires, la pollution urbaine et industrielle. En général, la qualité des eaux provenant des plages semble bonne et conforme aux standards, tandis que les eaux des ports montrent des signes de pollution organique et inorganique (par nutriments), pourraient contribuer à l'eutrophisation et avoir un impact sur la biodiversité marine. Il a été rapporté que la qualité des eaux marines côtières décline de manière continue en raison de la concentration élevée de divers polluants (les solides totaux dissous et en suspension, les nutriments et les composés organiques) (Jahan et Strezov, 2017).

I.1 Classification Ascendante Hiérarchique (CAH)

La classification ascendante hiérarchique des sites de prélèvement a révélé trois groupes de variantes (Figure 11). Le premier cluster inclut la quatrième et la cinquième station, à savoir le port de pêche et de plaisance ainsi que port commercial Plateau à Mostaganem. Ces deux stations présentent des similarités en termes de caractéristiques physico-chimiques,

probablement dûes aux activités portuaires et industrielles communes, telles que les rejets d'eaux usées et les variations de salinité. Le deuxième cluster est constitué uniquement de la deuxième station (Plage Saint-Michel, Oran). Cette station se distingue par ses propriétés physico-chimiques, suggérant une influence moindre des activités industrielles et une prédominance des conditions naturelles. Enfin, le troisième cluster regroupe de la première et la troisième station : Port d'Arzew (Oran) et la plage Ouréah (Mostaganem), présentant des caractéristiques physico-chimiques sont relativement similaires, ce qui pourrait être attribué à des facteurs tels que la pollution ou les conditions hydrologiques.

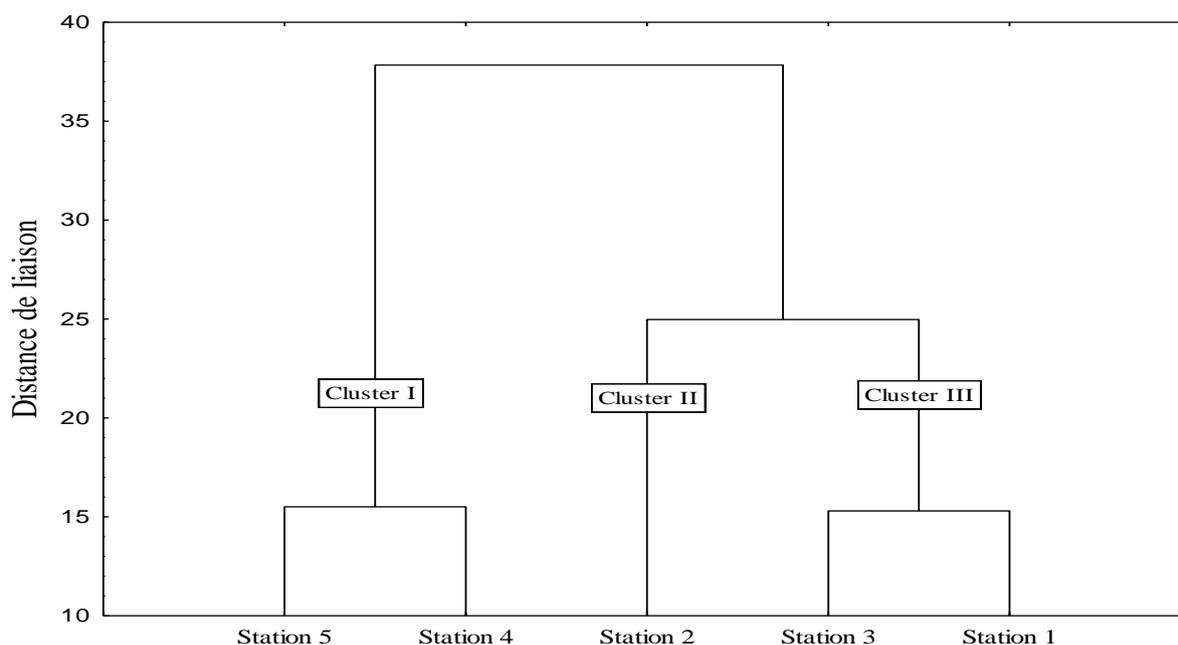


Figure 11. Dendrogramme de la classification hiérarchique des stations d'études.

I.2 Analyse en Composantes Principales (ACP)

La Figure 12 présente le cercle de corrélation des paramètres étudiés dans le cadre de l'analyse en composantes principales (ACP), permettant de déterminer la corrélation entre les différentes variables de l'étude. L'interprétation des relations entre les variables est basé sur l'angle formé entre deux vecteurs : un angle aigu indique une corrélation positive, un angle obtus une corrélation négative, et un angle droit (vecteurs orthogonaux) l'absence de corrélation (Kernan et *al.*, 2002). Les deux axes de l'ACP donnent un total de 87.39% de la variance des données (**F1** = 48.95%, **F2** = 38.44%). Les angles observés entre les vecteurs représentant les variables de notre étude sont majoritairement aigus, suggérant une corrélation

positive entre ces dernières. En particulier, la température montre une corrélation positive forte avec la tension électrique, comme en témoigne un coefficient de corrélation élevé ($r = 0.901693$; $p < 0.05$). Cette corrélation laisse supposer que les variations de température influencent les propriétés électrochimiques des eaux, une hypothèse corroborée par les travaux de Dewangon et al. (2023), qui soulignent l'effet positif de la température sur la conductivité électrique (Dewangon et al., 2023).

Des corrélations positives significatives ont été observées entre le pH et la teneur en azote sous ses différentes formes, ainsi qu'avec le phosphate ($r = 0.703011$ et $r = 0.789298$ respectivement; $p < 0.05$), révélant le lien entre le pH et les concentrations d'azote et de phosphate. Il est documenté que l'augmentation du pH favorise la libération de phosphate à partir des sédiments (Zhao et al., 2022).

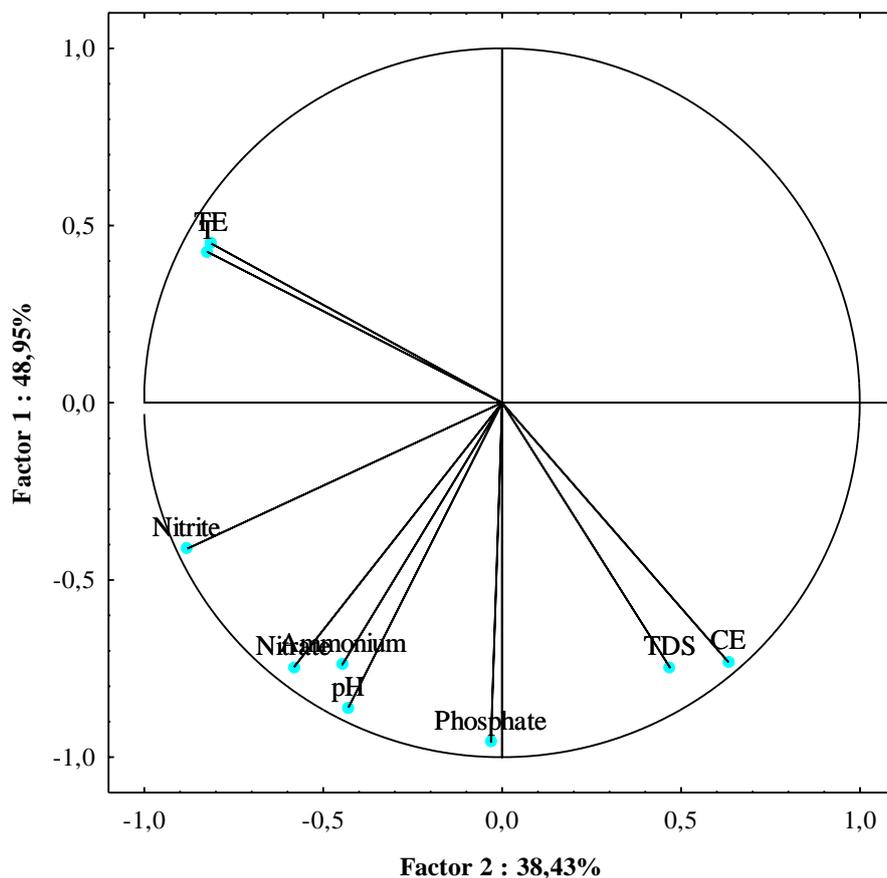


Figure 12. L'ACP des paramètres physico-chimiques des stations étudiées.
T : Température; **TE** : Tension électrique; **CE** : Conductivité électrique; **TDS** : Solides totaux dissous.

Une bonne corrélation positive marquée est également constatée entre la conductivité électrique et la teneur en phosphate ($r = 0.625889$; $p < 0.05$), de même qu'entre le TDS (Total Dissolved Solids) et la conductivité électrique ($r = 0.956064$; $p < 0.05$). Cela suggère que des concentrations élevées d'ions dissous, tels que le TDS et les phosphates, pourraient augmenter la conductivité électrique.

En outre, une forte corrélation positive est révélée entre la teneur en nitrate et en nitrite ($r = 0.853101$; $p < 0.05$), ainsi qu'avec l'ammonium ($r = 0.811355$; $p < 0.05$). Ces observations peuvent s'expliquer par la transformation du nitrate en nitrite, puis en ammonium, indiquant des processus de dégradation organique et de pollution. La présence de concentrations élevées de nitrate, de nitrite, et d'ammonium pourrait entraîner des phénomènes d'eutrophisation (Akinawo, 2023).

La teneur en ammonium démontre une corrélation positive significative avec le pH ($r = 0.703011$; $p < 0.05$), comme le souligne l'étude de Ray et *al.* (2017), qui démontre une corrélation positive entre la concentration d'ammonium et le pH. Une forte corrélation positive est également identifiée entre la teneur en ammonium et en phosphate ($r = 0.849904$; $p < 0.05$), ce qui pourrait être lié à la libération de phosphore à des niveaux élevés d'ammonium dans les sédiments (Ma et *al.*, 2018).

**Chapitre II. *Analyses
bactériologiques des
échantillons de l'eau de mer***

II Analyses bactériologiques

II.1 Dénombrement bactérien

L'évaluation de la qualité des échantillons d'eau de mer s'accroît, en premier lieu, sur la présence de la communauté microbienne, en particulier bactérienne. Les résultats obtenus sont récapitulés dans le tableau 5. Plusieurs études ont démontré que les bactéries dans l'eau sont métaboliquement actives (Li et Dickie, 1985). Pour quantifier la communauté bactérienne dans nos échantillons d'eau de mer, nous avons employé la méthode d'étalement précédée d'une série des dilutions. Le dénombrement a révélé la présence d'une microflore assez importante sur la gélose LB.

Tableau 5. Résultats du dénombrement bactérien.

Échantillons	Provenance	Charge bactérienne (UFC. mL ⁻¹)
E1	Station 1	132.4×10 ⁴
E2	Station 2	91.20×10 ⁴
E3	Station 3	37.50×10 ⁴
E4	Station 4	93.60×10 ²
E5	Station 5	13.16×10 ²

Des charges bactériennes diversifiées ont été enregistrées, d'où la plus forte est celle de la première station avec une concentration cellulaire égale à 132.4.10⁴ UFC. mL⁻¹. Les plus faibles concentrations microbiennes ont été signalées pour la 4^{ème} et la 5^{ème} station (93,12.10² et 13,16.10² UFC. mL⁻¹).

II.2 Isolement et identification

Après 24 heures d'incubation, plusieurs colonies sont apparues sur les milieux gélosés Pseudomonas F et Luria Bertani. La description macroscopique des colonies obtenues est récapitulée dans le tableau 6. La caractérisation phénotypique nous a permis d'identifier et de classer nos isolats selon leurs caractéristiques morphologiques, en s'appuyant sur la description de la forme, la couleur, le contour, l'élévation, la texture, et la consistance. En revanche, l'examen microscopique s'est concentré sur la détermination de la réaction de Gram, de la forme cellulaire, ainsi que du caractère mobile des souches.

Tableau 6. Aspects culturels des souches marines sur la gélose Pseudomonas F

Milieu de culture	Couleur	Forme	Contour	Élévation	Consistance
Pseudomonas F	Bleu verte	Circulaire	régulier	Bombée	Crémeux/Muqueuse
	Jaune-verte	Circulaire	Régulier	Bombée	Muqueuse
	Beige-jaune	Circulaire	Régulier	Bombée	Lisse brillante/Muqueuse
	Jaune	Circulaire	Régulier	Bombée	Lisse brillante
	Jaune translucide	Circulaire	Régulier	Bombée	Lisse brillante
	Orange	Circulaire	Régulier	Bombée	Lisse brillante
Luria Bertani	Orange foncé	Circulaire	Régulier	Bombée	Lisse brillante
	Beige-jaune	Circulaire	Régulier	Bombée	Muqueuse
	Beige	Circulaire	Régulier	Bombée	Muqueuse

Dans un premier temps, un total de 60 isolats marins a été collecté. Le premier criblage, basé sur leur capacité à former des biofilms, a permis de sélectionner 40 souches. En revanche, le second criblage s'est appuyé sur leurs profils de mobilité (swarming, swimming et twitching). Cela a conduit à la sélection de 18 souches pour les tests décrits ci-dessous (Tableau 7).

En outre, les propriétés nutritionnelles des souches ont été déterminées à l'aide des tests biochimiques intégrés dans les galeries classiques API 20E et API 20NE. L'aspect

physiologique a été exploré en déterminant plusieurs activités hydrolytiques, notamment la catalase, l'oxydase, l'arginine hydrolase et l'uréase.

Les caractères cultureux observés (Figure 10) révèlent un phénotype très diversifié. Sur la gélose Pseudomonas F, les colonies présentent généralement une forme circulaire de grande taille, avec un contour régulier et une élévation bombée. Il convient de souligner la diversité des phénotypes en termes de « couleur » et de « consistance ». La couleur des colonies varie, allant du vert au bleu-vert (S1, S2, S5A2, S6, S7, S8, S9A3, S10, S11, S15, S16, S18, S20 et S25) ou encore jaune et beige (S4, S30A1, S31 et S32), avec une texture généralement muqueuse.

Tableau 7. Origines et description macroscopique et microscopique des isolats.

Code	Site de prélèvement	Aspect macroscopique	Aspect microscopique
S1	Port commercial Arzew	Jaune-vert fluorescent	Bacille; Gram négatif; Mobile
S2	Port commercial Arzew	Jaune-vert fluorescent	Bacille; Gram négatif; Mobile
S3	Port commercial Arzew	Beige	Bacille; Gram négatif; Mobile
S4	Port commercial Arzew	Beige	Bacille; Gram négatif; Mobile
S5A2	Port commercial Arzew	Jaune-vert fluorescent	Bacille; Gram négatif; Mobile
S6	Port commercial Arzew	Jaune-vert fluorescent	Bacille; Gram négatif; Mobile
S7	Port commercial Arzew	Jaune-vert fluorescent	Bacille; Gram négatif; Mobile
S8	Port commercial Arzew	Jaune-vert fluorescent	Bacille; Gram négatif; Mobile
S9A3	Port commercial Arzew	Jaune-vert fluorescent	Bacille; Gram négatif; Mobile
S10	Port commercial Mostaganem	Jaune-vert fluorescent	Bacille; Gram négatif; Mobile
S11	Port commercial Arzew	Jaune-vert fluorescent	Bacille; Gram négatif; Mobile
S12	Port commercial Mostaganem	Jaune-vert fluorescent	Bacille; Gram négatif; Mobile
S13	Port commercial Mostaganem	Jaune-vert fluorescent	Bacille; Gram négatif; Mobile
S14	Port commercial Mostaganem	Jaune-vert fluorescent	Bacille; Gram négatif; Mobile
S15	Port commercial Mostaganem	Jaune-vert fluorescent	Bacille; Gram négatif; Mobile
S16	Port commercial Arzew	Jaune-vert fluorescent	Bacille; Gram négatif; Mobile
S17	Port commercial Mostaganem	Jaune-vert fluorescent	Bacille; Gram négatif; Mobile
S18	Port commercial Mostaganem	Bleu-vert fluorescent	Bacille; Gram négatif; Mobile

S19	Port commercial Arzew	Jaune-vert fluorescent	Bacille; Gram négatif; Mobile
S20	Port commercial Arzew	Jaune-vert fluorescent	Bacille; Gram négatif; Mobile
S21	Port commercial Arzew	Jaune-vert fluorescent	Bacille; Gram négatif; Mobile
S22	Port commercial Arzew	Jaune-vert fluorescent	Bacille; Gram négatif; Mobile
S23	Port commercial Arzew	Jaune-vert fluorescent	Bacille; Gram négatif; Mobile
S24	Port commercial Mostaganem	Jaune-vert fluorescent	Bacille; Gram négatif; Mobile
S25	Port commercial Arzew	Jaune-vert fluorescent	Bacille; Gram négatif; Mobile
S26	Port commercial Arzew	Jaune-vert fluorescent	Bacille; Gram négatif; Mobile
S27	Port commercial Arzew	Jaune-vert fluorescent	Bacille; Gram négatif; Mobile
S28	Port commercial Mostaganem	Jaune-vert fluorescent	Bacille; Gram négatif; Mobile
S29	Port commercial Mostaganem	Jaune-vert fluorescent	Bacille; Gram négatif; Mobile
S30A1	Port commercial Arzew	Beige	Bacille; Gram négatif; Mobile
S31	Port pêche Mostaganem	Beige	Bacille; Gram négatif; Mobile
S32	Port pêche Mostaganem	Beige	Bacille; Gram négatif; Mobile
S33	Port pêche Mostaganem	Beige-jaune	Bacille; Gram négatif; Mobile
S34	Plage Ouréah Mostaganem	Beige	Bacille; Gram négatif; Mobile
S35	Plage Saint-Michel Oran	Beige	Bacille; Gram négatif; Mobile
S36	Plage Saint-Michel Oran	Beige	Bacille; Gram négatif; Mobile
S37	Port de pêche Mostaganem	Beige	Bacille; Gram négatif; Mobile
S38	Port pêche Mostaganem	Beige	Bacille; Gram négatif; Mobile
S39	Port de pêche Mostaganem	Beige	Bacille; Gram négatif; Mobile
S40	Port pêche Mostaganem	Jaune translucide	Bacille; Gram négatif; Mobile
S41	Plage Saint-Michel Oran	Jaune-vert fluorescent	Bacille; Gram négatif; Mobile
S42	Plage Saint-Michel Oran	Jaune-vert fluorescent	Bacille; Gram négatif; Mobile
S43	Plage Saint-Michel Oran	Bleu-vert intense	Bacille; Gram négatif; Mobile
S44	Plage Saint-Michel Oran	Bleu-vert intense	Bacille; Gram négatif; Mobile
S45	Plage Saint-Michel Oran	Beige	Bacille; Gram négatif; Mobile
S46	Port commercial Mostaganem	Beige	Bacille; Gram négatif; Mobile
S47	Port commercial Mostaganem	Beige	Bacille; Gram négatif; Mobile
S48	Port commercial Mostaganem	Jaune-vert fluorescent	Bacille; Gram négatif; Mobile

S49	Port commercial Mostaganem	Jaune-vert fluorescent	Bacille; Gram négatif; Mobile
S50	Port commercial Mostaganem	Orange	Bacille; Gram négatif; Mobile
S51	Plage Ouréah Mostaganem	Beige	Bacille; Gram négatif; Mobile
S52	Plage Ouréah Mostaganem	Beige	Bacille; Gram négatif; Mobile
S53	Plage Saint-Michel Oran	Orange foncé	Bacille; Gram négatif; Mobile
S54	Plage Saint-Michel Oran	Beige-jaune	Bacille; Gram négatif; Mobile
S55	Plage Saint-Michel Oran	Beige	Bacille; Gram négatif; Mobile
S56	Plage Saint-Michel Oran	Jaune-vert fluorescent	Bacille; Gram négatif; Mobile
S57	Plage Saint-Michel Oran	Orange foncé	Bacille; Gram négatif; Mobile
S58	Plage Saint-Michel Oran	orange	Bacille; Gram négatif; Mobile
S59	Plage Ouréah Mostaganem	Jaune fluorescent	Bacille; Gram négatif; Mobile
S60	Plage Ouréah Mostaganem	Beige-jaune	Bacille; Gram négatif; Mobile

Sur la gélose Luria Bertani, les souches S1, S2, S5A2, S6, S7, S8, S9A3, S10, S11, S15, S16, S18, S20 et S25 ont développé des colonies crémeuses de couleur beige-jaune. En revanche, les souches restantes (S4, S30A1, S31 et S32) ont formé des colonies beiges de taille plus grande. De plus, un aspect lisse, brillant et muqueux a été principalement observé sur les différentes géloses.

Concernant le groupe de souches (S1, S2, S5A2, S6, S7, S8, S9A3, S10, S11, S15, S16, S18, S20 et S25), l'examen microscopique a révélé la présence de bacilles à Gram négatif. Ces souches se distinguent par leur réaction positive à l'oxydase et à la catalase, ainsi que par leur caractère mobile. D'ailleurs, ce groupe a démontré sa capacité à produire des pigments vert fluorescent et bleuâtre sur les géloses *Pseudomonas* F et *Pseudomonas* P, respectivement (voir Figures 13 et 14).

L'étude du profil biochimique a mis en évidence la capacité des souches S1, S2, S4, S5A2, S6, S7, S8, S9A3, S10, S11, S15, S16, S18, S20 et S25 à fermenter le glucose et à assimiler une large gamme de sucres, incluant le glucose, le mannitol, la N-acétylglucosamine, le gluconate de potassium et l'acide caprique. De surcroît, le test de croissance effectué à deux températures (4 °C et 44 °C) a révélé que ces isolats sont capables de se

développer à 44 °C, tandis qu'aucune des souches n'a montré de croissance à 4 °C (Voir Tableau 5).

La majorité des souches examinées sont reconnues pour leurs activités hydrolytiques variées, notamment l'hydrolyse de l'arginine et de la gélatine (S1, S2, S5A2, S6, S7, S8, S9A3, S10, S11, S15, S16, S18, S20 et S25). Cette identification a mis en lumière des propriétés biochimiques essentielles du genre *Pseudomonas*, telles que la réduction des nitrates en nitrites, l'oxydation du glucose et l'hydrolyse de l'arginine. En outre, le groupe des souches S1, S2, S5A2, S6, S7, S8, S9A3, S10, S11, S15, S16, S18, S20 et S25 est affilié à l'espèce *Pseudomonas aeruginosa*, en se basant sur la présence de l'activité oxydase, l'hydrolyse de l'arginine, leur capacité à croître à 42 °C, la production de pigments sur les gélose *Pseudomonas* F et P, ainsi que l'émission d'une odeur aromatique distincte.

Cependant, le deuxième cluster de souches (S4, S30A1, S31 et S32) se compose de bacilles à Gram négatif et mobiles. Ce cluster d'isolats a montré une activité catalase, mais une incapacité à produire des pigments et du H₂S, tout en dégageant une odeur très caractéristique. Ce groupe bactérien est dépourvu des enzymes oxydase et β-galactosidase. Ces souches présentent une activité décarboxylase de la lysine et de l'ornithine, ainsi qu'une capacité à produire de l'indole et à utiliser une large gamme de sucres, notamment le glucose, le mannitol, le sorbitol, la rhamnose, la mélibiose et l'arabinose (voir Tableau 8).

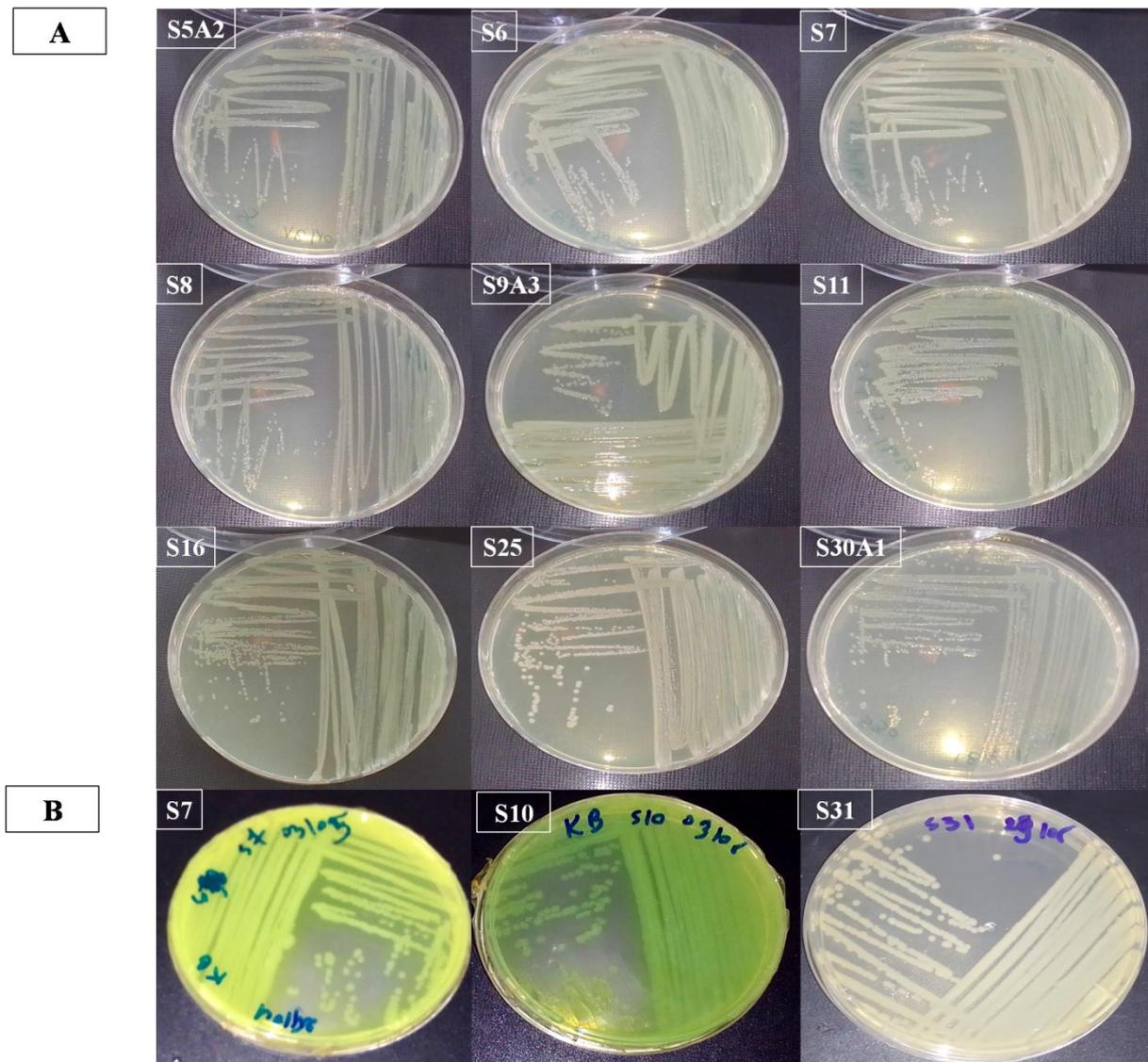


Figure 13. Aspect macroscopique de certains isolats marins sur la gélose Luria Bertani (A) et King B (B).

Toutefois, bien que l'identification des souches par des tests biochimiques présente certaines limitations, elle reste une méthode utile pour orienter la détermination de certains caractères. Les résultats obtenus grâce aux galeries API 20E et API 20NE ont permis d'identifier certaines voies métaboliques des souches, comme illustré dans le Tableau 5. À l'aide du site web UPBM (<https://lab.upbm.org/identifieur/>) dédié à la lecture des galeries API 20E et API 20NE, nous avons pu confirmer l'appartenance de 14 souches à l'espèce *Pseudomonas aeruginosa* et de 4 souches à l'espèce *Escherichia coli*.

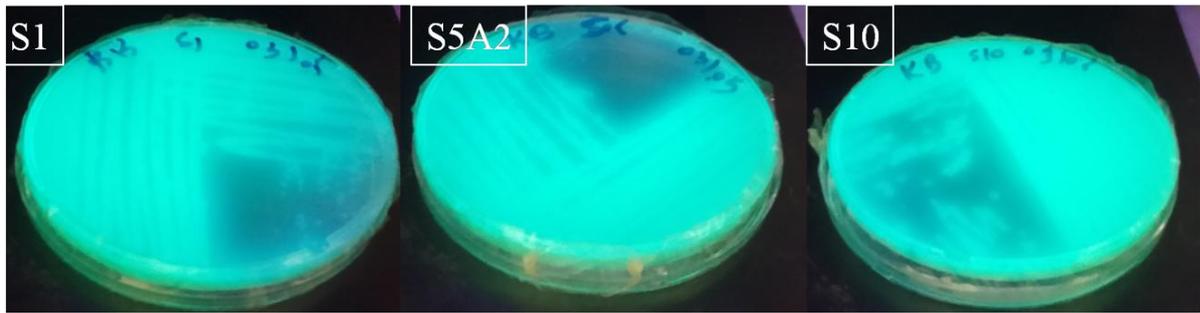


Figure 14. Aspect fluorescent de certaines des souches marines.

Le genre *Pseudomonas* est reconnu comme le groupe le plus diversifié et hétérogène, possédant une grande importance écologique. Ce groupe se distingue par sa versatilité métabolique, qui lui permet de se développer dans diverses sources d'eau, telles que les rivières, l'eau de mer et les eaux usées (Ugur et *al.*, 2012). Plusieurs espèces de *Pseudomonas* ont été isolées des environnements marins, notamment *P. pachastrellae*, *P. xanthomarina*, *P. marincola*, *P. pseudoalcaligenes*, *P. alcaliphila*, *P. litoralis*, *P. balearica*, *P. deceptionensis*, *P. aestusnigri*, *P. sabulinigri*, et *P. taeansensis* (Wang et Sun, 2016). Par ailleurs, *Escherichia coli*, une bactérie coliforme, a montré sa capacité à survivre pendant de longues périodes dans les eaux marines (Gerba et McLeod, 1976).

Tableau 8. Identification morphologique et biochimique des souches marines.

	S1	S2	S4	S5A2	S6	S7	S8	S9A3	S10	S11	S15	S16	S18	S20	S25	S30A1	S31	S32
Gram	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Oxydase	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Catalase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Motilité	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Production des pigments	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Croissance à 4°C	-	-	nd	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nd	nd	nd
Croissance à 44°C	+	+	nd	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	nd	nd	nd
ONPG	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ADH	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
LDC	nd	nd	+	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	+	+	+
ODC	nd	nd	+	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	+	+	+
NO3	-	-	nd	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nd	nd	nd
TRP	-	-	nd	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nd	nd	nd
GLU	-	-	nd	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nd	nd	nd
ESC	+	+	nd	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	nd	nd	nd
PNPG	-	-	nd	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nd	nd	nd
GLUa	+	+	nd	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	nd	nd	nd
ARAA	-	-	nd	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nd	nd	nd
MNEa	-	-	nd	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nd	nd	nd
MANa	+	+	nd	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	nd	nd	nd
NAGa	+	+	nd	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	nd	nd	nd
MALa	-	-	nd	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nd	nd	nd
GNTa	+	+	nd	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	nd	nd	nd
CAPa	+	+	nd	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	nd	nd	nd
ADLa	-	-	nd	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nd	nd	nd
MLTa	+	+	nd	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	nd	nd	nd
CITa	+	+	nd	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	nd	nd	nd
PACa	-	-	nd	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nd	nd	nd
CIT	nd	nd	-	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	-	-	-
H ₂ S	nd	nd	-	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	-	-	-
URE	nd	nd	-	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	-	-	-
TDA	nd	nd	-	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	-	-	-
IND	nd	nd	-	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	+	+	+
VP	nd	nd	-	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	-	-	-
GEL	nd	nd	-	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	-	-	-
GLU	nd	nd	+	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	+	+	+
MAN	nd	nd	+	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	+	+	+
INO	nd	nd	-	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	-	-	-
SOR	nd	nd	+	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	+	+	+
RHA	nd	nd	+	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	+	+	+
SAC	nd	nd	-	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	-	-	+
MEL	nd	nd	+	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	+	+	+

AMY	nd	nd	-	nd	-	-	-												
ARA	nd	nd	+	nd	+	+	+												
NO ₂	nd	nd	+	nd	+	+	+												
N ₂	nd	nd	-	nd	-	-	-												

+ : Positive; - : Négative; nd : Non déterminé; **ONPG** : Test à l'o-nitrophényl-β-D-galactopyranoside; **ADH** : Test de la dihydrolase de l'arginine; **NO₃** : Test de réduction des nitrates; **TRP** : Activité de la tryptophanase (Test de l'indole); **GLU** : Test de fermentation du glucose; **ESC** : Test d'hydrolyse de l'esculine; **PNPG** : Test au p-nitrophényl-β-D-galactopyranoside; **GLUa** : Test d'utilisation du gluconate; **ARAA** : Test d'utilisation de l'arabinose; **MNEa** : Test d'utilisation du mannose; **MANa** : Test d'utilisation du mannitol; **NAGa** : Test d'utilisation de la N-acétylglucosamine; **MALa** : Test d'utilisation du maltose; **GNTa** : Test d'utilisation du gluconate; **CAPa** : Test d'utilisation du caprate; **ADLa** : Test d'utilisation de l'adipate; **MLTa** : Test d'utilisation du malate; **CITa** : Test d'utilisation du citrate; **PACa** : Test d'utilisation de l'acide phénylacétique ; **ADH** : Test de la dihydrolase de l'arginine; **LDC** : Test de la décarboxylase de la lysine; **ODC** : Test de la décarboxylase de l'ornithine; **CIT** : Test d'utilisation du citrate; **H₂S**: Test de production de sulfure d'hydrogène; **URE** : Test de l'uréase; **TDA**: Test de la déaminase du tryptophane; **IND** : Test de l'indole; **VP** : Test de Voges-Proskauer; **GEL**: Test de la gélatinase; **GLU** : Test de fermentation du glucose; **MAN** : Test de fermentation du mannitol; **INO** : Test de fermentation de l'inositol; **SOR** : Test de fermentation du sorbitol; **RHA** : Test de fermentation du rhamnose; **SAC** : Test de fermentation du saccharose; **MEL** : Test de fermentation du mélibiose; **AMY** : Test de fermentation de l'amygdaline; **ARA** : Test de fermentation de l'arabinose; **NO₂** : Test de réduction des nitrites; **N₂** : Test de production de gaz azote.

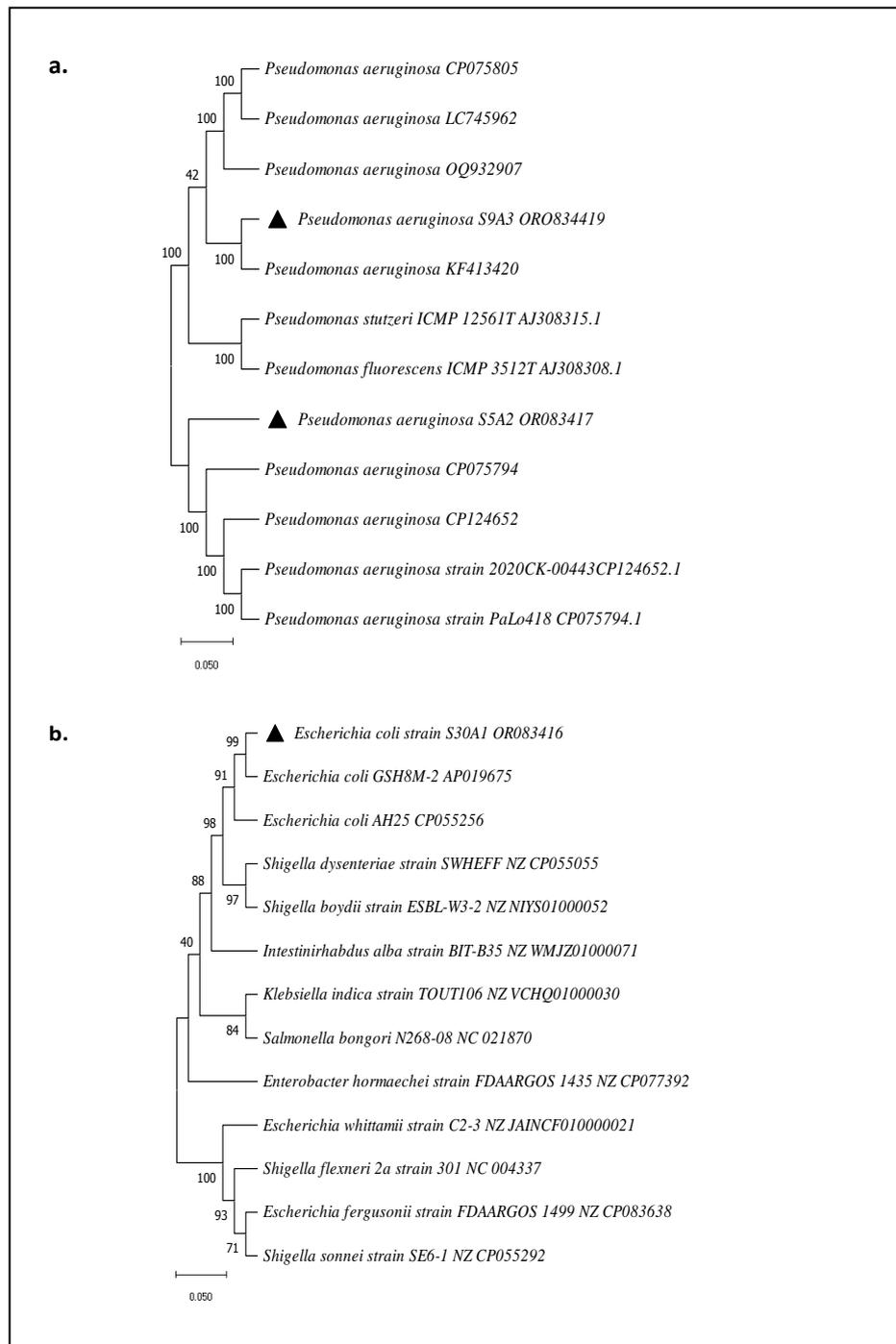


Figure 15. Arbre phylogénétique par assemblage de voisins, basé sur les séquences du gène de l'ARNr 16S, montrant la relation entre les isolats et les espèces étroitement apparentées sur la base de la comparaison des séquences du gène de l'ARNr 16S à l'aide de 1000 répliques bootstrap. **(a)** : S5A2 *Pseudomonas aeruginosa*, S9A3 *Pseudomonas aeruginosa*. **(b)**: *Escherichia coli*. La barre d'échelle représente une divergence de séquence estimée à 5%.

Le criblage des souches marines a été basé sur leur profil biotechnologique intéressant. Les souches sélectionnées (S5A2, S9A3 et S30A1) ont été soumises à une analyse phylogénétique. Les souches S5A2, S9A3 et S30A1 appartiennent à la classe Gamma des protéobactéries. Les souches S5A2 et S9A3 présentaient une similarité de séquence de 99.91% avec *Pseudomonas aeruginosa* (Numéros d'accession GenBank OR083417 et OR083419 respectivement). Cependant, la souche S30A1 était très similaire à *Escherichia coli* avec une similarité de séquence de 100% (Numéro d'accession à la GenBank OR083416) (Figure 15).

Chapitre III. *Optimisation et suivi de la croissance dans les stress environnementaux*

III Optimisation de la croissance des souches marines

III.1 Effet de la température

La croissance bactérienne en présence de différentes températures a été investiguée en mesurant la densité optique (DO) à une longueur d'onde de 630 nm après 24 heures d'incubation sur une microplaque en polystyrène de 96 puits transparents. Les résultats de cette étude à trois températures (25°C, 37°C et 42°C) sont présentés dans la figure 16.

L'analyse du heatmap de clustering révèle une subdivision des variables en deux clusters : Cluster I (42°C) et Cluster II (25°C et 37°C). Le premier cluster se compose d'un unique sous-cluster à 42°C, tandis que le second cluster se divise en deux sous-clusters: le premier à 37°C et le second à 25°C. Les souches étudiées sont regroupées en trois clusters : Cluster I (S1, S2, S18, S4, S15, S10, S11, S5A2, S6 et S20), Cluster II (S7, S8, S9A3 et S25), et Cluster III (S16, S30A1, S31 et S32). Le premier cluster se subdivise en trois sous-clusters : 1 (S1, S2 et S18), 2 (S4, S15, S10 et S11), et 3 (S5A2, S6 et S20). Le deuxième cluster inclut quant à lui quatre sous-clusters : 1 (S7, S8, S9A3), 2 (S25), 3 (S16, S30A1, S31), et 4 (S32). Chaque cluster regroupe des variables en fonction de leur similarité et leur corrélation, indiquant que les souches au sein d'un même cluster affichent un comportement similaire face aux températures testées, évoluant dans la même direction avec une corrélation positive et significative.

Toutes les souches ont montré une capacité de croissance aux températures testées (25°C, 37°C et 42°C), avec un optimum variant entre 25°C et 37°C. En comparant la croissance bactérienne à différentes températures, il a été observé que la majorité des souches marines (61.11%) affichent une croissance optimale à 37°C, tandis que 33.33% des souches se développent idéalement à 25°C. À 42°C, aucune croissance significative n'a été constatée, à l'exception de la souche *Escherichia coli* S30A1 ($P < 0.05$). Certaines souches ont montré une croissance comparable aux températures testées, avec les meilleures croissances notées chez la souche *Pseudomonas aeruginosa* S9A3 (0.841) à 25°C et 37°C, ainsi que chez la souche *Pseudomonas sp.* S25 à 42°C (0.870).

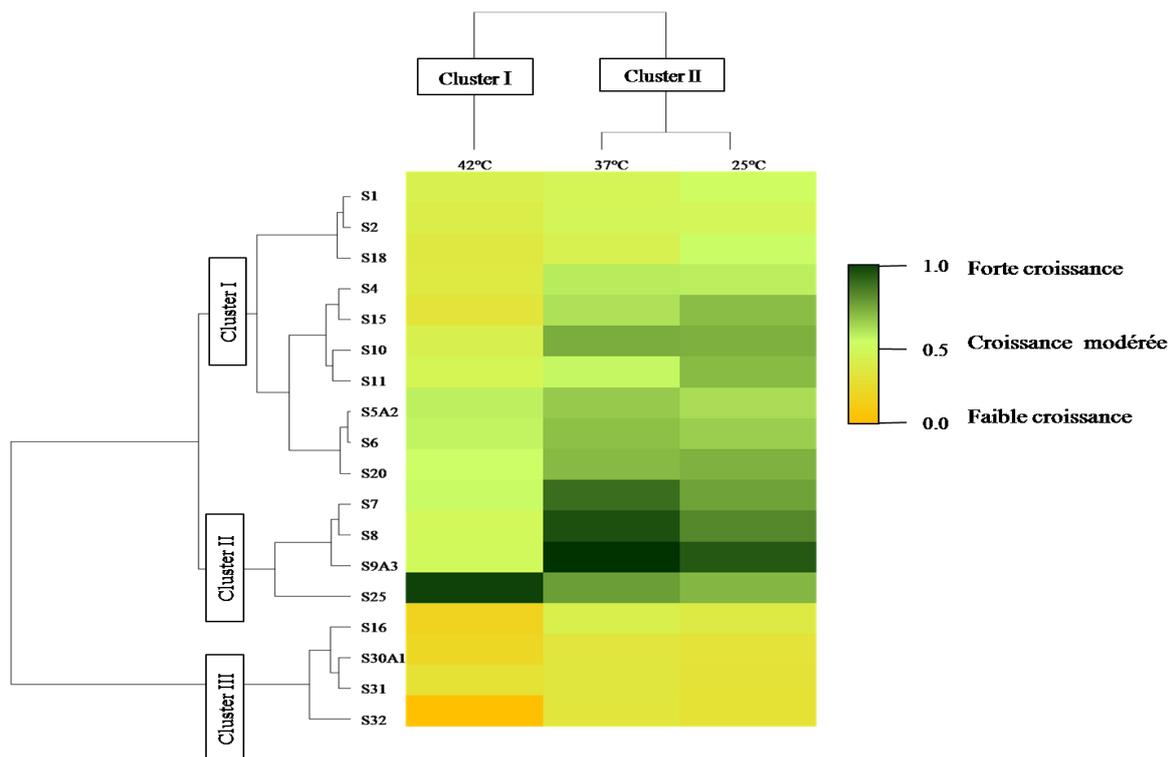


Figure 16. Effet de la température sur la croissance des souches marines.

La capacité de *Pseudomonas* à croître à 28°C et 37°C, telle que rapportée par Donnarumma *et al.* (2010), concorde avec nos résultats, indiquant l'aptitude de la majorité des souches à se développer dans un intervalle de température variant entre 25°C et 37°C. Des observations similaires ont été rapportées par Ng, où la croissance de *Pseudomonas* a été favorisée par l'augmentation de la température de 25°C à 37°C. Pour la souche *P. aeruginosa* PRD-10, une biomasse maximale a été observée en culture à 25°C et 37°C (Ng, 2018).

Les souches du groupe *Escherichia sp.* (S4, S30A1, S31 et S32) ont révélé une croissance modérée à faible aux trois températures testées. Nos résultats sont soutenus par une étude examinant l'effet de la variation de la température sur la croissance de la bactérie *E. coli*, où l'effet de quatre températures (25°C, 30°C, 37°C et 45°C) a été testé sur différents milieux de culture. Une bonne croissance a été signalée à 37°C sur la gélose nutritive, la gélose Luria Bertani et également sur la gélose minimale, suivie d'une croissance moins importante à 30°C et 25°C sur les trois milieux de culture. Enfin, une croissance plus ou moins faible a été notée à 45°C sur la gélose, cette température ayant pu inhiber la croissance de *E. coli* sur la gélose LB et minimale (Noor *et al.*, 2013).

Nos résultats démontrent une croissance importante chez la souche *Escherichia sp.* S4 et modérée chez les souches d'*Escherichia sp.* (S30A1, S31, et S32) à 25°C et 37°C. Il est à noter qu'une croissance faible a été signalée chez les souches S4, S30A1 et S32, tandis qu'une croissance extrêmement faible a été observée chez *Escherichia sp.* S31 à 42°C. Il convient de mentionner que *E. coli* peut croître à une température supérieure à 45°C, mais avec une croissance prohibitive (Fotadar et al., 2005).

III.2 Effet de pH

La croissance bactérienne à différents pH est investiguée en fonction de la densité optique (DO) à la longueur d'onde $\lambda = 630$ nm après 24h d'incubation sur une microplaque en polystyrène, comprenant 96 puits transparents. La gamme étudiée varie entre 5 et 10. L'évaluation de la croissance bactérienne à un intervalle de pH est présentée par la figure 13.

Selon la heatmap du regroupement hiérarchique, le dendrogramme expose des clusters dont certains sont liés à la plage acide (cluster II) ou à la plage basique (cluster I) (clusters horizontaux). Quant aux variables bactériennes, elles sont présentées verticalement. Il s'agit de deux clusters distincts (I et II), illustrant une corrélation significative entre les membres de chaque cluster.

La majorité des souches était incluse dans le premier cluster I par rapport au second cluster II (S16, S18, S31, S30A1, et S32). À l'intérieur de chaque cluster, les souches exhibaient des comportements similaires selon leurs corrélations intra-cluster.

L'étude de la croissance bactérienne sous différents pH (5, 6, 7, 8, 9, et 10) a révélé que 66.67% des souches ont toléré un milieu acide (pH=5), dont le développement était significatif ($P < 0.05$) à un pH de 6. Cependant, 83.33% des souches ont pu croître en milieu neutre. Par ailleurs, à un pH de 8 et 9, la fréquence était respectivement de 27.78% et 33.33%.

Parallèlement, une proportion similaire a démontré une croissance significative dans un milieu alcalin (pH=10) ($P < 0.05$). Dans l'ensemble, la croissance en milieu neutre a renforcé le développement de la majorité des souches (55.56%), bien que le milieu légèrement acide ait favorisé la croissance de 27.78% des souches. Enfin, le milieu alcalin a eu un effet positif sur la croissance de certaines souches (16.67%) (Figure 17).

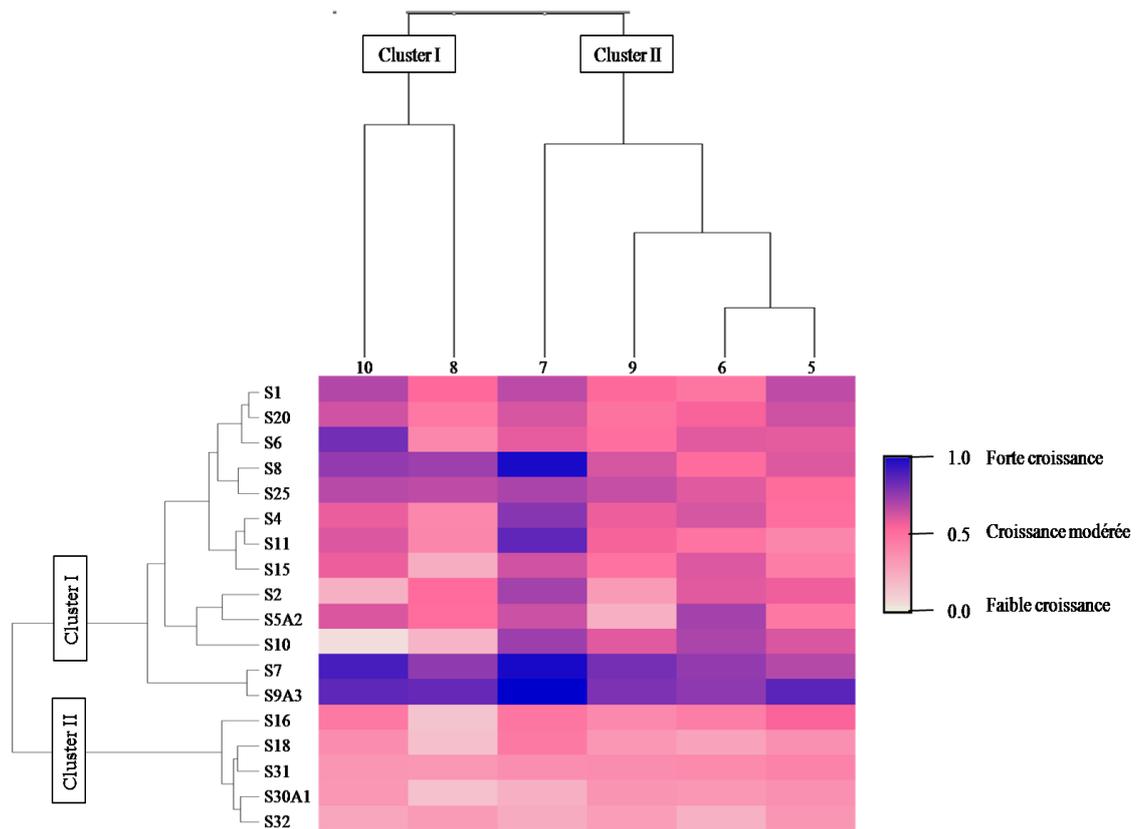


Figure 17. Effet du potentiel d’hydrogène sur la croissance des souches marines.

Nos souches ont démontré leur tendance à se développer dans un milieu neutre. Ce résultat est corroboré par une autre étude, observant une augmentation de la croissance dans une plage de pH variant entre 4 et 7 (Ezenobi et Okpokwasili, 2016). En ce qui concerne la croissance du groupe *Escherichia*, celle-ci est modérée dans une gamme de pH de 5 à 6 et faible pour les autres valeurs de pH. Cela est également soutenu par l’étude de Conner et Kotrola (1994), qui a démontré une croissance appréciable à un pH de 5.9 chez la souche *E. coli* K-12.

III.3 Effet du NaCl

La croissance bactérienne à différentes concentrations de chlorure de sodium est suivie en fonction de la densité optique (DO) à la longueur d’onde $\lambda = 630$ nm après 24 h d’incubation sur une microplaque en polystyrène, comprenant 96 puits transparents. La gamme étudiée varie entre 0 et 10%.

Le dendrogramme des concentrations de NaCl révèle l'existence de deux clusters : Cluster I (6%, 8%, et 4%) et Cluster II (2%, 10%, 1%, et 0). Chacun de ces clusters est ensuite subdivisé en plusieurs sous-clusters. Le premier cluster comprend deux sous-clusters : 1 (6%) et 2 (8% et 4%), tandis que le deuxième cluster inclut trois sous-clusters : 1 (2%), 2 (10% et 1%), et 3 (0). Les souches marines sont organisées en deux clusters majeurs : Cluster I (S1, S16, S10, S18, S32, S31, S6, S8, S11, S25, S2, S15, S20, et S4), tandis que le Cluster II inclut les souches S30A1, S9A3, S7, et S5A2.

Les résultats de la croissance bactérienne en présence des différentes concentrations de chlorure de sodium sont illustrés dans la figure 15. Les souches marines ont révélé une croissance faible en présence de faibles concentrations de NaCl, variant de 0% à 2%. En revanche, une tolérance importante a été observée à la concentration de 6% chez la majorité des souches. Notamment, la souche *P. aeruginosa* S5A2 a démontré une croissance significative (0.945) à la concentration de 6% ($P < 0.05$). À partir de 8%, la croissance bactérienne commence à diminuer. La concentration de 10% a exercé un effet similaire à celles de 1% et 0 (Figure 18).

Les microorganismes ont été classés selon leur tolérance au sel : non halotolérants (1%), légèrement halotolérants (2-5% de NaCl), modérément halotolérants (5-20% de NaCl), et extrêmement halotolérants (20-32% de NaCl) (Surendran et al., 1983). Selon cette classification, nos souches marines ont prouvé leur aptitude à croître dans un intervalle de salinité variant entre 2% et 8%, ce qui les classe comme modérément halotolérantes. Les bactéries marines, y compris celles du genre *Pseudomonas*, sont généralement classées comme halotolérantes ou faiblement halophiles, préférant se développer dans l'eau de mer (Surendran et al., 1983). *Pseudomonas* est connue pour sa capacité à tolérer et à se développer dans des environnements à salinité élevée. Les concentrations de 2% et 4% ont été choisies car elles sont proches de celles de l'eau de mer (<3%) (Bazire et al., 2007).

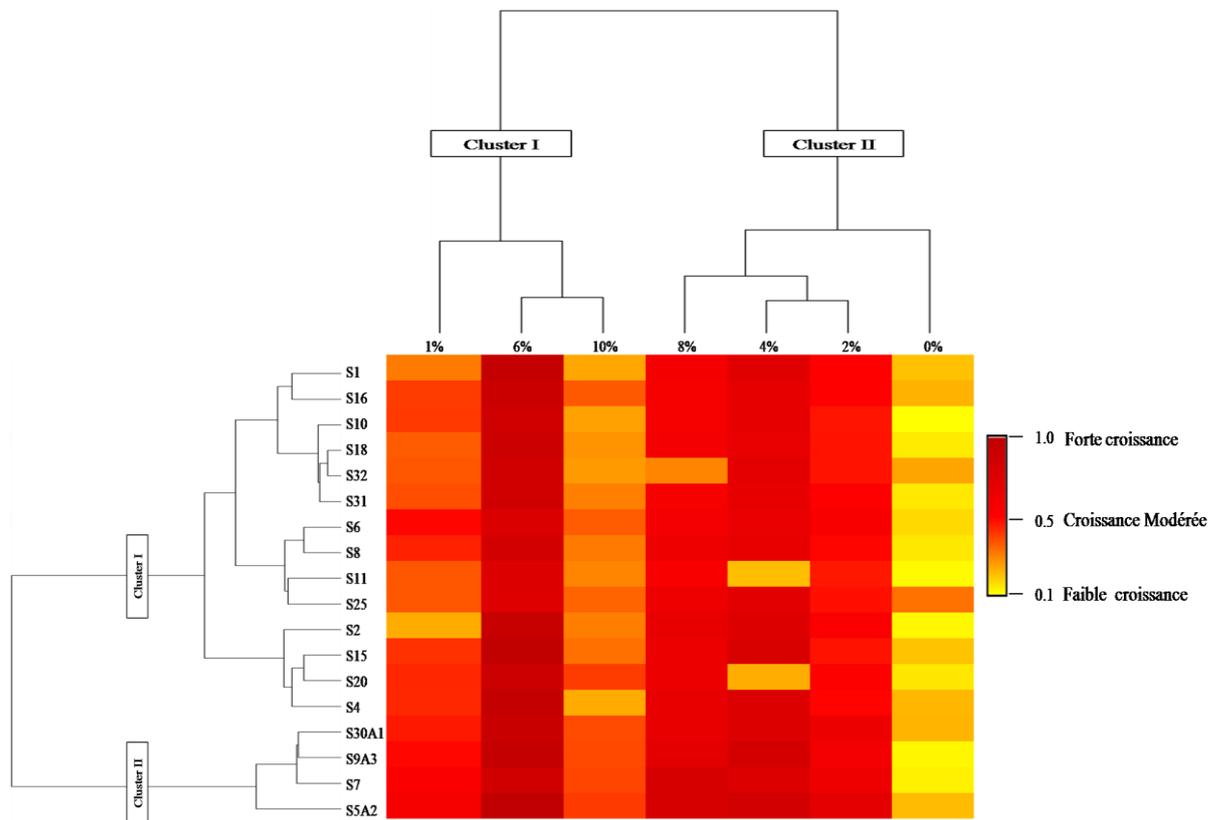


Figure 18. Effet de différentes concentrations du chlorure de sodium sur la croissance des souches marines.

Des recherches précédentes ont montré que la souche *P. beijerinckii*, isolée des haricots, peut croître dans une salinité variant de 3% à 18%, ce qui la classe comme halophile stricte. De plus, une autre étude a révélé qu'une souche de *Pseudomonas* a montré une croissance en présence de différentes concentrations de chlorure de sodium, allant de 0.05% à 20%, avec un optimum observé à 5% (Khan et al., 2010).

Il est documenté que l'absence d'un intervalle de salinité variant entre 6% et 7% dans les milieux aquatiques naturels, à l'exception de la mer Morte, est notoire. Des environnements peuvent également présenter une salinité élevée en raison de l'évaporation, tels que les lacs salés, les zones intertidales et les zones de saumure. L'étude de l'exposition de *P. aeruginosa* au stress salin (1-3%) a démontré sa capacité à survivre dans des conditions similaires à celles du milieu marin (Khan et al., 2010). En général, une salinité dépassant 0.51 M induit un stress osmotique pour les cellules vivantes, en raison de la perméabilité des membranes cellulaires, ce qui entraîne la plasmolyse, inhibant certaines activités cellulaires et menant finalement à la mort cellulaire (Diaw et al., 2018).

L'ensemble de nos résultats révèle une tendance contraire, puisque nos souches ont démontré une croissance plus significative à des concentrations de sel supérieures à 1%. Cette différence peut s'expliquer par leur origine marine, qui favorise le développement de leur tolérance à des niveaux élevés de salinité. Les adaptations spécifiques à leur environnement d'origine influencent positivement leur capacité à croître et à survivre dans des conditions salines plus élevées, ce qui diffère des observations générales. Par exemple, *P. aeruginosa* marine a montré une croissance significative à 7% de NaCl, en comparaison avec d'autres souches d'origines variées. De plus, la présence de 5% et 6% de NaCl a enregistré des valeurs de croissance inférieures par rapport aux concentrations les plus faibles (Khan et al., 2010).

Une souche marine d'*E. coli* a survécu à 10% du sel total après 2 jours. À la même concentration, le taux de survie a diminué avec l'augmentation de la période d'incubation. L'exposition à des concentrations élevées du sel (15%, 25% et 30%) a réduit le trait de survie au stade précoce (48 heures) (27.9%, 8.5% et 1.7% respectivement) (Anderson et al., 1979). Un autre travail a décrit des résultats similaires, montrant qu'une souche d'*E. coli* isolée de l'eau a démontré sa capacité à se multiplier activement à des concentrations de chlorure de sodium allant jusqu'à 7% dans un milieu riche en nutriments. Une mort totale de cette souche d'*E. coli* a été enregistrée après 48 heures et 72 heures aux concentrations de 30% et 20% respectivement (Hrenovic et Ivankovic, 2009).

En écologie, les microorganismes halophiles habitent des environnements dont la salinité dépasse 3.5% de NaCl. Ces écosystèmes incluent les sols hypersalins, les sources, les lacs salés, les sabkhas et autres écosystèmes côtiers salins naturels, les marais, et les sédiments marins abyssaux. Une salinité élevée réduit la fréquence des microorganismes, à l'exception des microorganismes halophiles ou halotolérants qui peuvent survivre dans ces conditions (Corral et al., 2020). L'importance des microorganismes halophiles et halotolérants réside dans leur dynamique et leur rôle crucial dans les cycles biogéochimiques en cas de stress salin. Les caractéristiques physiologiques de ces bactéries renforcent leur potentiel en tant que sources de biomolécules et de métabolites (Guevara-Luna et al., 2024).

Il existe également un intérêt croissant pour l'utilisation de ces candidats prometteurs dans divers domaines, tels que la production de biocarburants, la biorestauration des composés synthétiques et la dépollution de l'environnement (Dutta et Bandopadhyay, 2022). Il n'a pas été identifié d'exigence absolue en matière de salinité chez les microorganismes

halotolérants. Cette caractéristique a permis d'élucider leur capacité à se développer en présence ou en l'absence du sel (Dutta et *al.*, 2016).

III.4 Étude de la croissance bactérienne en présence des hydrocarbures

Les hydrocarbures, composés de carbone et d'hydrogène, sont assez importants en tant que source d'énergie, notamment le pétrole et ses dérivés. Cependant, ces composés représentent une menace majeure pour les écosystèmes terrestres, atmosphériques et aquatiques en tant que polluants (Banerjee et *al.*, 2016).

La capacité des souches à se développer en présence des hydrocarbures a été évaluée par la méthode du spotting, où une couche fine (1%) de pétrole et de kérosène est étalée à la surface d'une gélose BH. Toutes les souches ont démontré une croissance en présence des hydrocarbures testés, avec une dispersion cellulaire variant d'une souche à l'autre (John et Okpokwasili, 2012). La présence d'une zone claire autour des points d'inoculation témoigne de la capacité des souches à dégrader les hydrocarbures, démontrant ainsi leur aptitude à utiliser le pétrole brut et le kérosène (John et Okpokwasili, 2012). La majorité des souches exhibent une capacité à croître et à utiliser le pétrole brut, ce qui est exprimé par l'apparition d'un halo clair autour de la culture en présence de 1% de pétrole brut, c'est le cas des souches de *Pseudomonas sp.* (S2, S5A2, S6, S9A3, S10, S11, S15, S18, S20 et S25) et d'*Escherichia sp.* (S30A1, S31, et S32).

Toutes nos souches ont manifesté une croissance en présence de pétrole brut comme la montre figure 19. Une étude récente au littoral de Ghana a prouvé une grande diversité bactérienne capable de dégrader le pétrole. Il est à mentionner que six espèces bactérienne communes ont été isolées avec différentes abondances, *Acinetobacter Junii* (17.91%), *Alcanivorax xenomutans* (11.68%), *P. aeruginosa* (7.68%), *E. coli* (7.67%), *Acinetobacter haemolyticus* (3.40%), et *Alcanivorax pacificus* (3.10%). L'abondance de *P. aeruginosa* et *E. coli* est plus ou moins similaire. (Sarfo et *al.*, 2023).

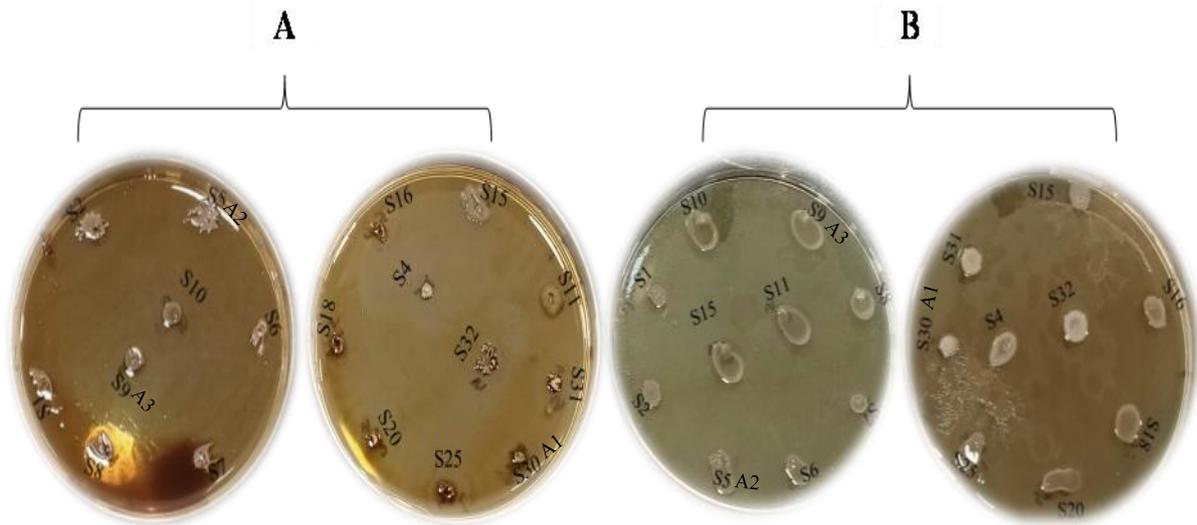


Figure 19. Croissance des souches marines en présence d'une couche mince de pétrole brut (A) et kérosène (B).

Divers microorganismes, tels que *P. putida*, *P. aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Alcaligenes eutrophus*, *Micrococcus luteus*, *Acinetobacter lwoffii*, *Proteus sp.*, *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.*, *Rhizopus sp.*, et *Candida sp.*, ont été impliqués dans la biodégradation du pétrole (John et Okpokwasili, 2012). La forte émulsification observées renforces les résultats antérieurs, établissant un lien entre ce potentiel et à la synthèse des biosurfactants, ce qui contribue à améliorer la biodégradabilité (Muriel-Millan et *al.*, 2019).

Toutes nos souches ont démontré la capacité de se développer en présence de kérosène, comme l'illustre la figure 16. Une étude comparative de la croissance de *Pseudomonas sp.* en présence de kérosène a démontré des résultats divergents selon la méthode utilisée : la méthode de superposition sur gélose, qui n'a montré aucune différence significative, tandis que la méthode de superposition sur milieu liquide a indiqué une croissance significativement plus importante après 6 jours d'incubation pour *P. aeruginosa* par rapport au témoin. En revanche, *P. putida* a exhibé une croissance inférieure à celle du témoin, et les souches de *Pseudomonas sp.* ont montré une capacité de dégradation de 5% de kérosène après 6 jours d'incubation (Stancu, 2020). Il a également été rapporté que *E. coli* isolé à partir des eaux de mer peut tolérer des n-alcanes individuels et le kérosène (Stancu et Vila, 2013).

III.5 Étude de la viabilité des souches en présences des métaux lourds

La viabilité cellulaire face aux trois métaux lourds (cuivre, plomb et mercure) a été évaluée à l'aide de la résazurine. D'ailleurs, la résazurine est utilisée pour mesurer la viabilité cellulaire (Barbosa *et al.*, 2015; Braissant *et al.*, 2020; Costa *et al.*, 2021; Zheng *et al.*, 2021). Six concentrations ont été testées pour chaque métal (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM, 2 mM, 2.5 mM et 3 mM).

III.5.1 Détermination de la viabilité cellulaire par la résazurine

La viabilité bactérienne à une gamme de concentrations du cuivre varie entre 1.5 mM et 3 mM a été investiguée en mesurant de la densité optique (DO) à une longueur d'onde de $\lambda = 590$ nm, après 24 heures d'incubation sur une microplaque en polystyrène, comprenant 96 puits transparents.

L'analyse statistique de l'effet du cuivre sur la viabilité cellulaire ressort deux clusters différents : Cluster I (0.5 mM et 1 mM) et Cluster II (1.5 mM, 2 mM, 2.5 mM et 3 mM). Chaque cluster est subdivisé en sous-clusters, le premier comprenant deux sous-clusters : 1 (0.5 mM) et 2 (1 mM). Le deuxième cluster, quand à lui, est composé de trois sous-clusters : 1 (1.5 mM, 2 mM et 2.5 mM) et 2 (3 mM).

Les souches ont également été regroupées en trois clusters : Cluster I (S1, S11, S10 et S15), Cluster II (S2, S31, S32, S18, S25 et S30A1) et Cluster III (S4, S5A2, S16, S6, S8, S7, S20 et S9A3). Le Cluster I est subdivisé en un sous-cluster : 1 (S1, S11, S10 et S15). Cluster II comprend un sous-cluster : (S2, S31, S32, S18, S25 et S30A1), et le troisième cluster est décomposé de trois sous-clusters : 1 (S4, S5A2 et S16), 2 (S6, S8 et S7) et 3 (S20 et S9A3).

Pour les souches du cluster I, une baisse progressive de viabilité cellulaire a été observée avec l'augmentation de la concentration de cuivre, représentant une réponse typique au stress lié au cuivre. La croissance a été maintenue à des concentrations fluctuant entre 0.5 et 2 mM. Néanmoins, une croissance minimale a été enregistrée chez la souche *Pseudomonas sp.* S1 (0.544), tandis que la meilleure croissance a été observée chez la souche *P. aeruginosa* S9A3 en présence de 2.5 mM et 3 mM de cuivre (2.301 et 2.273 respectivement). Le Cluster II a montré une sensibilité élevée au cuivre, avec une viabilité faible, voire nulle, à des concentrations élevées (2.5 mM et 3 mM), ce qui peut être attribué à l'absence des

mécanismes de résistance ou à une incapacité de gérer les effets délétères des ions de cuivre. En revanche, les souches regroupées dans le cluster III ont présenté un comportement atypique, avec une viabilité cellulaire augmentant proportionnellement à la concentration de cuivre. Ce résultat suggère que ces souches possèdent des mécanismes de résistance efficaces au cuivre. L'ensemble des résultats souligne une grande variabilité au point de vue de la tolérance bactérienne au cuivre (voir la Figure 20).

Cependant, la croissance des souches de *Pseudomonas sp.* (S6 et S8) et d'*Escherichia sp.* (S30A1 et S31) a diminué en présence de 2 mM de cuivre. Par ailleurs, la concentration 1.5 mM a eu un effet négatif sur la croissance des souches de *Pseudomonas sp.* (S18, S20, S25 et S32). Il est important de noter que des concentrations inférieures à 2.5 mM ont pu avoir un effet positif sur la croissance bactérienne (voir la Figure 16). Aucune différence significative n'a été observée entre les concentrations étudiées. Mis à part de ces effets positifs de tolérance *vis-à-vis* le cuivre, aucune réduction de la résazurine n'a été enregistrée pour les souches *Pseudomonas sp.* S2, *Escherichia sp.* S30A1 et *Escherichia sp.* S31.

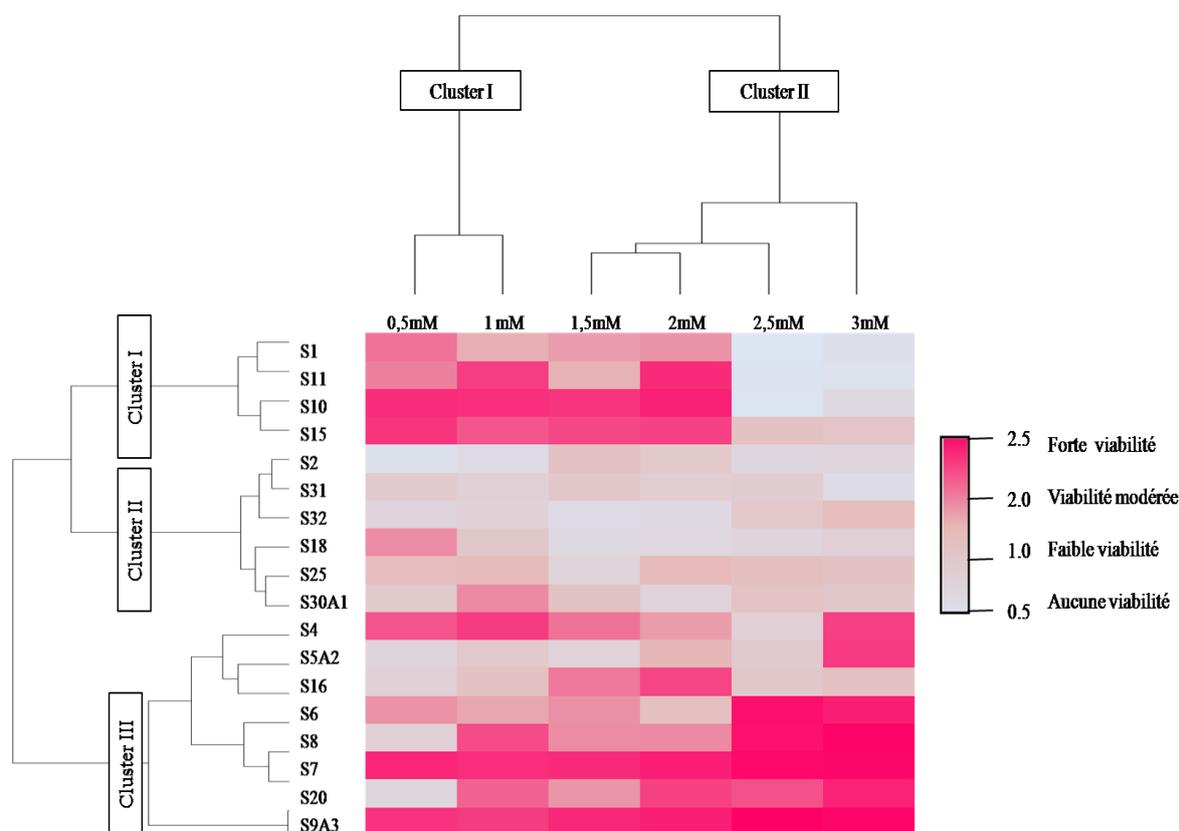


Figure 20. Effet de différentes concentrations de cuivre sur la viabilité des souches marines en présence de la résazurine.

La viabilité bactérienne à un intervalle de concentrations de plomb oscille entre 0.5 mM et 3 mM est évaluée en a été évaluée en mesurant la densité optique (DO) à une longueur d'onde de $\lambda = 590$ nm, après 24 heures d'incubation sur une microplaque en polystyrène comportant 96 puits transparents. Les résultats sont illustrés dans la figure 21. Le dendrogramme révèle trois clusters en fonction de la concentration de plomb : Cluster I (3 mM et 2.5 mM), Cluster II (2 mM et 1.5 mM) et Cluster III (1 mM et 0.5 mM). Chaque cluster est subdivisé en sous-clusters, le premier cluster regroupe deux sous-clusters : 1 (3 mM) et 2 (2.5 mM). Néanmoins, le second cluster est constitué deux sous-clusters : 1 (2 mM) et 2 (1.5 mM). Pour le troisième cluster, comprend également deux sous-clusters : 1 (1 mM) et 2 (2 mM).

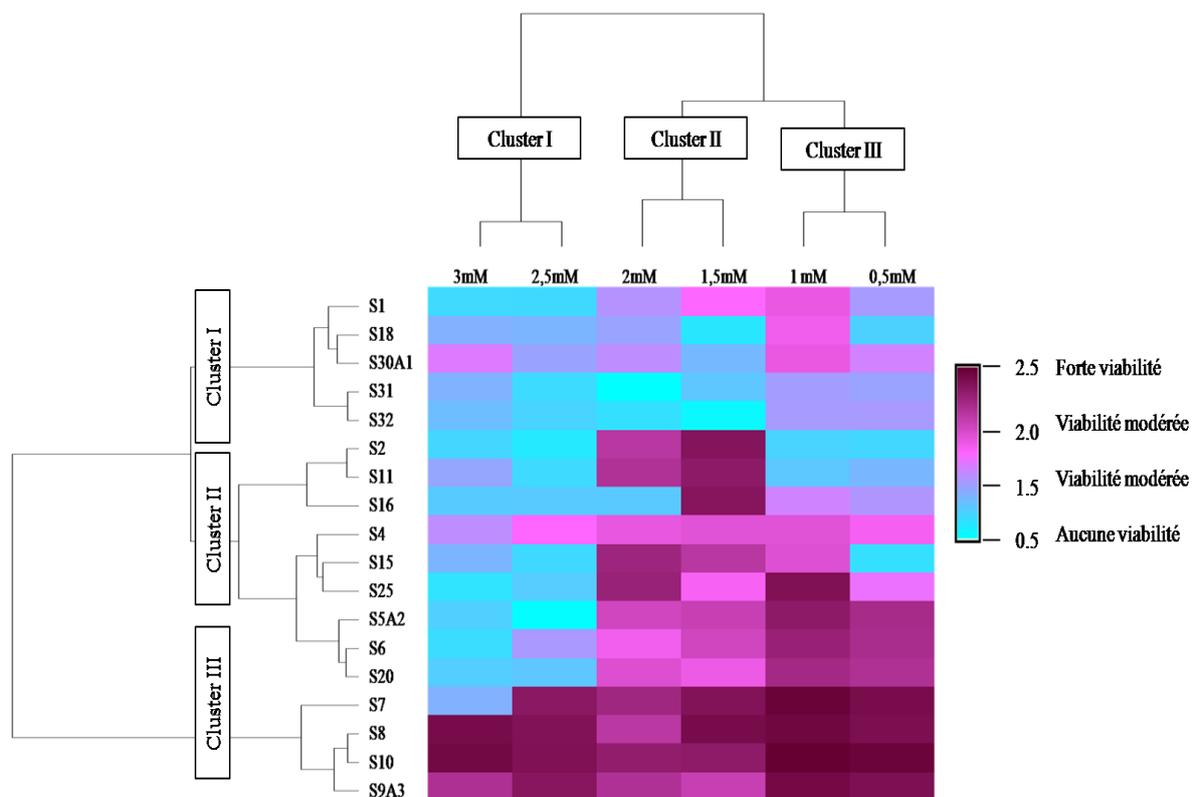


Figure 21. Effet de différentes concentrations de plomb sur la viabilité des souches marines en présence de la résazurine.

Les souches marines ont été regroupées en trois clusters : Cluster I (S1, S18, S30A1, S31 et S32), Cluster II (S2, S11, S16, S4, S15, S25, S5A2, S6 et S20) et Cluster III (S7, S8, S10 et S9A3). Le Cluster I se compose de deux sous-clusters : 1 (S1, S18 et S30A1) et 2 (S31 et S32), tandis que le Cluster II comprend cinq sous-clusters : 1 (S2 et S11), 2 (S16), 3 (S4), 4

(S15 et S25) et 5 (S5A2, S6 et S20). En revanche, le troisième cluster inclut un seul sous-cluster : 1 (S8, S10 et S9A3).

Le premier cluster des souches a révélé une croissance pratiquement faible à modérée aux concentrations variant entre 0 et 2 mM, suivie d'une croissance plus ou moins nulle aux concentrations plus élevées de plomb (2.5 mM et 3 mM), ce qui suggère une forte sensibilité au métal. Concernant le second cluster, une diminution de la viabilité cellulaire a été observée avec l'augmentation de la concentration de plomb, ce qui représente un comportement attendu en présence d'une telle substance chimique. Cependant, quelques exceptions ont été notées chez les souches *Pseudomonas sp.* S2, *Pseudomonas sp.* S11, et *Pseudomonas sp.* S16, dont la croissance a été favorisée par la supplémentation du milieu en plomb (1.5 mM et 2 mM).

En fin, le troisième cluster regroupe les souches marines démontrant une forte viabilité à des niveaux élevés de plomb (2.5 mM et 3 mM), cette observation peut être liée à la présence des mécanismes permettant à ces bactéries tolérer et résister au plomb (Voir la Figure 21). Les souches affichant les meilleures valeurs de densité optique sont la souche *Pseudomonas sp.* S10 à la concentration 1 mM (2.396), la souche *Pseudomonas sp.* S7 à la même concentration (2.376), la souche *Pseudomonas sp.* S10 à la concentration 0.5 mM (2.364) et à la concentration 3 mM (2.317) et la souche *Pseudomonas sp.* S8 à la concentration 1 mM (2.332). En comparant l'effet de différentes concentrations de plomb sur la croissance bactérienne, une différence significative est observée entre la concentration 1 mM et celle de 3 mM, ainsi qu'entre la concentration 1.5 mM et celle de 3 mM ($P < 0.05$).

À certaines concentrations, le plomb stimule la croissance des souches. Cette observation concerne les souches de *Pseudomonas sp.* (S1, S2, S4, S5A2, S6, S7, S8, S9A3, S10, S15, S16, S18, S20 et S25) ainsi que celles d'*Escherichia sp.* (S30A1 et S31) en présence d'une molarité de 1 mM, ainsi que les souches de *Pseudomonas sp.* (S1, S2, S5A2, S8, S10, S11, S15 et S18) et d'*Escherichia sp.* (S30A1, S31 et S32) à 3 mM.

Les souches de *Pseudomonas sp.* (S2, S11 et S15) montrent une stimulation de la croissance avec une concentration de 1.5 mM, tout comme la souche S30A1 (2 mM). Les souches *Pseudomonas sp.* S10 et *Escherichia coli* S30A1 affichent également une croissance améliorée à 2.5 mM. La réduction de la résazurine est significativement observée chez la moitié des souches, démontrant ainsi potentiel redox en présence de plomb. Cependant, les

souches de *Pseudomonas sp.* (S1, S2, S5A2, S11, S15, S18 et S20) et *E. coli* S30A1, et *Escherichia sp.* S31 montrent une réduction de la résazurine moins marquée.

La viabilité bactérienne à une gamme de concentrations de mercure varie entre 0.5 mM et 3 mM est évaluée en fonction de la mesure de la densité optique (DO) à $\lambda = 590$ nm, après 24 heures d'incubation sur une microplaque en polystyrène de 96 puits transparents. Les résultats, illustrés sur la figure 22, montrent que l'évaluation de la toxicité du mercure à l'aide d'une carte thermique (heatmap) de regroupement hiérarchique révèle trois clusters démontrant : Cluster I (3 mM et 2.5 mM), Cluster II (2 mM, 1.5 mM et 1 mM) et Cluster III (0.5 mM). Le premier Cluster comprend en deux sous-clusters : 1 (3 mM) et 2 (2.5 mM). Cependant, le deuxième cluster englobe un seul sous-cluster (0.5 mM). Pour le troisième cluster, deux sous-clusters sont identifiés : 1 (2 mM) et 2 (1.5 mM et 1 mM).

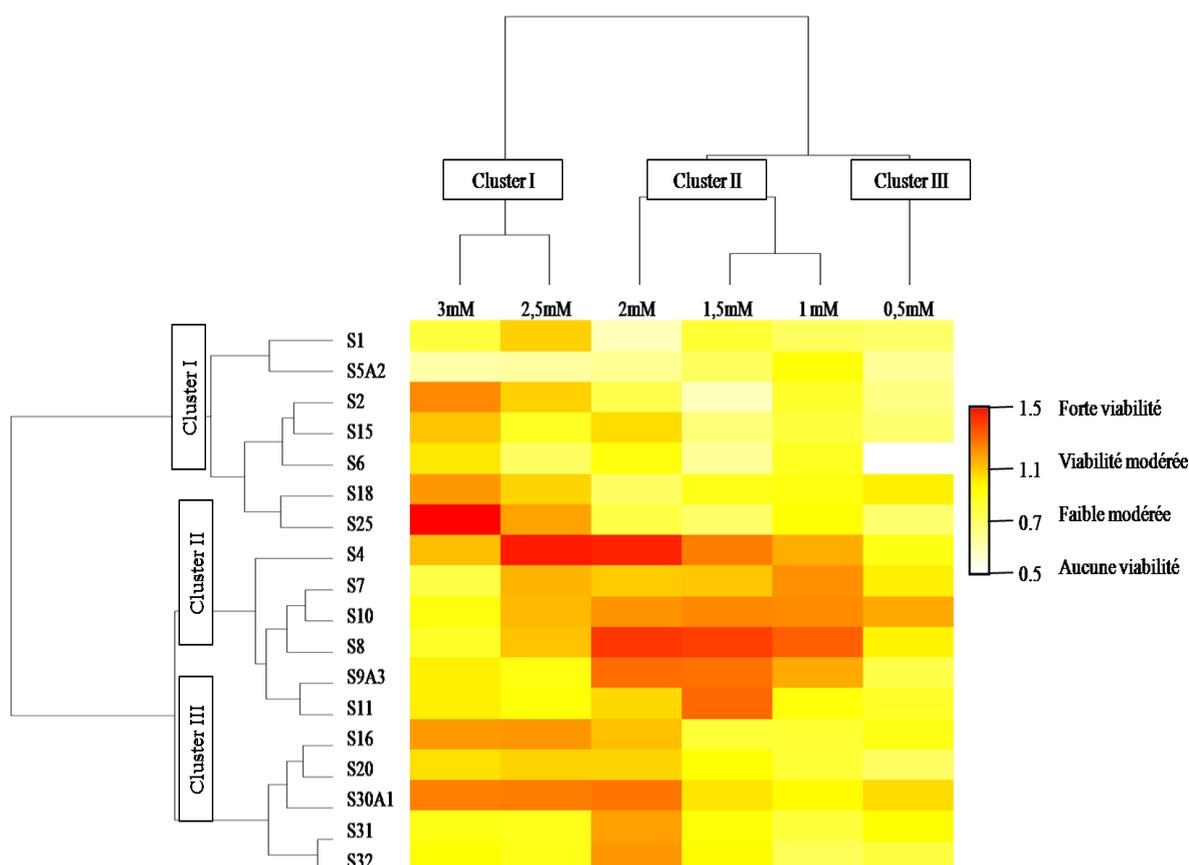


Figure 22. Effet de différentes concentrations de mercure sur la viabilité des souches marines en présence de la résazurine.

Les souches marines sont classées en trois clusters distincts. Le premier cluster rassemble trois sous-clusters : 1 (S1 et S5A2), 2 (S2, S1 et S6) et 3 (S18 et S25). Le deuxième

cluster est constitué de deux sous-clusters : 1 (S4) et 2 (S7, S10, S8, S9A3 et S11). Cependant, le troisième cluster se compose d'un unique sous-cluster (S16, S20, S30A1, S31 et S32).

Le premier cluster des souches est caractérisé par une grande variabilité au terme de la viabilité cellulaire. Une faible viabilité des souches marines a été observée à des concentrations de mercure comprises entre 0.5 mM et 2 mM. Cependant, cette croissance s'améliore à des niveaux plus élevés de mercure (2.5 mM et 3 mM), suggérant que les souches de ce cluster possèdent des mécanismes permettant de résister au mercure. Le cluster II regroupe des bactéries très viables à des concentrations variant entre 1 mM et 2.5 mM, mais cette viabilité tend à diminuer à des concentrations supérieures à 2.5 mM. Cela implique que ces bactéries ont développé des mécanismes de résistance ou détoxification au mercure.

En revanche, le cluster III montre une viabilité relativement faible aux concentrations comprises entre 0.5 mM et 1.5 mM, tandis que la viabilité devient significativement plus élevée aux concentrations élevées (2 et 3 mM), ce qui indique une viabilité modérée au mercure (Voir la figure 22). Les meilleures valeurs de la densité optique sont enregistrées chez la souche *Pseudomonas sp.* S25 (1.48) à la concentration 3 mM, et la souche *Escherichia sp.* S4 à la concentration 2 mM et 2.5 mM (1.419 et 1.434 respectivement). Toutefois, la plus faible valeur de croissance est de 0.539, enregistrée chez la souche *Pseudomonas sp.* S6 à 0.5 mM de mercure ($P < 0.05$).

Il ressort de cette expérimentation que les quatre premières concentrations (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM et 2 mM) ont exercé un effet stimulant sur la croissance bactérienne chez la majorité des souches (55.56%, 72.22%, 55.56%, et 72.22% respectivement). Toutefois, la concentration de 2.5 mM de mercure a favorisé la croissance chez 44.44% des souches marines. Il est évident que la croissance de la moitié des souches a été stimulée par la présence de 3 mM de mercure (voir la figure 22).

Les souches *Pseudomonas sp.* S2, *Escherichia sp.* S4, *P. aeruginosa* S9A3, *Pseudomonas sp.* S20 et *Pseudomonas sp.* S25 ont démontré une résistance notable au mercure, à travers cinq concentrations différentes. Les résultats du test de résazurine suggèrent que certaines souches ont maintenu leur viabilité en présence de mercure, particulièrement les souches *Pseudomonas sp.* (S8, S9A3, S10, S18 et S25), qui ont conservé leur viabilité à toutes les concentrations testées. La comparaison entre des concentrations de

mercure met en évidence une différence significative entre la concentration 0.5 mM et les autres concentrations ($P < 0.05$).

Les essais de viabilité réalisés en présence de tétrazolium ont confirmé l'absence de la réduction de ce composé chez la totalité des souches et à toutes les concentrations testées (ces résultats ne sont pas présentés en graphe). La résazurine a été choisie en raison de sa stabilité, et surtout, de sa nature non toxique sur les cellules vivantes. En revanche, l'utilisation du bleu tétrazolium repose sur la capacité des cellules viables à produire du formazan par le clivage des sels de tétrazolium par les mitochondries fonctionnelles. Cet indicateur est caractérisé par sa grande cytotoxicité (Al-Nasiry et al., 2007). Il apparaît que la toxicité des trois métaux lourds varie considérablement selon les deux méthodes (tétrazolium et résazurine). Cette observation est confirmée par une étude comparative réalisée par Alonso et ses collaborateurs en 2017, qui n'a signalé aucune corrélation entre la réduction de la résazurine et celle du tétrazolium pour déterminer la viabilité cellulaire (Alonso et al., 2017).

L'examen de la résistance a montré que toutes les souches ont pu tolérer les concentrations testées de cuivre, supposant ainsi que ces souches possèdent un mécanisme régulateur de cuivre. Des études ont révélé que l'exposition de *P. aeruginosa* au cuivre lui permet de développer certains facteurs clés de l'homéostasie du cuivre, augmentant ainsi ses chances de survie dans des environnements contenant ce métal (Virieux-petit et al., 2022).

Le cuivre est un oligo-élément essentiel pour les microorganismes aérobies qu'oligo-élément, agissant comme cofacteur pour de nombreuses enzymes impliquées dans une vaste gamme de réactions redox, grâce à sa capacité à altérer entre les états d'oxydation Cu (I) et Cu (II). Cependant, cette caractéristique peut entraîner une toxicité si l'homéostasie n'est pas maintenue (Ladomersky et Pétris, 2015). Il est évident que la présence de cuivre est associée à un taux accru d'échange génétique entre les bactéries environnementales et pathogènes (Virieux-petit et al., 2022).

Afin de prévoir la toxicité du cuivre, les microorganismes ont développé des mécanismes visant à maintenir un cytoplasme exempt de cuivre libre. Ces mécanismes comprennent l'exportation transmembranaire du cuivre du cytoplasme vers l'espace périplasmique ou le milieu extracellulaire, la séquestration du cuivre par les métallothionéines, et l'oxydation du Cu (I) par des oxydases multicuivres en ion du Cu (II), qui est moins toxique (Ladomersky et Pétris, 2015). Il convient de noter que le cuivre est un

élément essentiel, mais il peut avoir des effets délétères à certaines concentrations, et *P. aeruginosa* a la capacité de développer et de maintenir une homéostasie, qui lui permet de gérer la fine ligne entre les concentrations essentielles et celles excessives du cuivre (Hofmann et al., 2021).

Dans le cas d'*E. coli*, le cuivre active le système à deux composants CusSR, qui induit à son tour l'expression des gènes qui codent pour le système de réparation périplasmique des protéines oxydées, MsrPQ. Ce dernier joue un rôle crucial dans l'activité de la pompe à efflux du cuivre CusCFBA en aérobiose. La régulation de l'homéostasie du cuivre est essentielle pour maintenir les niveaux intracellulaire du cuivre à des niveaux faibles et non toxiques (Vergnes et al., 2022).

Par ailleurs, nos souches marines ont démontré une résistance accrue aux différentes concentrations de plomb. Bien que toxique à des faibles concentrations, n'a prouvé aucune importance biologique significative. La toxicité du plomb dépend de sa biodisponibilité. Généralement, une grande proportion du Pb (II) est liée aux minéraux argileux et aux molécules organiques complexes, ce qui réduit sa fraction biodisponible pour les microorganismes exposés (Jaroslawiecka et Piotrowska-Seget, 2014). Certaines souches microbiennes, en particulier des bactéries, mettent en œuvre un ensemble des mécanismes protecteurs leurs permettant de survivre à des concentrations élevées de plomb sans compromettre leur croissance et leur métabolisme. Ces stratégies incluent les mécanismes d'efflux, la séquestration extracellulaire, la biosorption, la précipitation, l'altération de la morphologie cellulaire, l'amélioration de la production de sidérophores et l'accumulation intercellulaire (Naik et Dubey, 2013).

Ces stratégies exploitent une variété des groupes fonctionnels présents au sein de macromolécules biologiques telles que les polysaccharides extracellulaires, les métalloprotéines et les ligands inorganiques, notamment les groupes carboxyl, phosphate et amide, pour capter le plomb. Les interactions biologiques avec le plomb sont influencées par plusieurs facteurs tels que le radical ionique du métal, l'électronégativité, la forme de la gaine cellulaire, la température et le pH (Nong et al., 2019).

Il a été rapporté que la souche *P. ficuserectae* PKRS11 tolère des concentrations plomb supérieures à 1.0 mM. En outre, la souche *P. aeruginosa* MTCC2474 et *P. alcaligenes* MJ7, montrent une tolérance à plus de 0.5 mM. L'étude de la viabilité cellulaire en présence de

stress métallique, réalisée par microscopie à épifluorescence, a révélé les propriétés fluorescentes distinctes entre les cellules mortes et vivantes. En ce qui concerne l'hydrophobicité de la surface cellulaire, la souche *Pseudomonas ssp* W6 a montré une capacité de liaison au plomb plus élevée par rapport à d'autres souches telles que *P. aeruginosa* MTCC2474, *P. alcaligenes* MJ7 et *P. ficusectae* PKRS11, qui ont présenté des résultats modérés dans test d'agrégation aux sels (SAT) et d'adhérence au polystyrène et (PAT) (Kalita et Joshi, 2017). Il a été ainsi rapporté que l'augmentation de la pollution par les métaux lourds, en particulier le plomb, entraîne une diminution de la viabilité microbienne suite à une exposition prolongée à ce métal (Pande et al., 2022).

Il est décrit que la souche tellurique de *Pseudomonas* SN3 tolère une concentration inhibitrice minimale significative de plomb, atteignant 170 µg/ml. La présence des microorganismes dans des environnements contaminés par des métaux lourds favorise leur performance en termes de survie et de croissance (Nath et al., 2014).

D'ailleurs, une étude portant sur la croissance d'*E. coli* en présence d'une plage de concentrations de plomb (50 ppm à 300 ppm) a montré que ces concentrations élevées stimulent une croissance significative, accompagnée d'une courte période de latence. Cependant, bien que les cellules puissent survivre et croître en présence de 500 ppm, leur taux de croissance est plus lent comparativement à un milieu exempt du plomb. Les analyses approfondies de la membrane cellulaire ont révélé une augmentation de la teneur en glucides, associée d'une diminution marquée des phospholipides, tandis qu'aucune modification n'a été observée au niveau du profil des protéines (Kumar et Upreti, 2000).

Parallèlement, l'impact de mercure sur la croissance a été analysé pour l'ensemble des souches. La forme ionique du mercure peut provoquer une toxicité maximale, et les bactéries mettent en œuvre des mécanismes de résistance face aux niveaux élevés de différentes formes de mercure présentes dans leur environnement (Pepi et al., 2013). La détoxification bactérienne du mercure se déroule en trois transformations majeures : la réduction du Hg^{2+} en Hg^0 avec son expulsion subséquente du Hg^0 à l'extérieur de la cellule, la méthylation d' Hg^{2+} en MeHg, et la déméthylation de MeHg. D'ailleurs, la première et la dernière transformation sont associées à la présence d'opéron *mer*, plus précisément les gènes *merA* et *merB*. Le gène *MerA* gouverne la détoxification du mercure en codant pour la réductase qui convertit les ions du mercure Hg^{+2} en Hg^0 , une forme volatile. Bien que le gène *MerB* code pour la lyase alkylmercure, une enzyme cruciale dans la détoxification du mercure organique en scindant

MeHg en méthane (CH₄) et Hg⁺², lequel est ensuite réduit en Hg⁰ par l'enzyme codée par le gène *MerA* (Cardona et al., 2022).

Il a été rapporté que la souche *P. putida* SP1 est capable de volatiliser 100% de mercure dans les environnements marins (Zhang et al., 2012). En outre, il a été observé des souches de *Pseudomonas* pouvaient croître dans un milieu contenant 40 µM de mercure (Barbieri et al., 1996). Une étude menée par Azoddein et ses collaborateurs a évalué l'effet de différentes concentrations du mercure, variant entre 0 et 19 µM, sur la croissance de la souche *P. putida*. L'étude a montré une croissance positive en réponse à l'augmentation progressive des concentrations du mercure, bien que la densité optique diminue à mesure que la concentration augmente. Une exposition prolongée au mercure a continué à réduire la densité optique, mais cette tendance s'est stabilisée à partir de 19 µM de mercure. Concernant la biomasse, une augmentation de la concentration a généralement stimulé la croissance, sauf à 6 µM où une diminution de la croissance a été observée. Néanmoins, l'exposition à 19 µM de mercure a significativement stimulé la croissance de *P. putida* 49128 (Azoddein et al., 2016).

Les résultats de cette expérimentation indiquent que la majorité des souches marines testées ont démontré une multirésistance fréquente aux trois métaux lourds étudiés. Parmi ces souches, *P. aeruginosa* a été couramment isolée dans des environnements contaminés par les métaux lourds. Bien que ce pathogène opportuniste soit souvent retrouvé dans des habitats pollués, peu d'études ont précisément mis en lumière et identifié les mécanismes spécifiques de résistance qu'il développe face aux métaux lourds. En outre, les souches de *P. aeruginosa* ont montré une variabilité dans leur tolérance en fonction des concentrations de métaux testées, suggérant une adaptation complexe et spécifique. Il est présumé que l'exposition continue de ces bactéries à des concentrations élevées de métaux lourds, résultant de pollutions anthropiques, aurait favorisé la sélection de mécanismes de résistance au fil du temps (Deredjian, 2013).

Il est rapporté que la présence de cuivre et de mercure augmente la fréquence bactérienne par rapport au contrôle (absence des métaux). En parallèle, la présence des métaux lourds induit des modifications morphologiques, associées aux processus d'adaptation où les cellules produisent des enzymes responsables de l'acquisition des métaux. D'ailleurs, la biosorption des métaux par les cellules vivantes s'effectue en deux phases, passive et active. La phase active correspond à l'absorption du métal à la surface cellulaire, ce qui pourrait

expliquer les modifications morphologiques (Mosa et *al.*, 2016; Escamilla-Rodriguez et *al.*, 2021).

Les mécanismes d'adsorption s'appuient principalement sur les interactions entre les ions métalliques et les groupements fonctionnels (carboxyl, hydroxyl, amino, phosphate et sulfure) présents dans les polysaccharides, lipides et protéines de la paroi bactérienne (Escamilla-Rodriguez et *al.*, 2021). Ces interactions incluent l'attraction électrostatique, les échanges ioniques, la complexation et la précipitation. Ces processus se déroulent de manière indépendante du métabolisme cellulaire (Yang et *al.*, 2019).

En revanche, l'absorption active implique l'acquisition intracellulaire des ions métalliques par des mécanismes similaires à ceux utilisés pour l'acquisition de nutriments tels que Na^{2+} , K^{+} et Ca^{2+} (Escamilla-Rodriguez et *al.*, 2021). Les microorganismes peuvent contribuer à améliorer la qualité environnementale par le biais de divers mécanismes tels que la transformation, la volatilisation, l'immobilisation, la liaison et l'oxydation des métaux lourds (Fakhar et *al.*, 2020).

D'ailleurs, une étude a révélé que la croissance des cellules d'*E. coli* est inhibée par une concentration de mercure de 0.05 mM (Na-Ayudhya et *al.*, 2009). Une analyse protéomique réalisée après une exposition au stress mercurique a identifiée six protéines impliquées dans la tolérance au mercure (Seshapani et *al.*, 2013).

La contamination des environnements par des métaux lourds induit des modifications morphologiques et physiologiques au sein des communautés microbiennes. Ces environnements, en raison de leur contamination, constituent une source intéressante de souches résistantes aux métaux lourds, offrant un potentiel prometteur pour le développement de stratégies de bioremédiation (Alvarado-Campo et *al.*, 2023). La sélection de microorganismes efficaces pour la bioremédiation de sites pollués repose sur leur tolérance aux métaux lourds et leur capacité à développer des mécanismes de résistance à leur toxicité (Pande et *al.*, 2022).

**Chapitre IV. *Effet des stress
environnementaux sur
l'organisation en biofilm***

IV Mise en évidence de la formation du biofilm

IV.1 Méthode de la production de slime sur la gélose au Rouge Congo

Certaines bactéries ont démontré leur capacité à former une couche mince polysaccharidique, appelée « slime » présentant un acteur assez important dans la formation du biofilm et l'adhésion bactérienne (O'Gara et Humphreys, 2001). La production du slime favorise l'adhérence aux surfaces, l'acquisition des nutriments, et protège la bactérie des effets délétères des antibiotiques (Neut et *al.*, 2005).

Pour évaluer la formation du biofilm en se focalisant sur la production du slime, la méthode de la gélose au rouge Congo a été utilisée. Dans ce but, une 18^{aine} de souches a été testées sur la gélose au rouge Congo en utilisant différentes sources de carbone (saccharose, glucose et fructose) à des températures de 37°C et 44°C pendant 24 heures d'incubation. Les colonies obtenues ont présenté des variations de couleurs et d'aspects.

En effet, plusieurs études ont analysé les différents aspects observés. Certains auteurs considèrent les colonies à aspect sec indiquant une production de slime (Curarella et *al.*, 2004; Knobloch et *al.*, 2002; Dubravka et *al.*, 2010). D'ailleurs, six phénotypes ont été identifiés : noir sec/lisse, rouge sec/lisse, et rose sec/lisse, avec différentes nuances.

Les résultats, présentés sous formes de pourcentage des souches positives pour chaque catégorie, et illustrés sur la figure 24, montrent qu'en présence de fructose, 50% des souches développent des colonies noires sèches à 37°C. En présence de saccharose, ce ratio est de 33.33%, et de 22.22% en présence de glucose (Figure 23). Selon plusieurs études, un phénotype noir sec est un indicateur d'une production importante de slime. En fait, l'interaction entre le rouge Congo et certains polysaccharides forme des complexes colorés, utiles pour caractériser les souches suspectes (Satpute et *al.*, 2016). Les aspects culturels des souches sont récapitulés dans la figure 23.

Les souches présentant des colonies rouges sèches et bordeaux, considérées comme des productrices modérées de slime, apparaissent dans 55.56% des cas en présence de glucose, 44.44% avec le saccharose, et 33.33% avec le fructose, à 37°C (El-Demerdash et Bakry, 2020). Selon Darwish et Asfour (2013) et Hammadi et Yousif (2014), les colonies roses sèches sont décrites comme non productrices du slime. Ce phénotype étant observé chez 22%

des souches en présence de saccharose et de glucose, et chez 16.67% des souches en présence de fructose.

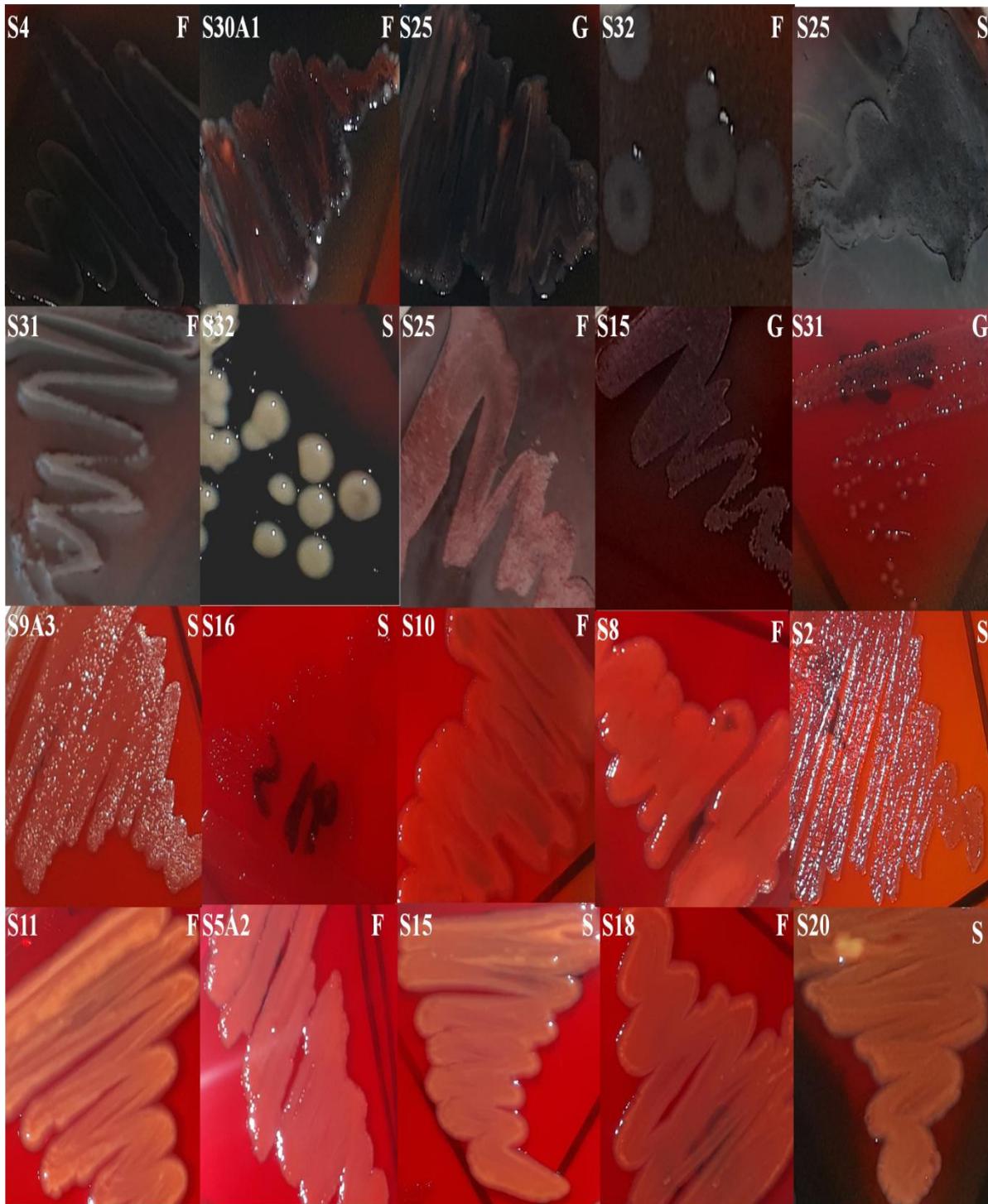


Figure 23. Les différents aspects cultureux des colonies développées par certaines souches marines sur la gélose au rouge Congo, après 24h d'incubation à 37°C. **S** : Saccharose; **F** : Fructose; **G** : Glucose.

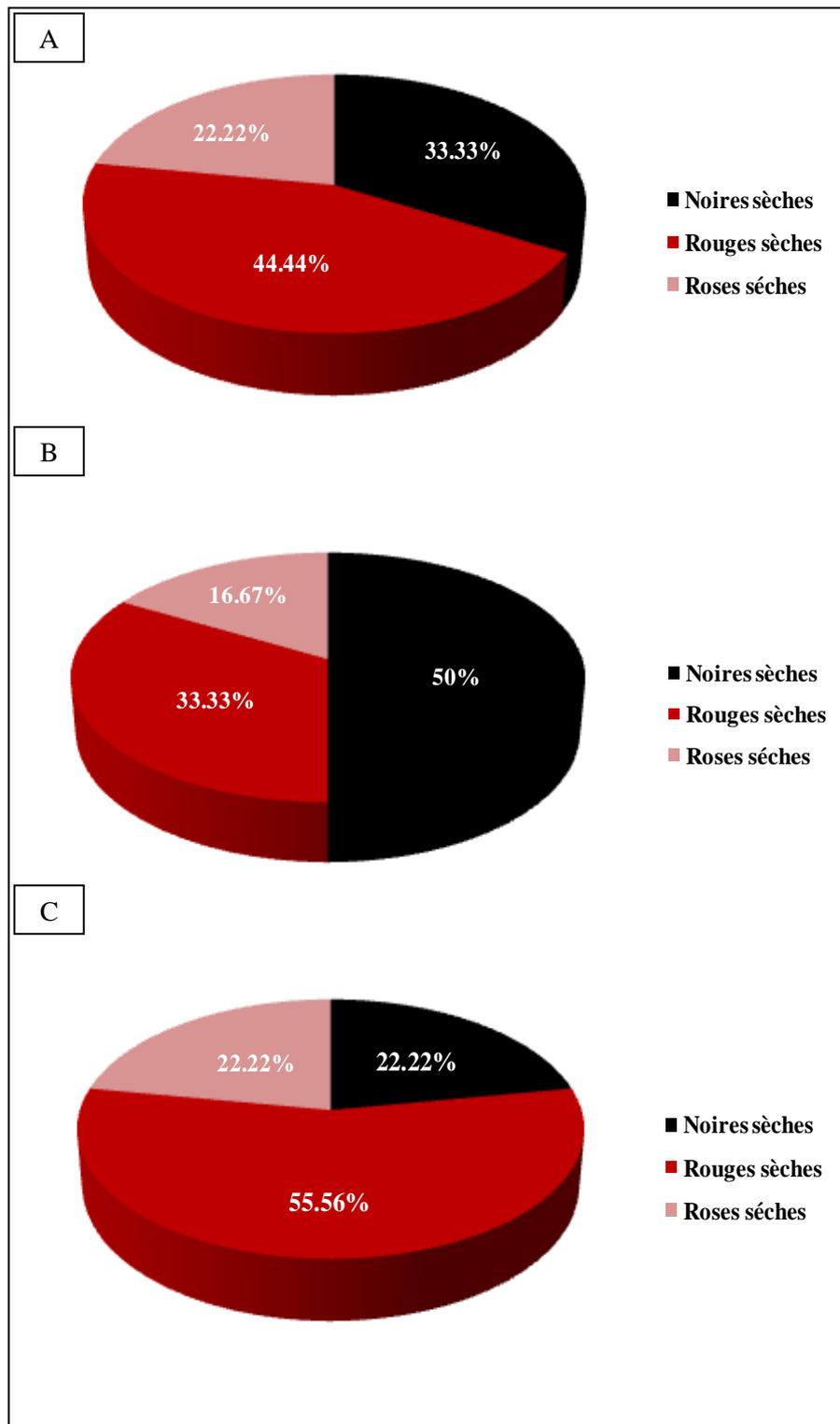


Figure 24. Production du slime en présence de saccharose (A), de fructose (B), et de glucose (C) après 24h d'incubation à 37°C.

D'autres références ont montré que les isolats présentant des colonies noires à l'aspect sec ou lisse sont des producteurs du slime, ce qui leur permet de former des biofilms. En revanche, les isolats développant des colonies de couleur rouge, bordeaux et rose sont considérées comme non producteurs de slime (Freeman et *al.*, 1989; Jardak et *al.*, 2017). Selon la littérature, la production du slime est exclusivement associée aux souches développant des colonies noires sèches, tandis que d'autres phénotypes, tels que noire lisse, rouge sec/lisse et rose sec/lisse ne sont pas considérés comme producteurs du slime (Freeman et *al.*, 1989; Satpute et *al.*, 2016). De plus, l'absence d'un aspect sec des colonies conduit à un résultat indéterminé (Aliane, 2018).

IV.2 Méthode de microplaque

L'évaluation de la formation du biofilm en microplaque est une méthode de quantification basée sur la détection de l'adhérence cellulaire à une surface en polystyrène. Comme mentionné dans la section « Matériel et méthodes », toutes les souches ont été soumises à des variations multiparamétriques (Figure 25).

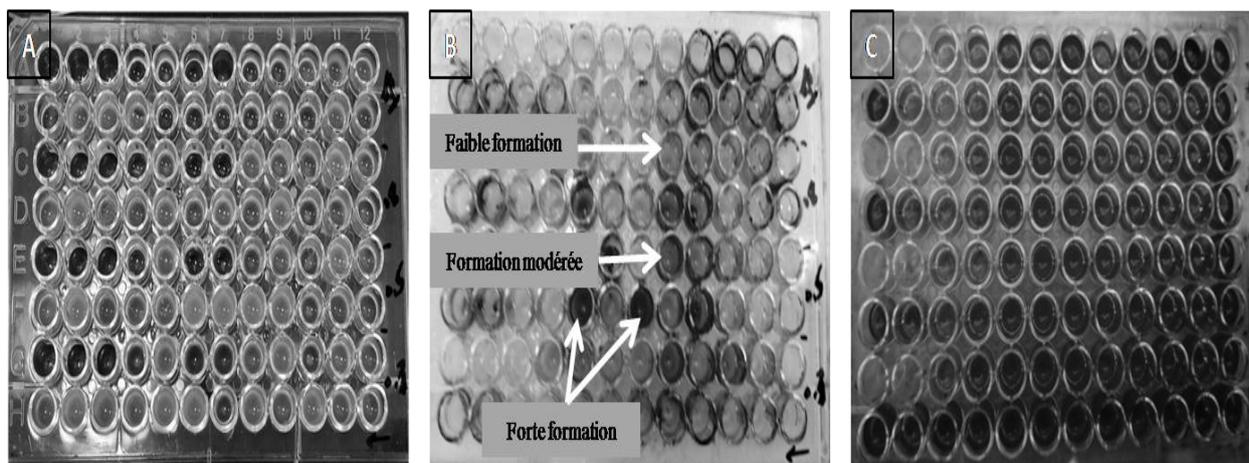


Figure 25. Capacité des souches marines à adhérer et former des biofilms sur la microplaque en polystyrènes. **A** : Avant la coloration au cristal violet; **B** : après l'élimination du cristal violet et le séchage; **C** : Récupération du cristal violet par l'éthanol.

Nous avons également évalué l'effet des différentes concentrations de chlorure de sodium (0, 1%, 2%, 4%, 6%, 8%, et 10%), des hydrocarbures (pétrole brut et kérosène) sur des intervalles de 0, 0.5%, 1%, 1.5%, 2%, 3% et 4%, sur la capacité des souches à former des biofilms. Enfin, l'effet des métaux lourds (sulfate de cuivre, nitrate de plomb et chlorure de

mercure) a été évalué avec différentes concentrations (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM, 2 mM, 2.5 mM et 3 mM). Il est nécessaire d'indiquer que la quantification par le cristal violet est une méthode de coloration non spécifique de la biomasse vivante ou morte, donc elle s'agit d'une évaluation globale de la formation en biofilm (Burton et *al.*, 2007). La capacité d'un microorganisme à former des biofilms est principalement liée à son adhérence à une surface donnée (Costerton et *al.*, 1987).

IV.3 Effet des stress environnementaux sur la formation du biofilm

IV.3.1 Effet de la salinité sur la formation du biofilm

La capacité des souches marines à former des biofilms à un intervalle de concentrations de NaCl fluctue entre 0 et 10% a été évaluée quantitativement par la mesure de la densité optique (DO) après coloration au cristal violet à une longueur d'onde $\lambda = 595$ nm, après 24 heures d'incubation sur une microplaque en polystyrène de 96 puits transparents. Les résultats sont présentés sur la figure 26. Le dendrogramme des différentes concentrations de chlorure de sodium sur la formation du biofilm révèle trois clusters : Cluster I (0, 1%, 2% et 6%), Cluster II (4% et 10%) et Cluster III (8%). Le premier cluster se subdivise en deux sous-clusters : 1 (milieu exempt de NaCl) et 2 (1%, 2% et 6%), le deuxième cluster inclut deux sous-clusters : 1 (4%) et 2 (10%), tandis que le troisième cluster ne contient qu'un seul sous-cluster (8%).

Concernant les souches étudiées, elles sont regroupées en deux clusters : Cluster I est subdivisé en quatre sous-clusters : 1 (S1, S7, S31, S10 et S11), 2 (S32), 3 (S2, S6, S15, S16, S4, S8 et S20), 4 (S18 et S25), et Cluster II comprend deux sous-clusters : 1 (S5A2, S9A3 et S30A1). Il s'avère clair qu'il existe des différences significatives entre la concentration 6% et celle de 2%, ainsi qu'entre la concentration 8% et toutes les autres concentrations de chlorure de sodium, et également entre la concentration 10% et celles de 0, 1%, 2%, 4% et 6% ($P < 0.05$).

Toutes des souches ont toléré les différentes concentrations de chlorure de sodium, bien que leur aptitude à former des biofilms varie. Le premier cluster, regroupant des souches marines, montre une augmentation progressive de leur capacité à former des biofilms, avec une formation faible à modérée enregistrée en absence de chlorure de sodium et aux concentrations (1%, 2%, et 6%), et une formation forte aux autres concentrations. Le

deuxième cluster démontre une aptitude modérée à former des biofilms aux concentrations comprises entre 0 et 6%, cette aptitude devenant forte à la concentration de 8%, et déclinant aux concentrations supérieures à 8% ($P < 0.05$) (Figure 23). Les meilleures densités optiques ont été observées pour la souche *Escherichia coli* S30A1 à la concentration 10% (0.996), les souches *P. aeruginosa* (S5A2 et S9A3) à la concentration 8% (0.928 et 0.906 respectivement). Par contre, la plus faible densité optique a été notée chez la souche *Escherichia sp.* S32 (0.142).

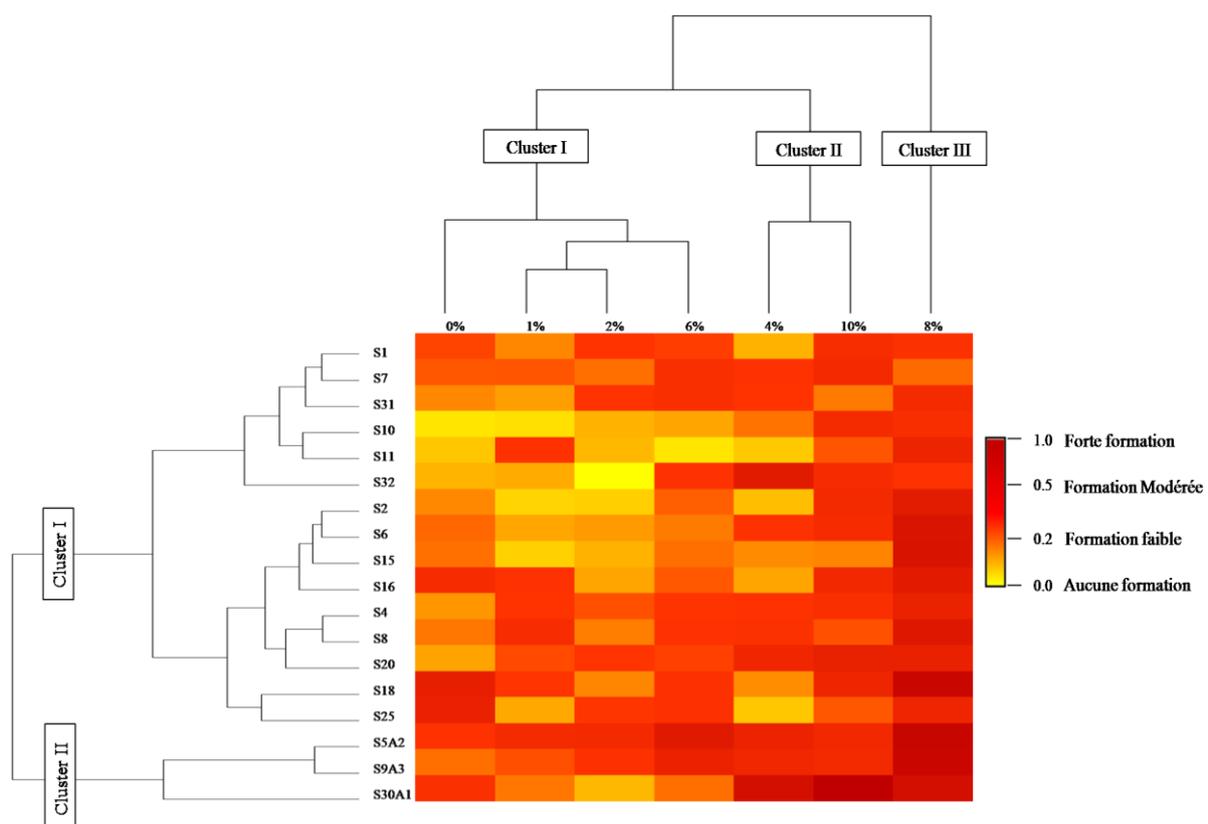


Figure 26. Effet de la salinité sur la formation des biofilms par les souches marines.

Selon le profil de halotolérance des souches étudiées, nos isolats peuvent être classés comme légèrement halophiles. Le groupe bactérien composé des souches *Escherichia sp.* (S4, S30A1, S31 et S32) a démontré une aptitude variable à former des biofilms, fluctuant entre un potentiel faible et fort. En particulier, la souche *E. coli* S30A1 a présenté une forte formation à trois concentrations (1%, 8% et 10%) et modérée aux autres concentrations, suivie par la souche *Escherichia sp.* S4 qui a montré une forte formation à deux concentrations (8% et 10%). Enfin, la souche *Escherichia sp.* S32 s'est avérée également une forte formatrice de

biofilm à une concentration de 10%. Cependant, la souche *Escherichia sp.* S31 a affiché un comportement alternant entre des phénotypes modérés et faibles selon les concentrations.

Une étude a révélé que *P. aeruginosa* a formé des biofilms de manière significative aux concentrations de NaCl comprises entre 1% et 3%, mais cette aptitude diminue à un niveau modéré lorsque la concentration atteint 3.5% et 4% (Dayma et al., 2015). Ces observations sont en accord avec d'autres études indiquant que la salinité a un effet positif sur la formation du biofilm chez diverses espèces telles que *E. coli*, *Listeria monocytogenes*, *S. aureus*, *S. typhimurium*, *Vibrio cholerae* et *Vibrio vulnificus* (Jahid et al., 2015).

La capacité d'*E. coli* à former un biofilm semble proportionnellement liée à la concentration en sel. Garba et al. (2021) ont rapporté une augmentation de l'agrégation des cellules en biofilm à une concentration de 10% de chlorure de sodium, validant ainsi les conclusions de Vatansever et Turetgen (2018), qui ont observé un comportement similaire avec des concentrations de NaCl variant entre de 5% à 7%.

Néanmoins, *E. coli* exposé à des concentrations de 3.5% et 5% de chlorure de sodium a montré une capacité insignifiante à former des biofilms, illustrant la controverse entourant l'effet du stress salin sur la formation de biofilms chez les bactéries (Li et al. 2021). La capacité de former des biofilms en milieu salin offre plusieurs avantages aux bactéries, notamment la production d'EPS bactériens, célèbres par leur capacité à lier les cations, en particulier le Na⁺. Plusieurs études ont démontré que ces EPS peuvent atténuer les effets du stress salin grâce à leur capacité à chélater le sodium dans le sol (Morcillo et Mansanera 2021).

Des recherches récentes soulignent l'importance de la formation de biofilms chez les bactéries réductrices du sulfate, telles que *Desulfovibrio (D). vulgaris* et *Desulfobacterium (Db). Corrodens*, en présence de concentrations élevées de NaCl (Sivakumar et al., 2019). Selon Bazire et al. (2007), une molarité de 0.5 M de NaCl a réduit la formation du biofilm d'environ deux tiers dans des conditions du stress osmotique. L'analyse de l'architecture du biofilm par microscopie confocale à balayage laser a révélé une diminution de 50% de leur épaisseur, ce qui confirme l'impact significatif de la salinité sur leur structure (Bazire et al., 2007).

En outre, certaines études supposent que la formation du biofilm peut conférer une résistance accrue aux bactéries face aux stress environnementaux, y compris la salinité. Les bactéries halophiles, en particulier, sont capables de former des biofilms dans des environnements hypersalins, augmentant leur résistance aux dommages associés à une forte concentration en sel (Yin et *al.*, 2019).

IV.3.2 Effet des hydrocarbures sur la formation du biofilms

Pour évaluer l'influence des hydrocarbures (pétrole brut et kérosène) sur la formation de biofilms, diverses concentrations ont été testées (0%, 0.5%, 1%, 1.5%, 2%, 3% et 4%). Les souches ont été initialement cultivées dans un milieu enrichi à 1% de chaque hydrocarbure pour les adapter. Ensuite, ces concentrations ont été ajoutées aux puits contenant le milieu de culture dans microplaque en polystyrène de 96 puits transparents.

Après une période d'incubation, les puits ont été vidés, rincés pour éliminer les cellules non adhérentes, puis colorés avec du cristal violet, un colorant utilisé pour marquer les cellules adhérentes. La coloration au cristal violet permet de visualiser et de quantifier les cellules attachées, qui forment le biofilm. Le colorant retenu dans les cellules adhérentes est ensuite solubilisé à l'éthanol à 95%, ce qui permet de mesurer la densité optique et, par conséquent, l'intensité de la formation du biofilm en fonction des différentes concentrations d'hydrocarbures.

IV.3.2.1 Effet du pétrole brut sur la formation du biofilm

La capacité des souches marines à former des biofilms à un intervalle de concentrations de pétrole brut varie entre 0 et 4% est estimée quantitativement en appuyant sur de la mesure de la densité optique (DO) après coloration au cristal violet à une longueur d'onde $\lambda = 595$ nm, après 24 heures d'incubation sur une microplaque en polystyrène comprenant 96 puits transparents. Les résultats sont exposés sur la figure 27. L'analyse du clustering heatmap investiguant l'effet de pétrole brut sur l'aptitude des souches à former des biofilms a démontré deux clusters principaux : Cluster I (3%, 4% et 1%) et Cluster II (2%, 1.5%, 0.5% et 0). Le premier cluster se divise en deux sous-clusters : 1 (3%) et 2 (4% et 1%). En revanche, le deuxième cluster comprend trois sous-clusters : 1 (2%), 2 (1.5%) et 3 (0.5% et 0%). Concernant les souches étudiées, elles sont organisées en deux clusters : Cluster I est

subdivisé en trois sous-clusters : 1 (S1, S6, S9A3, S18, S5A2 et S32), 2 (S7 et S8), 3 (S4, S10, S20, S11, S30A1 et S31), tandis que le Cluster II comprend trois sous-clusters : 1 (S2 et S25), 2 (S15) et 3 (S16).

Cette étude montre que toutes les souches exhibent une capacité variable à former des biofilms, avec des phénotypes faibles, modérés et forts. En l'absence de pétrole brut, la majorité des souches (83.33%) présente un phénotype modéré, 11.11% sont faiblement formatrices de biofilm, et seulement 5.56% forment fortement des biofilms (Figure 27).

À la concentration de 0.5%, une formation modérée de biofilm est observée chez 83.33% des souches, tandis qu'à 1%, les trois phénotypes sont exprimés avec une fréquence de 33.33% pour chacun. À 1.5%, la majorité des souches démontre une formation modérée (44.44%), 38.89% affichent une faible formation de biofilms, et seulement 16.67% adhèrent fortement à la surface de polystyrène.

En présence de 2% de pétrole brut, une faible structuration en biofilm est enregistrée chez 50% des souches, 27.78% montrent une formation modérée, et 22.22% exhibent une forte formation de biofilm. Il est clair que les deux dernières concentrations ont stimulé une forte formation de biofilm chez 44.44% et 61.11% des souches respectivement, ainsi qu'une adhérence modérée (50% et 33.33% respectivement) et faible, avec un ratio de 5.56%. Toutes les souches ont pu exprimer une forte adhérence à certaines concentrations, sauf les souches *Pseudomonas sp.* S11 et *Escherichia sp.* S31. La comparaison des effets de différentes concentrations de pétrole brut sur la formation du biofilm démontre des différences significatives entre le milieu exempt de pétrole brut et la concentration 3% et 4%, entre la concentration 0.5% et celles de 1%, 2%, 3% et 4%, ainsi qu'entre la concentration 1.5% et celles de 3% et 4% ($P < 0.05$).

D'ailleurs, les souches regroupées dans le cluster I ont révélé la meilleure tendance à former des biofilm en présence de pétrole brut à des concentrations variant entre 0 et 4%, ce qui suppose leur capacité à l'utiliser comme source de carbone. Le Cluster II expose un groupe bactérien avec une faible capacité à former des biofilms en présence de pétrole, ce qui pourrait s'expliquer par leur incapacité à le tolérer ou à l'utiliser, à l'exception de la souche *Pseudomonas sp.* S16, qui présente une capacité à former des biofilms oscillant entre modérée à forte. Les meilleures valeurs enregistrées sont celles de la souche *Pseudomonas sp.* S2 (0.982) à la concentration 2%, la souche *Pseudomonas sp.* S16 à la concentration 3% (0.950),

la souche *Pseudomonas sp.* S15 à la concentration 1.5% (0.910) et la souche *Pseudomonas sp.* S8 à la concentration 3% (0.908). Ces résultats pourraient expliquer le développement de stratégies particulières, permettant aux souches de tolérer la présence de pétrole brut, potentiellement liées à leur capacité intéressante à former des biofilms.

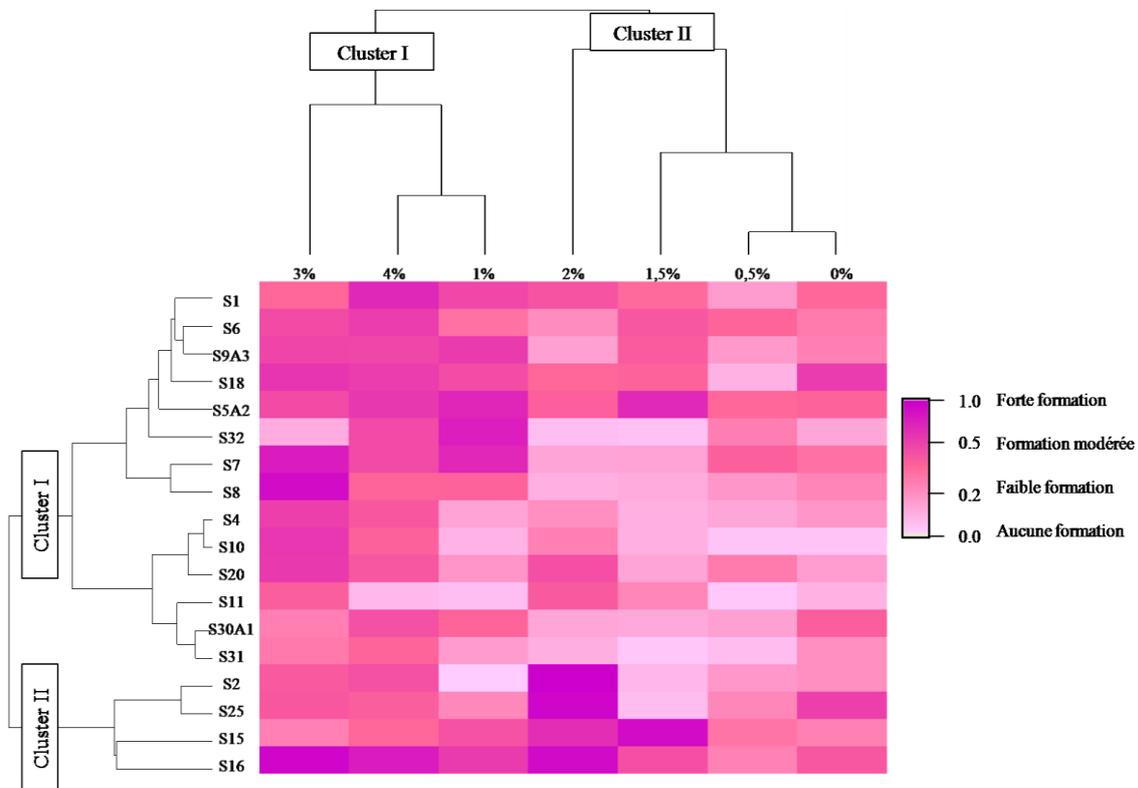


Figure 27. Effet du pétrole brut sur la formation des biofilms par les souches marine.

Par ailleurs, les souches de *P. aeruginosa* KC137277.1 et *P. otitidis* AB698739.1 ont démontré une capacité accrue à former des biofilms dans le milieu Bushnell-Hass supplémenté de pétrole brut. Le genre *Pseudomonas* est d'ailleurs un bon exemple de bactéries impliquées dans la biodégradation du pétrole brut, et couramment qualifié de « *oil eating bug in crude oil industry* » ou bactéries dégradant les hydrocarbures dans l'industrie du pétrole brut. La capacité de ces souches à utiliser le pétrole brut résiduel comme source de carbone contribue grandement à leur pouvoir de dégradation des hydrocarbures (Dasgupta et al., 2013).

Il a été également rapporté qu'un consortium bactérien, formé des microorganismes halotolérants capables d'utiliser les hydrocarbures inclut *Ochrobactrum sp.*, *Stenotrophomonas maltophilia*, et *P. aeruginosa*, s'est révélé un bon dégradeur de pétrole brut

(3% v/v) (Xu et al., 2018). En outre, l'utilisation d'un consortium artificiel composé d'*A. hydrophila*, *Alcaligenes xylosoxidans*, *Gordonia sp.*, *P. fluorescens*, *P. putida*, *Rhodococcus equi*, *S. maltophila*, et *Xanthanomonas sp.* a démontré un potentiel de dégradation significatif dans les sols contaminés par le pétrole (Chiciudean et al., 2019).

IV.3.2.2 Effet du kérosène sur la formation du biofilm

L'aptitude des souches marines à former des biofilms à une gamme de concentrations de kérosène oscille entre 0 et 4% est estimée quantitativement en fonction de la mesure de la densité optique (DO) après coloration au cristal violet à une longueur d'onde $\lambda = 595$ nm, suite à une incubation de 24 heures sur une microplaque en polystyrène de 96 puits transparents. Les résultats sont illustrés dans la figure 28. La carte thermique du regroupement hiérarchique, représentant l'effet du kérosène sur l'aptitude des souches à former des biofilms révèle trois clusters principaux. Le premier cluster comprend deux sous-clusters : 1 (0.5%) et 2 (3%), et le deuxième cluster contient un seul sous-cluster: 1 (0). En revanche, le troisième cluster regroupe trois sous-clusters : 1 (1%, 1.5%), 2 (2%) et 3 (4%) (Voir figure 25). Les souches étudiées se répartissent également en trois clusters: Cluster I, est subdivisé en deux sous-clusters : 1 (S1 et S5A2) et 2 (S2 et S4), Cluster II inclut un sous-cluster : 1 (S18 et S25). Néanmoins, le cluster III rassemble trois sous-clusters : 1 (S6, S9A3, S8, S7, S16 et S30A1), 2 (S10, S20, S31 et S32) et 3 (S11 et S15).

En l'absence de kérosène, 72.22% des souches se sont révélées faiblement formatrices de biofilms, tandis que 27.78% présentaient un phénotype de faible formation. Les concentrations de 0.5%, 1.5%, 2% et 3% ont majoritairement induit une formation modérée de biofilm chez les souches marines (66.67%, 50%, 83.33% et 66.67% respectivement) (Voir la figure 25). À 1% de kérosène, la moitié des souches ont montré une adhérence modérée (50%), tandis que le reste a formé faiblement des biofilms. À une concentration de 4%, la majorité des souches n'a pas réussi à former de biofilm (55.56%), tandis que 27.77% des souches ont montré une faible formation de biofilms, 5.56% une formation forte, et 11.11% ont modérément adhéré à la surface. Les souches *Pseudomonas sp.* S2, *Escherichia sp.* S4, et *P. aeruginosa* S5A2 ont démontré une forte formation de biofilms à certaines concentrations (1.5%, 2%, et 3%, respectivement).

Les souches du cluster I ont révélé une capacité constante à former des biofilms, même à des concentrations élevées de kérosène (jusqu'à 2%). Cela pourrait être dû à la tolérance au

kérosène ou à des mécanismes d'adaptation au stress, augmentant leur résistance. Toutefois, les membres de cluster II ont montré une réduction de leur aptitude à former des biofilms à des concentrations élevées de kérosène (1.5%, 2%, 3%, et 4%), ce qui suggère leur sensibilité à la toxicité du kérosène, ou son potentiel inhibiteur. Les meilleures densités optiques sont observées chez la souche *Escherichia sp.* S4 à 2% (0.593), la souche *Pseudomonas sp.* S18 et la souche *Pseudomonas sp.* S25 en absence de kérosène (0.582 et 0.561 respectivement). Ces valeurs de densité optique sont cependant inférieures à celles enregistrées en présence de pétrole brut. Les souches marines étudiées ont montré une grande variabilité dans leur capacité à former des biofilms. Il apparaît clairement que la formation de biofilms est presque inhibée aux concentrations élevées de kérosène. L'analyse de la variance révèle des différences significatives ($P < 0.05$) entre les différentes concentrations, en particulier entre le milieu exempt de kérosène et 4%, 0.5% et 4%, 2% et 4%, ainsi qu'entre 3% et 4%.

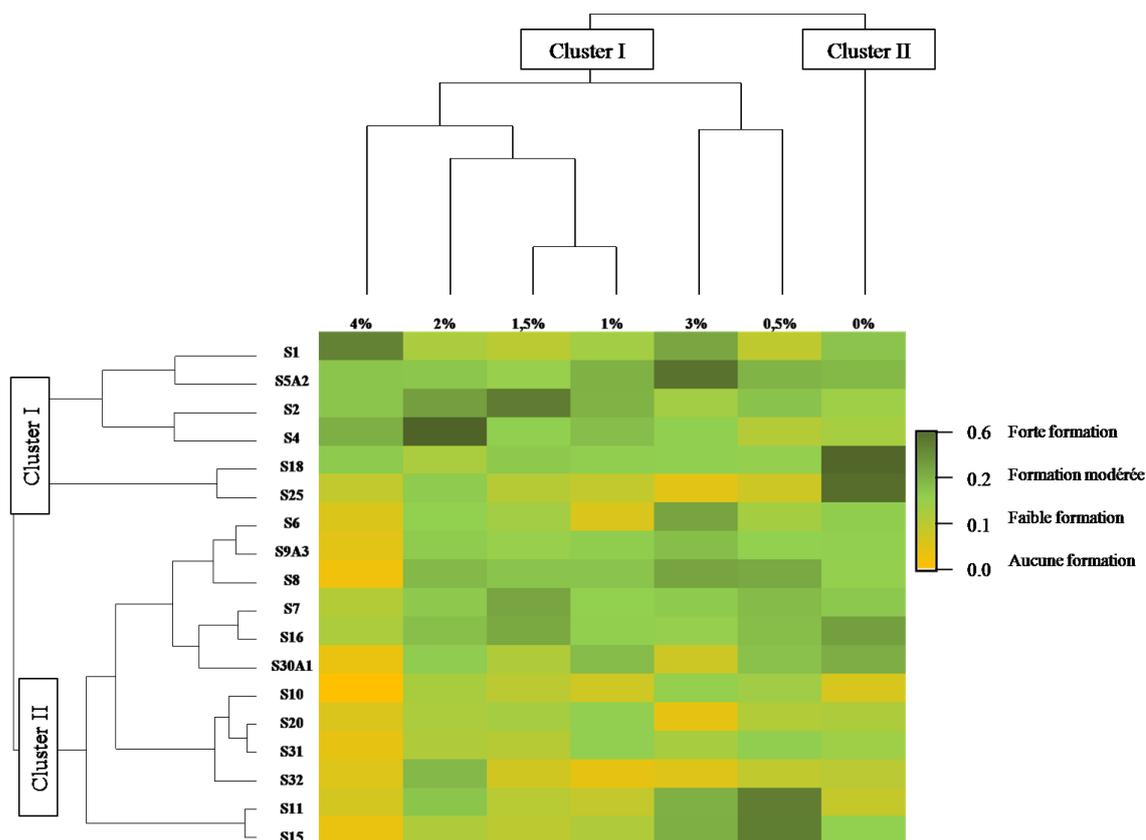


Figure 28. Effet du kérosène brut sur la formation des biofilms par les souches marine.

Plusieurs gènes liés à la dégradation et à la formation du biofilm ont été identifiés chez *Pseudomonas sp.*, ainsi que chez d'autres microorganismes issus des réservoirs des hydrocarbures (Krohn et al., 2021). Les bactéries associées aux hydrocarbures incluent *Bacillus simplex*, *P. synxantha*, *Sphingomonas zea*, qui ont démontré une capacité notable à former des biofilms. Ces espèces peuvent agir comme colonisateurs primaires, intervenant dans l'adhésion initiale, et jouant un rôle dans le biofouling (encrassement biologique), la formation de boues, et le blocage des conduites, vannes et filtres. Les souches de *Pseudomonas*, en particulier les souches *P. extremaustralis* (D14, D22, D23), sont connues pour leur potentiel significatif de dégradation des hydrocarbures, y compris diverses fractions de kérosène (Chiciudean et al., 2019).

Des souches de *Pseudomonas* isolés à partir d'eau, du sol, des sédiments et des boues ont démontré une aptitude à tolérer et dégrader le kérosène, bien que leur tolérance et le taux de dégradation varient d'une souche à l'autre. Ces isolats sont également capables de produire des métabolites secondaires (surfactant et pigments) (Stancu et al., 2020).

IV.3.3 Effet des métaux lourds sur la structuration en biofilm

La présence des métaux lourds dans un écosystème microbien peut induire la formation du biofilm et influencer leur épaisseur (Jasu et Ray, 2021). Plusieurs études mettent en avant la présence des métaux lourds, qui peuvent affecter plusieurs étapes du développement des biofilms. Ces métaux influencent l'adhésion cellulaire aux surfaces, l'agrégation cellulaire, stimulent la formation du biofilm, et augmentent leur résistance (de Araujo et Melo de Oliveira, 2019). C'est pour cette raison que nous avons évalué l'effet des métaux lourds (sulfate de cuivre, nitrate de plomb et chlorure de mercure) sur la formation des biofilms. Différentes concentrations ont été testées (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM, 2 mM, 2.5 mM et 3 mM).

IV.3.3.1 Effet du cuivre sur la formation du biofilm

La tendance des isolats marins à former des biofilms en présence de cuivre, dans un intervalle des concentrations allant de 0.5 mM à 3 mM, a été évaluée quantitativement en mesurant la densité optique (DO) après coloration au cristal violet à une longueur d'onde $\lambda = 595$ nm, après 24h d'incubation sur une microplaque en polystyrène de 96 puits transparents.

Les résultats sont présentés sur la figure 29. Le dendrogramme de l'effet du cuivre sur l'aptitude des souches à former des biofilms révèle trois clusters principaux. Le premier cluster se décompose en trois sous-clusters : 1 (0.5 mM, 1.5 mM et 1 mM), 2 (2 mM) et 3 (3 mM). En revanche, le deuxième cluster ne contient qu'un sous-cluster : 1 (2.5 mM) (Figure 25). Les souches marines sont réparties en deux clusters majeurs : Cluster I rassemble cinq sous-clusters : 1 (S1, S2 et S6), 2 (S7, S4 et S31), 3 (S5A2, S8 et S11), 4 (S9A3, S10 et S32) et 5 (S15 et S30A1), Cluster II regroupe quatre sous-clusters : 1 (S16), 2 (S18), 3 (20) et 4 (S25).

Il est intéressant de noter que les cinq premières concentrations ont modérément stimulé l'adhérence à la surface en polystyrène, avec des proportions respectives : 66.67%, 66.67%, 61.11%, 55.56%, et 72.22%. En revanche, la concentration de 3 mM a favorisé une forte adhérence chez la majorité de nos souches (66.67%). Les concentrations de 1 mM et 2 mM ont entraîné une forte formation chez 44.44% des souches, tandis que 22.22% des souches ont exprimé un phénotype « fort formateur » à des concentrations de 0.5 mM et 1.5 mM. Un faible caractère a été observé aux concentrations de 0.5 mM, 1.5 mM, 2.5 mM et 3 mM (11.11%, 16.67%, 16.67%, et 16.67% respectivement). Les souches *Pseudomonas sp.* (S16, S18, S20, et S25) ont pu maintenir une forte adhérence à cinq concentrations (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM, 2 mM, et 3 mM). Les souches *Pseudomonas sp.* S15 et *Escherichia sp.* S30A1 ont conservé un caractère fort à deux concentrations (2.5 mM et 3 mM). Les souches *Pseudomonas sp.* (S9A3, S10 et S15) a exprimé un phénotype « fort formateur » à une seule concentration (3 mM) (Voir la figure 29).

Les souches du cluster I ont démontré une aptitude majoritairement comprise entre faible et modérée à des concentrations de cuivre variant entre 0.5 mM et 2 mM, voire nulle chez certaines souches (*Escherichia sp.* S31 à 1.5 mM, *Pseudomonas sp.* S15 à 0.5 mM, 1.5 mM, et 2 mM, *Pseudomonas sp.* S2 à 1 mM, 1.5 mM et 2 mM, *Escherichia coli* S30A1 à 2 mM). Ces souches semblent être plus sensibles au cuivre, affichant une faible aptitude à former des biofilms à des concentrations élevées (2.5 mM et 3 mM). Cela pourrait indiquer que ces niveaux élevés ne parviennent pas à induire des mécanismes adaptatifs, tels que la formation de biofilms en réponse au stress cuprique ou un stress secondaire induit par ces concentrations élevées. Cependant, les isolats du cluster II ont manifesté une capacité importante à former des biofilms en présence de cuivre (1.5 mM, 2 mM, 2.5 mM et 3 mM), ce qui suggère l'efficacité des mécanismes de résistance au cuivre, protégeant les cellules

bactériennes contre les dommages causés par le stress cuprique, y compris ceux stimulant la formation des biofilms à des concentrations élevées. Il est surprenant d'observer une forte formation du biofilm à la concentration 3 mM, un comportement atypique qui soulève plusieurs hypothèses, notamment le développement des mécanismes permettent à la bactérie de survivre et prospérer à des niveaux élevés de cuivre. Les meilleures densités optiques sont observées chez la souche *Pseudomonas sp.* S25 à la concentration 2 mM et 3 mM (1.165 et 1.17 respectivement). La comparaison entre les effets de différentes concentrations de cuivre sur l'aptitude des souches à former des biofilm montre des différences significatives entre la concentration 3 mM et celles de 1.5 mM et 2.5 mM ($P < 0.05$).

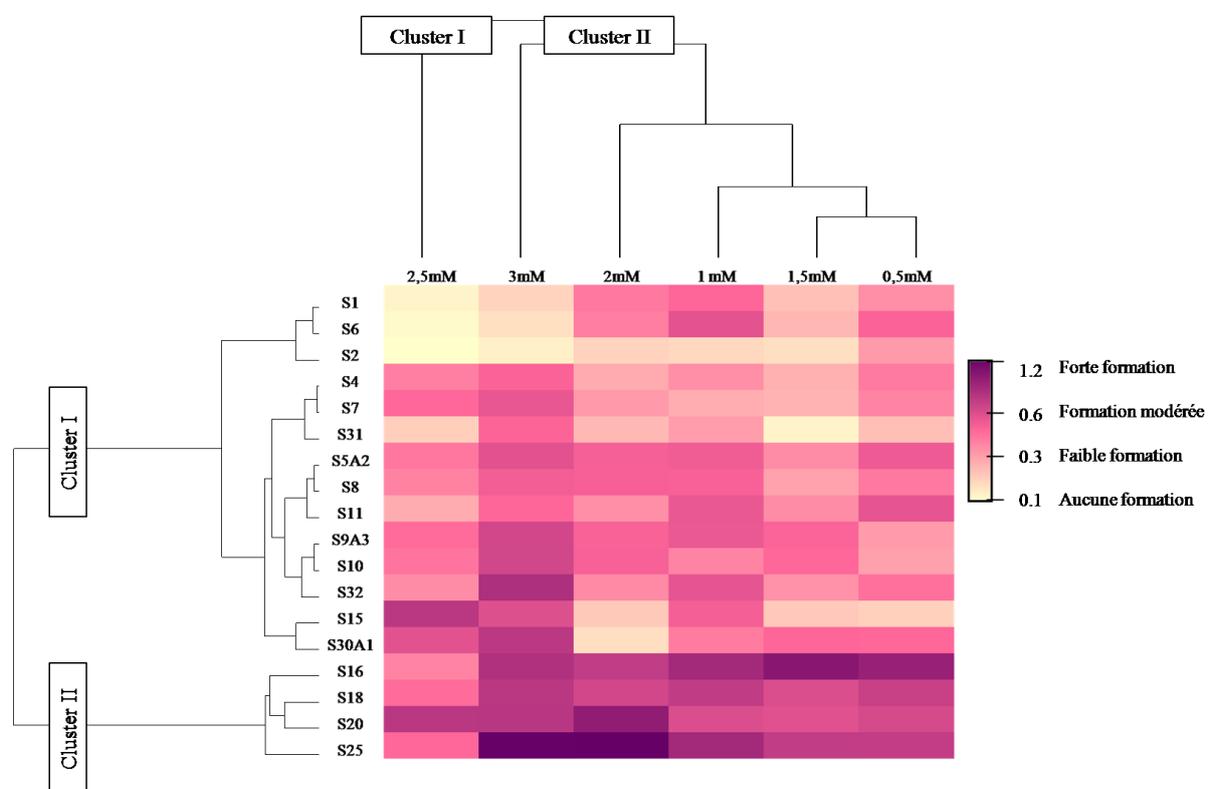


Figure 29. Capacité des souches à former des biofilms en présence de différentes concentrations de cuivre.

Une étude a rapporté que les cellules en biofilms ont démontré une résistance renforcée aux effets toxiques des métaux. En revanche, la souche *P. pseudoalcaligenes* KF707 a démontré une susceptibilité similaire à l'état planctonique et sessile. Les cellules en état de stress sont susceptibles de former des biofilms comme une stratégie de protection (Booth et al., 2013; Aliane et Meliani, 2021).

Nos résultats supposent que nos souches adoptent un phénotype résistant au cuivre. Les cellules persistantes, représentant moins d'un 1% de la population originale, sont extrêmement difficiles à éliminer par des concentrations élevées de métaux lourds (Booth et al., 2013). Il a été rapporté que les biofilms microbiens sont constitués des polymères extracellulaires, caractérisés par leur potentiel d'accumulation d'ions métalliques, en assurant une protection des cellules résidentes. Une tolérance accrue des biofilms de *P. aeruginosa* au cuivre a été signalée (Pande et al., 2022).

En outre, l'analyse des biofilms traitées par le cuivre a révélé la présence d'une couche des cellules mortes localisé à l'extérieur des biofilms. Cela renforce l'hypothèse que les biofilms possèdent des mécanismes de résistance aux métaux lourds différents de ceux adoptés par cellules planctoniques. Les mécanismes les plus cruciaux sont la complexation et séquestration des ions divalents des métaux lourds par les EPS et les cellules du biofilm en vrac. La complexation des métaux lourds pourrait créer un gradient dans le biofilm, avec une concentration plus élevée à la périphérie et la plus faible à proximité du substratum, ce qui peut s'expliquer par la répartition des cellules mortes à la couche extérieure du biofilm (Teitzele et Parsek, 2003).

IV.3.3.2 Effet du plomb sur la formation du biofilm

La capacité des isolats marins à former des biofilms en présence de plomb à des concentrations allant de 0.5 mM à 3 mM a été investiguée quantitativement. Cette évaluation repose sur la mesure de la densité optique (DO) après coloration au cristal violet à une longueur d'onde $\lambda = 595$ nm, après 24 heures d'incubation sur une microplaque en polystyrène à 96 puits transparents. Les résultats sont affichés sur la figure 30. Il ressort du clustering heatmap de l'effet du plomb sur l'aptitude des souches à former des biofilms, la subdivision de nos variables en deux clusters principaux. Le premier cluster inclut un seul sous-cluster : 1 (2 mM). En revanche, le deuxième cluster est subdivisé en trois sous-clusters: 1 (3 mM et 2.5 mM), 2 (1.5 mM et 1 mM) et 3 (0.5 mM) (Figure 26). Les souches marines se regroupent en deux clusters : Cluster I comprend deux sous-clusters : 1 (S1, S2, S6 et S11) et 2 (S4, S10, S7, S8, S9A3 et S15). Néanmoins, Cluster II inclut quatre sous-clusters : 1 (S5A2, S25, S30A1, S18 et S20), 2 (S16) et 3 (S31 et S32).

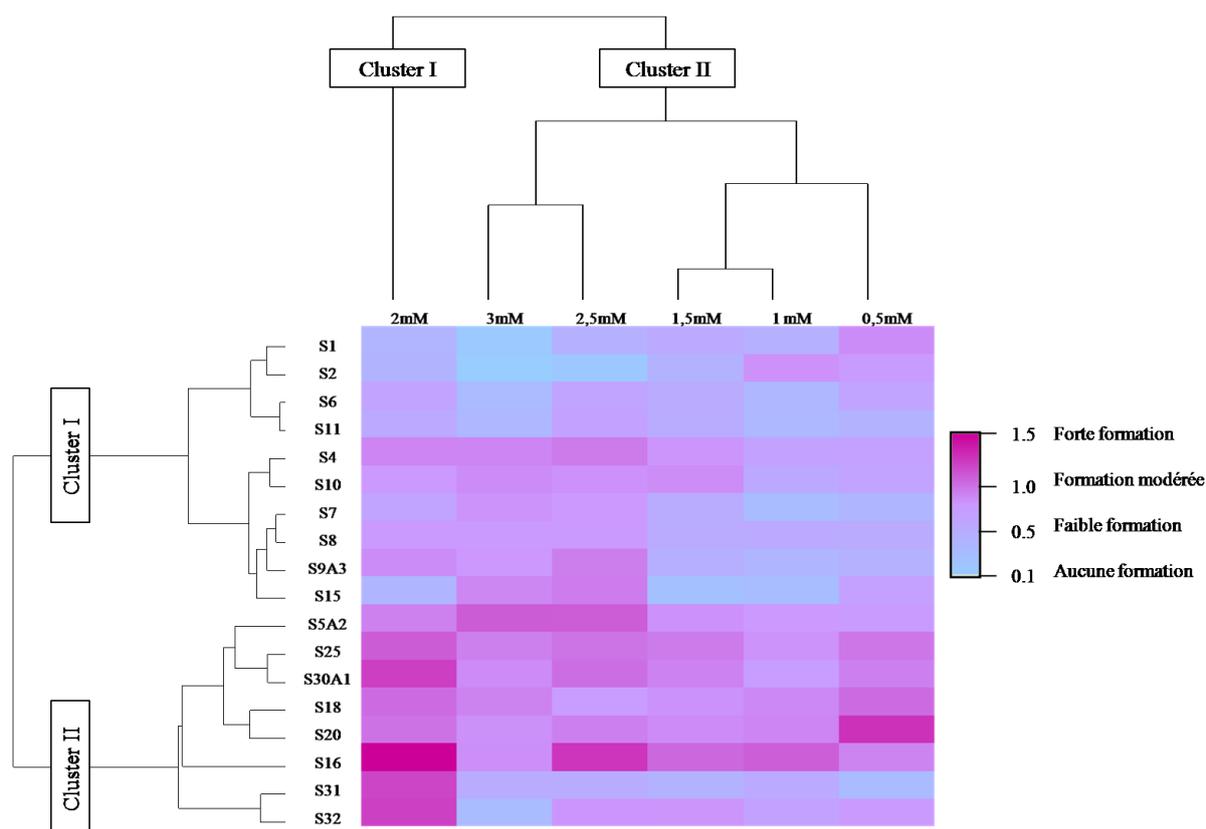


Figure 30. Capacité des souches à former des biofilms en présence de différentes concentrations de plomb.

À des concentrations de 0.5 mM et 3 mM, la majorité des souches présentent une adhérence modérée. Néanmoins, d'autres concentrations favorisent principalement une forte formation du biofilm chez la majorité des souches marines (50% et 77.78% respectivement). Bien qu'une adhérence modérée soit également observée à ces concentrations. À 1 mM, 2.5 mM et 3 mM, une faible formation de biofilms est enregistrée, avec des proportions variant de 5.56% à 22.22% (Figure 30).

La souche *Pseudomonas sp.* S18 a démontré une forte capacité à former des biofilms à différentes concentrations de plomb (0.5 mM, 1 mM, 2 mM et 3 mM). En outre, certaines souches, telles que *Pseudomonas sp.* S16 et S20, affichent une aptitude remarquable à former des biofilms à cinq concentrations (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM, 2 mM, et 2.5 mM), tandis que *E. coli* S30A1 le fait à 0.5 mM, 1.5 mM, 2 mM, 2.5 mM et 3 mM. D'autres souches, comme *Escherichia sp.* S4 et *Pseudomonas sp.* S5A2 et S25, présentent une adhérence modérée à forte à quatre concentrations. La souche *P. aeruginosa* S9A3 maintient une forte adhérence à deux concentrations (2 mM et 2.5 mM) (voir la figure 30). Notamment, la meilleure

adhérence est observée chez la souche *Pseudomonas sp.* S16 (1.358) à 2 mM. Ces résultats indiquent que le plomb peut améliorer progressivement l'aptitude des souches d'*Escherichia sp.* (S4, S30A1, S31 et S32) à former des biofilms proportionnellement à l'augmentation de la concentration de plomb. En comparant les effets des différentes concentrations de plomb sur la formation de biofilms, des différences significatives sont notées entre 1 mM et 2.5 mM, ainsi qu'entre 2 mM et 1 mM, 1.5 mM, et 3 mM.

Les souches du cluster I montrent une faible aptitude à former des biofilms aux concentrations de plomb variant entre 0.5 mM et 1.5 mM, avec une tendance à devenir modérée aux concentrations de 2 mM, 2.5 mM et 3 mM. Ce groupe bactérien semble plus sensible au plomb, suggérant un manque des mécanismes efficaces pour résister à ce stress. Toutefois, les bactéries du cluster II présentent une résistance au plomb, avec une capacité à former des biofilms oscillant principalement entre modérée et forte aux différentes concentrations, même aux concentrations les plus élevées (2 mM, 2.5 mM et 3 mM). Il est à noter que la souche *Pseudomonas sp.* S16 a affiché la meilleure densité optique à 2 mM de plomb ($OD_{595} = 1.358$), indiquant ces bactéries possèdent des mécanismes efficace de résistance aux effets toxiques du plomb et ensuite adoptent le mode sessile comme une stratégie d'adaptation et de résistance.

La formation de biofilms chez le *P. aeruginosa* lui confère une tolérance aux métaux lourds, notamment, le plomb (Pande et al., 2022). Une étude récente a montré que l'isolat de *P. chengduensis* PPSS-4 présentait une forte capacité de formation de biofilms à des concentrations élevées de plomb, avec une adsorption significative du métal en mode sessile (biofilm), par rapport au mode planctonique. D'autres travaux ont indiqué que le taux d'élimination du plomb par les bactéries en biofilms atteignait 87.7%, contrairement aux cellules en suspension qui n'affichaient qu'un taux d'élimination de 72.6% (Black et al., 2014; Priyadarshane et Das, 2021).

Enfin, l'analyse du biofilm cultivé en milieu Luria Bertani contenant de plomb réalisée par CSLM révèle que le plomb affecte la composition du biofilm, entraînant une réduction significative des quantités de polysaccharides et de lipides, ce qui influence la durabilité et la stabilité des biofilms. En revanche, aucun effet significatif n'a été observé sur les protéines associées au biofilm (Kumari et Das, 2019).

IV.3.3.3 Effet du mercure sur la formation du biofilm

D'ailleurs, l'aptitude des souches marines à former des biofilms à une gamme de concentrations de mercure fluctuante entre 0.5 mM et 3 mM est évalué quantitativement en sur la base de la mesure de la densité optique (DO) après coloration au cristal violet à une longueur d'onde $\lambda = 595$ nm, après 24 heures d'incubation sur une microplaque en polystyrène à 96 puits transparents. Les résultats sont présentés sur la figure 31. D'après la carte thermique du regroupement, le dendrogramme de l'effet du mercure sur l'aptitude des souches à former des biofilms fait ressortir deux clusters majeurs. Le premier cluster regroupe deux sous-clusters : 1 (3 mM) et 2 (2.5 mM, 2 mM et 1.5 mM), et le deuxième cluster est décomposé en deux sous-clusters : 1 (1 mM) et 2 (0.5 mM) (Figure 28). Les souches étudiées sont également distribuées en trois clusters: Cluster I inclut quatre sous-clusters : 1 (S1, S11, S2 et S32, 2 (S30A1), et le cluster II : est partagé en deux sous-clusters 1 (S4, S5A2 et), et 2 (S7, S8, S31, S9A3 et S10). Néanmoins, le Cluster III regroupe deux sous-clusters : 1 (S6, S18, S20 et S25) et 2 (S15).

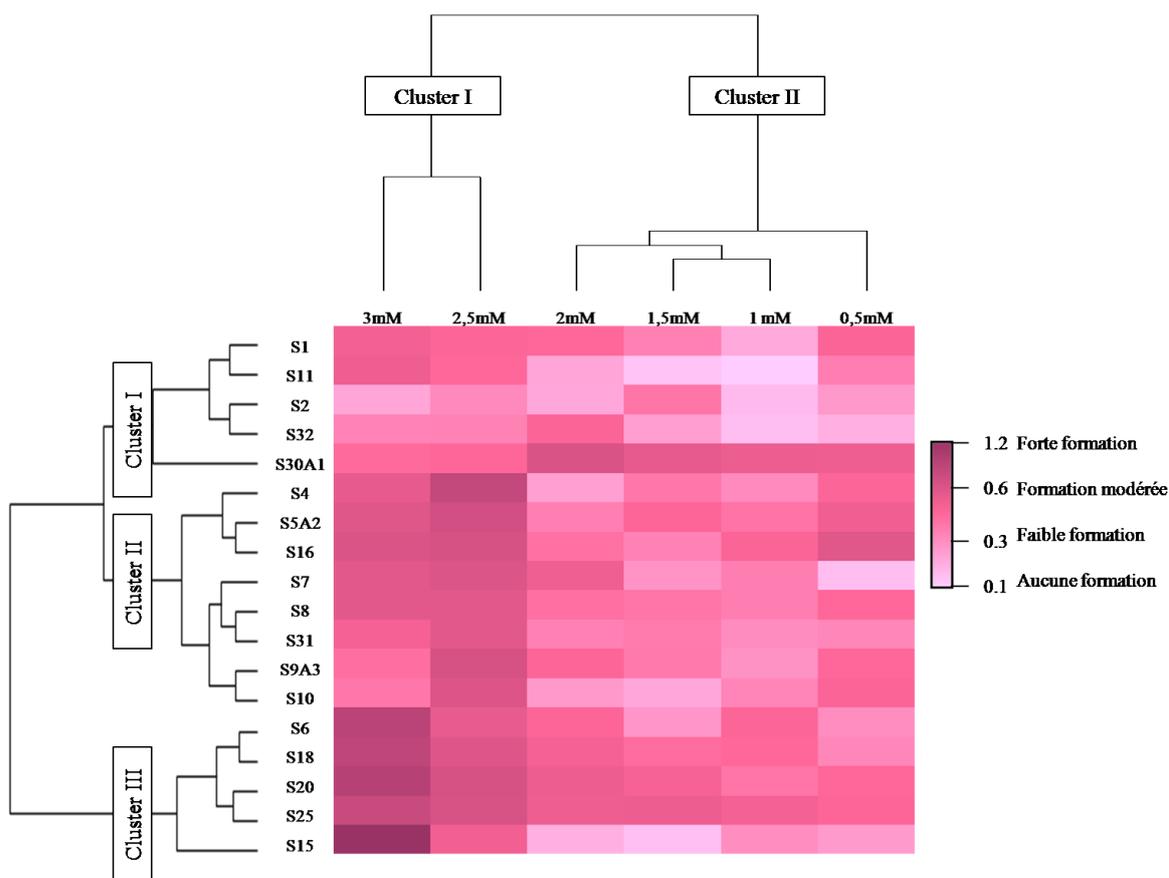


Figure 31. Capacité des souches à former des biofilms en présence de différentes concentrations de mercure.

L'aptitude de nos souches marines à former des biofilms montre une variabilité selon les concentrations. Les quatre premières concentrations favorisent une adhérence modérée à la surface du polystyrène chez la majorité des souches (77.78%, 72.22%, 66.67% et 77.78% respectivement). En revanche, les concentrations 2.5 mM et 3 mM ont positivement affecté la formation du biofilm, induisant majoritairement une forte adhérence (66.67% et 55.56% respectivement). Un caractère faible a été observé chez une minorité aux concentrations suivantes : 0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM et 3 mM (5.56%, 16.67%, 33.33%, et 5.56%) (Figure 31).

Le cluster I inclut des souches présentant majoritairement une formation progressive du biofilm avec l'augmentation de la concentration de mercure (2 mM, 2.5 mM, et 3 mM), cette formation variant entre faible et modérée. En fait, cluster bactérien II est également caractérisé par une amélioration de formation du biofilm accompagnant l'augmentation de la concentration de mercure, ce phénotype variant entre faible, modérée et fort. Cependant, les souches regroupées dans le cluster III ont enregistré une formation du biofilm graduelle et ascendante, avec des valeurs de la densité optique le plus prononcées à la concentration 3 mM. La meilleure densité optique est enregistrée par la souche *Pseudomonas sp.* S15 (1.177), suivie de la souche *Pseudomonas sp.* S20 (0.955), et souche *Pseudomonas sp.* S6 (0.927) à la concentration 3 mM. D'ailleurs, la souche S25 a maintenu son caractère fort aux quatre concentrations (1 mM, 2 mM, 2.5 mM et 3 mM). Les souches *Pseudomonas sp.* (S5A2, S7, S16 et S20) et *E. coli* S30A1 ont présenté une forte adhérence aux trois concentrations, (*Pseudomonas sp.* S5A2 et S16 à 0.5 mM, 2.5 mM et 3 mM), (*Pseudomonas sp.* S7 et S20 à 2 mM, 2.5 mM et 3 mM) En revanche, les souches *Escherichia sp.* S4, et *Pseudomonas sp.* (S6, S8 et S18) ont maintenu leur caractère fort à deux différentes concentrations (2.5 mM et 3 mM). Enfin, les souches *P. aeruginosa* S9A3, *Pseudomonas sp.* S10, *Pseudomonas sp.* S15 et *Escherichia sp.* S31 n'ont présenté une forte formation qu'à une seule concentration (2.5 mM, 2.5 mM, 3 mM, 2 mM respectivement).

La comparaison entre les effets du mercure sur la capacité des souches à former des biofilms démontre des différences significatives entre la concentration 2.5 mM et celles de 0.5 mM, 1 mM, et 1.5 mM et 2 mM, et ainsi qu'entre la concentration 3 mM et celles de 0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM et 2 mM ($P < 0.05$).

Une inhibition de la formation du biofilm chez *P. stutzeri* 273 est observée en présence d'un stress mercurique à une concentration de 20 ou 50 μM (Zheng et al., 2018). Bien que la culture des biofilms en présence de mercure augmente la bioaccumulation de ce dernier, il est

rapporté que cette accumulation dépend non seulement de sa concentration dans le milieu, mais également de paramètres environnementaux tels que la lumière et la température. Il semble que l'acquisition d'Hg soit modulée par l'épaisseur du biofilm. Il est suggéré qu'à des concentrations élevées de mercure, les microorganismes peuvent développer des stratégies pour faire face à ces concentrations et entraînant ensuite son accumulation. Les microorganismes peuvent réguler ainsi leurs transporteurs métalliques pour limiter l'acquisition (Dranguet et *al.*, 2019).

Une corrélation positive a été rapportée entre la résistance au mercure et la formation du biofilm chez *P. aeruginosa* (Al-Charrakh et El-Enzi, 2016). Nos résultats sont soutenus par ceux observés par Nurfitriani et *al.* (2022), qui confirment que l'aptitude à former des biofilms augmente avec l'augmentation des doses de mercure, renforçant la production d'EPS jouant le rôle d'une barrière contre le stress mercurique. La formation du biofilm et la biosynthèse des EPS sont associées à la résistance, à la tolérance et à la bioremédiation du métal (Nurfitriani et *al.*, 2022).

Les biofilms d'*E. coli* O55 ont prouvé une résistance accrue au mercure comparativement aux cellules planctoniques. La toxicité du mercure a entraîné une variation de croissance, qui augmente puis diminue le long d'un gradient de chlorure de mercure, tant dans les cultures planctoniques que dans les biofilms. La corrélation entre la toxicité et la concentration en chlorure de mercure a démontré une grande similarité en présence et en l'absence du biofilm. Cela confirme que la présence du biofilm n'a pas altéré la disponibilité relative des espèces du mercure dominantes (Najera et *al.*, 2005).

Chapitre V. *Quorum*
sensing chez les bactéries
marines

V Quorum sensing chez les bactéries marines

V.1 Mise en évidence des autoinducteurs par biosenseurs

Les bactéries marines sont soumises à une détection de la production des autoinducteurs par la méthode T, en utilisant le biosenseur *Chromobacterium violaceum* CV026 sur le milieu Luria Bertani. Après 24 à 48h d'incubation, les boîtes ont été examinées. Ce biosenseur a démontré une capacité à détecter les AHLs allant de C₄ à C₈, avec une forte affinité AHLs à C₆ (Kumar et al., 2011; Dimitrova et al., 2023). Dans cette méthode, le biosenseur *C. violaceum* CV026 est ensemencé par trait horizontal, tandis que les souches testées sont ensemencé par un trait vertical. Cette configuration favorise la proximité nécessaire pour la diffusion des AHLs de la bactérie marine vers le biosenseur, ce qui induit ensuite leur quorum sensing (Ayé, 2015).

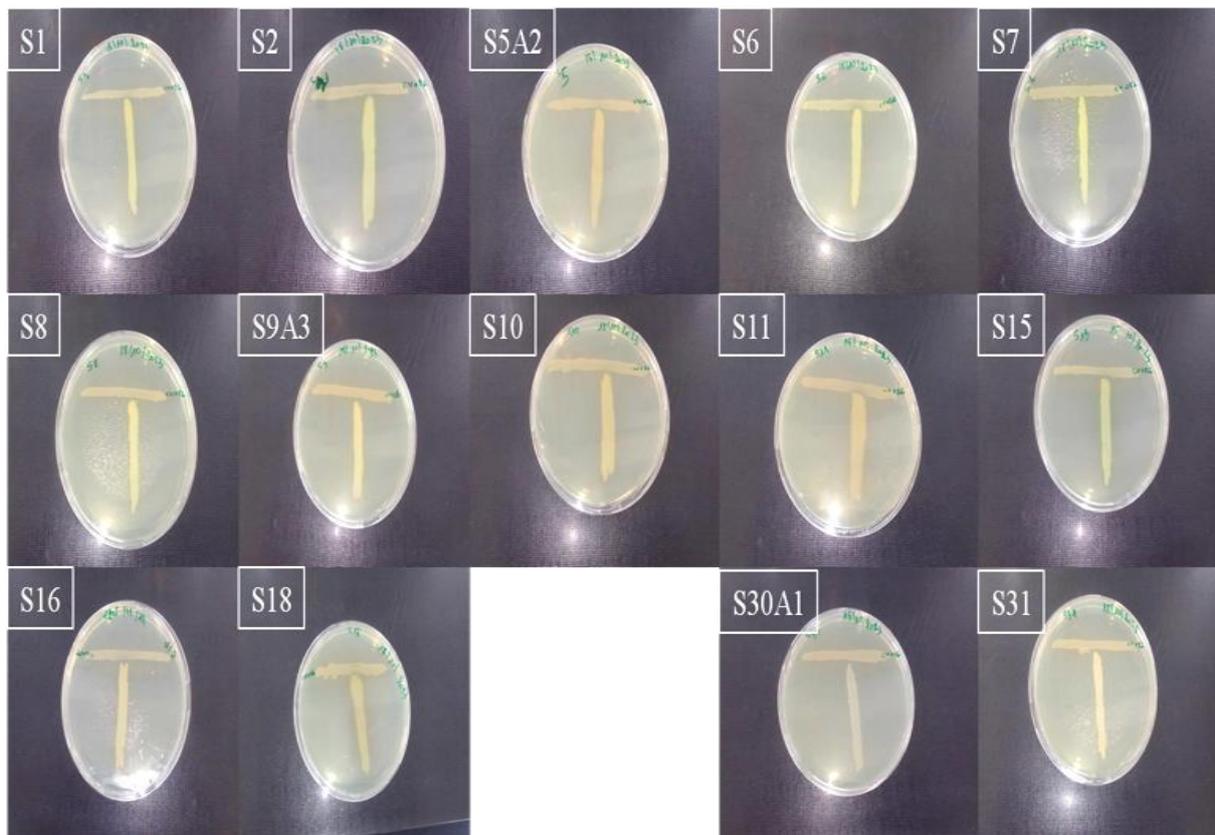


Figure 32. Détection des AHLs chez les bactéries marines par la technique en strie T.

Certaines bactéries, *Escherichia*, *Salmonella*, *Klebsiella*, et *Shigella* sont dépourvues de l'AHLs synthase, ce qui les rend incapables de produire des AHLs. Cependant, elles

possèdent un homologue de LuxR, connu sous le nom SdiA, capable se lier aux AHLs produits par d'autres microorganismes (Lu et al., 2017). *P. aeruginosa* possède plusieurs systèmes du quorum sensing organisés de manière hiérarchique. Parmi ceux, le système LasI/LasR, qui utilise l'autoinducteur N-(3-oxododécanoyl)-L-homosérine lactone (C₁₂) et le système RhII/RhlR, qui utilise N-butyryl-homosérine lactone (C₄). Un autre système important est le système PQS, régulé par la 2-heptyl-4-quinolone (AHQ), qui joue un rôle crucial dans la régulation des facteurs de virulence et la formation des biofilms (Déziel et al., 2004; Passos da Silva et al., 2017; Delago et al., 2021; Youcuf et al., 2018).

Les résultats de la détection des AHLs chez les bactéries marines sont représentés dans la figure 32. Il est important de rappeler qu'une coloration violette témoigne de la production de la violacéine chez *C. violaceum* CV026, indiquant ainsi la production des AHLs de courte chaîne. L'ensemble des souches testées a montré une négativité à induire la production de la violacéine. Nos résultats démontrent qu'aucune souche n'a pu produire des molécules signales de courte chaîne détectables par le biosenseurs. L'absence de la coloration soulève plusieurs hypothèses : la première repose sur l'incapacité des souches de produire des molécules signales reconnues par le biosenseurs, tandis qu'une autre possibilité est qu'elles produisent de nouveaux AHLs non détectés.

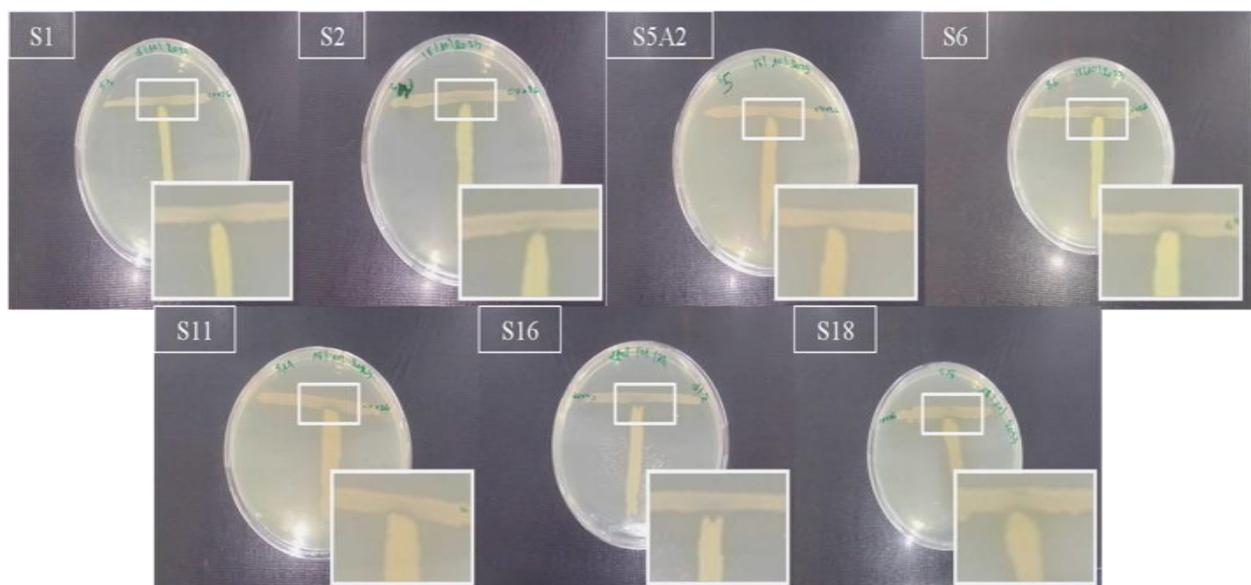


Figure 33. Zones d'inhibition dues à une activité antibactérienne lors de la détection des AHLs.

Cela est lié à la grande diversité des AHLs existants, bien que le *C. violaceum* CV 026 ne puisse reconnaître et détecter qu'une gamme étroite d'entre eux. Ce problème a été signalé précédemment par Priha et *al.*, 2011, qui indiquent qu'une seule souche rapporteuse ne peut pas détecter l'ensemble du spectre des AHLs (Priha et *al.*, 2011). La seconde hypothèse suggère nos souches ont peut-être produit des AHLs, mais à des concentrations trop faibles, inférieures au seuil de sensibilité du biosenseur (Steindler et Ventura, 2007). Il est également rapporté que certaines bactéries produisent des AHLs qui peuvent inactiver d'autres AHLs. C'est le cas des AHLs (C₆-HSL) produits par *C. violaceum*, qui peuvent être inactivés par ceux produits par *Burkholderia pseudomallei* (Ayé, 2015).

En outre, il est admis que la croissance des biosenseurs sur le milieu Luria Bertani ne garantit pas les conditions nécessaires à leur développement. L'hypothèse la plus pertinente concerne l'effet bactériostatique des composés produits par les bactéries testées ou le biosenseur (Figure 33). Cette hypothèse est étayée par l'apparition d'une zone d'inhibition entre certaines souches de *Pseudomonas sp.* (S1, S2, S5A2, S6, S11, S16, et S18) et le *C. violaceum* CV026 (Steindler et Ventura, 2007). Plusieurs enzymes produites par ces bactéries, révélant leur capacité de dégradation des AHLs, ont été identifiées (Dong et Zhong, 2005). Deux groupes d'enzymes dégradant les AHLs, les AHL-lactonases et les AHL-acylases, ont été documentés chez plusieurs espèces bactériennes (Ayé, 2015).

Divers facteurs environnementaux tels que la température, pH, la disponibilité de l'oxygène et l'état redox, peuvent affecter la régulation du quorum sensing ainsi que l'expression des gènes régulateurs du quorum sensing. Ces facteurs influencent également les molécules signales (AHLs), à titre d'exemple, l'augmentation de la longueur de leur chaîne latérale entraîne une diminution de la solubilité des AHLs et une augmentation de leur stabilité. Dans certains cas, le cycle homosérine lactose peut être hydrolysé dans des conditions alcalines, ce qui dégrade les molécules AHLs et bloque la signalisation (Bhedi et *al.*, 2017). Cette dégradation affecte principalement les AHLs à chaînes latérales de moins de dix carbones (Ayé, 2015).

Le *P. aeruginosa* est capable de produire des dipeptides cycliques appelés, dicétopipérazines, qui agissent comme des molécules de signalisation. Ces molécules pourraient interférer avec le processus de la signalisation cellulaire (QS), en se liant aux LuxR, en compétitionnant avec les AHLs. Ces composés pourraient également inhiber la

boucle de la rétroaction entre le système *lasI* et *rhII*, affectant ainsi l'accumulation des AHLs (Boyer et al., 2009).

V.2 Effet des stress environnementaux sur système quorum sensing

Le *Pseudomonas aeruginosa* possède trois systèmes de quorum sensing, dont deux, de type LuxI/LuxR, sont impliqués dans la régulation de l'expression des facteurs de virulence. Le troisième système, de type non-LuxI/LuxR, est connu sous le nom de système de signal quinolone de *Pseudomonas* (PQS) (Rutherford et Bassler, 2012). Récemment, quatre voies principales ont été décrites, la première est la cascade LasI/LasR, la seconde comprend la voie RhII/RhlR, la troisième est celle du signal du PQS, et la quatrième voie est un système intégré de détection du QS, axé sur les auto-inducteurs (Naga et al., 2023). Dans cette section, nous allons évaluer l'effet des stress environnementaux (salinité, hydrocarbures, et métaux lourds) sur la communication bactérienne par des approches *in silico*.

V.2.1 Docking moléculaire

Des analyses du docking moléculaire ont été effectuées à l'aide le logiciel AutoDock Vina. Différents composés induisant le stress ont été mis au site de liaison de trois systèmes QS dans *P. aeruginosa* : LasR (PDB ID : 2UV0), LasI (PDB ID : 1RO5), et PqsR (PDB ID : 4JVD) pour évaluer leurs mécanismes de liaison, leurs activités inhibitrices et leurs modes de liaison.

Comme mentionné dans la section Matériel et méthodes, la structure cristalline des protéines a été extraite de la banque des données des protéines (<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>), tandis que la structure chimique des composés induisant le stress a été obtenue *via* la base de données PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>). Les interactions éventuelles de liaison entre les composés et LasR, LasI et PqsR sont examinées à l'aide de BIOVIA Discovery Studio Visualizer (v21.1.0.20298). Comme mentionné précédemment, le choix des ligands a été basé sur la disponibilité de la structure chimique en 3D des composés. Nous avons utilisé l'acétate de sodium (CID : 517045) pour le stress salin, ainsi que le naphtalène (CID : 931), le toluène (CID : 1140), l'o-xylène (CID : 7237) pour le stress aux hydrocarbures, ces substances étant identifiées comme des constituants aromatiques typiques du pétrole brut et

du kérosène (Zheng et *al.*, 2001; Kumari et *al.*, 2018). Enfin, l'acétate de cuivre (CID : 8895), l'acétate de plomb (CID : 9317), et l'acétate de mercure (CID : 15337) ont été utilisés pour le stress aux métaux lourds.

V.2.1.1.1 Affinité de 3-oxo-C₁₂-HSL au récepteur LasR

Le ligand naturel 3-oxo-C₁₂-HSL a été redocké sur le site de liaison de LasR. L'analyse d'interaction entre la molécule type 3-oxo-C₁₂-HSL au récepteur LasR a démontré la formation de quatre liaisons hydrogène avec Trp 60 avec une distance de 5.40 Å, SER 129 avec une distance de 3.98 Å, Thr 75 avec une distance de 4.56 Å, et Asp 73 avec une distance de 4.52 Å. Des interactions hydrophobes ont également été observées, notamment une liaison carbone-hydrogène entre le ligand original et Tyr 56 avec une distance de 6.59 Å. En outre, des liaisons alkyle et Pi-alkyle se forment avec plusieurs acides aminés : Ala 70 (6.03 Å), Tyr 64 (6.08 Å), Val 76 (6.01 Å), Ala 50 (4.80 Å), Leu 40 (5.29 Å), et Tyr 47 (4.07 Å).

Des liaisons van der Waals ont également été notées au niveau de certains acides aminés comme le montre la figure 34 (A1 et A2). L'analyse des interactions a mis en évidence neuf modes de liaison, avec un score d'affinité compris entre -7.7 et -9 kcal/mol. Le résultat optimal affiche une énergie libre de -9 kcal/mol, ce qui indique une forte interaction plus spontanée et stable entre la molécule type 3-oxo-C₁₂-HSL et le récepteur LasR. Une valeur négative plus élevée de l'énergie libre de liaison indique une meilleure affinité, tandis que des valeurs négatives plus faibles indiquent le contraire (Shukla et *al.*, 2021; Murali et *al.*, 2023).

V.2.1.1.2 Affinité de 3-oxo-C₁₂-HSL au récepteur LasI

Le ligand naturel 3-oxo-C₁₂-HSL a été redocké sur le site de liaison de LasI. Comme illustré dans la figure la figure 34 (B1 et B2), l'interaction entre la molécule 3-oxo-C₁₂-HSL et le récepteur LasI a révélé deux liaisons hydrogène : l'une avec Arg 30 à une distance de 2.38 Å, et l'autre avec Ile 107 à une distance de 2.03 Å. En outre, ce ligand naturel exhibe des interactions hydrophobes de type alkyl et Pi-alkyl avec plusieurs acides aminés, notamment, Met 79 (4.27 Å), Val 143 (4.49 Å), Phe 84 (5.17 Å), Trp 33 (4.76 Å; 4.93 Å), Phe 27 (5.23 Å), et Phe 105 (5.34 Å; 4.28 Å).

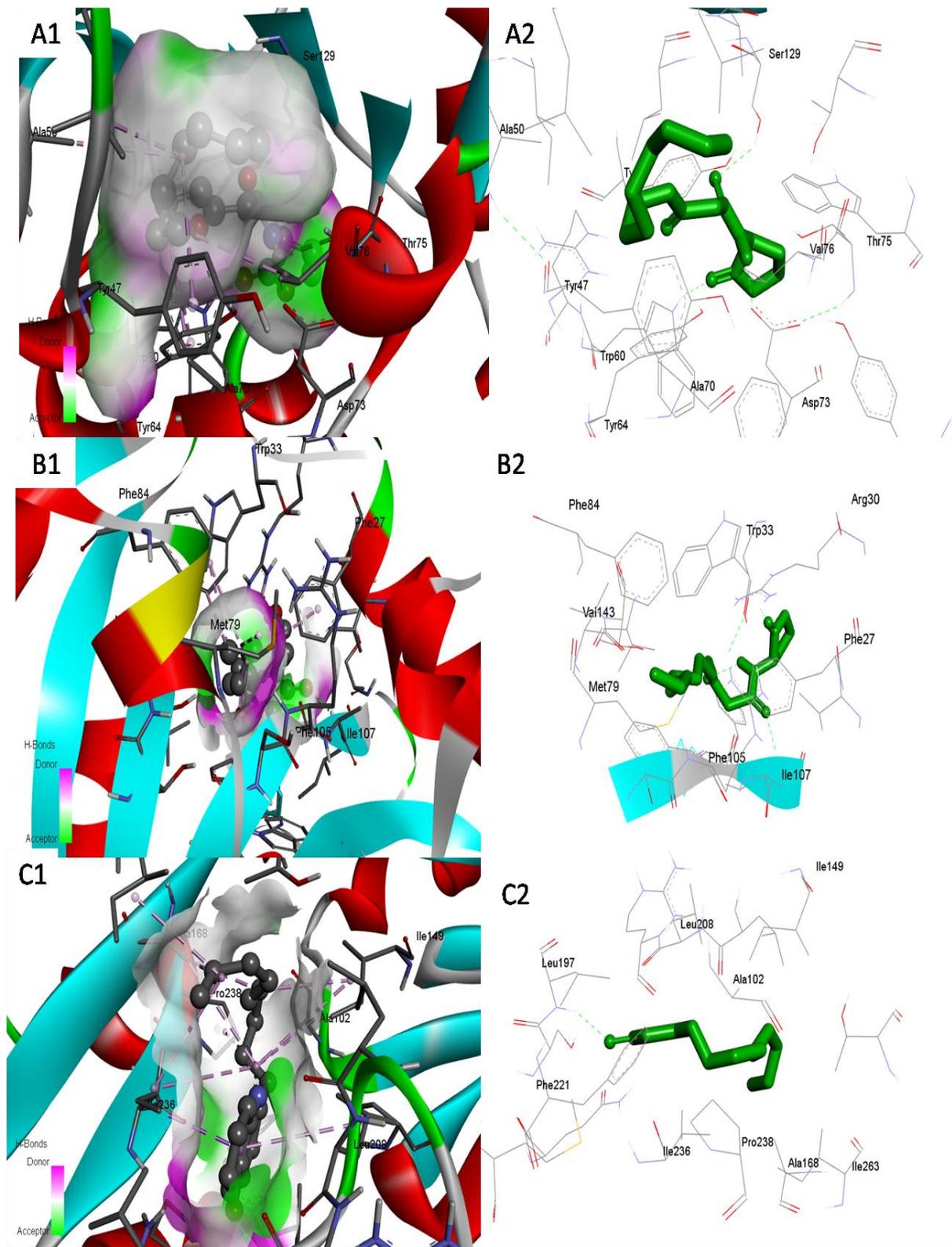


Figure 34. Docking moléculaire de différentes protéines contrôlant le QS lasR (A1 & A2), lasI (B1 & B2) et PqsR (C1 & C2) avec les ligands natifs : 3-oxo-C₁₂-HSL (A and B) et 2-nonyl-4-quinolone (C).

Des liaisons van der Waals ont également été observées au niveau de certains acides aminés. Cette interaction présente neuf modes de liaison, où l'affinité varie entre -5.8 et -6.6 kcal/mol. Le meilleur résultat affiche une énergie libre de -6.6 kcal/mol, ce qui indique une interaction forte, spontanée et stable entre la molécule 3-oxo-C₁₂-HSL et le récepteur LasI.

V.2.1.1.3 Affinité de 2-nonyl-4-quinolone au récepteur PqsR

Le ligand original 2-nonyl-4-quinolone (NHQ) a été redocké sur le site de liaison de PqsR. L'interaction entre le ligand natif et le récepteur PqsR a révélé une seule liaison hydrogène avec Leu 197, à une distance de 3.70 Å. Des interactions hydrophobes de type Pi-sigma avec Ile 263 ont été observées (5.32 Å), ainsi que celles de type alkyl et Pi-alkyl avec plusieurs acides aminés : Leu 208 (5.21 Å), Pro 238 (6.95 Å), Phe 207 (5.25 Å), Ala 102 (4.78 Å), et Ile 236 (4.73 Å). En outre, des double liaisons ont été notées avec Ile 149 (6.86; 4.72 Å), Ala 168 (5.01 Å; 4.55 Å; 3.73 Å) et Ile 236 (3.42 Å; 4.71 Å; 5.38 Å).

Des liaisons van der Waals ont également été observées au niveau de certains acides aminés comme le montre la figure 34 (C1 et C2). Cette interaction présente neuf modes de liaison, où l'affinité fluctue entre -6.6 et -7.4 kcal/mol. Le meilleur mode enregistre une énergie libre égale à -7.4 kcal/mol. Il s'avère clair que les scores les plus bas (négatifs) correspondent à une haute affinité de liaison (Cosa et *al.*, 2020). Ce résultat indique une interaction forte, stable et spontanée entre la molécule 2-nonyl-4-quinolone et protéine réceptrice PqsR.

V.2.1.2 Interaction entre l'acétate de sodium et le système quorum sensing

V.2.1.2.1 Affinité de l'acétate de sodium au récepteur LasR

Le ligand, acétate de sodium, a été redocké sur le site de liaison de LasR. Comme illustré dans la figure 35 (A1 et A2), nos résultats montrent que l'acétate de sodium établit deux liaisons hydrogène avec LasR : l'une avec Tyr 93 à une distance de 5.97 Å, et l'autre avec Asp 73 à une distance de 4.51 Å. De plus, une interaction hydrophobe de type Pi-sigma a été observée avec Trp 88 (4.43 Å) (Voir figure 35 et Tableau 6).

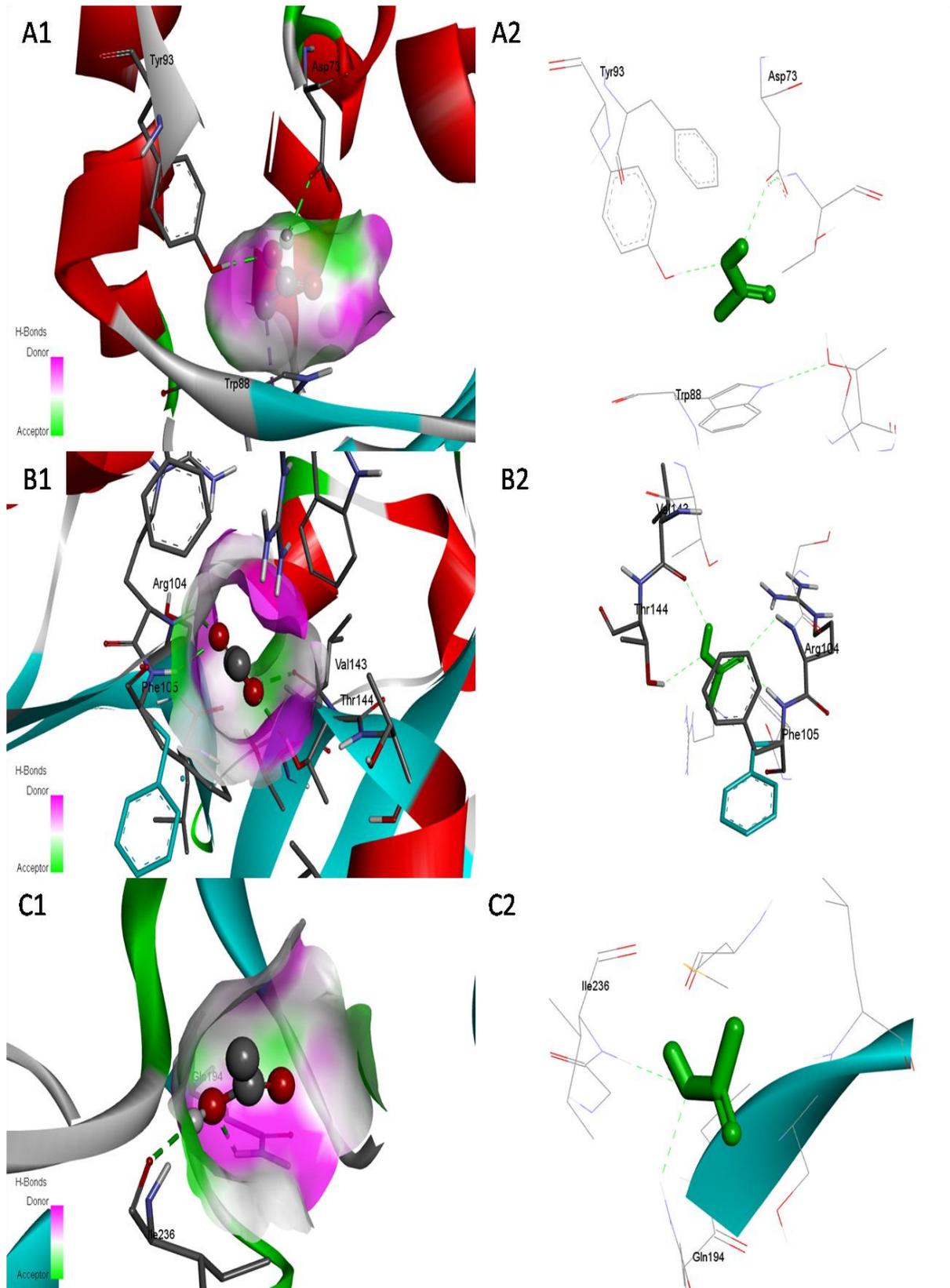


Figure 35. Docking moléculaire de différentes protéines contrôlant le QS lasR (A1 & A2), lasI (B1 & B2) et PqsR (C1 & C2) avec l'acétate de sodium.

Des liaisons van der Waals ont également observées au niveau de certains acides aminés. Ce ligand démontre neuf possibilités pour réagir avec le récepteur LasR, avec une énergie libre variant entre -2.8 à -3.6 kcal/mol. Le meilleur résultat indique avec une énergie libre de -3.6 kcal/mol. Ce score d'affinité suggère une interaction relativement faible et moins stable entre le ligand et le récepteur.

V.2.1.2.2 Affinité de l'acétate de sodium au récepteur LasI

L'acétate de sodium a été redocké sur le site de liaison de LasI. L'analyse de l'interaction entre l'acétate de sodium et le récepteur LasI a révélé la formation de trois liaisons hydrogène avec les acides aminés suivants : Arg 104, Phe 105, Val 143 et Thr 144 avec des distances respectives : 2.43 Å, 2.18 Å, 2.22 Å et 2.38Å (Figure 35 [B1 et B2]).

Des liaisons van der Waals ont également été notées au niveau de certains acides aminés. En outre, l'interaction entre l'acétate de sodium et le récepteur LasI présente par neuf modes de liaison. La meilleure liaison est associée à une énergie libre de -3.5 kcal/mol, ce qui indique une interaction faible et moins stable entre l'acétate de sodium et le récepteur LasI.

V.2.1.2.3 Affinité de l'acétate de sodium au récepteur PqsR

Le ligand, acétate de sodium, a été redocké sur le site de liaison de PqsR. L'interaction entre l'acétate de sodium et le récepteur PqsR est caractérisée par la formation de deux liaisons hydrogène respectivement avec Gln 194 (5 Å), et Ile 236 (3.20 Å), comme le montre la figure figure 35 (C1 et C2). Des liaisons van der Waals ont également été observées au niveau de certains acides aminés.

Cette interaction se manifeste par neuf modes de liaisons, dont les énergies libres varient entre -2.5 et -3.2 kcal/mol. D'ailleurs, la meilleure liaison présente une énergie libre de -3.2 kcal/mol. Ce résultat indique d'une interaction positive entre l'acétate de sodium et le récepteur PqsR, bien que celle-ci soit moins significative que les interactions établies avec les autres récepteurs (LasR et LasI).

V.2.1.3 Interaction entre naphthalène et le système quorum sensing

V.2.1.3.1 Affinité du naphthalène au récepteur LasR

Le ligand naphthalène a été redocké sur le site de liaison de LasR. Comme illustré dans la figure 36 (A1 et A2), l'interaction entre le naphthalène et le récepteur LasR a révélé plusieurs interactions hydrophobes de type pi-pi empilée avec Tyr 64 (6.15 Å), Pi-sigma avec Leu 36 (6.79 Å), des doubles liaisons Pi-alkyles avec Val 76 (8.28 et 8.28 Å), Ala 127 (9.24 et 9.24 Å), ainsi qu'une seule liaison Pi-alkyle avec Ala 50 (13.08 Å). Des liaisons van der Waals ont été également observées au niveau de certains acides aminés.

Cette interaction a mis en évidence neuf modes de liaison entre le naphthalène et la protéine réceptrice LasR, tous présentant une forte affinité variant entre -6.9 à -7.3 kcal/mol. Le meilleur résultat observé est de -7.3, indiquant une interaction significative entre le naphthalène et le récepteur LasR.

V.2.1.3.2 Affinité du naphthalène au récepteur LasI

Le naphthalène a été redocké sur le site de liaison de LasI. L'examen de l'affinité du naphthalène pour le récepteur LasI a révélé la présence d'une interaction de type Pi-sigma avec Phe 105, à une distance de 4.57Å (figure 36 [B1 et B2]).

Des liaisons van der Waals ont également été observées au niveau de certains acides aminés. Il s'avère clair que cette interaction présente neuf modes de liaison, avec des scores d'affinité relativement forts, compris entre -5.0 à -5.7 kcal/mol. Le meilleur mode de liaison est associé par une énergie libre égale à -5.7 kcal/mol, indiquent une interaction significative et stable entre le naphthalène et le récepteur LasI.

V.2.1.3.3 Affinité du naphthalène au récepteur PqsR

Le naphthalène a été redocké sur le site de liaison de PqsR. L'interaction entre le naphthalène et le récepteur PqsR se manifeste par des interactions hydrophobes de type Pi-sigma et Pi-alkyl. Les liaisons de type pi-sigma sont observées avec Ile 236 (5.18 Å), tandis que les liaisons Pi-alkyles sont identifiées avec Ile 149 (5.40 Å), Ile 236 (5.18 Å), Leu 207 (6.74 Å), ainsi que des doubles liaisons Pi-alkyles avec Ala 168 (5.17 et 5.17 Å) figure 33 (C1 et C2).

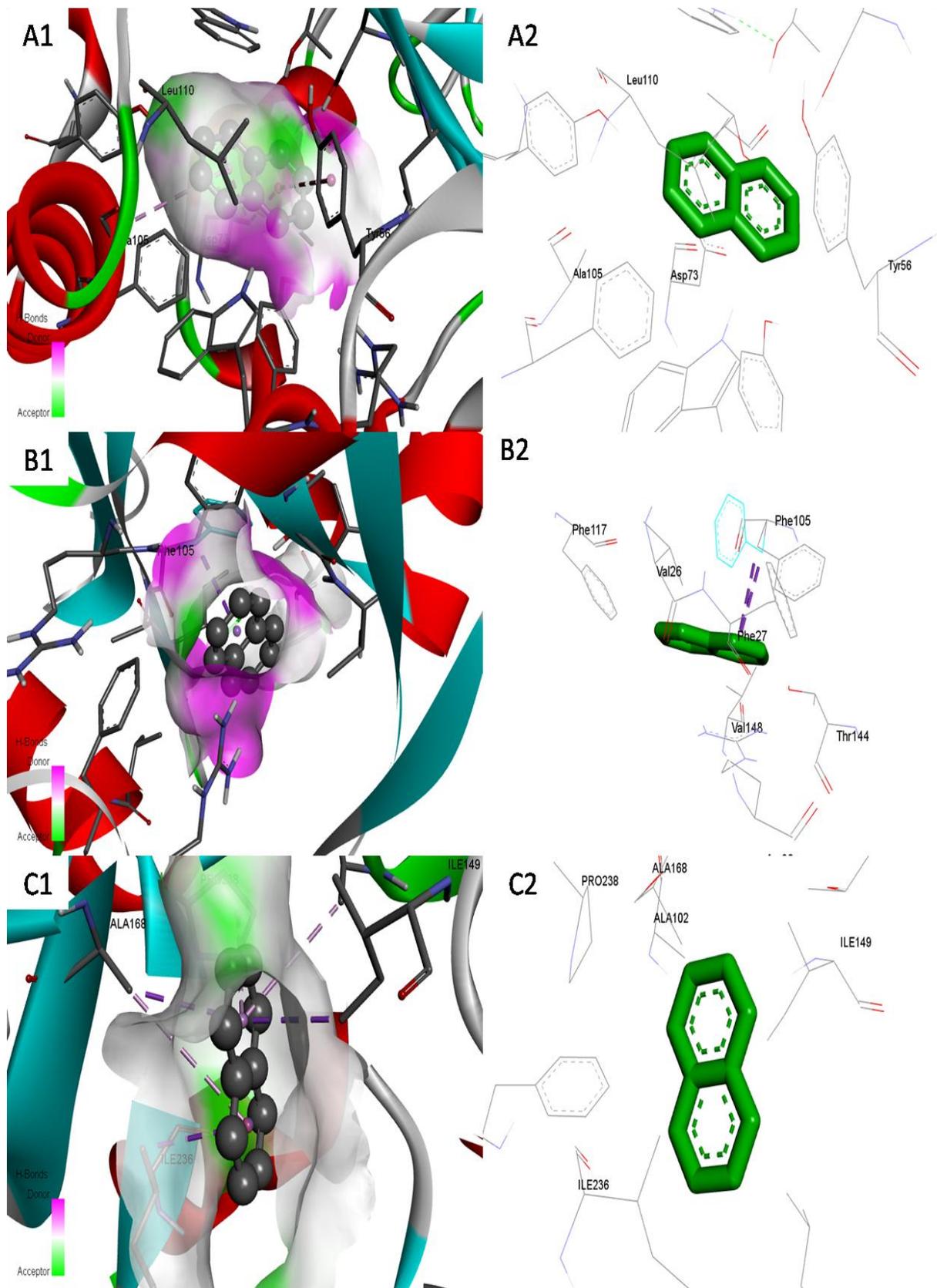


Figure 36. Docking moléculaire de différentes protéines contrôlant le QS lasR (A1 & A2), lasI (B1 & B2) et PqsR (C1 & C2) avec le naphthalène.

Des liaisons van der Waals ont été également observées au niveau de certains acides aminés. Neuf modes d'affinité des liaisons sont présentés, variant entre -5.8 et -6.3 kcal/mol. Le meilleur score d'affinité est égal à -6.3 kcal/mol, indique une interaction forte et stable entre le naphthalène et la protéine réceptrice PqsR.

V.2.1.4 Interaction entre le toluène et le système quorum sensing

V.2.1.4.1 Affinité du toluène au récepteur LasR

Le ligand, toluène, a été redocké sur le site de liaison de LasR. L'interaction entre le toluène et le récepteur LasR a impliqué plusieurs types d'interactions hydrophobes et défavorables. Une liaison de type pi-sigma est observée avec Leu 36 avec une distance de 9.87 Å. Une liaison Pi-anion est identifiée avec Asp 73 (6.16 Å), et des liaisons Pi-Pi empilées sont établies avec Tyr 64 (5.60 Å). Des liaisons Pi-alkyles sont également présentes avec Leu 36 (6.80 Å), tandis que les liaisons alkyle et Pi-alkyle sont observées avec Ala 127 (8.63 Å), Tyr 64 (6.76 Å), Leu 36 (7.12 Å), Ile 52 (9.87 Å) (figure 37 [A1 et A2]). En outre, des liaisons van der Waals ont également été observées au niveau de certains acides aminés. Neuf modes d'affinité des liaisons ont été identifiés, avec des scores variant entre -5.3 et -6.3 kcal/mol. Le meilleur score d'affinité, égal à -6.3 kcal/mol, ce qui indique une interaction très forte et stable entre le toluène et le récepteur LasR.

V.2.1.4.2 Affinité du toluène au récepteur LasI

Le toluène a été redocké sur le site de liaison de LasI. L'interaction entre le toluène et le récepteur LasI a révélé une seule liaison alkyle avec Phe 105 (4.04 Å), comme le montre la figure 37 (B1 et B2). Des liaisons van der Waals ont également été observées au niveau de certains acides aminés.

D'ailleurs, l'interaction entre ce ligand et le récepteur LasI est caractérisée par neuf modes de liaison, avec des valeurs de l'affinité variant entre -4.0 et -4.8 kcal/mol. Le meilleur résultat est représenté par un score d'affinité de -4.8 kcal/mol, ce qui indique une interaction modérée et moins stable entre le toluène et la protéine réceptrice LasI.

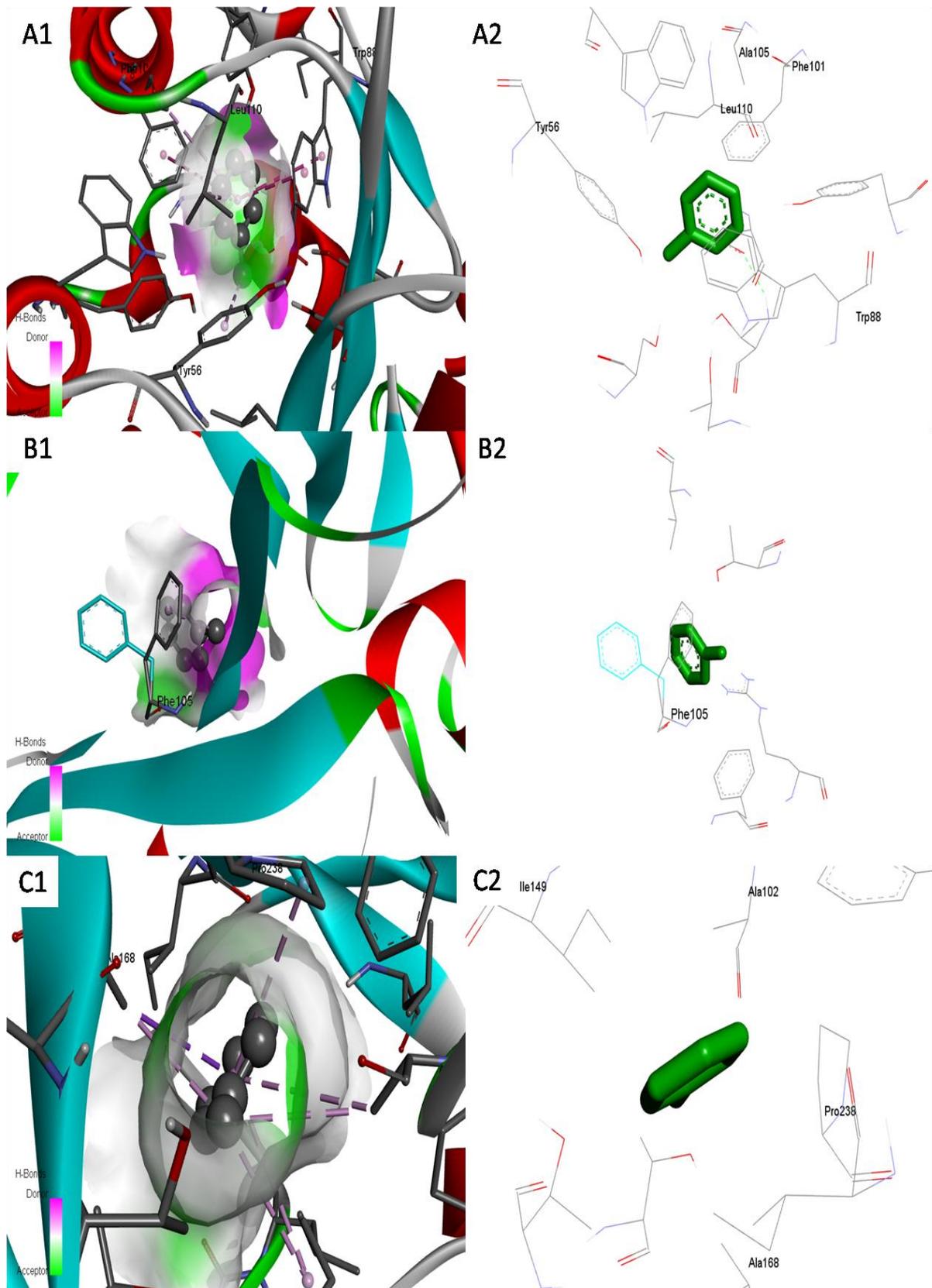


Figure 37. Docking moléculaire de différentes protéines contrôlant le QS lasR (A1 & A2), lasI (B1 & B2) et PqsR (C1 & C2) avec le toluène.

V.2.1.4.3 Affinité du toluène au récepteur PqsR

Le ligand toluène a été redocké sur le site de liaison de PqsR. L'analyse d'interaction entre le toluène et le récepteur PqsR a démontré la présence de liaisons alkyles et Pi-alkyles, avec les acides aminés suivants : Ala 168 (4.45 Å), Leu 208 (9.16 Å), Phe 221 (8.80 Å), Ile 149 (10.60 Å) et Ile 236 (6.72 Å). Une double liaison alkyle a également été identifiée avec Ala 102 (4.80 et 4.86 Å) (Figure 37 [C1 et C2]). Des liaisons van der Waals ont également été observées au niveau de certains acides aminés.

L'affinité de cette interaction est représentée par six modes, avec des scores variant entre -4.3 et -4.9 kcal/mol. Le meilleur résultat est exprimé par un score d'affinité de -4.9 kcal/mol, ce qui témoigne d'une interaction modérée et moins stable entre le toluène et le récepteur PqsR.

V.2.1.5 Interaction entre l'o-xylène et le système quorum sensing

V.2.1.5.1 Affinité d'o-xylène au récepteur LasR

Le ligand, o-xylène, a été redocké sur le site de liaison de LasR. L'interaction entre l'o-xylène et le récepteur LasR a révélé une liaison Pi-sigma avec Lys 155 (12.75 Å), ainsi que des liaisons Pi-empilées amides avec Trp 152 (17.49 Å) et Leu 151 (15.80 Å). Des liaisons alkyles et Pi-alkyles ont été observées avec Pro 117 (12.19 Å), Lys 155 (14.48 Å), Leu 118 (15.80 Å), Leu 128 (15.61 Å), et Pro 85 (13.34 Å) (figure 38 [A1 et A2]). Des liaisons van der Waals ont également été observées au niveau de certains acides aminés. Cette interaction est exprimée par neuf modes de liaison, avec un score d'affinité fluctuant entre -5.9 et -6.2 kcal/mol. La meilleure énergie libre est de -6.2 kcal/mol, ce qui indique une interaction très forte entre l'o-xylène et la protéine réceptrice LasR.

V.2.1.5.2 Affinité d'o-xylène au récepteur LasI

L'o-xylène a été redocké sur le site de liaison de LasI. L'interaction entre l'o-xylène et le récepteur LasI a impliqué des liaisons alkyle et Pi-alkyle avec la Val 26, à une distance de 4.66 Å, et Phe 105, à une distance de 5.04 Å (figure 38 [B1 et B2]). Des liaisons van der Waals ont également été observées au niveau de certains acides aminés. L'interaction entre l'o-xylène et le récepteur LasI est démontrée par neuf modes de liaison, avec scores d'affinité

variant entre -4.3 et -4.9 kcal/mol. Le meilleur mode de liaison de -4.9 kcal/mol. Cela indique une interaction modérée et moins stable entre l'o-xylène et le récepteur LasI.

V.2.1.5.3 Affinité d'o-xylène au récepteur PqsR

L'o-xylène a été redocké sur le site de liaison de PqsR. L'interaction entre l'o-xylène et le récepteur PqsR est visualisée sur la figure 38 (C1 et C2). Cette interaction implique différentes liaisons : Une liaison Pi-sigma est observée avec la Leu 189 (7.52 Å) et Tyr 258 (12.02 Å), une liaison Pi-Pi en forme T avec Tyr 258 (12.20 Å), ainsi que des liaisons alkyle et Pi-alkyle avec Val 170 (12.20 Å), Ile 263 (14.64 Å) et Val 211 (11.94 Å). Des liaisons van der Waals ont également été observées au niveau de certains acides aminés. Cette interaction a montré quatre modes de liaison, avec une énergie libre comprise -4.7 et -5.1 kcal/mol. Le meilleur mode présente une énergie libre de -5.1 kcal/mol, indiquant relativement forte et stable interaction entre l'o-xylène et le récepteur PqsR.

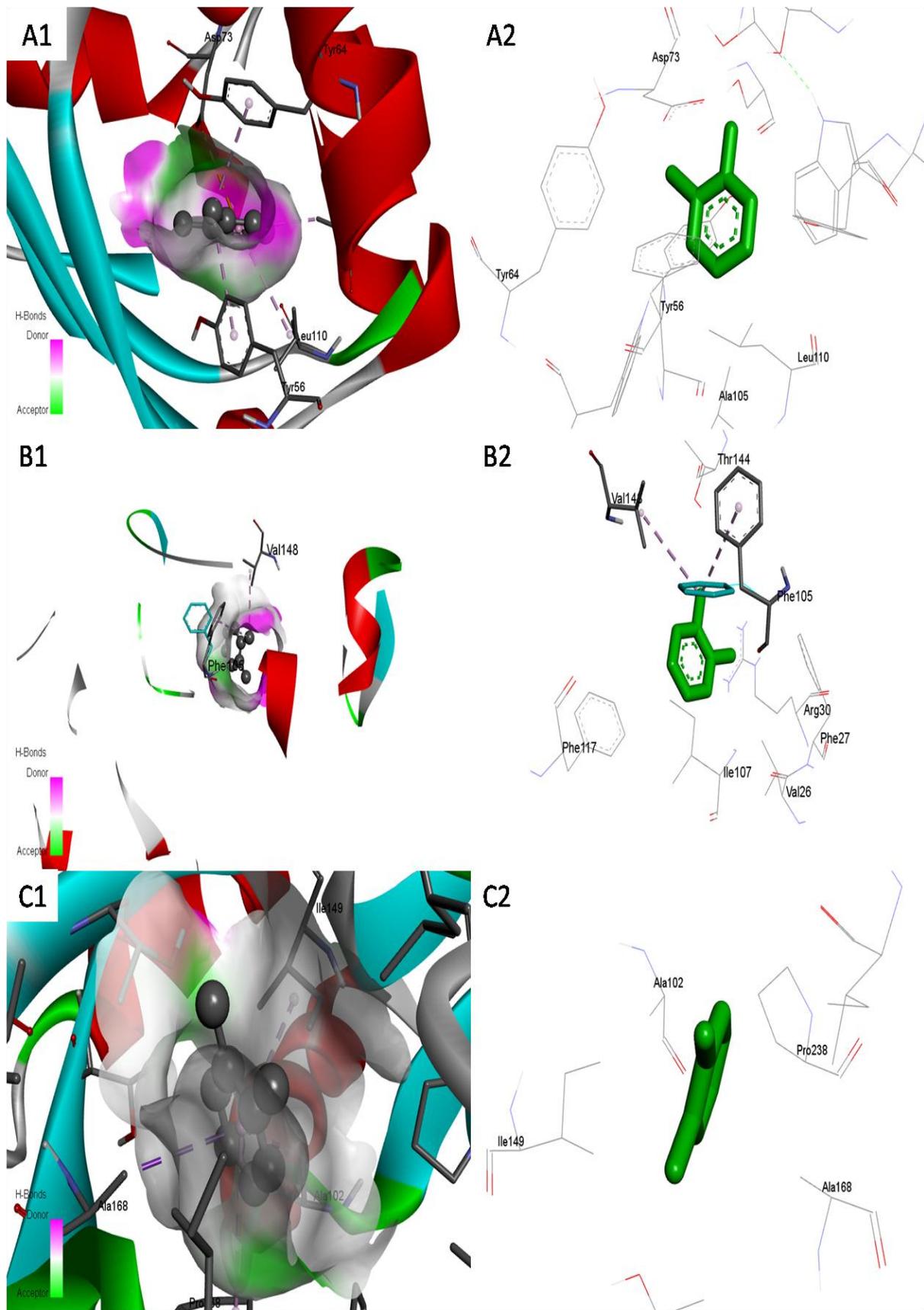


Figure 38. Docking moléculaire de différentes protéines contrôlant le QS lasR (A1 & A2), lasI (B1 & B2) et PqsR (C1 & C2) avec l'o-xylène.

V.2.1.6 Interaction entre l'acétate de cuivre et le système le quorum sensing

V.2.1.6.1 Affinité de l'acétate du cuivre au récepteur LasR

Le ligand, acétate de cuivre, a été redocké sur le site de liaison de LasR. L'interaction entre l'acétate de cuivre et la protéine LasR n'a impliqué que deux liaisons hydrogène, l'une avec Tyr 93 (6.75 Å) et l'autre avec Leu 110 (4.26 Å) (figure 39 [A1 et A2]). Des liaisons van der Waals ont également été observées au niveau de certains acides aminés.

L'interaction entre l'acétate de cuivre et la protéine LasR se manifeste à travers neuf modes de liaison, avec une énergie libre fluctuant entre -3.1 et -3.6 kcal/mol. Le meilleur mode d'interaction présente une énergie libre de -3.6 kcal/mol, ce qui témoigne d'une interaction modérée et moins stable entre l'acétate du cuivre et le récepteur LasR.

V.2.1.6.2 Affinité de l'acétate de cuivre au récepteur LasI

L'acétate de cuivre a été redocké sur le site de liaison de LasI. Comme illustré dans la figure 39 (B1 et B2), l'interaction entre l'acétate de cuivre au récepteur LasI implique trois liaisons hydrogène, une avec Arg 104 (2.45 Å), l'autre avec Phe 105 (2.15 Å), et enfin avec Thr 144 (2.38 Å).

Des liaisons van der Waals ont également été observées au niveau de certains acides aminés. Cette interaction est représentée par neuf modes de liaison, avec un score d'affinité variant entre -2.8 à -3.5 kcal/mol. Le meilleur résultat présente une énergie libre de -3.5 kcal/mol, confirmant ainsi une interaction modérée et moins stable entre l'acétate de cuivre et récepteur LasI.

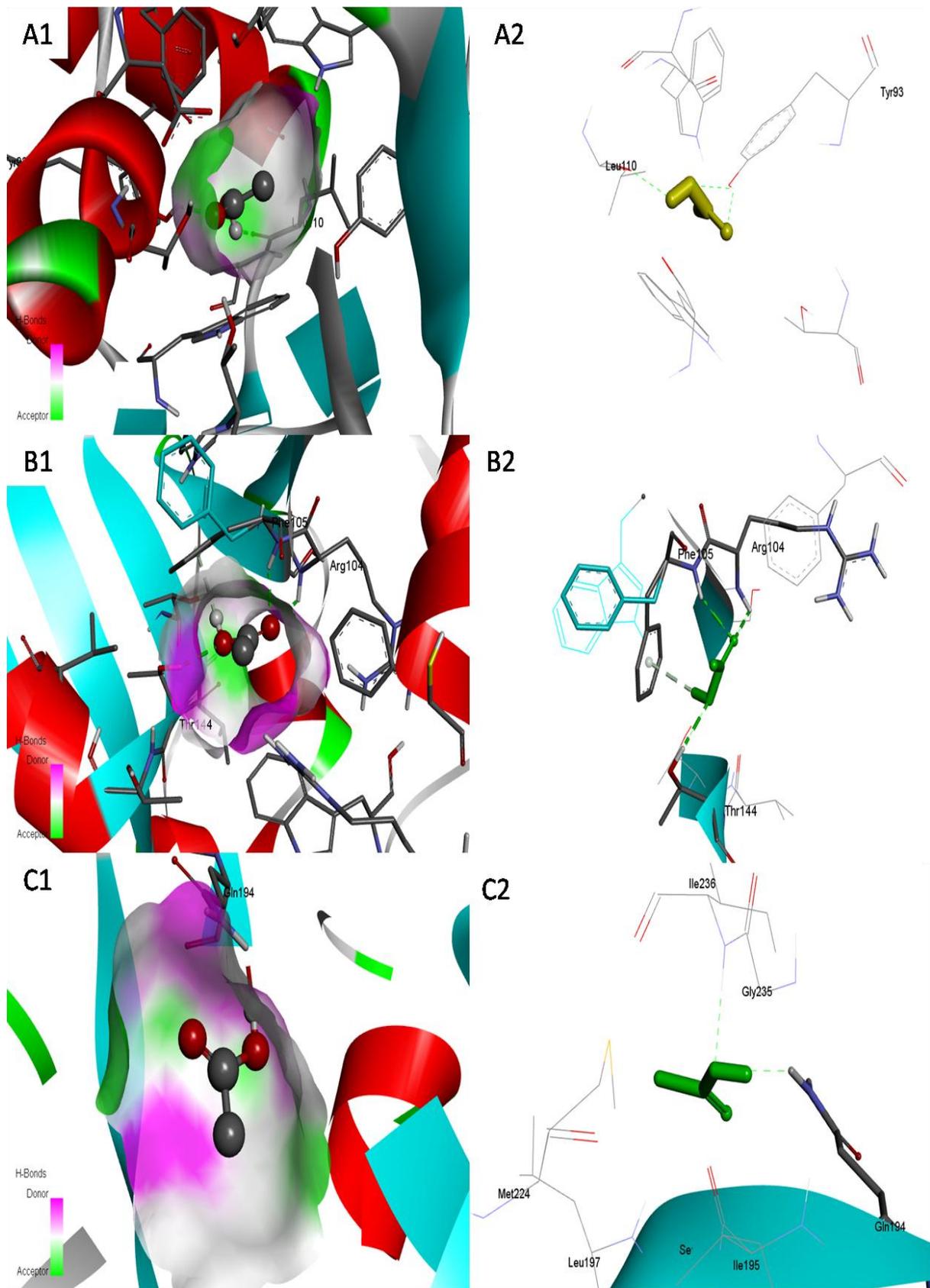


Figure 39. Docking moléculaire de différentes protéines contrôlant le QS lasR (A1 & A2), lasI (B1 & B2) et PqsR (C1 & C2) avec l'acétate de cuivre.

V.2.1.6.3 Affinité de l'acétate de cuivre au récepteur PqsR

L'acétate de cuivre a été redocké sur le site de liaison de PqsR. L'interaction entre l'acétate de cuivre et la protéine LasI a révélé une interaction défavorable avec le donneur Gln 194 à une distance de 1.49 Å (Figure 39 [C1 et C2]). Des liaisons van der Waals ont également été observées au niveau de certains acides aminés. L'interaction entre l'acétate de cuivre et la protéine LasR est exprimée par six modes, avec une énergie libre variant entre -2.4 et -3.2 kcal/mol. Le meilleur résultat est caractérisé par une énergie libre de -3.2 kcal/mol, ce qui indique une interaction modérée et moins stable entre l'acétate de cuivre et le récepteur PqsR.

V.2.1.7 Interaction entre l'acétate de plomb et le système quorum sensing

V.2.1.7.1 Affinité de l'acétate de plomb au récepteur LasR

Le ligand, acétate de plomb, a été redocké sur le site de liaison de LasR. Comme illustré dans la figure 40 (A1 et A2), l'interaction entre l'acétate de plomb et le récepteur LasR implique deux liaisons hydrogène, l'une avec Tyr 93 à une distance de 6.76 Å, et l'autre avec Leu 110 à une distance de 4.92 Å. Des liaisons van der Waals ont également été observées au niveau de certains acides aminés. Cette interaction est représentée par neuf modes de liaison, où l'énergie libre varie entre -3.1 et -3.7 kcal/mol. Le meilleur mode d'interaction a enregistré une énergie libre égale à -3.7 kcal/mol, indiquant une interaction modérée et moins stable entre l'acétate de plomb et le récepteur LasR.

V.2.1.7.2 Affinité de l'acétate de plomb au récepteur LasI

L'acétate de plomb a été redocké sur le site de liaison de LasI. L'interaction entre l'acétate de plomb et la protéine réceptrice LasI a révélé trois liaisons hydrogène : l'une avec la Thr 144 à une distance de 2.33 Å, l'autre avec Arg 104 à une distance de 2.39 Å, et la dernière Phe 105 à une distance de 2.17 Å (figure 40 [B1 et B2]). Des liaisons van der Waals ont également été observées au niveau de certains acides aminés. Cette interaction présente neuf modes de liaison, où l'énergie libre varie entre -2.7 à -3.5 kcal/mol. Le meilleur résultat a affiché une affinité de -3.5 kcal/mol. Cela indique une interaction modérée et moins stable entre l'acétate de plomb et le récepteur LasI.

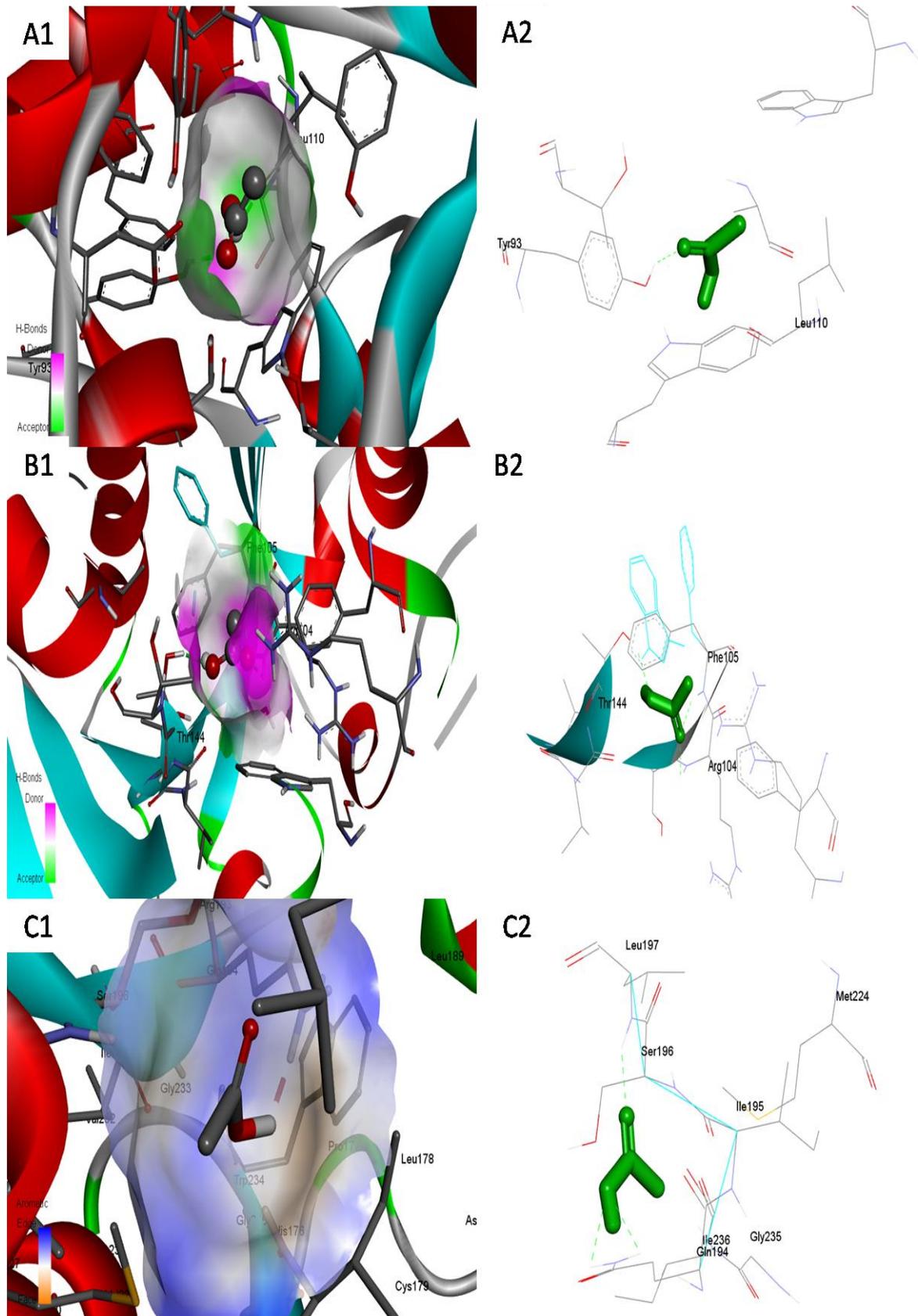


Figure 40. Docking moléculaire de différentes protéines contrôlant le QS lasR (A1 & A2), lasI (B1 & B2) et PqsR (C1 & C2) avec l'acétate de plomb.

V.2.1.7.3 Affinité de l'acétate de plomb au récepteur PqsR

L'acétate de plomb a été redocké sur le site de liaison de PqsR. Comme montré la figure 40 (C1 et C2), l'interaction entre l'acétate de plomb et le récepteur PqsR implique une liaison défavorable donneur-donneur Gln 194 (4.63 Å). Des liaisons van der Waals ont également été observées au niveau de certains acides aminés. Cette interaction est présentée par quatre modes de liaisons, dont l'énergie libre varie entre -2.5 et -3.2 kcal/mol. Le meilleur mode de liaison présente une affinité de -3.2 kcal/mol. Ce résultat témoigne d'une interaction modérée et moins stable entre l'acétate de plomb et la protéine réceptrice PqsR.

V.2.1.8 Interaction entre l'acétate de mercure et le système quorum sensing

V.2.1.8.1 Affinité de l'acétate de mercure au récepteur LasR

Le ligand acétate de mercure a été redocké sur le site de liaison de LasR. L'interaction entre l'acétate de mercure et le récepteur LasR a révélé une seule liaison hydrogène Tyr 93 à une distance de 2.28 Å (figure 41 [A1 et A2]). Des liaisons van der Waals ont également été observées au niveau de certains acides aminés. Neuf modes de liaison ont été identifiés pour cette interaction, avec une énergie libre comprise entre -3.1 et -3.6 kcal/mol. Le meilleur mode de liaison affiche une affinité de -3.6 kcal/mol. Ces données confirment une interaction modérée et moins stable entre l'acétate de mercure et le récepteur LasR.

V.2.1.8.2 Affinité de l'acétate de mercure au récepteur LasI

L'acétate de mercure a été redocké sur le site de liaison de LasI. Comme illustré dans la figure 41 (B1 et B2), l'interaction entre l'acétate de mercure et le récepteur LasI a démontré trois liaisons hydrogène : l'une avec Arg 104 (2.45 Å), l'autre avec Phe 105 (2.14 Å), la dernière avec la Val 143 (2.28 Å). Des liaisons van der Waals ont également été observées au niveau de certains acides aminés.

Cette interaction présente neuf modes de liaison, où l'énergie libre variant entre -2.7 et -3.5 kcal/mol. Le meilleur mode d'interaction a enregistré une énergie libre égale à -3.5 kcal/mol. Il est évident que l'interaction entre l'acétate de mercure et le récepteur LasI est pratiquement modérée et moins stable.

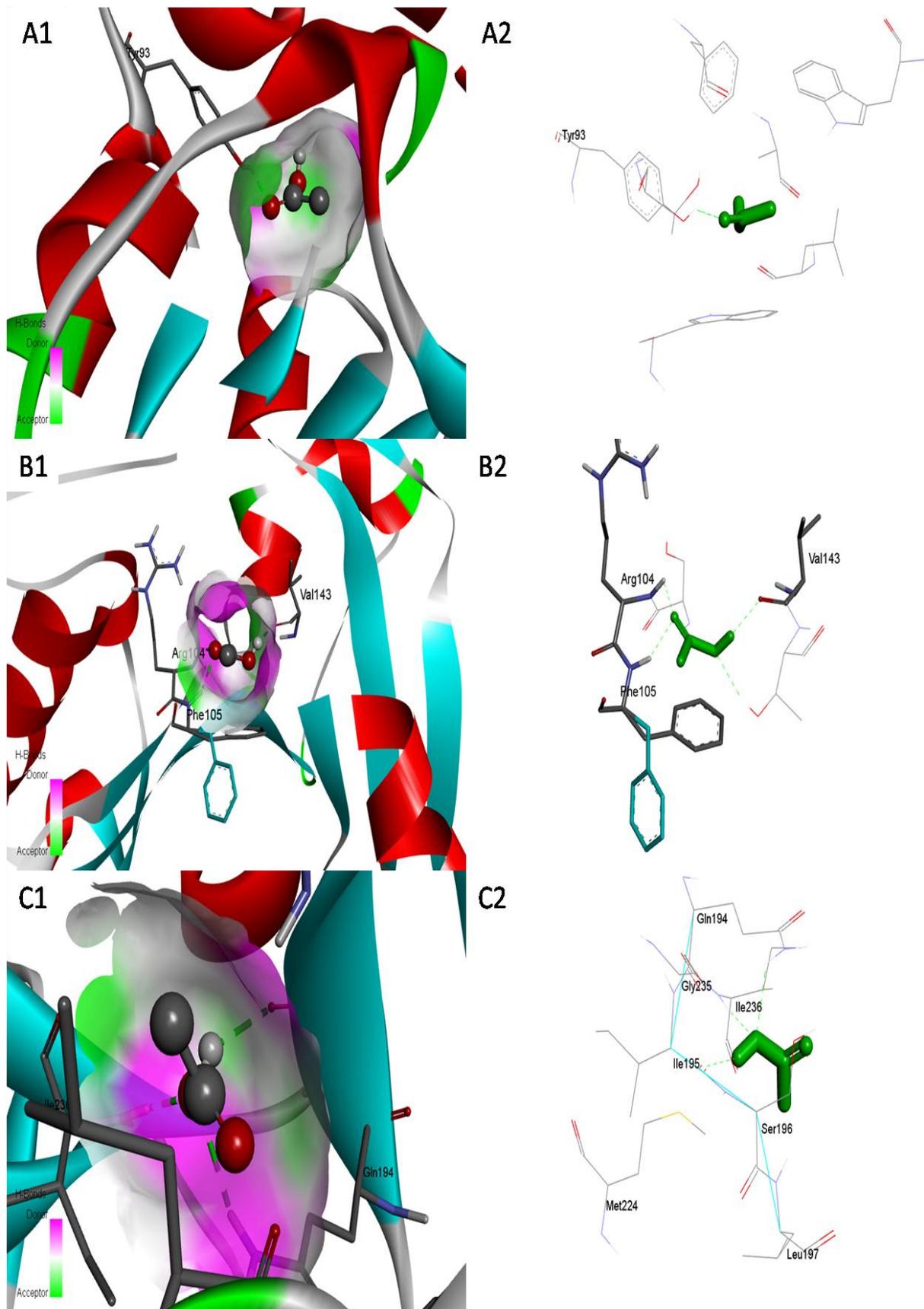


Figure 41. Docking moléculaire de différentes protéines contrôlant le QS *lasR* (A1 & A2), *lasI* (B1 & B2) et *PqsR* (C1 & C2) avec l'acétate de mercure.

V.2.1.8.3 Affinité de l'acétate de mercure au récepteur PqsR

L'acétate de mercure a été redocké sur le site de liaison de PqsR. L'interaction entre l'acétate de mercure et la protéine réceptrice PqsR a recruté trois liaisons hydrogène avec Ile 236 (3.75 Å), Ile 195 (5.42 Å) ainsi qu'avec Gln 194 (5.00 Å) (figure 41 [C1 et C2]). Des liaisons van der Waals ont également été observées au niveau de certains acides aminés. Cette interaction présente six modes de liaison, où l'énergie libre fluctue de -2.3 à -3.2 kcal/mol. Le meilleur résultat a montré une affinité de -3.2 kcal/mol. Cela indique une interaction également modérée et moins stable entre l'acétate de mercure et le récepteur PqsR.

En combinant les résultats du docking obtenus, le ligand référence 3-oxo-C₁₂-HSL forme quatre liaisons hydrogènes avec le récepteur LasR et deux liaisons hydrogène avec LasI, en plus de liaisons hydrophobes supplémentaires signalées. Les acides aminés du site actif de LasR comprennent Trp 60, Asp 73, Cys 79, Tyr 64, Gly 126, Ala 50, Trp 88, Tyr 56, Thr 75, Tyr 93, Ala 105, Leu 110 et Ser 129. Les groupements polaires des résidus d'acides aminés suivants : Asp 73, Trp 60, Tyr 56 et Ser 129 de LasR présentent des interactions de liaisons hydrogène qui jouent un rôle clé dans le repliement correct de la protéine de type LuxR.

Dans cette étude, l'interaction entre le lasR et 3-oxo-C₁₂-HSL recrute différentes liaisons hydrogène, au niveau du site actif, Notamment avec Ser 129, Tyr 56, Trp 60, Asp 73, Thr 75. Il a été décrit que ce ligand naturel établit trois liaisons hydrogène avec Asp 73, Trp 60 et Ser 129 (Naga et al., 2023). En outre, Il est rapporté que l'interaction entre lasR et 3-oxo-C₁₂-HSL établit trois liaisons avec les mêmes acides aminés, avec un score d'affinité égal à -9.430 kcal/mol, ce qui est hautement similaire à nos résultats (-9 kcal/mol) (Rex et al., 2023). Cela valide nos résultats comme indiqué dans le tableau 9 et la figure 34.

Plusieurs composés ont été décrit comme ligand naturel pour LasI, notamment le sulfate (Naga et al., 2021; Naga et al., 2023). Cependant, nous ne l'avons pas choisi en raison de l'incapacité de visualiser l'interaction en 2D. Nous avons donc opté pour le 3-oxo-C₁₂-HSL comme ligand naturel, en nous appuyant sur d'autres travaux décrivant le 3-oxo-C₁₂-HSL comme ligand indigène pour LasI (Gala et al., 2016; Parai et al., 2018). L'interaction LasI-3-oxo-C₁₂-HSL forme deux liaisons hydrogène avec Arg 30 et Ile 107 ainsi que des interactions hydrophobes, comme illustré dans figure 34 et le tableau 9. Il est évident que Trp 33, Trp 69, Leu 157, Ile 178, Phe 105, Thr 121, Leu 122, Met 125, Thr 142, Thr 144, Val 148, Met 151,

Ala 155, Leu 157, Ile178 et Leu 188 constituent le site actif du récepteur LasI. En outre, Met 79, Phe 105, Thr 142 et Thr 144 représentent des résidus conservés chez les AHLs synthases (Naga et al., 2023). D'autres études suggèrent que les résidus conservés de LasI comprennent Met 79, Phe 105, Thr 142, Thr 144 et Val 148 (Parai et al., 2018). Toutefois, une autre référence a rapporté que les acides aminés impliqués dans l'interaction avec LasI incluent Arg 30, Met 125, Ala 155, Thr 144, Arg 130, Val 148, Lys 150, Arg 154, Ser 103 et Glu 101 (Mohajeri et al., 2023).

Concernant le docking de LasI-3-oxo-C₁₂-HSL, il semble recruter deux liaisons hydrogène avec Arg 30 et Ile 107, ainsi que plusieurs interactions hydrophobes avec les acides aminés au niveau du site actif. En ce qui concerne l'interaction entre le sulfate, considéré comme ligand naturel pour lasI, elle démontre une seule liaison hydrogène avec Arg 30 (Naga et al., 2021; Naga et al., 2023). Nos résultats sont en corrélation avec ce que Gala et ses collaborateurs ont rapporté. Cette interaction se traduit par une énergie libre égale à -6.6 kcal/mol, ce qui est plus ou moins similaire à celle présentée par le même travail (-6.98 kcal/mol) (Gala et al., 2016).

Différentes études *in silico* démontrent que le 2-nonyl-4-quinolone (NHQ) est le ligand original pour le récepteur PqsR. Cette interaction est stabilisée par des interactions hydrophobes, indiquant les acides aminés Leu189, Leu 207, Leu 208, Ala 168, Ile 149, Ile 258, Ile 186 et Val 170 participent aux interactions hydrophobes entre NHQ et PqsR (Wang et al., 2020). Dans notre étude, le 2-nonyl-4-quinolone établit une seule liaison hydrogène avec le PqsR (Leu 197) et plusieurs liaisons hydrophobes (Ile 263, Leu 208, Pro 238, Phe 207, Ala 102, Ile 236, Ile 149, et Ala 168) comme le montre dans la figure 34 et le tableau 9. L'interaction entre NHQ et PqsR recrute des liaisons hydrogène avec les acides aminés Gln 194, Leu 208, et Ile 236, construisaient ainsi le site actif de l'enzyme PqsR (Naga et al., 2023). Les acides aminés Ile 149, Phe 221, Tyr 258, Ile 263 et parfois Ile 186, Leu 207, et Ile 236 sont considérés comme essentiels dans l'interaction entre PqsR et son ligand naturel (NHQ) (Trognon et al., 2022).

Les interactions intermoléculaires faibles contribuent à la stabilisation énergétique d'un ligand à l'interface d'une protéine (Patil et al., 2010). Les liaisons hydrogène jouent un rôle crucial en raison de leur implication dans les interactions moléculaires, en particulier entre les ligands neutres et les récepteurs, bien qu'elles soient de nature faible. Les interactions par liaison hydrogène assurent la stabilité protéine-ligand et représentent également un paramètre

clé pour identifier les résidus d'acides aminés nécessaires lors des études de docking (Thakur et Pande, 2021). Les forces combinées des liaisons hydrogène et hydrophobes gouvernent la stabilité de complexe ligand-récepteur (Vaidyanathan et al., 2023). L'évaluation des résultats du docking repose sur la détermination de l'énergie de liaison. Il est bien documenté que lorsque l'énergie libre de liaison (ou affinité de liaison) est inférieure à zéro, cela indique que le ligand et le récepteur peuvent se lier ensemble. Plus l'énergie de liaison est faible, plus la force de l'interaction entre deux est élevée et plus la conformation générée est stable (Gao et al., 2022).

L'évaluation des interactions avec les autres ligands et le récepteur LasR a été effectuée. Commencant par l'acétate de sodium, ce ligand forme deux liaisons hydrogène avec LasR (Tyr 93 et Asp 73) et liaison pi-sigma avec Trp 88. Ces acides aminés font partie des acides aminés constituant le site actif de LasR. Bien que l'affinité de liaison soit de -3.6 kcal/mol, ce qui témoigne d'une interaction modérée entre l'acétate de sodium et LasR. L'interaction entre ce ligand et LasI met en évidence quatre liaisons hydrogène Arg 104, Phe 105, Thr 144, Val 143. Les acides aminés Phe 105, Thr 144 appartiennent au site actif de LasI, avec une affinité de liaison de -3.5 kcal/mol. Par ailleurs, l'interaction entre l'acétate de sodium et le PqsR révèle deux liaisons hydrogène (Gln 194, Ile 236), mais ces acides aminés ne sont pas signalés parmi ceux qui composent le site actif de PqsR. L'affinité de liaison de cette interaction est de -3.2 kcal/mol. Il est important de noter que ce ligand ne forme aucune liaison hydrophobe avec les trois récepteurs (LasR, LasI et PqsR). L'ensemble des données indiquent une interaction faible à modérée entre l'acétate de sodium et LasI, suggérant ainsi un faible potentiel inhibiteur du quorum sensing.

Le naphthalène est caractérisé par la formation de plusieurs liaisons hydrophobes Tyr 64, Leu 36, Val 76, Ala 127 et Ala 50. Il est important de noter que ces acides aminés ne sont pas conventionnellement reconnus comme faisant partie du site actif LasR. Cependant, le score d'affinité associé à cette interaction est intéressant, atteignant -7.3 kcal/mol. En outre, l'interaction entre le naphthalène et le récepteur LasI se manifeste par une liaison hydrophobe unique avec Phe 105, qui fait partie des acides aminés constitutifs du site actif de LasI. L'affinité de cette liaison est estimée à -5.7 kcal/mol. Ce ligand établit uniquement des liaisons hydrophobes avec divers acides aminés (Ile 236, Ile 149, Leu 207, Ala 168), qui sont tous associés au site actif de PqsR. Le score d'affinité de cette interaction est de -6.3 kcal/mol.

Ces observations mettent en lumière une interaction significative entre le naphthalène et le LasR, suggérant une forte activité inhibitrice du quorum sensing.

L'interaction entre le toluène et LasR est caractérisée par des interactions exclusivement hydrophobes, impliquant certains acides aminés (Leu 36, Asp 73, Tyr 64, Ala 127 et Ile 52), parmi ceux, Asp 73 et Tyr 64 sont connus pour constituer le site actif du LasR. L'énergie libre associée à cette interaction est calculée à -6.3 kcal/mol. En ce qui concerne l'interaction entre le toluène et LasI, le toluène forme une unique liaison hydrophobe avec Phe 105, un acide aminé appartenant au site actif de LasI, avec une affinité de -4.8 kcal/mol. Pour l'interaction entre le toluène et le récepteur PqsR, six liaisons hydrophobes sont identifiées avec les acides aminés Ala 168, Leu 208, Phe 221, Ile 149, Ile 236 et Ala 102, tous constituant le site actif de PqsR. L'affinité mesurée pour cette interaction est de -4.9 kcal/mol. Aucune liaison hydrogène n'a été observée dans les trois interactions. Ces données suggèrent une interaction modérée entre le toluène et trois récepteurs, ce qui pourrait indiquer une activité inhibitrice modérée du système quorum sensing.

L'analyse de l'interaction entre l'o-xylène et le récepteur LasR révèle la présence de sept liaisons hydrophobes avec divers acides aminés (Trp 152, Leu 151, Pro 117, Lys 155, Leu 118, Leu 128 et Pro 85). Aucun de ces acides aminés n'est reconnu comme faisant partie du site actif de LasR. Le score d'affinité de l'interaction d'o-xylène et LasR est de -6.2 kcal/mol. En ce qui concerne l'interaction entre ce ligand et le récepteur LasI, deux liaisons hydrophobes sont formées avec les acides aminés Val 148 et Phe 105, constituant du site actif de LasI. L'énergie de liaison mesurée pour cette interaction est de -4.9 kcal/mol. En outre, l'interaction entre l'o-xylène et PqsR se manifeste par cinq liaisons hydrophobes impliquant les acides aminés Leu 189, Tyr 258, Val 170, Ile 263, et Val 211, dont trois (Leu 189, Val 170 et Ile 263) appartiennent au site actif de PqsR. Le score d'affinité associé à cette interaction est estimé à -5.1 kcal/mol. Ces données indiquent une interaction relativement forte, suggérant un potentiel inhibiteur intéressant du quorum sensing. Il est à noter que les trois ligands (Naphthalène, Toluène et O-xylène) établissent exclusivement des liaisons hydrophobes avec les différents récepteurs.

L'analyse de l'interaction entre l'acétate de cuivre et le récepteur LasR a révélé la formation de deux liaisons hydrogène avec Tyr 93 et Leu 110, situés dans le site actif de LasR. L'énergie de liaison mesurée pour cette interaction est de -3.6 kcal/mol. Ce ligand a également été redocké avec LasI, révélant trois liaisons hydrogène avec Arg 104, Phe 105 et

Thr 144; parmi ces acides aminés, Phe 105 et Thr 144 font partie du site actif de LasI. L'affinité de liaison obtenue est de -3.5 kcal/mol. En ce qui concerne l'interaction entre l'acétate de cuivre et le récepteur PqsR, une seule liaison hydrophobe a été observée avec Gln 194, un acide aminé appartenant au site actif de PqsR. L'énergie de liaison associée à cette interaction est de -3.2 kcal/mol. Ces résultats montrent une interaction relativement faible entre l'acétate de cuivre et les trois récepteurs, suggérant ainsi un faible potentiel inhibiteur du quorum sensing.

L'acétate de plomb, lorsqu'il est redocké avec LasR, forme deux liaisons hydrogènes avec Tyr 93 et Leu 110, Tous deux faisant partie au site actif de LasR. L'affinité de liaison de cette interaction est de -3.7 kcal/mol. En outre, son interaction avec le récepteur LasI est caractérisée par la formation de trois liaisons hydrogène avec Arg 104, Phe 105 et Thr 144, parmi lesquels Phe 105 et Thr 144, appartiennent au site actif de LasI. L'énergie de liaison mesurée pour cette interaction est de -3.5 kcal/mol. En ce qui concerne l'interaction entre l'acétate de plomb avec le PqsR, une unique liaison hydrophobe est observée avec Gln 194, un acide aminé constituant le site actif de PqsR, avec une énergie libre de -3.2 kcal/mol. Ces données montrent une interaction faible entre l'acétate de plomb et les trois récepteurs, suggérant un potentiel inhibiteur limité du quorum sensing. Il est intéressant de noter que l'acétate de cuivre et l'acétate de plomb présentent des similarités marquées dans leur mode d'interaction avec les trois récepteurs.

L'interaction entre l'acétate de mercure et le récepteur LasR résulte en la formation d'une unique liaison hydrogène Tyr 93, un acide aminé appartenant au site actif de LasR. L'énergie de liaison mesurée pour cette interaction est de -3.6 kcal/mol. En outre, l'interaction entre l'acétate de mercure et LasI forment quatre liaisons hydrogène avec Arg 104, Phe 105, Thr 144 et Val 144, parmi lesquels Phe 105 et Thr 144 font partie des acides aminés constituant le site actif de LasI. Le score d'affinité de cette interaction est de -3.5 kcal/mol. L'interaction entre ce ligand et le récepteur PqsR révèle trois liaisons hydrogène avec Gln 194, Ile 236, Ile 195, où le Gln 194 et Ile 195 appartiennent au site actif de PqsR. L'énergie de liaison mesurée pour cette interaction est de -3.2 kcal/mol. Ces données indiquent une faible interaction entre l'acétate de mercure et les trois récepteurs, suggérant un faible potentiel inhibiteur du système quorum sensing. Il est important de souligner que les trois ligands (acétate de cuivre, acétate de plomb et acétate de mercure) ne forment que des liaisons hydrogène avec le LasR et LasR. Cependant, l'acétate de cuivre et l'acétate de plomb

n'établissent qu'une seule liaison hydrophobe avec PqsR, tandis que l'acétate de mercure est le seul métal établissant des liaisons hydrogène avec le PqsR.

En comparant les scores d'affinités, il apparaît clairement que le naphthalène présente l'énergie libre la plus élevée avec le récepteur LasR (-7.3 kcal/mol), suivi du toluène (-6.3 kcal/mol) et de l'o-xylène (-6.2 kcal/mol). Pour le récepteur LasI, le naphthalène affiche une affinité similaire à celle du ligand naturel avec un score de -5.7 kcal/mol, suivi par l'o-xylène (-4.9 kcal/mol) et le toluène (-4.8 kcal/mol). Concernant PqsR, le naphthalène démontre également la meilleure affinité (-6.3 kcal/mol), suivie de l'o-xylène (-5.1 kcal/mol) et le toluène (-4.9 kcal/mol).

Les données issues de docking moléculaire démontrent que la majorité des ligands étudiés forment des liaisons hydrophobes ou hydrogène avec les acides aminés situés dans le site actif des récepteurs LasR, LasI et PqsR. L'analyse des interactions entre les ligands et les trois récepteurs révèle que les hydrocarbures n'établissent que des liaisons hydrophobes avec ces récepteurs. En revanche, les trois métaux lourds établissent principalement des liaisons hydrogène avec les acides aminés du site actif du LasR et LasI. Notamment, l'interaction entre les trois métaux lourds et le récepteur PqsR consiste exclusivement en des liaisons hydrophobes, comme observé avec l'acétate de cuivre et l'acétate de plomb, tandis que l'acétate de mercure est seul à former des liaisons hydrogène avec PqsR.

Les résultats du docking moléculaire montrent que les hydrocarbures tels que le naphthalène, le toluène et l'o-xylène établissent des interactions fortes avec les récepteurs du quorum sensing (LasR, LasI, et PqsR). Cette forte affinité suggère que ces composés pourraient efficacement perturber la signalisation bactérienne (QS), entraînant ainsi des modifications dans la régulation des gènes associés, notamment ceux impliqués dans la formation de biofilms, la mobilité et les facteurs de virulence. Ces observations sont soutenues par les études antérieures qui ont démontré que l'inhibition du Quorum sensing peut réduire la formation des biofilms et l'expression des facteurs de virulence chez *Pseudomonas aeruginosa* (Rather et al., 2021). En revanche, les faibles interactions entre les métaux lourds et les récepteurs du quorum sensing suggèrent un impact moins important sur la signalisation cellulaire *via* QS et, par conséquent, sur la régulation des gènes associés.

Tableau 9. Résultats des analyses des interactions ligand-protéines *in silico*.

Récepteur LasR			
Ligand	Énergie de liaison (kcal/mol)	Liaison hydrogène	Liaison hydrophobe
3-oxo-C ₁₂ -HSL	-9	TRP 60, SER 129, THR 75, ASP 73,	TYR 56, ALA 70, TYR 64, VAL 76, ALA 50, LEU 40, TYR 47
Acétate de sodium	-3,6	TYR 93, ASP 73	TRP 88
Naphtalène	-7,3		VAL 26
Toluène	-6,3		LEU 36, ASP 73, TYR 64, ALA 127, ILE 52
O-xylène	-6,2		TRP 152, LEU 151, PRO 117, LYS 155, LEU 118, LEU 128, PRO 85
Acétate de Cuivre	-3,6	TYR 93, LEU 110	
Acétate de Plomb	-3,7	TYR 93, LEU 110	
Acétate de Mercure	-3,6	TYR 93	

Récepteur LasI			
Ligand	Énergie de liaison (kcal/mol)	Liaison hydrogène	Liaison hydrophobe
3-oxo-C ₁₂ -HSL	-6,6	ARG 30, ILE 107,	MET 79, VAL 143, PHE 84, TRP 33, PHE 25, PHE 105
Acétate de sodium	-3,5	ARG 104, PHE 105, THR 144, VAL 143	
Naphtalène	-5,7		VAL 26
Toluène	-4,8		PHE 105
O-xylène	-4,9		VAL 26, PHE 105
Acétate de Cuivre	-3,5	ARG 104, PHE 105, THR 144	
Acétate de Plomb	-3,5	ARG 104, PHE 105, THR 144	
Acétate de Mercure	-3,5	ARG 104, PHE 105, THR 144, VAL 144	

Récepteur PqsR			
Ligand	Énergie de liaison (kcal/mol)	Liaison hydrogène	Liaison hydrophobe
2-nonyl-4-quinolone	-7,4	LEU 197	ILE 263, LEU 208, PRO 238, PHE 207, ALA 102, ILE 236, ILE 149, ALA 168
Acétate de sodium	-3,2	GLN 194, ILE 236	
Naphtalène	-6,3		ILE 236, ILE 149, LEU 207, ALA 168
Toluène	-4,9		ALA 168, LEU 208, PHE 221, ILE 149, ILE 236, ALA 102
O-xylène	-5,1		LEU 189, TYR 258, VAL 170, ILE 263, VAL 211
Acétate de Cuivre	-3,2		GLN 194
Acétate de Plomb	-3,2		GLN 194
Acétate de Mercure	-3,2	GLN 194, ILE 236, ILE 195	

Ala : Alanine; **Arg** : Arginine; **ASN** : Asparagine; **ASP** : Aspartate; **CYS** : Cystéine; **GLN** : Glutamine; **GLU** : Glutamate; **GLY** : Glycine; **HIS** : Histidine; **ILE** : Isoleucine; **LEU** : Leucine;

LYS : Lysine; **MET** : Méthionine; **PHE** : Phénylalanine; **PRO** : Proline; **SER** : Sérine ; **THR** : Thréonine; **TRP** : Tryptophane; **TYR** : Tyrosine; **VAL** : Valine.

Ces observations ouvrent une nouvelle voie d'investigation : l'utilisation des bactéries résistantes aux métaux lourds dans les sites contaminés par ces polluants. Étant donné que le QS améliore la capacité des bactéries à survivre en présence des stress environnementaux, y compris les métaux lourds, ces bactéries pourraient jouer un rôle clé dans l'évaluation et la remédiation de ces sites. Le QS joue un rôle crucial dans la résistance bactérienne aux métaux lourds, comme le soulignent Qu et *al.* (2023) et Montgomery et *al.* (2013), et par conséquent, les bactéries résistantes aux métaux lourds représentent un outil prometteur pour la bioremédiation des sites pollués (Nies, 2000). Il s'avère essentiel d'explorer le rôle de la communication cellulaire dans le maintien du fonctionnement de la communauté bactérienne durant les processus de bioremédiation, en particulier dans le traitement des eaux usées (Mangwani et *al.*, 2016). En conclusion, l'étude *in silico* des interactions entre les polluants et les récepteurs de quorum sensing (LasR, LasI, et PqsR) ouvre de nouvelles perspectives pour leurs applications biotechnologiques et environnementales, en particulier les processus de bioremédiation dans les environnements contaminés par les hydrocarbures et les métaux lourds.

**Chapitre VI. *Mobilité et
comportement
chimiotactique envers les
stress environnementaux***

VI Mobilité bactérienne et chimiotactisme

VI.1 Mobilité bactérienne

La mobilité bactérienne est une caractéristique fréquente, qui offre plusieurs avantages aux cellules en leur permettant de s'orienter vers des environnements favorables et d'établir des processus d'association à l'hôte, notamment la colonisation (Palma *et al.*, 2022).

L'aspect macroscopique de la mobilité est illustré dans les figures 42, 43, 44, 45, 46 et 47. Les trois phénotypes, *swarming*, *swimming* et *twitching*, sont respectivement identifiés. L'interprétation de nos résultats met l'accent sur la mesure du diamètre de la migration bactérienne. Il est évident que la majorité de nos souches exhibent les trois phénotypes avec une certaine variabilité au niveau du diamètre de migration.

VI.1.1 Swimming

La mobilité bactérienne de type *swimming* est mise en évidence sur une gélose semi-solide (0.3% d'agar). Les résultats obtenus sont présentés sur les figures 42 et 41. L'examen de l'aspect colonial a révélé que toutes les souches exhibent une mobilité de nage, avec un diamètre variant entre 11 et 90 mm. Cette mobilité est décrite comme étant une migration radiale sur la gélose. Certaines souches, *Pseudomonas sp.* (S1, S2, S5A2, S7, S8, S9A3, S15, et S25) et les souches d'*Escherichia sp.* (S4, S30A1 et S32) développent un motif étendu, avec un diamètre compris entre 23 et 90 mm et considéré comme modérément à fortement mobiles par nage. D'autres souches, telles que *Pseudomonas sp.* (S10, S11, S16, S18, et S20), présentent un motif plus ou moins étendu, formant un motif dendrique à la surface.

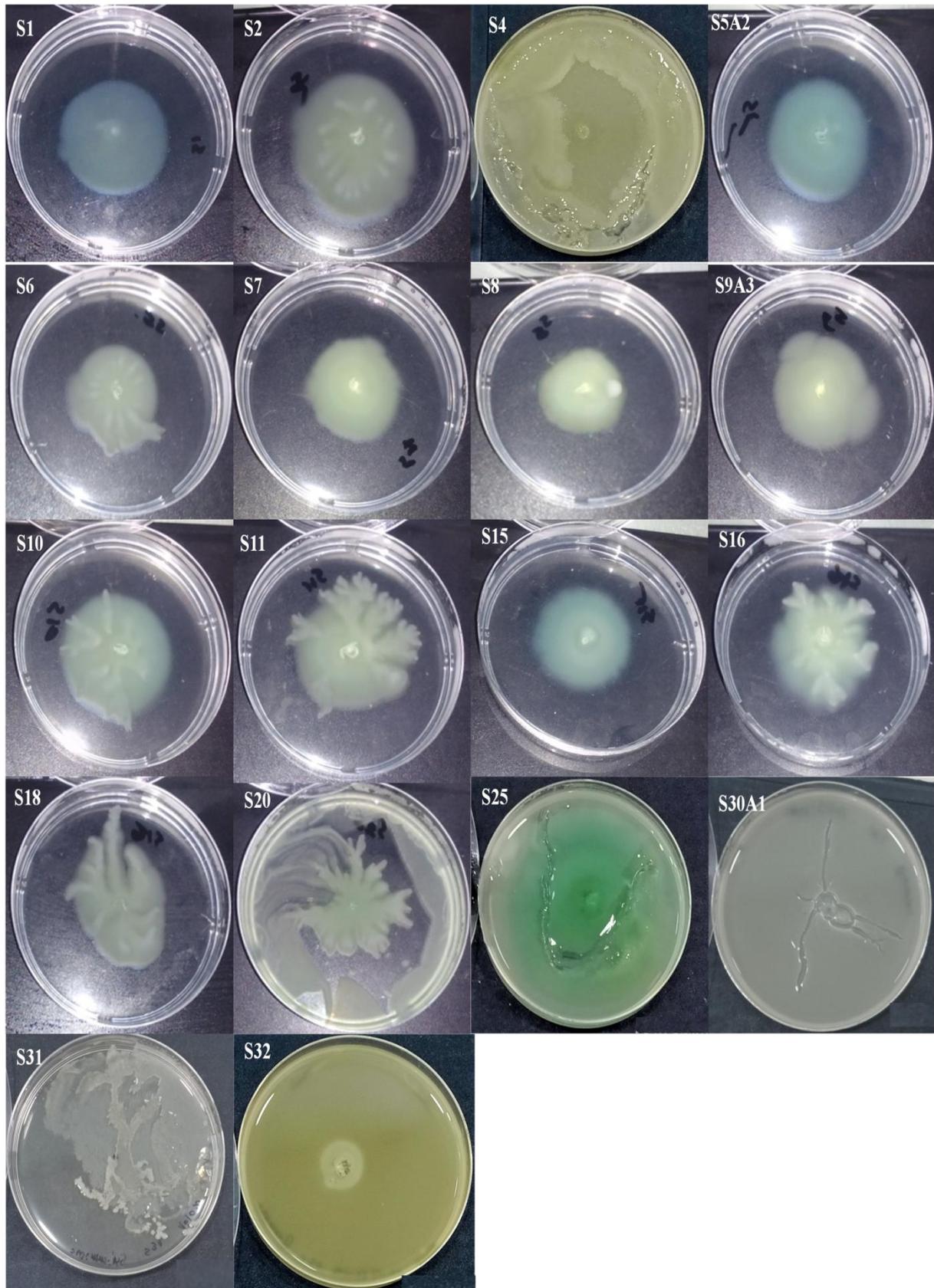


Figure 42. Détermination de la mobilité de type swimming chez les souches marines.

Il est important de signaler que d'autres souches de *Pseudomonas sp.* (S1, S2, S5A2, S10, S11, S15, S16, S18, S20 et S25) démontrent une migration cellulaire plus pigmentée. Il semble que la souche *Escherichia sp.* S31 a formé une forme dispersée avec une migration centralisée et unilatérale (Figure 42).

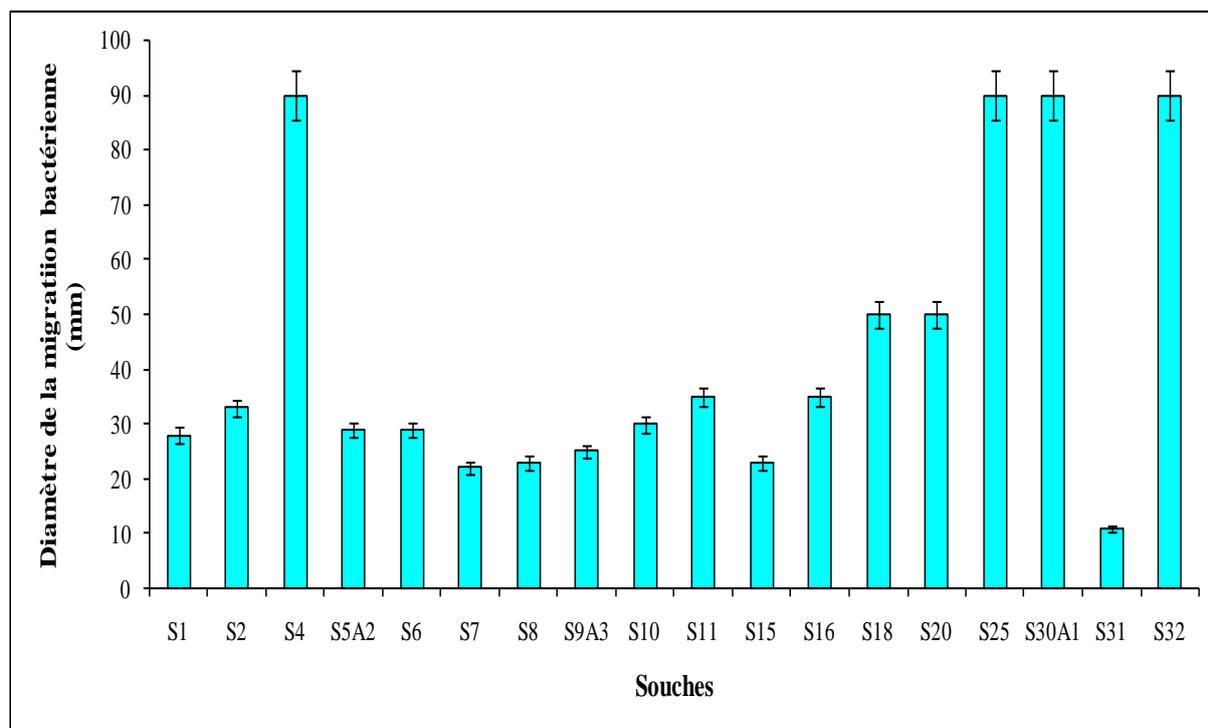


Figure 43. Diamètre de la migration bactérienne sur la gélose *swimming* chez les souches marines.

La mobilité de type *swimming* est un comportement unicellulaire qui nécessite la présence d'un flagelle polaire fonctionnel, observée chez le *P. aeruginosa* (Ha et al., 2014). Cette forme de mobilité offre plusieurs avantages à la bactérie, notamment la capacité de se diriger vers des environnements favorables et d'échapper des toxines et des prédateurs (Samad et al., 2017).

VI.1.2 Swarming

La mobilité bactérienne de type *swarming* est détectée sur une gélose semi-solide (0.5% d'agar). Les résultats obtenus sont affichés sur les figures 44 et 45. Toutes les souches marines ont présenté une capacité d'essaimage, avec des diamètres variant entre 18 et 90 mm

(Figure 45). Les souches de *Pseudomonas sp.* (S1 et S25) et d'*Escherichia sp.* (S4), ont révélé une capacité mobile accrue avec des diamètres respectifs de 75 mm, 45 mm, 90 mm, et 90 mm, ce qui indique qu'elles possèdent des stratégies adaptatives cruciales. En revanche, les souches *Pseudomonas sp.* (S18, S20, S2, S10, S16, S11 et S5A2) ont présenté une migration modérée sur la gélose semi-solide, avec des diamètres respectifs de 45 mm, 45 mm, 43 mm, 37 mm, 36 mm, et 27 mm. Les autres souches des souches ont démontré une faible mobilité de type swarming avec des valeurs pratiquement insignifiantes.

Il est particulièrement intéressant de noter que la majorité des souches ont formé des motifs dendritiques, à l'exception des souches *Escherichia sp.* (S30A1, S31 et S4). Ce motif est une caractéristique de *P. aeruginosa* (Julkowska et al., 2005), où les dendrites représentent des régions minces et longues de colonisation migrante à partir de la région centrale. La formation des dendrites chez *P. aeruginosa* dépend de la sécrétion de plusieurs surfactants (Kearns, 2010). Il a été rapporté que la surface supérieure d'une colonie d'*E. coli* en swarming reste stationnaire, en constituant ainsi une limite sans glissement (Swiecicki et al., 2013).

En revanche, certaines souches *Escherichia sp.* (S30A1, S31 et S32) ont formé des colonies confinées au niveau de la région centrale et n'ont pas réussi à se propager à la surface. Même avec une incubation prolongée, l'augmentation du diamètre observée peut être attribuée au phénomène de glissement (gliding). Ce phénotype pourrait être expliqué par une mutation suppressive ou un phénotype non-mobile. Une mutation suppressive peut restaurer la motilité des souches non-essaimantes, bien que ces supresseurs affichent un comportement compétitif de la colonie dans des structures asymétriques et exploitent les surfaces non envahies pour une croissance massive (Kearns, 2010).

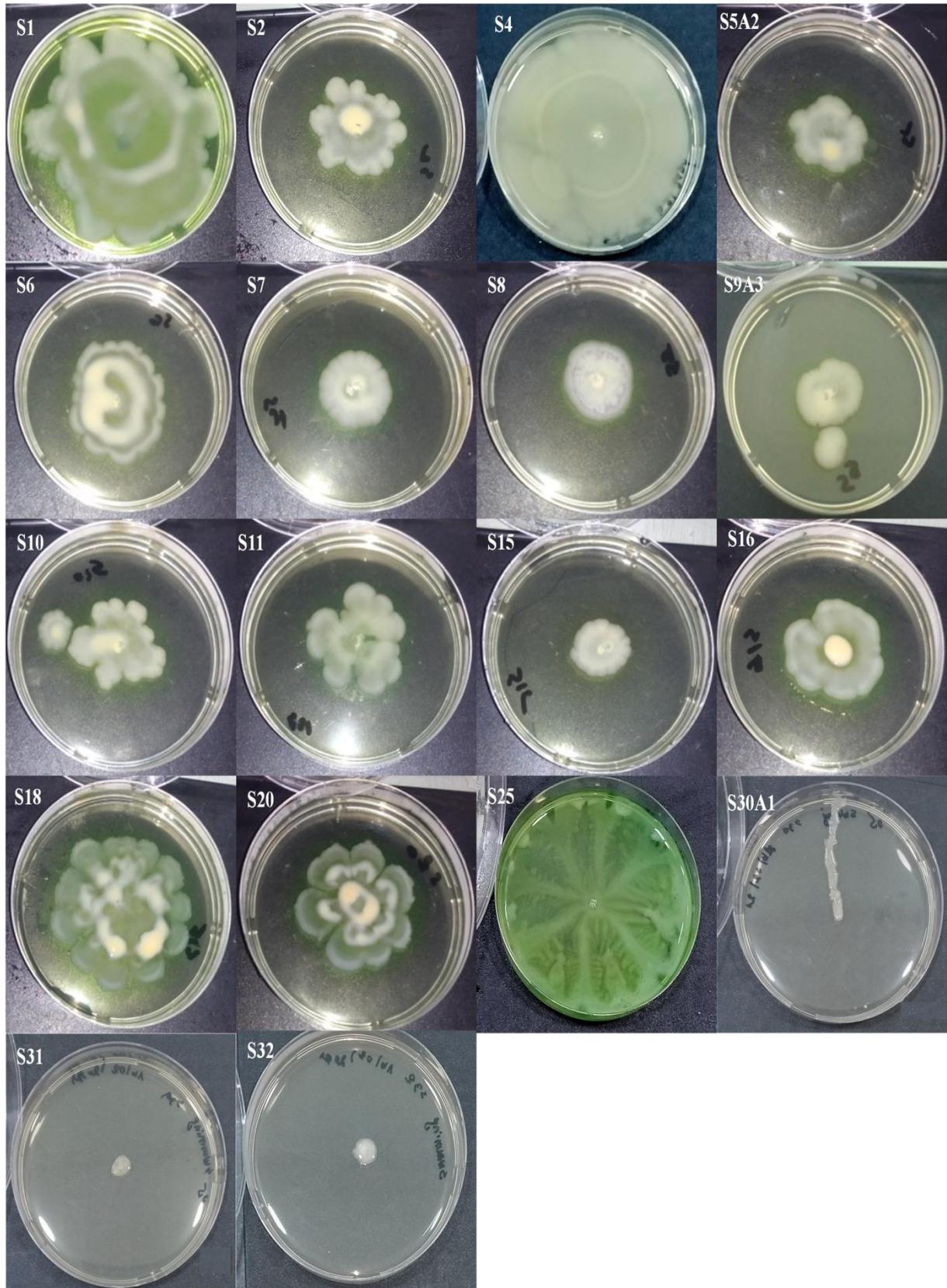


Figure 44. Détermination de la mobilité de type swarming chez les souches marines.

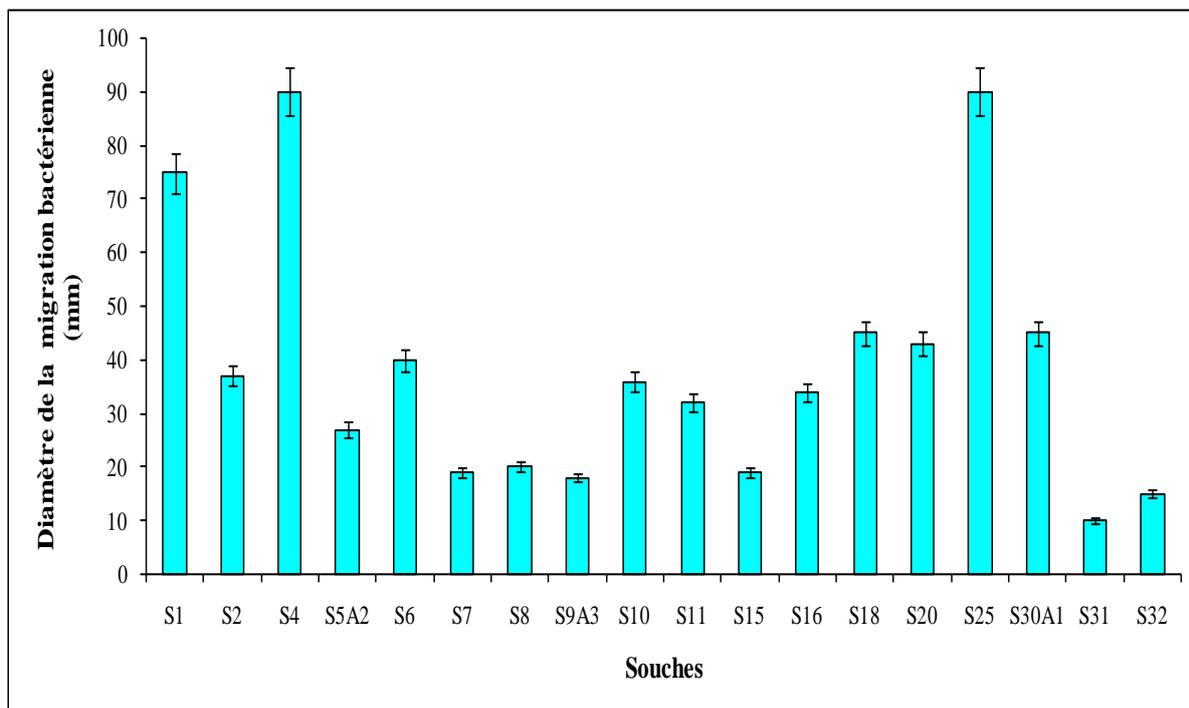


Figure 45. Diamètre de la migration bactérienne sur la gélose *swarming* chez les souches marines.

VI.1.3 Twitching

La mobilité bactérienne de type twitching est évaluée sur une gélose humide (1% d'agar). Les résultats sont illustrés dans les figures 46 et 47. L'observation macroscopique de la mobilité de type twitching permet de déterminer l'aspect de la diffusion et le diamètre de la zone de migration, généralement compris entre 5 et 90 mm. La mobilité reste centralisée près du point d'inoculation pour la majorité des souches, à l'exception des souches *Pseudomonas sp.* (S7 et S8) et *P. aeruginosa* S9A3, *E. coli* S30A1 et *Escherichia sp.* S32 (64 mm, 59 mm, 65 mm, 40 mm et 90 mm respectivement), qui présentent un aspect hautement diffusif avec des rebonds ondulés et frisés. Ce phénomène est plus limité chez la souche *E. coli* S30A1, tandis que la diffusion ondulée chez S32 atteint le bord de la boîte de culture (Figure 46).

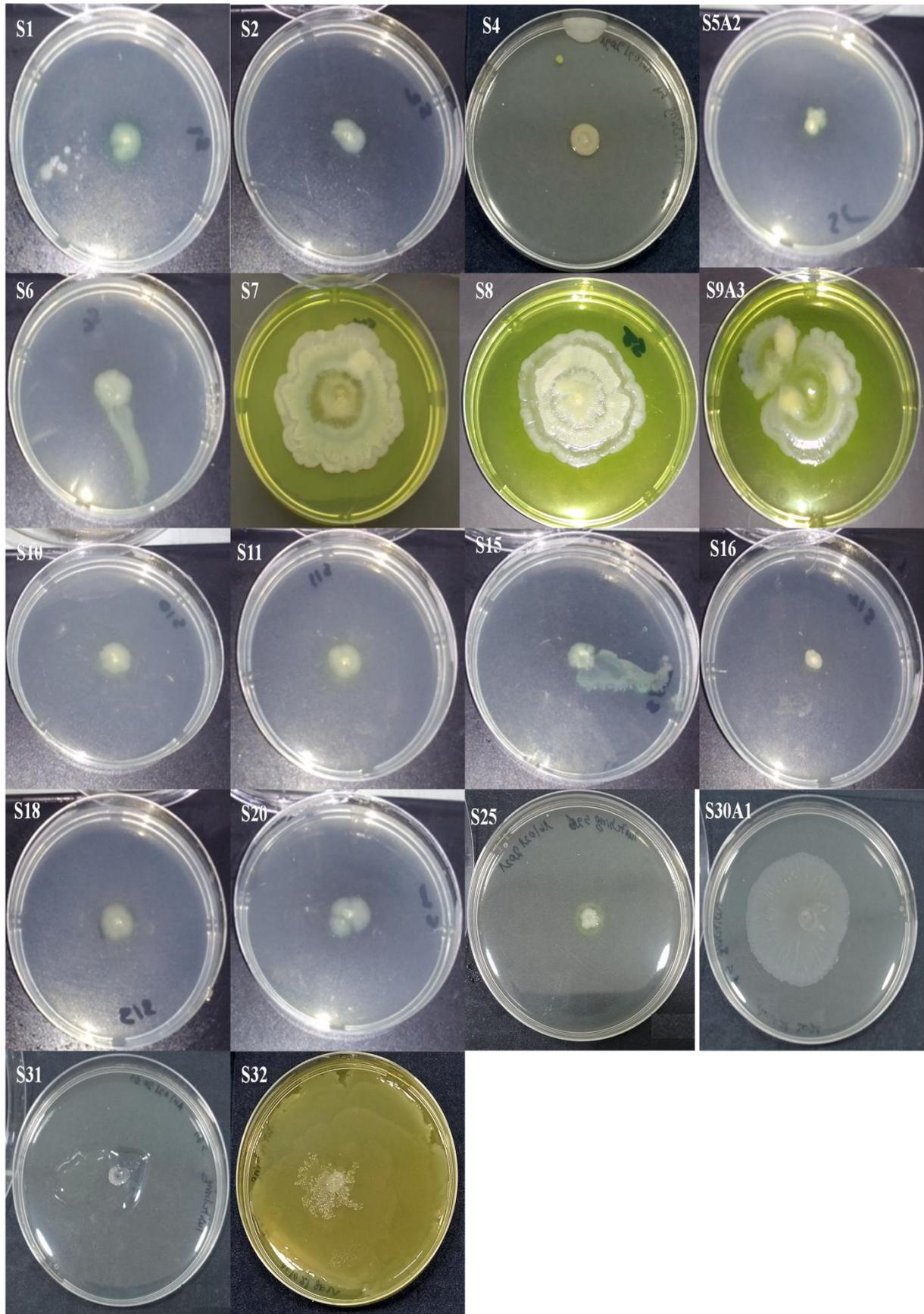


Figure 46. Détermination de la mobilité de type twitching chez les souches marines.

La capacité de mobilité par twitching est forte chez la souche S32, S7, S8, et S9A3, tandis qu'elle est modérée chez les souches *E. coli* S30A1, et *Pseudomonas sp.* (S10, S6, S20, S2, S11, et S18), avec des diamètres respectifs de 26 mm, 20 mm, 13mm, 13 mm, 10 mm, 10 mm, 10 mm, et 10 mm respectivement. En revanche, la mobilité est faible chez les souches *Pseudomonas sp.* (S1, S5A2, S15, S25 et S16) et *Escherichia sp.* (S4 et S31), qui affichent des diamètres de 9 mm, 8 mm, 8 mm, 7 mm, 7 mm, 5 mm et 5 mm respectivement.

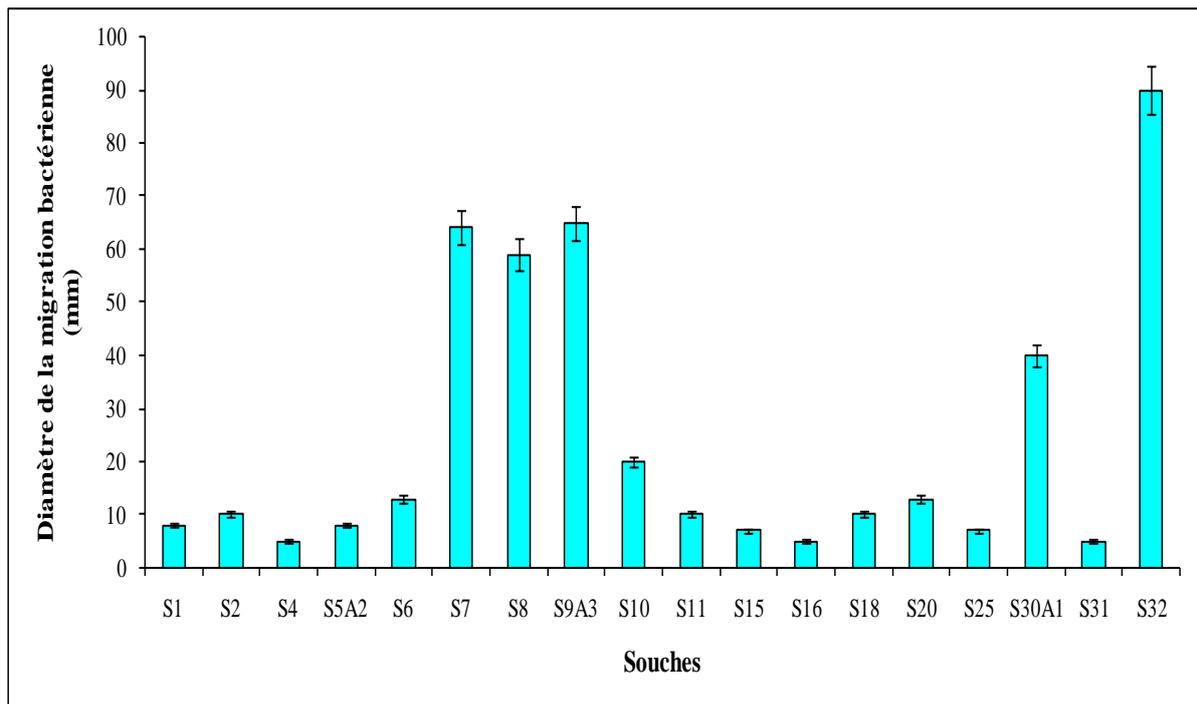


Figure 47. Diamètre de la migration bactérienne sur la gélose *twitching* chez les souches marines.

VI.2 Étude du chimiotactisme des souches marines

Le chimiotactisme est défini comme un comportement spatio-temporel et joue un rôle majeur dans la colonisation des niches par les microorganismes. Cette aptitude permet aux organismes de détecter une vaste gamme des substances chimiques à différentes concentrations et d'y répondre d'une manière appropriée (Lacal et *al.*, 2011). Le comportement chimiotactique assure plusieurs avantages aux cellules bactériennes en leur permettant de se déplacer vers des niches présentant des concentrations élevées des substances chimiques nécessaires à leur croissance. Toutefois, certains microorganismes

ajustent leur système chimiotactique pour résister à la dégradation et survivre dans des conditions extrêmes, facilitant ainsi l'accès et l'utilisation de sources de carbone toxiques, en particulier en l'absence des substrats essentielles à la croissance (Liang *et al.*, 2021).

Dans cette étude, le comportement chimiotactique des souches marines envers la salinité, les hydrocarbures (pétrole brut et kérosène) ainsi que les métaux lourds (sulfate de cuivre, nitrate de plomb et chlorure de mercure) a été évalué sur la gélose de type swarming.

VI.2.1 Réponse chimiotactique *vis-à-vis* du chlorure de sodium

Toutes les souches ont été examinées pour leurs réponses chimiotactiques à différentes concentrations de chlorure de sodium (0, 2%, 4% et 6%). En son absence, le diamètre de la migration bactérienne varie entre 12 et 45 mm. Une meilleure migration est observée chez les souches *Pseudomonas sp.* (S8, S20 et S25). La concentration à 2% a favorisé une mobilité de type swarming, où le diamètre varie entre 15 et 35 mm. Une fréquence de 33.33% des souches a présenté une meilleure migration à cette concentration. À partir de la concentration de 4%, la migration bactérienne est moins diffusée sur la surface de la gélose, avec un diamètre fluctuant entre 11 et 35 mm. En revanche, le diamètre de migration varie entre 8 et 23 mm est signalé à 6% de NaCl (figure 48). La comparaison entre l'impact des concentrations de NaCl sur cette mobilité indique des différences significatives entre la concentration à 2% et celle à 4%, ainsi qu'entre la concentration à 2% et celle à 6% ($P < 0.05$).

Selon le heatmap du regroupement hiérarchique, deux clusters majeurs sont générés. Cluster I inclut les concentrations 6% et celle de 4%, tandis que, le second cluster est composé de concentration de 2% et du milieu exempt de NaCl. En ce qui concerne le groupement des souches marines, trois clusters émergent, I (S1, S31, S30A1, S25, S32, S4, S6, S8 et S9A3), II (S11, S5A2, S15, S16, S18 et S10), et III (S2, S20 et S7).

Une motilité d'essaimage est caractérisée par une migration rapide à partir du point d'inoculation. Il est supposé que cette motilité est chimiotactiquement orientée en raison de mouvements similaires à ceux des bactéries nageant à travers un substrat d'agar faiblement solide (Kearns, 2010). L'effet du sel sur le chimiotactisme chez *P. stutzeri* SGM-1 a été étudié, et les résultats obtenus ont montré que l'augmentation de NaCl, et éventuellement celle des concentrations de cations Na^+ , a un effet inhibiteur sur la motilité d'essaimage dans cette souche (Mahajan *et al.* 2020). Un travail récent a investigué l'effet des concentrations du sel

(0, 1%, 3.5% et 5%) sur la motilité d'*E. coli* K-12 BW25113. Ils ont constaté que des concentrations élevées de chlorure de sodium exercent un potentiel synergique d'inhibition de la motilité (Li et al. 2021). Il a également été rapporté que la mobilité d'*E. coli* ATCC 25922 en présence de 1% de NaCl était plus importante par rapport au contrôle. Cependant, les concentrations de 2%, 3% et 4% ont progressivement diminué la mobilité bactérienne ($71.7 \pm 4.2a$ mm, $69.7 \pm 3.4b$ mm, et $68.3 \pm 2.5ab$ mm respectivement) (Tomita et Sawai 2017).

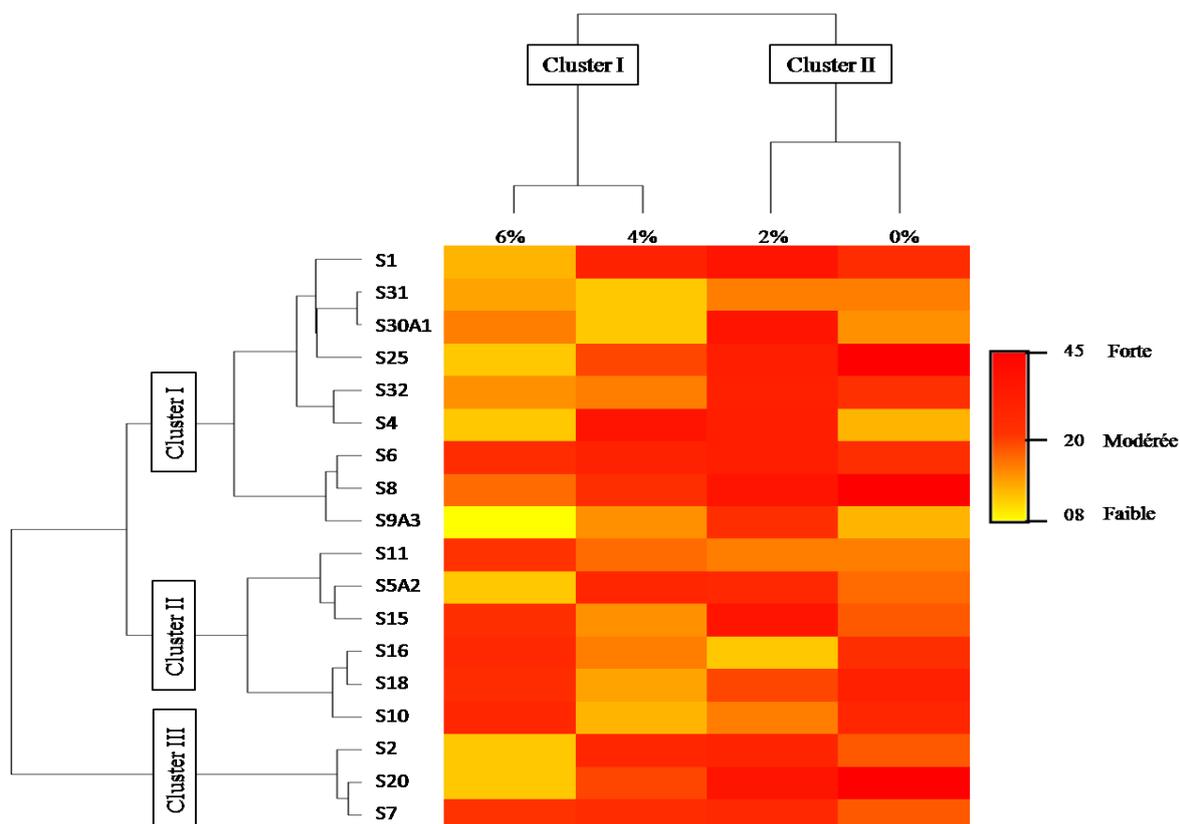


Figure 48. Regroupement hiérarchique de l'effet de chlorure de sodium sur la mobilité de type swarming des souches marines.

Les réponses chimiotactiques représentent un mécanisme permettant aux bactéries de réagir efficacement et rapidement aux changements de la composition chimique de leur environnement (Bren et Eisenbach, 2000). La mobilité bactérienne est l'une des caractéristiques intéressantes de l'écologie et de la physiologie microbienne. Ce trait permet aux bactéries de rechercher des nutriments et représente un mécanisme d'adaptation pour la survie dans des environnements hostiles, notamment le stress salin (Cappelari et al., 2023).

VI.2.2 Réponse chimiotactique *vis-à-vis* des hydrocarbures

Toutes nos souches ont montré une mobilité de type swarming en présence de 0.1% de pétrole brut et de kérosène. Ce trait se traduit par la formation d'un anneau de croissance à partir du point d'inoculation. Une migration plus prononcée indique une capacité accrue des souches à tolérer et à se déplacer. Le chimiotactisme *vis-à-vis* les substances toxiques joue un rôle très intéressant dans le devenir des polluants environnementaux. Ce phénomène a été généralement investigué chez les bactéries mobiles capables de dégrader des hydrocarbures tels que le naphthalène, le benzène, le toluène, l'éthylbenzène et le xylène. Les *Pseudomonas* sont particulièrement intéressantes pour l'étude du chimiotactisme en raison de leur capacité à migrer envers des hydrocarbures hydrophobes (Nisenbaum et *al.*, 2014). La présence de colonies bactériennes autour du point d'inoculation sur la gélose contenant des hydrocarbures indique clairement le chimiotactisme envers ces substances (Borah et *al.*, 2019).

VI.2.2.1 Réponse chimiotactique *vis-à-vis* du pétrole brut

Au cours de l'évaluation de l'effet du pétrole brut sur la mobilité swarming des isolats marins, une variabilité du diamètre de l'anneau d'essaims a été observée, oscillant entre 9 mm et 32 mm. Les souches *Pseudomonas sp.* (S5A2, S15, S8, S7, S10, et S1) ont enregistré les meilleures migrations (32 mm, 30 mm, 29 mm, 28 mm, 27 mm et 25 mm respectivement). En revanche, des migrations moins prononcées ont été observées chez les souches *Pseudomonas sp.* S2 et S11 (23 mm et 24 mm respectivement). Les autres souches ont exprimé une migration faible, avec des valeurs comprises entre 9 mm et 18 mm (Figure 49 et 50).

Il s'est avéré que la présence de 0.1% de pétrole brut induit la formation d'anneaux d'essaims, dont certains confinés au centre de la boîte tandis que d'autres s'étendent sur une plus grande zone. Il est important de mentionner que les motifs dendritiques n'ont pas été observés chez nos souches marines. L'ensemble des résultats prouve que le pétrole brut agit comme un chimioattractant pour la majorité des souches, ce qui confirme les résultats d'une étude antérieure menée par Liang et ses collaborateurs (2021). Ils ont signalé que la souche *P. aeruginosa* 6-1B a démontré un comportement chimiotactique envers divers attractants, dont le pétrole brut, la paraffine et le tridécan. Cette capacité à se déplacer et à ajuster son comportement chimiotactique face au pétrole brut est une caractéristique particulière de cette bactérie (Liang et *al.*, 2021).

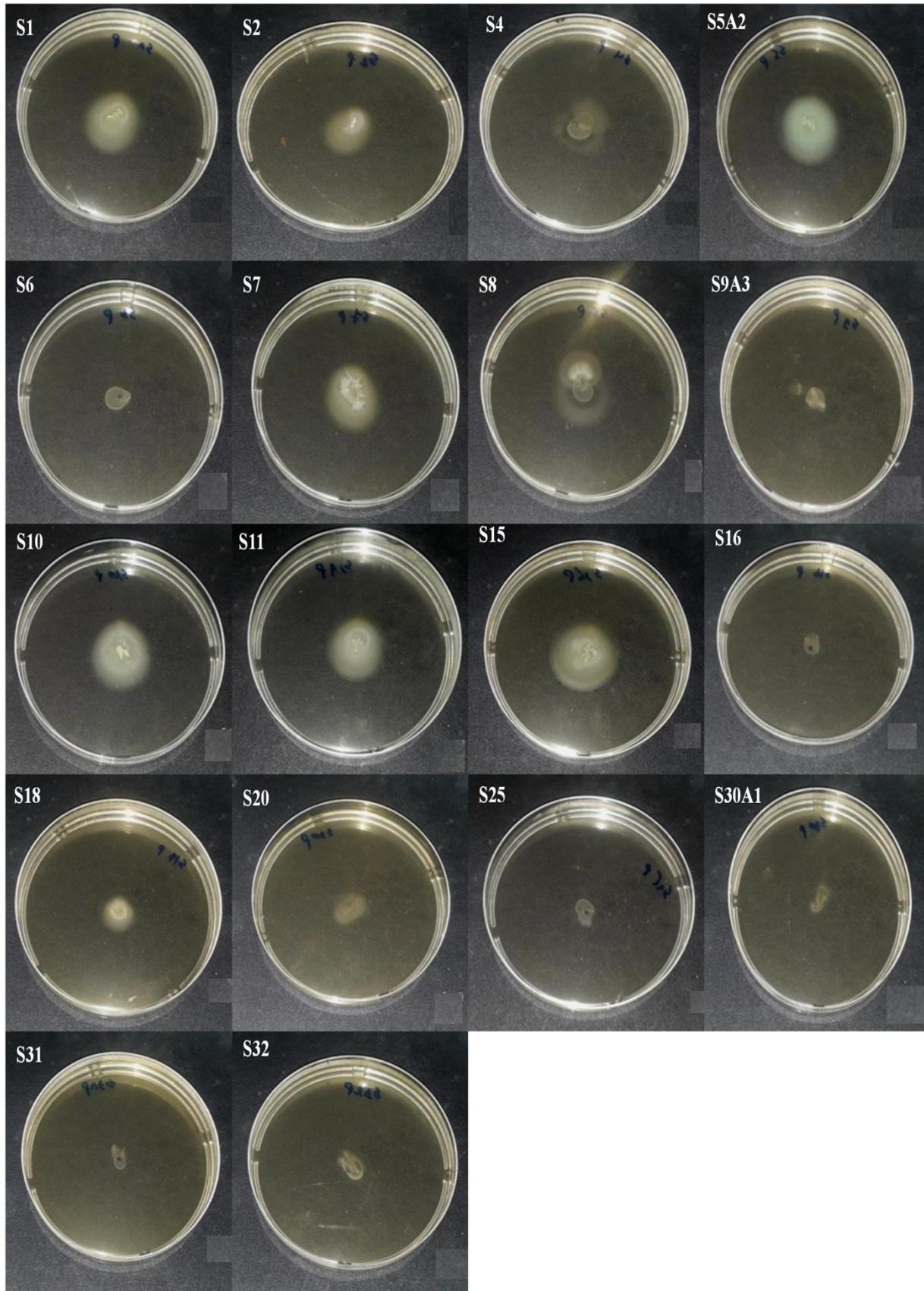


Figure 49. Réponses chimiotactiques (*swarming*) des bactéries marines *vis-à-vis* le pétrole brut.

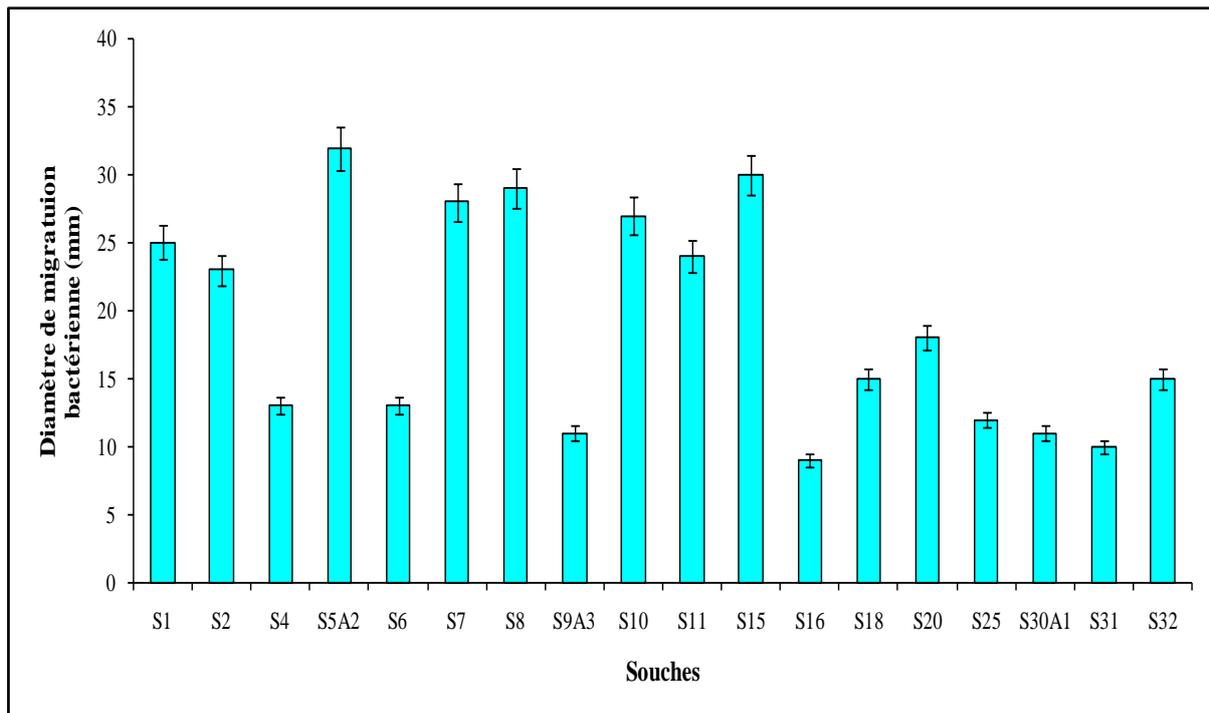


Figure 50. Diamètre de migration bactérienne sur gélose *swarming* en présence de pétrole brut.

Au cours de notre expérimentation, nous avons observée la formation d'un halo transparent autour de l'anneau de croissance pour les souches *Pseudomonas sp.* (S1, S2, S5A2, S7, S10, S11, S15 et S18) et *Escherichia sp.* (S30A1 et S32), indique un pouvoir de dégradation du pétrole brut (John et Okpokwasili, 2012). Cela suggère la capacité des souches à produire des enzymes ou des surfactants capables de dégrader le pétrole brut. Ce pouvoir peut être classé en trois catégories selon la taille de l'halo, avec un pouvoir de dégradation intéressant chez les souches *P. aeruginosa* S5A2 et *Pseudomonas sp.* S10, significative chez *Pseudomonas sp.* (S1, S2, S15 et S18), modérée chez *Pseudomonas sp.* (S7 et S11) et *E. coli* S30A1, faible chez *Escherichia sp.* S32, et aucune capacité de dégradation observée chez les autres souches (figure 51).

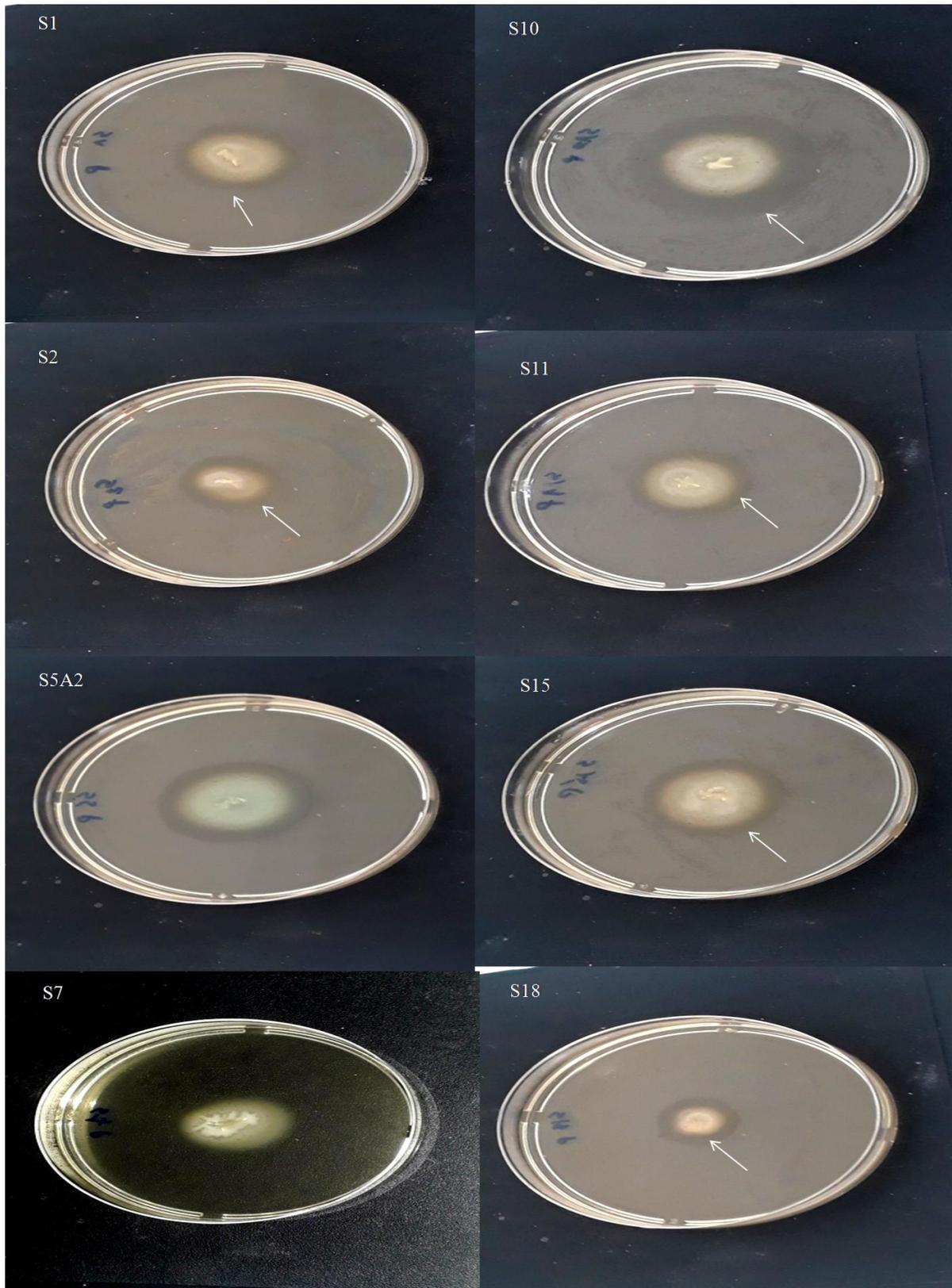


Figure 51. Les zones claires autour de l'anneau de croissance en présence de 0.1% de pétrole brut chez certaines souches marines.

Le chimiotactisme est décrit en tant que trait communautaire permettant aux souches d'utiliser des ressources inaccessibles, telles que le pétrole et ses dérivés. Plusieurs microorganismes ont démontré une aptitude à la dégradation assistée par chimiotactisme des composants des hydrocarbures (Murphy et *al.*, 2022). Liang et *al.* 2021 ont révélé que la *Pseudomonas aeruginosa* 6-1B, ayant un potentiel de biodégradation du pétrole brut, démontrait un chimiotactisme envers le pétrole brut, suggérant que cette souche exhibe une réponse chimiotactique aux hydrocarbures linéaires que le pétrole brut comme substrat de croissance. Cela a conduit à l'hypothèse selon laquelle les souches montreraient une réponse chimiotactique envers le pétrole brut et révélaient des réponses chimiotactiques envers les composés du pétrole brut (Liang et *al.*, 2021).

Ainsi, des bandes distinctes ont été nettement observées autour du point d'inoculation. Certaines souches, telles que *Pseudomonas sp.* (S1, S2, S7, S10, S11, S15 et S18), ont développé deux bandes bien visibles. Néanmoins, la souche *Pseudomonas sp.* S7 a démontré une réponse chimiotactique avec trois bandes (Figure 52). L'apparition des bandes de migration indique que ses souches exhibent un comportement chimiotactique *vis-à-vis* le pétrole brut. Cette observation peut être liée à la capacité des souches bactériennes à établir un gradient attractant par la consommation et la diffusion subséquente de substances chimiques dans le milieu. Toutes les bactéries marines étudiées sont reconnues pour leur capacité de s'accumuler dans des bandes autour du point d'inoculation lors de la réponse chimiotactique. Ces bandes de migration sont observées chez le modèle bactérien, *Escherichia coli* (Jakuszeitn et *al.*, 2021).

Lorsque les cellules d'*E. coli* ont été placées à la fin d'un tube capillaire contenant de l'oxygène et d'une source de carbone, deux bandes de migrations ont été formées, visibles à l'œil nu. L'apparition de ces bandes n'est pas liée à l'hétérogénéité bactérienne, puisque la réutilisation des cellules provenant de la même bande génère également deux nouvelles bandes (Alder, 1966).

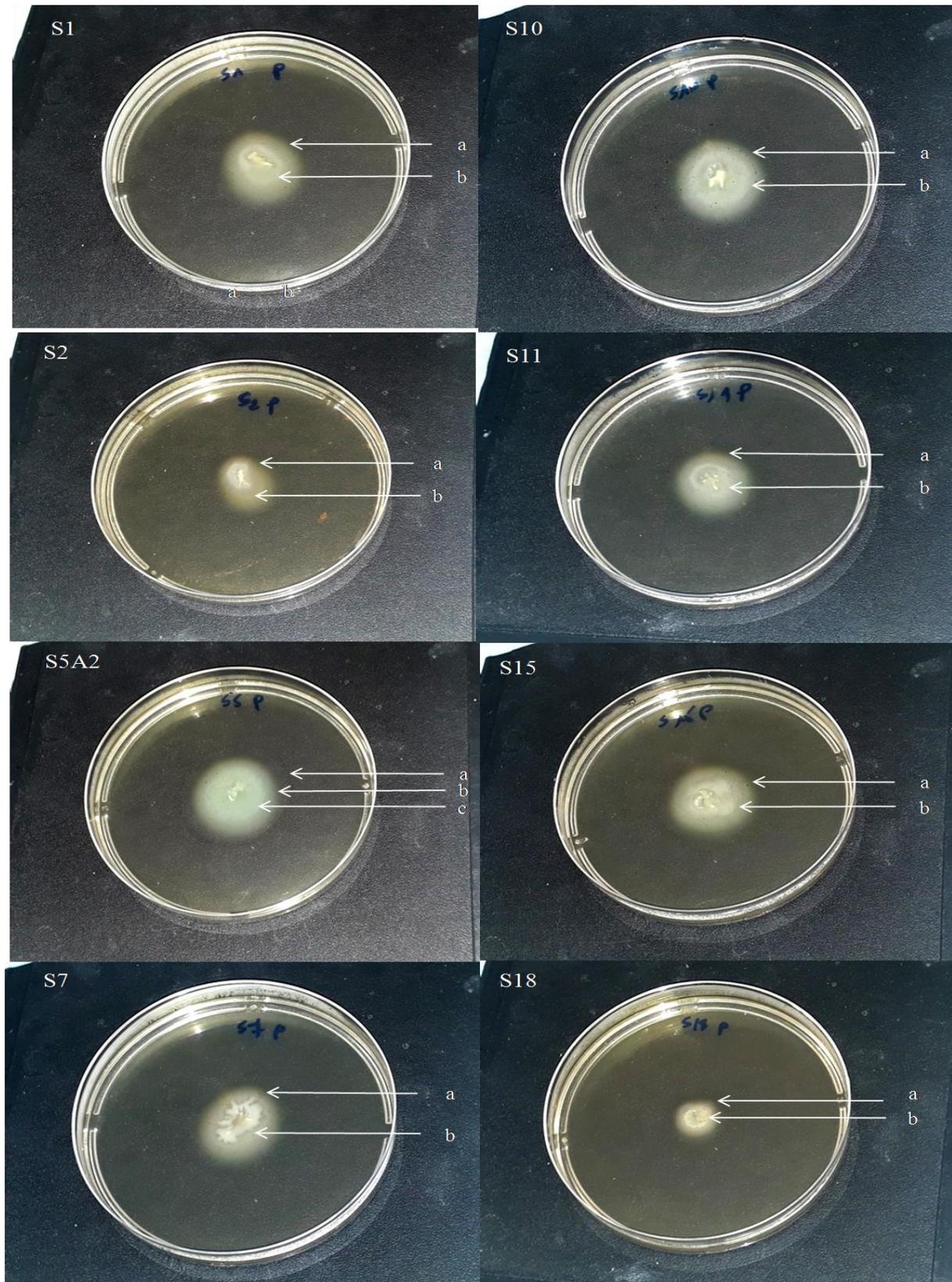


Figure 52. Réponses chimiotactiques (*swarming*) de certaines souches marines vis-à-vis le pétrole brut (0.1%), (a) : Bande extérieure du chimiotactisme, (b, c) : Bande intérieure du chimiotactisme.

Il a été observé qu'en présence d'oxygène et d'une source d'énergie utilisable dans l'anaérobiose, comme le galactose en excès par rapport à l'oxygène, les cellules de la première bande consomment l'oxygène total et une partie du sucre, tandis que celles appartenant à la deuxième bande tendent à utiliser le sucre résiduel en anaérobiose, et *vice-versa*. Cela confirme que les bactéries créent un gradient d'oxygène ou de source d'énergie et se déplacent préférentiellement vers des concentrations élevées de la substance chimique (Alder, 1966).

Le comportement des cellules microbiennes de la bande extérieure dépend du milieu; elles peuvent migrer vers l'attractant préféré et le consommer. Toutefois, les cellules de la bande intérieure sont attirées par des attractants secondaires. Dans ce cas, on peut supposer que la présence d'un ou de plusieurs ingrédients du milieu de culture agissent comme attractants. Une concentration excessive de l'attractant (0.1% de pétrole brut) pourrait également perturber la migration bactérienne (Deloney-Marino, 2013).

Lacal et son équipe ont évalué l'effet des hydrocarbures aromatiques sur le trait chimiotactique par la méthode du plug (bouchon d'agarose). Deux observations significatives ont été tirées de ce travail : la formation d'un anneau de migration à une distance spécifique de la substance testée indique une réponse chimiotactique modérée, tandis qu'un phénotype inhabituel et nouveau a été classé comme un comportement chimiotactique fort. Cela soutient l'idée que les cellules de *P. putida* DOT-T1E sont fortement attirées par le bouchon d'agarose contenant l'hydrocarbure. Une réponse chimiotactique forte a été constatée envers le pétrole brut, soulignant l'importance d'utiliser ces souches dans le traitement des sites pollués par ce type de polluant (Lacal et *al.*, 2011).

Dutta et Singh ont signalé que parmi trois souches de *Pseudomonas*, la première souche *Pseudomonas* PS-I a montré une réponse chimiotactique intéressante envers le pétrole raffiné sur une courte période, tandis que *Pseudomonas* PS-II a réagi lentement à sa présence. La troisième souche, *Pseudomonas* PS-III, n'a montré aucune sensibilité significative. La première souche a été identifiée comme *P. aeruginosa*. En outre, le chimiotactisme bactérien envers les polluants environnementaux est un processus crucial impliqué dans bioremédiation (Dutta et Singh, 2016). Des résultats similaires ont été rapportés par une autre étude, qui a indiqué une réponse chimiotactique négative de *Pseudomonas* envers le pétrole, l'hexane, l'octadécane, le dodécane, le cyclodécane et le benzène. Une recherche ultérieure sur la biodégradation du tétrachlorure de carbone et de naphthalène a démontré que les réponses

chimiotactiques améliorent la biodégradation au niveau des microsomes en laboratoire (Emtiazi et *al.*, 2005).

VI.2.2.2 Réponse chimiotactique *vis-à-vis* du kérosène

D'ailleurs, l'effet du kérosène sur la mobilité de type swarming a été étudié, une seule concentration (0.1%) ayant été testée. Toutes les souches étudiées ont démontré une capacité de migration sur le milieu semi-solide (voir figure 53 et 54). L'intensité de la migration varie avec un diamètre oscillant entre 10 mm et 43 mm. La meilleure migration cellulaire a été enregistrée par la souche *E. coli* S30A1 (43 mm). En revanche, les souches *Pseudomonas sp.* (S15, S20, S5A2, S9A3 et S10) sont catégorisées comme des migratrices modérées, avec des diamètres de migration de 33 mm, 31 mm, 29 mm, 29 mm et 28 mm, respectivement.

Il s'avère clair que les souches *Pseudomonas sp.* (S1, S2, S7, S8, S11, S18 et S25), ainsi qu'*Escherichia sp.* S32 ont présenté une migration faible en présence de kérosène. Un comportement chimiotactique vers le kérosène a également été observé chez la souche *Pseudomonas H*, dont l'étude biochimique et phylogénétique a révélé une similarité de 99.56% avec la souche *P. aeruginosa* PA01. Il est intéressant de noter que l'évaluation de la réponse chimiotactique a été réalisée par l'essai du swimming. Cette étude a indiqué que le niveau de mobilité dépend de la disponibilité des substrats nécessaires à la croissance bactérienne. Il est supposé que les faibles concentrations des sources de carbone solubles ou disponibles activent les chimiorécepteurs impliqués dans le chimiotactisme envers les substrats métabolisables (Nisenbaum et *al.*, 2013). Cependant, les souches *Pseudomonas sp.* (S16, S6, S5A2) et *Escherichia sp.* S31, ont exhibé une migration très faible, avec des diamètres de 10 mm, 11 mm, 18 mm, et 10 mm, respectivement (voir figure 53 et 54).

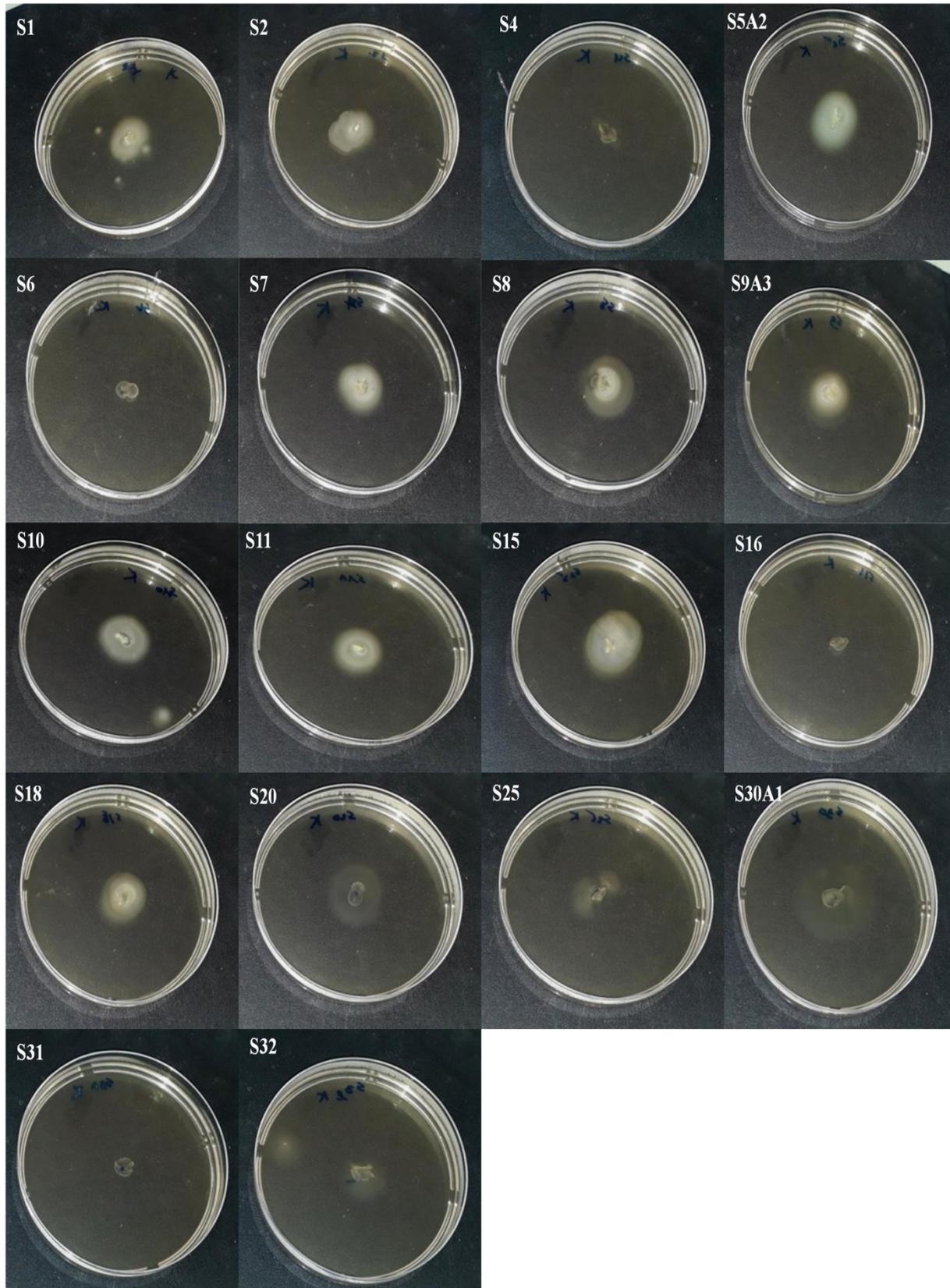


Figure 53. Réponses chimiotactiques (*swarming*) des bactéries marines *vis-à-vis* le kérosène.

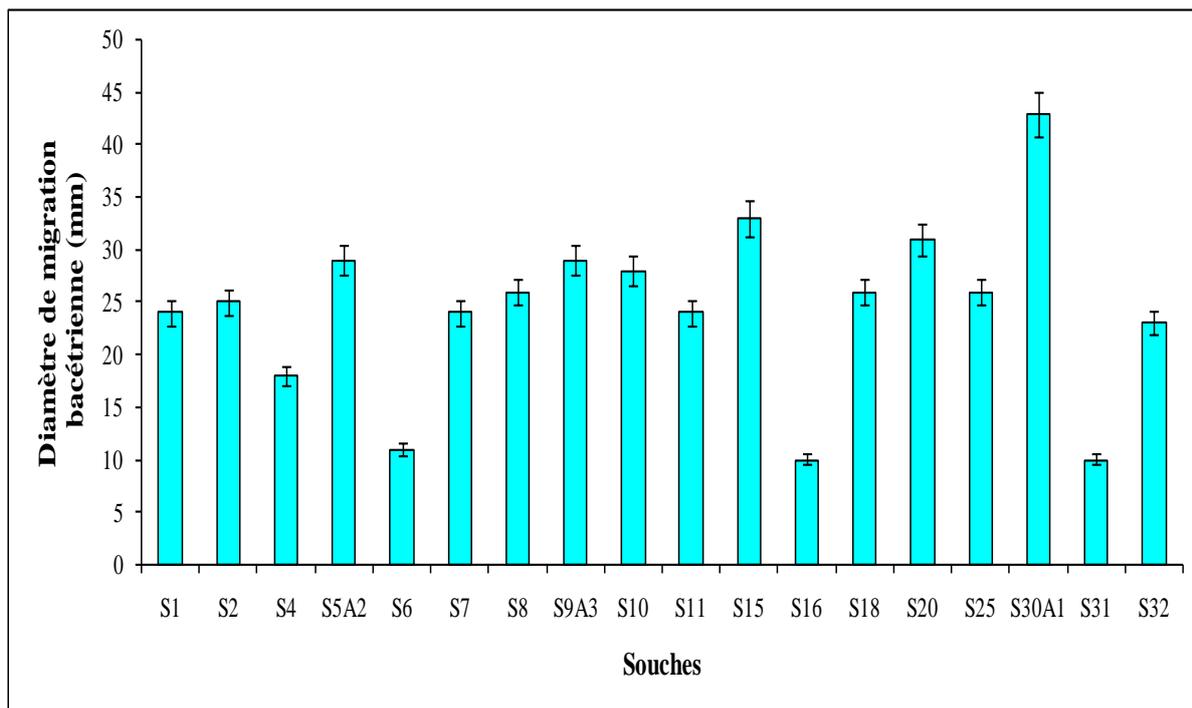


Figure 54. Diamètre de migration bactérienne sur gélose *swarming* en présence de kérosène.

Une croissance optimale a été signalée en présence de kérosène chez trois souches de *Pseudomonas*, indiquant leur aptitude à dégrader et à utiliser le kérosène. Les souches de *Pseudomonas* (PS-I, PS-II et PS-III) étudiées dans ce travail sont capables de former des biofilms et ont démontré un comportement chimiotactique. Cette réponse chimiotactique soutient l'idée de la mobilité bactérienne à travers les hydrocarbures testés. Il est à signaler que l'évaluation du chimiotactisme a été réalisée par l'essai du drop, et la réponse chimiotactique est traduite par l'accumulation d'un nuage cellulaire autour de la goutte d'hydrocarbures après 24 heures d'incubation (Dutta et Singh, 2016).

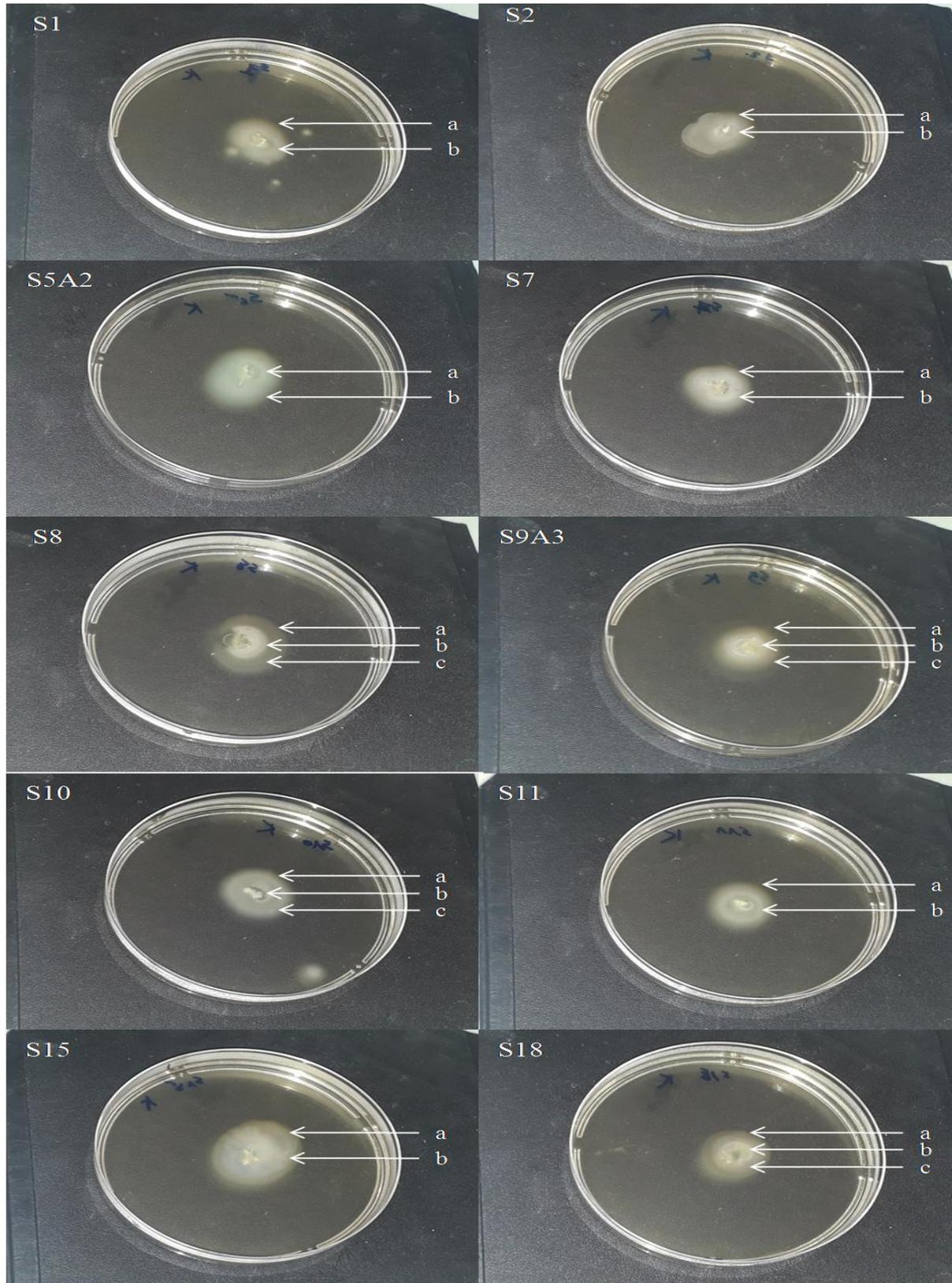


Figure 55. Réponses chimiotactiques (*swarming*) de certaines souches marines vis-à-vis le kérosène (0.1%), (a) : Bande extérieure du chimiotactisme, (b, c) : Bande intérieure du chimiotactisme.

La visualisation du pouvoir de dégradation du kérosène des souches n'a pas été possible. En revanche, l'aspect multibandes a été observé chez certaines souches en présence de kérosène, en particulier les souches *Pseudomonas sp.* (S1, S2, S5A2, S7, S8, S9A3, S10, S11, S15 et S18). La formation de deux bandes de migration a été signalée chez les souches *Pseudomonas sp.* (S1, S2, S5A2, S7, S11 et S15), tandis que les souches *Pseudomonas sp.* (S8, S9A3, S10 et S18) ont démontré leur aptitude à former trois bandes de migration en présence de 0.1% de kérosène. Cette observation corrobore les résultats discutés précédemment dans le volet du chimiotactisme *vis-à-vis* le pétrole brut (voir Figure 55).

La présence d'hydrocarbures pourrait moduler le chimiotactisme chez certaines bactéries. La réponse chimiotactique représente une réponse comportementale, qui permet aux bactéries de percevoir un gradient de concentrations chimiques *via* des chimiorécepteurs et de répondre par un changement de position. Il est rapporté que les bactéries capables de dégrader les hydrocarbures peuvent contrôler leur position et migrer vers les sites contaminés, Comme en témoigne l'exemple pertinent de la bactérie mobile *P. putida* G7, qui peut absorber et co-métaboliser le pyrène, le rendant ainsi biodisponible (Pandolfo et *al.*, 2022). Il semble évident que plusieurs chimioattractants peuvent stimuler la mobilité dirigée, tels que les acides aminés, les composants aromatiques, les composés chlorés, les acides organiques, les phosphates, les sucres, et bien d'autres. D'ailleurs, *P. aeruginosa* a prouvé une réponse chimiotactique positive envers les hydrocarbures aromatiques tels que le toluène et le naphthalène (Sampedro et *al.*, 2015).

La réponse chimiotactique paraît favoriser la biodisponibilité et la biodégradation efficace des hydrocarbures aromatiques polycycliques, qui sont répartis de manière hétérogène dans l'eau et les sols. De nombreuses recherches sont menées pour comprendre et approfondir les connaissances sur le chimiotactisme en vue de sa future application dans la bioremédiation des sites pollués. Le comportement chimiotactique de *P. putida* PRS2000 *vis-à-vis* les composés aromatiques a été étudié pour la première fois en 1984. Cependant, les mécanismes impliqués dans ce processus sont restés obscurs jusqu'au séquençage complet du génome et au développement des outils moléculaires et bioinformatiques (Ahmad et *al.*, 2020).

VI.2.3 Réponses chimiotactiques *vis-à-vis* des métaux lourds

Pour évaluer l'effet des métaux lourds sur le comportement chimiotactique de nos souches, un milieu exempt des métaux ainsi qu'une série des concentrations (0.25 mM, 0.5 mM et 1 mM) ont été testés. Il est important de préciser que les métaux lourds examinés sont le sulfate de cuivre (CuSO_4), le nitrate de plomb ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$), et le chlorure de mercure (HgCl_2). Les réponses chimiotactiques des souches marines à ces trois métaux lourds ont été évaluées en suivant la mobilité de type swarming sur une gélose semi-solide, en mesurant le diamètre de l'anneau de migration en millimètres.

VI.2.3.1 Réponse chimiotactique *vis-à-vis* du cuivre

La mobilité de type swarming en présence de cuivre se manifeste par une zone de migration avec un diamètre oscillant entre 5 et 90 mm. L'analyse de la carte thermique hiérarchique de l'effet du cuivre sur la mobilité de type swarming met en évidence deux principaux clusters : Cluster I (1 mM, 0.5 mM, 0.25 mM) et Cluster II (0). Cependant, nos souches sont également regroupées en deux clusters : Cluster I (S1, S4, et S20) et Cluster II (S2, S15, S5A2, S7, S6, S31, S9A3, S10, S25, S16, S18, S32, S8, S11, et S30A1) (Figure 56).

La mobilité de type swarming en présence de quatre concentrations du cuivre a révélé que l'augmentation de la concentration réduisait le diamètre de la zone de migration, comme observé pour les souches *Pseudomonas sp.* (S1, S20, S8 et S11) et *Escherichia sp.* S4. En outre, il est important de signaler que les concentrations de 0.25 mM et 0.5 mM ont stimulé une mobilité de type swarming chez la majorité des souches, se traduisant par une zone de migration plus importante par rapport au contrôle négatif. Cette observation concerne les souches *Pseudomonas sp.* (S2, S5A2, S7, S15, S16 et S18) et *Escherichia sp.* S32. Toutefois, la concentration de 1 mM de cuivre a réduit le diamètre de la zone de migration pour ces mêmes souches (Figure 56).

Comme illustré dans la figure 56, les souches englobées dans le cluster I, *Pseudomonas sp.* S1, *Escherichia sp.* S4, et *Pseudomonas sp.* S20, ont démontré une forte mobilité dans le milieu exempt de cuivre. Cependant, l'ajout progressif de cuivre (0.25 mM, 0.5 mM et 1 mM) a induit une réduction du diamètre de la migration cellulaire, suggérant un effet inhibiteur du cuivre sur la mobilité ou la croissance chez ces souches marines. Néanmoins, au sein du cluster II, les souches marines alternent entre le phénotype faible à modéré en absence et en

présence de cuivre. Les trois concentrations (0.25 mM, 0.5 mM et 1 mM) exercent un effet relativement similaire sur la capacité de la mobilité chez les bactéries du Cluster II. Ce qui suggère que les mécanismes impliqués dans la mobilité ne sont pas influencés par la présence de cuivre. Pour certaines souches *Pseudomonas sp.* (S16, et S18), le cuivre agit comme un attractant, car sa supplémentation a favorisé la mobilité de type swarming. Il s'avère clair que l'addition de cuivre a réprimé toutes les formes dendritiques dans tous les cas.

La comparaison de l'impact des concentrations de cuivre sur la mobilité de type swarming des souches marines révèle des différences significatives entre l'absence de cuivre et celles de 0.5 mM et 1 mM. Une différence significative a également été notée entre la concentration de 0.25 mM et celle de 1 mM ($P < 0.05$).

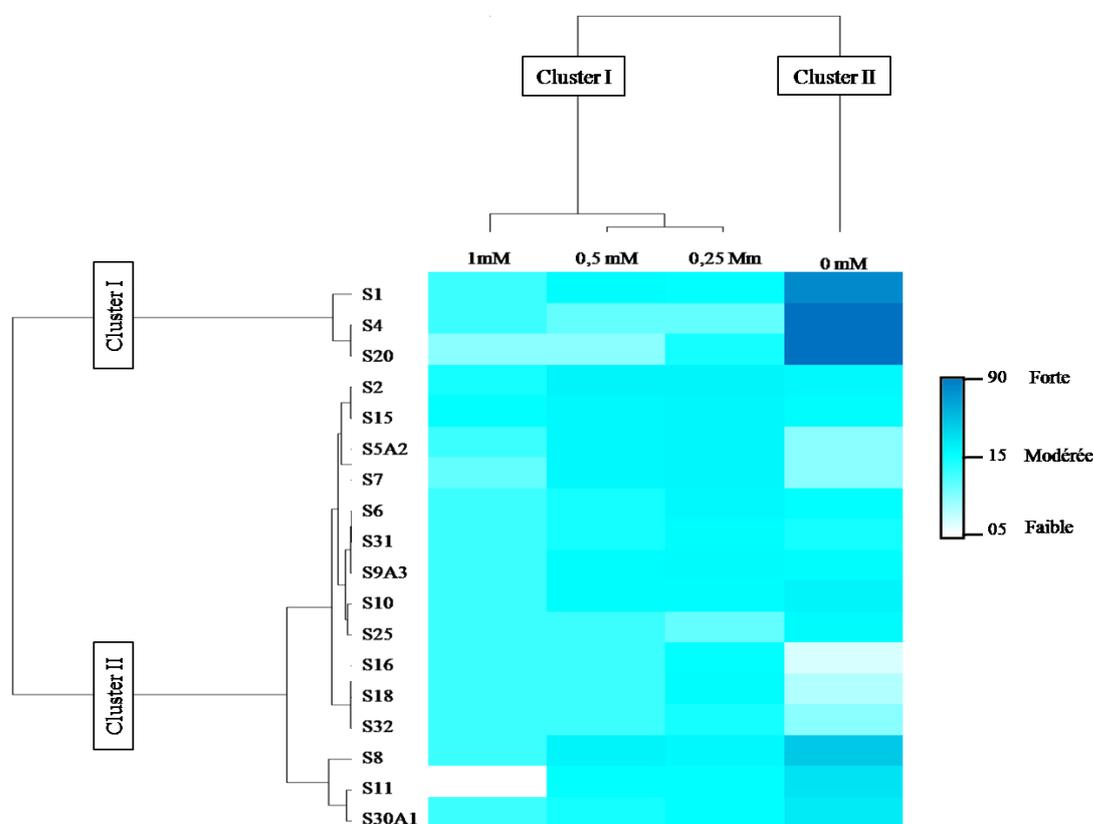


Figure 56. Regroupement hiérarchique de l'effet du cuivre sur la mobilité de type swarming des souches marines.

Nos résultats concordent avec ceux de Khan et ses collaborateurs, qui qualifient le cuivre d'attractant pour les cellules de *Bacillus altitudinis*, activant ainsi la mobilité flagellaire en réponse aux ions cuivriques (Khan et al., 2022). Néanmoins, une autre étude a mis en

lumière un effet répulsif du cuivre, en particulier dans des milieux à forte concentration en ions cuivriques, sans influencer la réponse chimiotactique (Barrionevo et Vullo, 2012).

Certaines études ont signalé une diminution de la mobilité et des réponses chimiotactiques en présence de cuivre et d'autres métaux lourds, suggérant que la réduction de la mobilité flagellaire et du chimiotactisme est une réponse fréquente face au stress induit par les métaux lourds (Tripathi et al., 2022).

Il est suggéré que des concentrations élevées de cuivre agissent comme un signal interne, stimulant une réponse chimiotactique négative. Une étude montre que la présence de *Caulobacter Crescentus* dans un environnement toxique en cuivre entraîne un dimorphisme par une division asymétrique. Cela pousse les cellules essaimantes et poursuivies, morphologiquement et physiologiquement distinctes, à se séparer en deux comme réponse immédiate et bimodale à un stimulus chimique toxique (Lawarée et al., 2016).

VI.2.3.2 Réponse chimiotactique *vis-à-vis* du plomb

L'effet du plomb sur le comportement chimiotactique des souches marines a été investigué. Le diamètre de la migration cellulaire varie entre 6 et 90 mm. D'après le heatmap de regroupement hiérarchique, les concentrations de plomb sont organisées en deux clusters : Cluster I (0.5 mM, 1 mM, 0.25 mM) et Cluster I (0). Toutefois, Nos souches sont réparties en deux principaux clusters : Cluster I (S1, S8, S4 et S20) et Cluster II : sous cluster 1 : (S2, S6, S5A2, S10, S11, S15, S32, S18, et S31) et sous-cluster 2 : (S7, S9A3, S25, S16 et S30A1) (Voir figure 57).

Les résultats obtenus sont illustrés dans la figure 57, et deux constats importants ont été en ressortent. Premièrement, il y'a une diminution du diamètre de l'anneau de la migration avec l'augmentation de la concentration de plomb, ce qui concerne les souches *Pseudomonas sp.* (S1, S8 et S20) et *Escherichia sp.* S4. Deuxièmement, la concentration (0.25 mM) a stimulé une réponse chimiotactique positive chez les souches *Pseudomonas sp.* (S2, S5A2, S6, S7, S9A3, S10, S11, S15, S16, S18 et S25) et *Escherichia sp.* (S31 et S32). À partir de la concentration de 0.5 mM, une diminution de la migration cellulaire a été observée chez ces souches, et cette tendance se maintient jusqu'à la concentration de 1 mM (Figure 57). La comparaison entre l'impact du plomb sur la mobilité de type swarming a révélé des

différences significatives entre la concentration de 0.25 mM et celle de 1mM, ainsi qu'entre la concentration de 0.5 mM et celle de 1 mM ($P<0.05$).

Le premier cluster bactérien montre une migration cellulaire plus importante en absence de plomb. Cependant, l'ajout de plomb à la concentration 0.25 mM a réduit la mobilité bactérienne. Il est intéressant de souligner que la migration cellulaire augmente en présence de 0.5 mM de plomb par rapport à la concentration précédente (0.25 mM), pour les souches *Pseudomonas sp.* (S1 et S8). À cette même concentration de cuivre (0.5 mM), la mobilité des souches *Escherichia sp.* S4 et *Pseudomonas sp.* S20 est réduite.

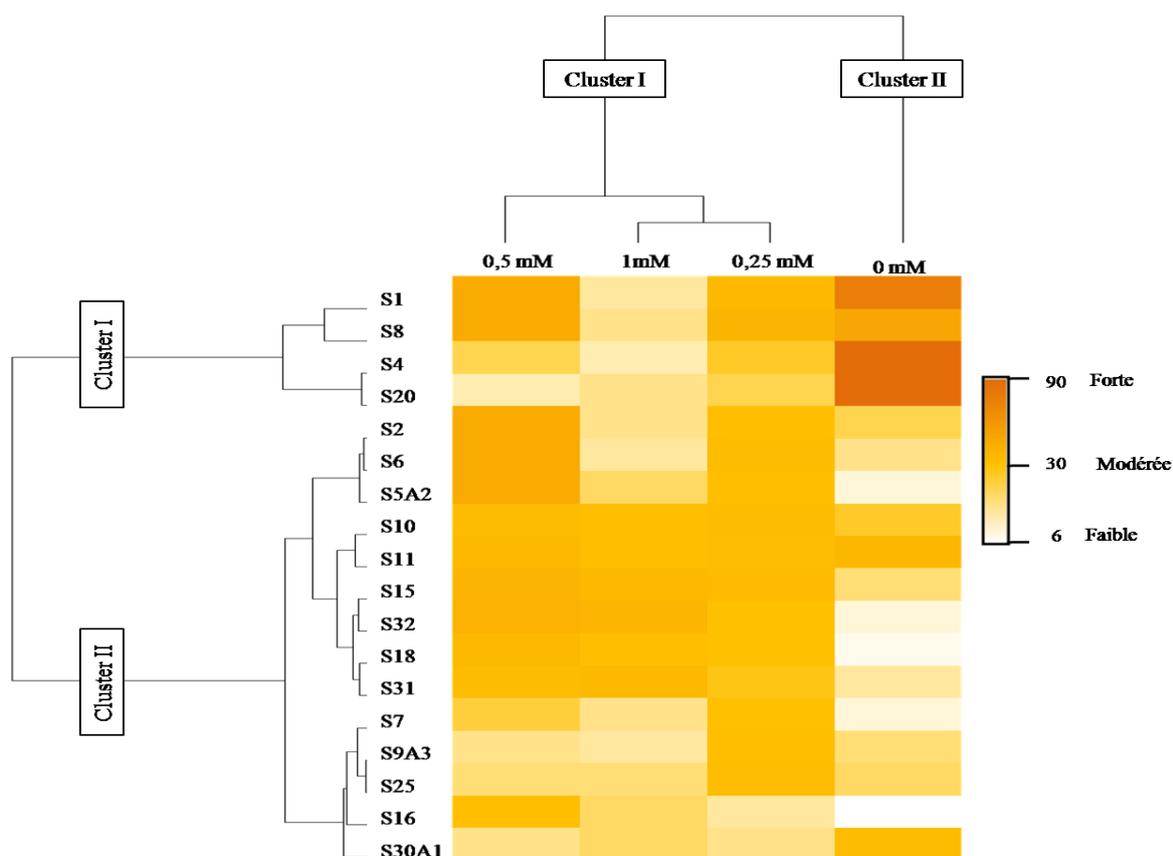


Figure 57. Regroupement hiérarchique de l'effet du plomb sur la mobilité de type swarming des souches marines

À la concentration 1 mM, la mobilité bactérienne est de nouveau réduite chez l'ensemble des souches de ce cluster. Concernant le cluster II, le premier sous-cluster a montré que la présence de plomb favorise la mobilité bactérienne (0.25 mM, 0.5 mM), à l'exception de la concentration 1 mM, ce qui pourrait suggérer la nature chimio-attractante de plomb. Néanmoins, le deuxième sous-cluster se caractérise par une mobilité relativement

faible en présence d'une gamme de concentrations de plomb, fluctuant entre 0.25 mM et 1 mM. La souche *Pseudomonas sp.* S16 a retrouvé une mobilité modérée en présence de 0.5 mM de plomb.

Il est démontré que le plomb exerce un impact négatif, dépendant de sa concentration, sur la machinerie de la biosynthèse des flagelles et, par conséquent, sur la mobilité bactérienne. La mobilité de type swarming est inhibée lorsque les cellules de *B. cereus* CM100B sont exposées aux ions du plomb (Singh et al., 2014). Très peu des travaux ont entamé l'effet du plomb sur la mobilité et le chimiotactisme. Cependant, des isolats de *P. aeruginosa* et *P. fluorescens* provenant de différents écosystèmes ont révélé une attraction positive, manifestée par une mobilité de type swarming en réponse à l'acétate de plomb (Meliani et Bensoltane, 2018).

VI.2.3.3 Réponse chimiotactique *vis-à-vis* du mercure

L'analyse du comportement chimiotactique des souches marines face au mercure révèle qu'en absence de mercure, les souches présentent une mobilité de type swarming, avec un diamètre de la zone de migration oscillant entre 3 et 45 mm. Cependant, l'ajout du mercure au milieu de swarming supprime toute trace de vie et de mobilité, ce qui suggère un effet toxique sur la croissance bactérienne, avec toutes les valeurs dans ce test égales à zéro (Ce résultat n'est pas illustré en photo). Chez les microorganismes, le mercure est hautement toxique, provoquant la dénaturation des protéines, perturbation de la membrane cellulaire, inhibition de la division cellulaire et des activités cellulaires, la destruction des acides nucléiques et l'inhibition de la transcription (Salam et al., 2019).

L'atténuation de la mobilité et l'inhibition de la croissance des bactéries en présence de mercure pourraient dépendre de type de milieu de culture utilisé. Il a été observé que les bactéries cultivées en milieu liquide semblent mieux résister aux effets nocifs du mercure. Ces résultats concordent avec ceux rapportés par Nokman et ses collaborateurs, qui ont étudié l'impact de chlorure de mercure sur la croissance bactérienne et ont noté une absence totale de croissance dans les boîtes de Pétri contenant de chlorure de mercure (Nokman et al., 2019). Une autre étude a examiné le comportement chimiotactique du *P. stutzeri* 273 en analysant le profil transcriptomique en présence des différentes concentrations de mercure. Les résultats ont montré une inhibition significative de la synthèse des flagelles parallèlement à

l'augmentation de la concentration de Hg^{2+} . Néanmoins, en l'absence du stress mercurique, une synthèse d'un flagelle intact a été observée dans l'ensemble des cellules. En outre, une diminution concomitante de l'expression de la flagelline (FliC), une protéine clé dans la formation des flagelles, a été détectée avec l'augmentation du Hg^{2+} . Cela confirme que le stress mercurique affecte négativement le développement des flagelles, ainsi que des processus associés tels que la mobilité, la chimiotaxie et la formation du biofilm par la suite. L'inhibition devient particulièrement évidente lorsque la concentration de mercure dépasse 50 μM (Zheng et al., 2018).

**Chapitre VII. *Potentiel
biotechnologique des
souches marines***

VII Potentiel biotechnologique des souches marines

VII.1 Hydrophobicité cellulaire et potentiel émulsifiant

VII.1.1 Hydrophobicité cellulaire

Pour étudier l'hydrophobie cellulaire de surface concernant le pétrole brut et le kérosène, une comparaison a été faite entre la densité optique initiale et la densité optique résiduelle. Les résultats de l'investigation de l'hydrophobie cellulaire sont illustrés dans la figure 58. L'hydrophobicité cellulaire *vis-à-vis* le pétrole brut varie entre 17.83% et 61.33%. La souche *Pseudomonas sp.* S11 présente une hydrophobie notable de 61.33% envers le pétrole brut ($P < 0.05$). La plus faible valeur de l'hydrophobicité est observée chez la souche *Escherichia coli* S30A1 (17.83%) *vis-à-vis* le pétrole. Il est évident que la présence de pétrole brut augmente significativement l'hydrophobicité de la surface cellulaire chez la majorité des isolats marins ($P < 0.05$).

En ce qui concerne le kérosène, la majorité des isolats marins présente un niveau modéré d'hydrophobicité varie entre 11.67% et 59.33%, à l'exception notable des souches *Pseudomonas sp.* (S7 et S16) (53.17% et 59.33% respectivement), qui démontrent un degré d'hydrophobicité élevé ($P < 0.05$), comme illustré dans la figure 58. L'hydrophobicité cellulaire la plus faible est enregistrée par les souches *Pseudomonas sp.* S25 et *Escherichia coli* S30A1 *vis-à-vis* du kérosène (11.67% et 12.33% respectivement). Lorsqu'on compare l'hydrophobicité des isolats marins pour les différents hydrocarbures testés, il apparaît évident qu'elles présentent des caractéristiques hydrophobes relativement similaires. Toutefois, il convient de souligner que cette caractéristique semble être particulièrement plus prononcée en réponse au pétrole brut.

D'après les résultats de l'analyse BATH, il est évident que les différentes souches présentent une gamme de caractéristiques hydrophobes, oscillant entre une forte hydrophobicité et une hydrophilie marquée. Pour mieux comprendre, les souches ont été classées en fonction d'un indice d'hydrophobicité : celles présentant un indice supérieur 80% sont considérées comme très hydrophobes, tandis que celles dont l'indice est inférieur à 30% sont considérées comme fortement hydrophiles, comme le décrivent Wang *et al.* 2019. Selon ces critères, nos résultats ont révélé qu'environ 77.78% des souches présentaient une préférence marquée pour les interactions hydrophobes avec le pétrole brut. Cependant, 22.22% des souches ont montré une tendance hydrophile importante lorsqu'elles ont été

exposées au pétrole brut. En ce qui concerne le kérosène, environ 66.67% des souches présentaient différentes caractéristiques hydrophobes, tandis que 33.33% des souches manifestaient un phénotype hydrophile en présence de kérosène. En comparant l'hydrophobicité des souches marines pour les deux hydrocarbures testés, il s'avère évident que les souches marines présentent une préférence marquée pour les interactions hydrophobes avec le pétrole brut. Ces résultats coïncident en partie à ceux rapportés par Priji et ses collègues, qui ont observé des indices d'hydrophobicité significatifs chez les souches de *Pseudomonas sp. vis-à-vis* du pétrole brut par rapport au kérosène (Pijit et al., 2017).

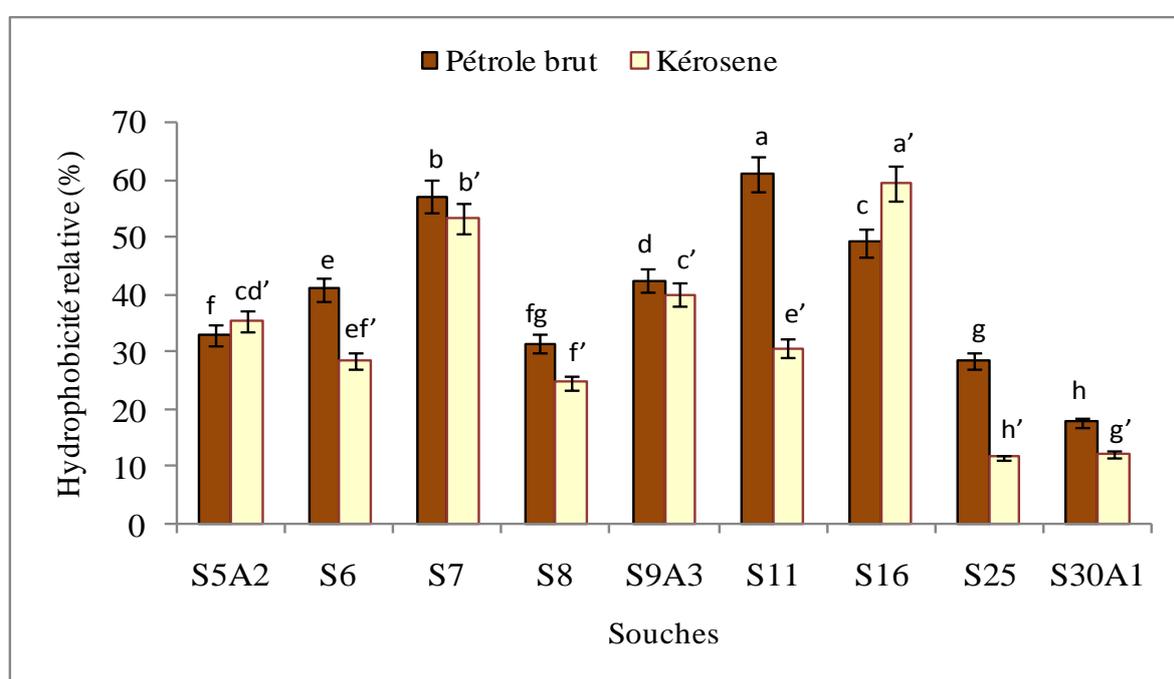


Figure 58. Hydrophobicité des souches marines *vis-à-vis* du pétrole brut et du kérosène, après 24h d'incubation à 37°C. Les données représentent les moyennes \pm SD de trois expériences ($P < 0.05$). Les lettres a, b, c, d, e, f, fg, g, h et a', b', cd', e', f', g', h' représentent des valeurs significativement différentes ($P < 0.05$).

Notamment, les résultats obtenus ont mis en évidence l'hydrophilie de la souche *E. coli* S30A1, ce qui est cohérent avec les résultats d'une autre étude, rapportant que la majorité des cellules d'*E. coli* K51 ayant des propriétés hydrophiles (Zita et Hermansson, 1997). *E. coli* en tant qu'un organisme hôte pour la dégradation du pétrole brut, pourrait ne pas être idéal en raison de la nature hydrophile de ses cellules, qui ne favorise ni l'attachement aux hydrocarbures ni leur dégradation (Pete et al., 2021). Il est essentiel de comprendre

l'hydrophobicité des surfaces microbiennes, car elle joue un rôle crucial dans l'adhésion aux surfaces abiotiques et biotiques, ainsi que dans la pénétration dans les tissus de l'hôte. Les propriétés hydrophobes des bactéries sont une composante importante de divers processus bénéfiques, tels que la dégradation des hydrocarbures. Certains contaminants environnementaux, tels que le toluène, sont reconnus pour leur forte hydrophobie et leur toxicité qui perturbent la membrane cellulaire. Les bactéries hydrophobes ont la capacité de s'accumuler sur ces composés et de faciliter leur dégradation (Krasowska et Sigler, 2014).

VII.1.2 Pouvoir émulsifiant

L'indice d'émulsification a servi de mesure quantifiable pour évaluer la capacité des souches étudiées à émulsifier les hydrocarbures. Le criblage préliminaire des souches est basé sur leur capacité à émulsifier les deux hydrocarbures (pétrole brut et kérosène). Il est intéressant de noter que neuf souches ont présenté un potentiel d'émulsification, démontrant des activités d'émulsification contre le pétrole brut dans une fourchette de 29.27% à 59.79%. La meilleure activité émulsifiante a été signalée chez la souche *Pseudomonas sp.* S25 (59.79%). Un potentiel émulsifiant plus faible a été observé chez la souche *Pseudomonas sp.* S16 (29.27%). Dans le cas du kérosène, toutes les souches ont présenté un pouvoir émulsifiant avec des indices E_{24} variant entre 17.38% et 58.57%, comme le montre la figure 59. Il est important de noter que l'ensemble des souches a prouvé un potentiel émulsifiant significatif du pétrole brut ($P < 0.05$).

Une capacité d'émulsification intéressante a été observée chez 44.44% des souches testées. Parmi celles-ci, la performance la plus remarquable a été affichée par la souche *Pseudomonas sp.* S25, avec un indice d'émulsification intéressant de 59.79% lorsqu'elle interagit avec du pétrole brut. En revanche, les souches *Pseudomonas sp.* (S7 et S16) ont présenté des indices d'émulsification comparables de 58.19% lorsqu'elles ont été exposées au kérosène. Il convient de mentionner que les indices d'émulsification des souches *P. aeruginosa* S5A2 et *Pseudomonas sp.* S8 étaient également très similaires (50%). Il est constaté que le potentiel d'émulsification du pétrole brut est nettement plus élevé que celui du kérosène dans le cadre de cette étude.

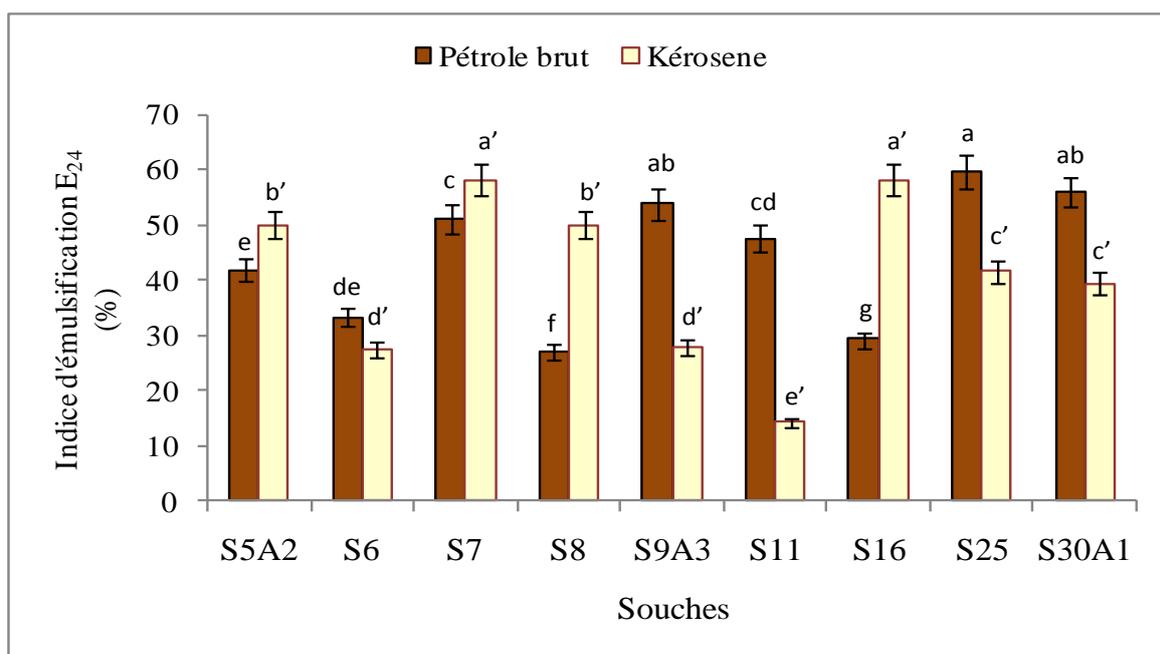


Figure 59. Potentiel émulsifiant des souches marines, *vis-à-vis* du pétrole brut et du kérosène après 24h d'incubation à 37°C. Les données représentent les moyennes \pm SD de trois expériences ($P < 0.05$). Les lettres a, b, c, d, e, f, g et a', b', c', d', e', f', g', h' représentent des valeurs significativement différentes ($P < 0.05$).

De manière remarquable, notre évaluation de l'indice d'émulsification révèle un trait convaincant partagé par une proportion significative de souches de *Pseudomonas sp.*, qui démontrent des capacités d'émulsification exceptionnelles lorsqu'elles sont confrontées au pétrole brut et au kérosène. Notamment, le meilleur potentiel d'émulsification a été observé chez les souches de *Pseudomonas*, avec des indices notables enregistrés dans leurs interactions avec le diesel, le kérosène et l'huile du moteur (Viramontes-Ramos et al., 2010).

L'émulsion se produit lorsque des hydrocarbures liquides et de l'eau sont mélangés lors de la fermentation ou de la bioremédiation. La dispersion d'un liquide dans un autre nécessite la présence d'un tensioactif pour stabiliser cette dispersion. Les bactéries sont capables de produire des tensioactifs ou des émulsifiants, ce qui permet de stabiliser les émulsions. Parfois, les microorganismes peuvent avoir une activité émulsifiante envers les hydrocarbures même en absence de croissance cellulaire ou l'absorption des hydrocarbures. Cela suggère que l'émulsification est liée aux propriétés de la surface cellulaire, favorisée par l'attachement à l'interface huile-eau *via* des interactions hydrophobes (comme mentionné précédemment dans la discussion sur l'indice d'hydrophobicité, BATH) (Dorobantu et al., 2004).

Le pouvoir émulsifiant pourrait être expliqué par l'aptitude des souches à produire des bioémulsifiants, qui sont des molécules amphipathiques avec des fractions hydrophobes et hydrophiles. Ces molécules agissent à l'interface de fluides de polarités différentes (huile/eau, eau/huile) (Nogueira et al., 2020).

VII.2 Biosorption des métaux

La biosorption des métaux lourds par les souches marines présentant un profil intéressant de tolérance à deux métaux lourds, cuivre et plomb, a été évaluée et exprimée en pourcentage sur la figure 60. Concernant la biosorption du cuivre, toutes les souches testées ont démontré une capacité biosorption variant entre 34.6% et 48.15%. La meilleure valeur de biosorption a été observée chez la souche *P. aeruginosa* S9A3 (48.15%), suivie par la souche *P. aeruginosa* S5A2 (45.15%) et la souche *E. coli* S30A1 (44.2%). En revanche, le pouvoir de biosorption le plus faible a été enregistré chez la souche *Pseudomonas* sp. S10 (34.6%).

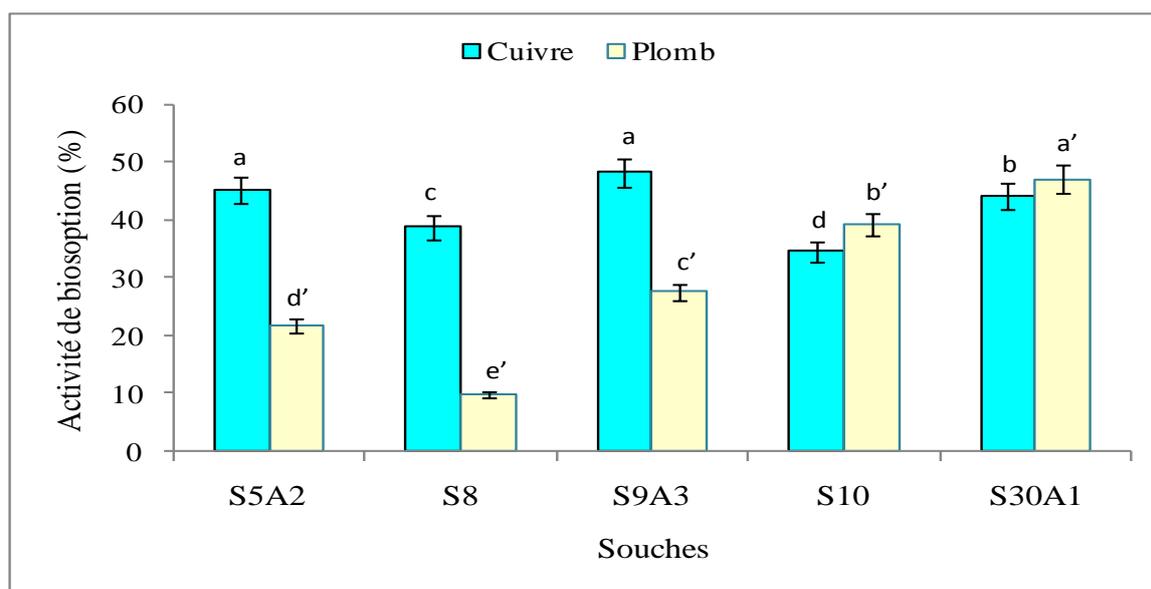


Figure 60. Potentiel de biosorption de cuivre et de plomb après 40h d'incubation. Les données représentent les moyennes \pm SD de trois expériences ($P < 0.05$). Les lettres a, b, c, d et i et a', b', c', d', e' représentent des valeurs significativement différentes ($P < 0.05$).

En ce qui concerne la biosorption du plomb, toutes les souches testées ont montré une capacité d'accumulation de ce métal. Les valeurs de biosorption fluctuent entre 9.95% et 47.15%. La meilleure accumulation de plomb a été observée chez la souche *E. coli* S30A1

(47.15%), suivie par la souche *Pseudomonas sp.* S10 (39.35%). Cependant, la biosorption la plus faible a été enregistrée par la souche *Pseudomonas sp.* S8 (9.95%) (Figure 60).

En comparant le profil d'accumulation des souches *vis-à-vis* les deux métaux, il est évident que les souches tendent à accumuler le cuivre plus que le plomb. Toutefois, les souches *E. coli* S30A1, *P. aeruginosa* S5A2 et *P. aeruginosa* S9A3 ont démontré une biosorption intéressante pour les deux métaux. Une étude a montré que la souche *P. putida* CZ1 est capable d'éliminer 87.2% de cuivre en présence de 24.2 mg/L, ce qui indique sa capacité à croître en présence de concentrations élevées de cuivre. Cette capacité est liée à son potentiel significatif de biosorption des métaux en conditions aérobies, ce qui rend cette souche prometteuse pour bioremédiation des sites pollués par les métaux lourds (Chen et al., 2007).

Une autre étude a rapporté que les espèces de *Pseudomonas sp.* ont un potentiel d'élimination du cuivre à partir des eaux usées, avec une valeur maximale d'adsorption égale à 38.62 mg de Cu²⁺.g⁻¹ (Zhang et al., 2016). Les souches de *Pseudomonas sp.* ont démontré une capacité d'élimination de 37% pour le plomb et de 29% pour le cuivre, ce qui suggère que ces souches pourraient constituer une nouvelle communauté microbienne à exploiter dans la bioremédiation améliorée des sites pollués par les métaux lourds (Naz et al., 2016). De plus, il a été démontré qu'*Escherichia coli* est un sorbant intéressant pour l'élimination du plomb (Pb(II)) des milieux aqueux, avec une capacité de biosorption de 166.3 mg.g⁻¹ (Rind et al., 2023).

VII.3 Profil de production des activités enzymatiques

Les isolats ont été soumis à un criblage sur milieu solide en vue de la production de neuf enzymes extracellulaires (amylase, cellulase, chitinase, Gélatinase, protéase, phospholipase A, phospholipase C, lipase, et estérase). Ces activités enzymatiques ont été détectées sur la gélose nutritive à 6% de chlorure de sodium, supplémentée de substrats appropriés pour chaque type de dégradation (amidon, cellulose, chitine, gélatine, lait écrémé, émulsion de jaune d'œuf, huile d'olive et tween 80), comme illustré dans la figure 61. Le criblage enzymatique a révélé que les enzymes les fréquemment détectées étaient la gélatinase, la lipase, la phospholipase A, la phospholipase C, la protéase et la cellulase avec un même taux de détection (77.78%). Les activités amylolytique et estérasique étaient moins

fréquentes (66.67%; 61.11%, respectivement). En outre, un ratio de 16.67% des isolats marins produisait l'enzyme chitinase.

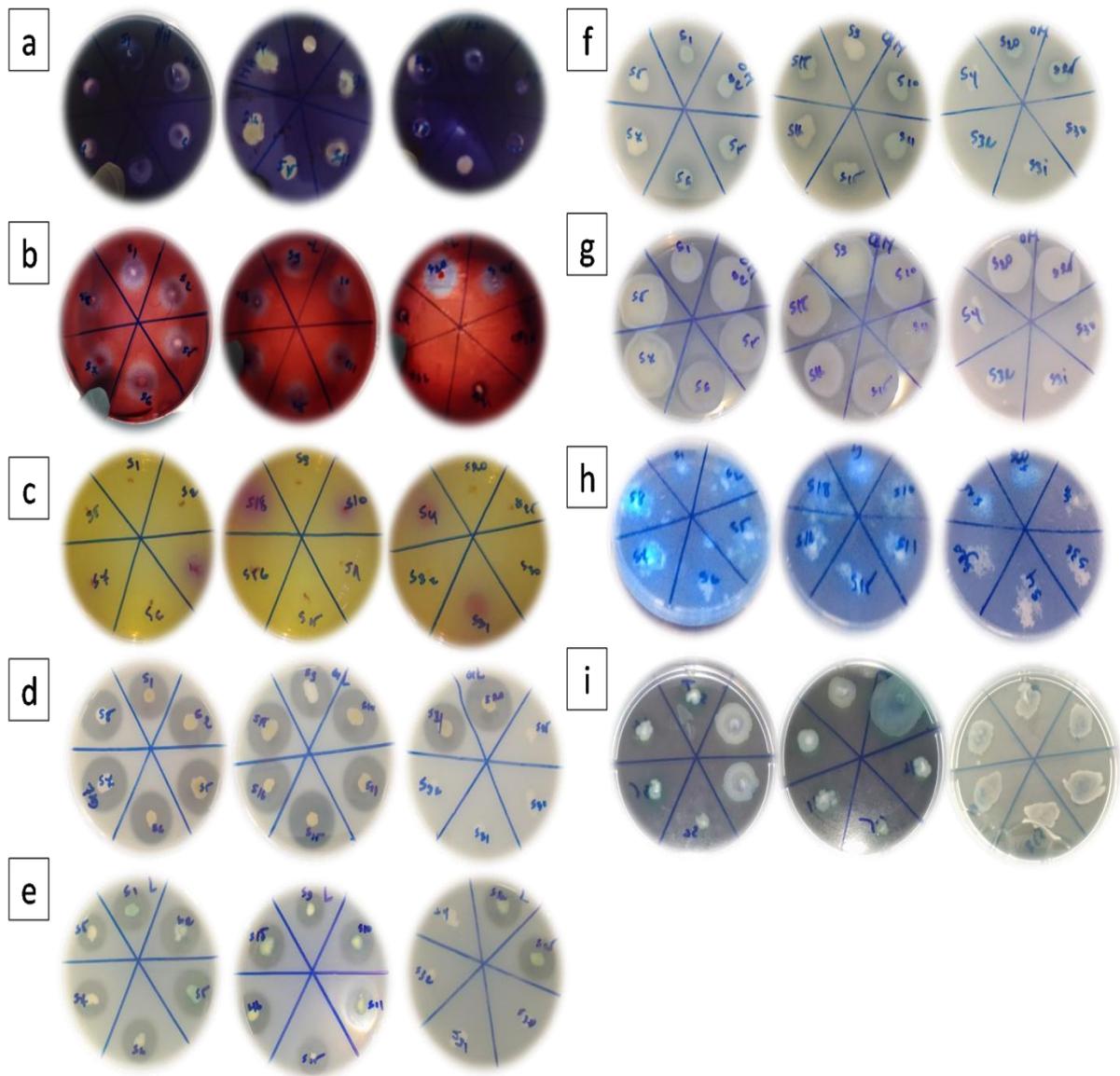


Figure 61. Détection des activités enzymatiques extracellulaires sur gélose. **a** : Amylase, **b** : Cellulose, **c** : Chitinase, **d** : Gélatinase, **e** : Protéase, **f** : Phospholipase A, **g** : Phospholipase C, **h** : Lipase, **i** : Estérase.

Selon la carte thermique du regroupement hiérarchique de la production enzymatique en présence de 6% de chlorure de sodium, les variables étudiés se répartissent présentés par deux clusters majeurs; le premier cluster inclut les enzymes fortement produites (amylase, cellulase, protéase, phospholipase A, et gélatinase), tandis que le second cluster englobe les

activités enzymatiques modérément ou faiblement exprimées (phospholipase C, lipase, chitinase, et estérase), comme l'indique la figure 62.

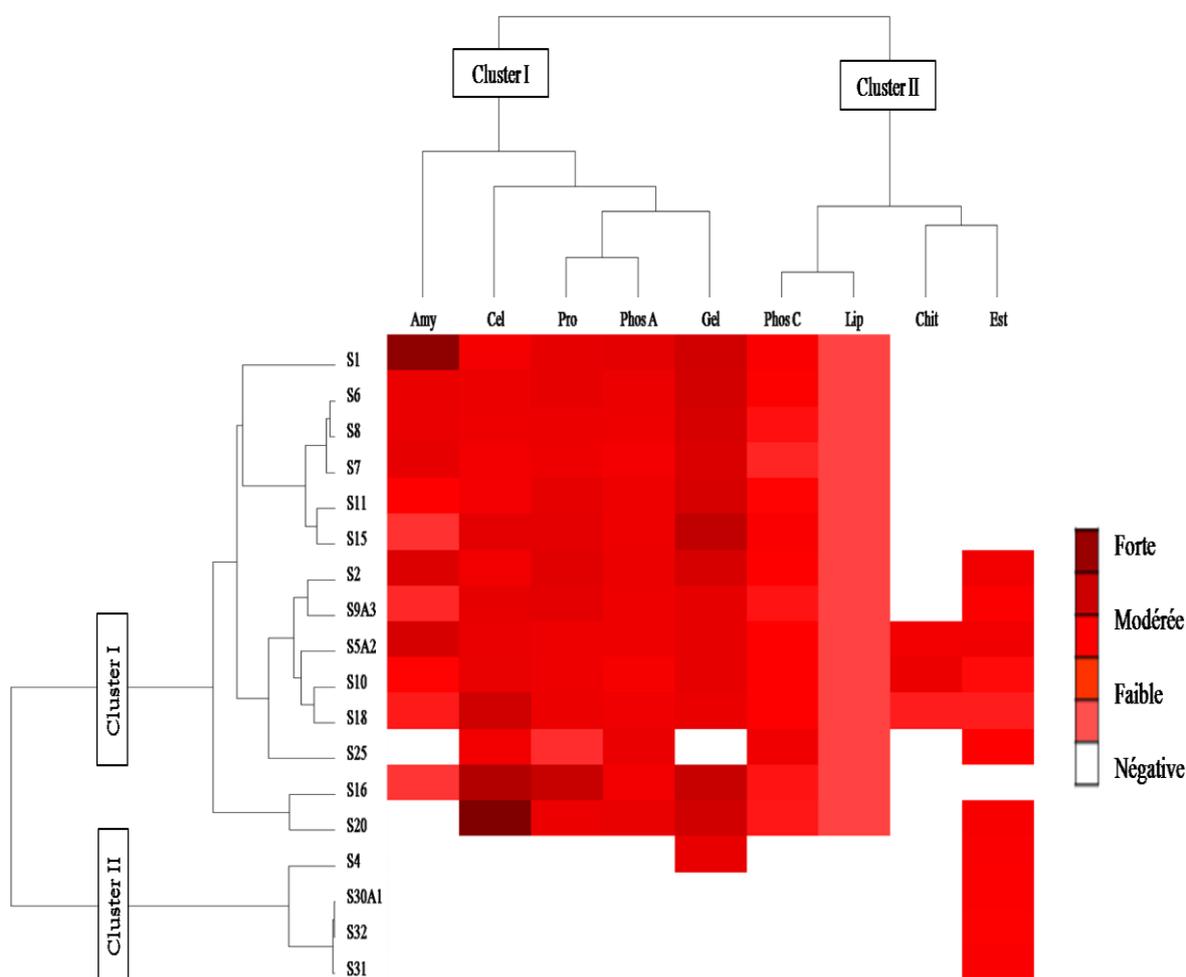


Figure 62. Carte thermique hiérarchique montrant les activités enzymatiques extracellulaires.

Est : Estérase, **Gel :** gélatinase, **Lip :** lipase, **Phos C :** phospholipase C, **Phos A :** phospholipase A, **Pro :** protéase, **Chi :** chitinase, **Cel :** cellulose, **Amy :** amylase.

En ce qui concerne le profil enzymatique des souches marines, les souches étudiées sont organisées en deux clusters distincts, le premier cluster regroupe les souches de *Pseudomonas sp.* (S1, S6, S8, S7, S11, S15, S2, S9A3, S5A2, S10, S18, S25, S16 et S20) présentant un profil enzymatique marqué. Toutefois, le cluster II inclut les souches *Escherichia sp.* (S4, S30A1, S31 et S32). Il est important de souligner que les souches *Pseudomonas sp.* (S5A2, S10 et S18) démontraient une capacité appréciable à produire les neuf enzymes (amylase, cellulase, protéase, phospholipase A, gélatinase, Phospholipase C,

lipase, chitinase, et estérase) en utilisant les substrats appropriés, tandis que les souches *Pseudomonas sp.* (S2 et S9A3) révélaient huit activités enzymatiques (amylase, cellulase, protéase, phospholipase A, gélatinase, phospholipase C, lipase et estérase), Il en est de même pour les souches *Pseudomonas sp.* S16 (amylase, cellulase, protéase, phospholipase A, gélatinase, Phospholipase C et lipase) et *Pseudomonas sp.* S20 (cellulase, protéase, phospholipase A, gélatinase, phospholipase C, lipase et estérase). En outre, les souches *Pseudomonas sp.* (S1, S6, S8, S7, S11 et S15) produisaient sept enzymes (amylase, cellulase, protéase, phospholipase A, gélatinase, phospholipase C, et lipase). Néanmoins, la souche *Pseudomonas sp.* S25 révélait six activités enzymatiques (cellulase, protéase, phospholipase A, phospholipase C, lipase et estérase). En ce qui concerne le groupe des *Escherichia sp.*, la souche *Escherichia sp.* S4 démontrait une capacité à produire deux enzymes (gélatinase et estérase), les souches *Escherichia sp.* (S30A1, S31 et S32) produisaient une seule enzyme (Estérase). L'activité hydrolytique la plus élevée a été observée pour *Pseudomonas sp.* S1 (amylase), *Pseudomonas sp.* S16 et S20 (cellulase), *Pseudomonas sp.* S16 (protéase) et *Pseudomonas sp.* S15 et S16 (gélatinase) (figures 61 et 62). Ces résultats indiquent une forte production d'enzymes dans le groupe *Pseudomonas*, comparativement au groupe *Escherichia*.

Ces résultats sont soutenus par une étude indiquant l'aptitude de *P. aeruginosa*, provenant des eaux usées des hôpitaux, à produire l'amylase (75%), la lipase (82.1%), la protéase (57.1%) et la gélatinase (10.7%) (Alam et Imran, 2018). Le genre *Pseudomonas* est largement étudié pour la production de lipases et de phospholipase (Borrelli et Trono, 2015). Il est également rapporté que la *Pseudomonas* produisait la chitinase (Folders et al., 2001), de l'estérase (Noor et al., 2020) et de la cellulase (Zhang et al., 2016).

Les halozymes présentent des caractéristiques enzymatiques similaires à celles de leurs homologues non halophiles. Cependant, la principale différence réside dans leurs caractéristiques structurelles, qui leur permettent de fonctionner dans des conditions difficiles. Ces enzymes sont reconnues pour leur importance biotechnologique, en particulier, la remédiation environnementale (Moreno et al. 2013; Purohit et al. 2016; Gupta et al. 2016). *P. aeruginosa* est largement utilisé dans les processus biotechnologiques en raison de sa production considérable d'enzymes, telles que les amylases et les protéases (Tahoun et Hamza, 2022). D'ailleurs, les lipases produites par *P. fluorescens* sont exploitées dans la production de biodiesel et le dégomme des huiles végétales, tandis que les lipases

synthétisées par *P. mendocina*, *P. alcaligenes* et *P. glumae* sont utilisés en tant que des additifs dans les détergents (Borrelli et Trono, 2015).

Il est rapporté que les enzymes halophiles d'intérêt industriel incluent généralement l' α -amylase, la cellulase, la chitinase, l'estérase, la lipase et la protéase. C'est pourquoi ces enzymes sont prometteuses pour les applications industrielles impliquant une salinité élevée ou des conditions hypersalines. Ces enzymes sont des catalyseurs de choix pour le traitement des déchets hypersalins, la synthèse de peptides, la fabrication de détergents, l'industrie textile et la production de produits pharmaceutiques et alimentaires (Kumar et al., 2016).

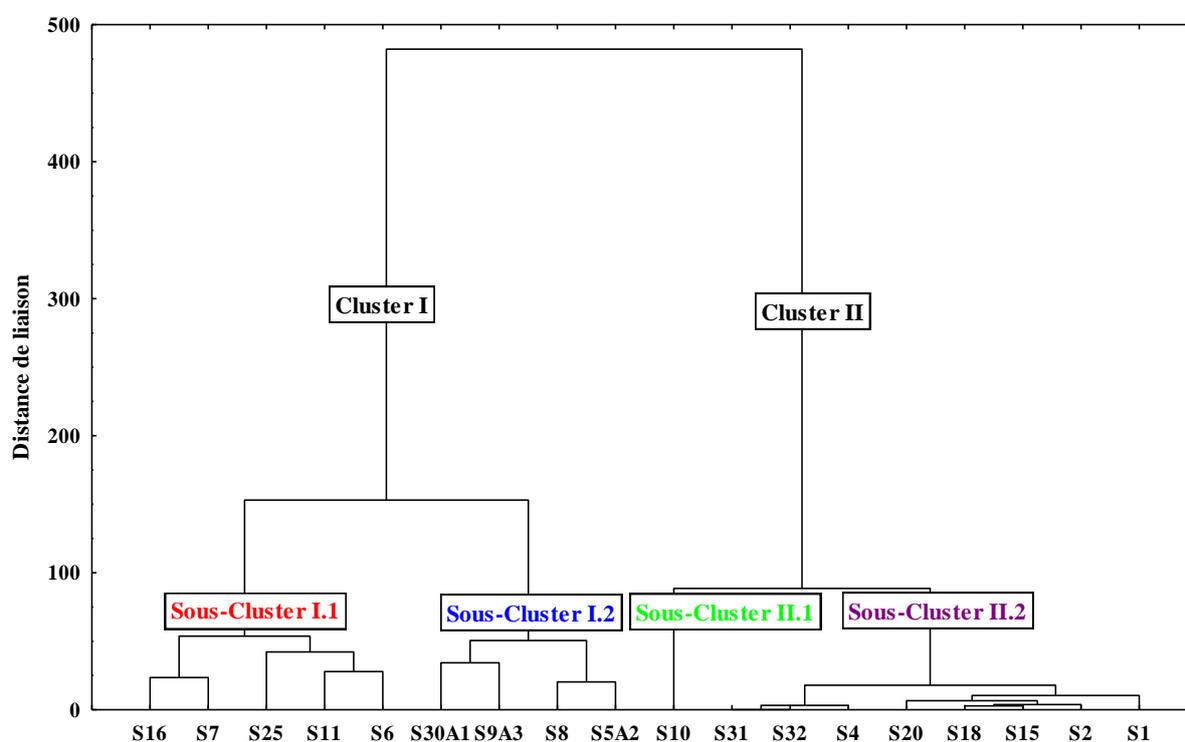


Figure 63. Dendrogramme de la classification hiérarchique ascendante des souches marines selon leur significativité biotechnologique. =

Dans le cadre de l'évaluation combinée de l'activité émulsifiante *vis-à-vis* des hydrocarbures (pétrole brut et kérosène), de la capacité de biosorption des métaux, ainsi que du potentiel de production d'enzymes extracellulaires des souches marines, deux grands clusters ont été identifiés. Ces clusters reflètent un degré élevé de similarité dans leurs profils biotechnologiques respectifs. Le premier cluster englobe deux sous clusters : Cluster I regroupe les souches de *Pseudomonas sp.* (S16, S7, S25, S11 et S6). Le second sous-cluster inclut les souches d'*E. coli* S30A1, *P. aeruginosa* (S9A3 et S5A2) et *Pseudomonas sp.* S8.

Enfin, le second cluster est subdivisé également en deux sous-clusters, le premier sous-cluster inclut uniquement la souche de *Pseudomonas sp.* (S10), et le second sous-cluster regroupe les souches de *Pseudomonas* (S20, S18, S15, S2 et S1) ainsi que celles d'*Escherichia sp.* (S4, S31 et S32), comme illustré à la figure 63.

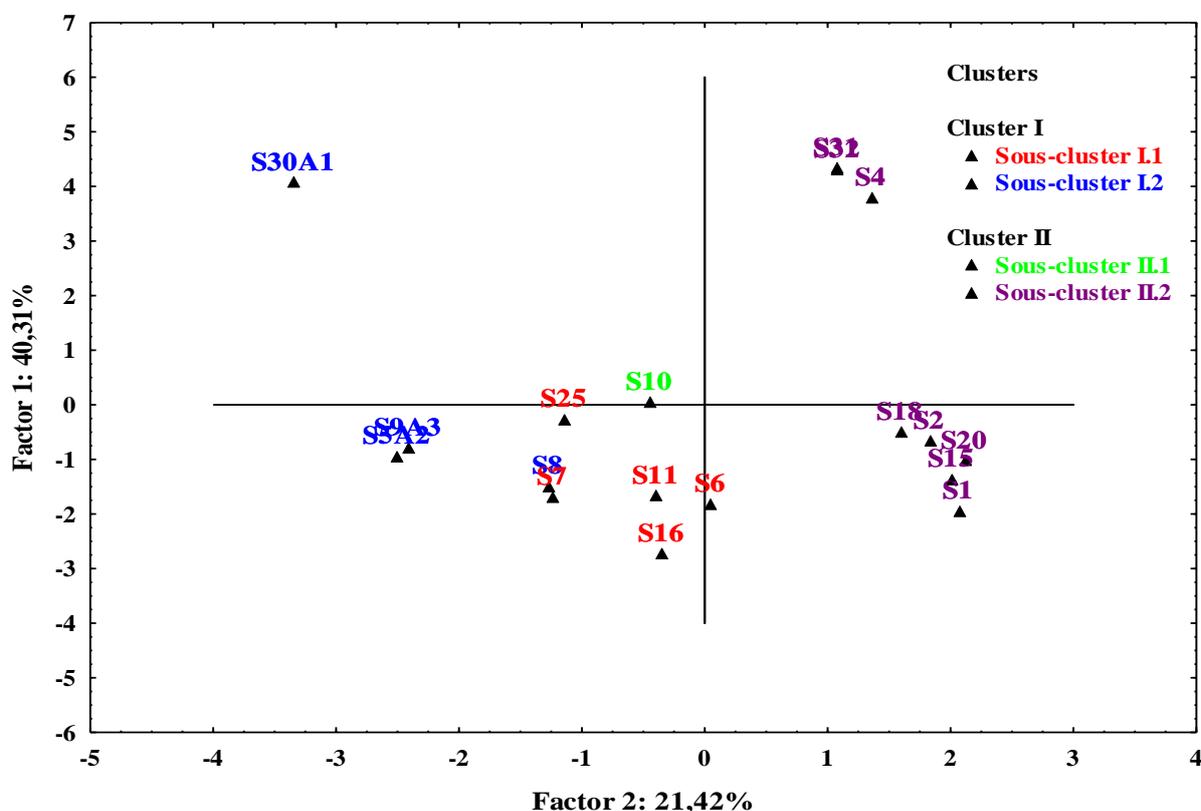


Figure 64. Répartition des bactéries marines en fonction de leur profil biotechnologique a été réalisée, par une analyse en composantes principales (ACP).

Une analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée afin de répartir les bactéries en fonction de leur potentiel biotechnologique. Les deux premiers axes (**F1** : 40.31%; **F2** : 21.42%) expliquent ensemble 71.73% de la variance totale (Figure 64). Cette analyse a révélé la présence de deux clusters bien distincts. Le cluster I est subdivisé en deux sous-clusters, le premier sous-cluster se caractérise par une production notable de sept à neuf enzymes hydrolytiques, une hydrophobicité marquée et un potentiel émulsifiant *vis-à-vis* des hydrocarbures. Le second sous-cluster, quant à lui, se distingue par une forte production enzymatique (sept à neuf enzymes), une hydrophobicité prononcée *vis-à-vis* des hydrocarbures testés, un pouvoir émulsifiant, ainsi qu'une capacité de biosorption des métaux lourds. Enfin, le deuxième cluster englobe deux sous-clusters, le premier sous-cluster est

principalement défini par la production de neuf enzymes, et une capacité de biosorption des deux métaux, tandis que le second sous-cluster regroupe des souches produisant entre une à neuf enzymes hydrolytiques, sans présenter de potentiel émulsifiant *vis-à-vis* des hydrocarbures testés, ni de capacité de biosorption des métaux.

Le criblage des souches marines s'est appuyé sur leur profil biotechnologique intéressant. Les souches sélectionnées ont été soumises à une analyse phylogénétique. Les souches *P. aeruginosa* (S5A2, S9A3) et *E. coli* S30A1 appartenaient à la classe Gammaprotéobactéries. Les souches S5A2 et S9A3 présentaient une similarité de séquence de 99.91% avec *Pseudomonas aeruginosa* (numéros d'accèsion GenBank OR083417 et OR083419 respectivement). Cependant, S30A1 était très similaire à *Escherichia coli* avec une similarité de séquence de 100% (Numéro d'accèsion à la GenBank OR083416). Ces résultats mettent en lumière une forte corrélation entre la production des enzymes hydrolytiques extracellulaires, le potentiel émulsifiant des hydrocarbures (pétrole brut et kérosène) ainsi que la capacité de biosorption des métaux lourds (cuivre et plomb). Ils contribuent à enrichir les connaissances sur le comportement des communautés microbiennes halophiles et halotolérantes dans les ports du Nord-Ouest algérien et leur profil enzymatique, et la possibilité d'utiliser ses souches marines dans des finalités biotechnologiques telles que la bioremediation des sites pollués par les hydrocarbures et les métaux lourds.

*Conclusion générale et
Perspectives*

Depuis longtemps, les recherches ont démontré l'importance des bactéries planctoniques dans les océans, où elles sont non seulement abondantes, mais également essentielles aux cycles biogéochimiques, à la productivité marine, à la production de bioproduits, ainsi qu'à la dégradation des polluants. Elles jouent aussi un rôle clé en tant qu'indicateurs de la santé des écosystèmes, bien que leur potentiel économique ait longtemps été sous-estimé.

Le genre *Pseudomonas*, considéré comme un modèle bactérien universel, a été largement étudié, notamment pour ses contributions à la fertilité des sols, la promotion de la croissance des plantes (PGPR), le biocontrôle des pathogènes et la production de métabolites d'intérêt. En tant que pathogène, *Pseudomonas* est bien connu pour sa multirésistance aux antibiotiques et sa production de puissants facteurs de virulence, responsables d'infections graves. En revanche, les *Pseudomonas* marins, bien que caractérisés par des performances notables, demeurent peu étudiés et inexplorés, ce qui laisse entrevoir un profil sociétal et biotechnologique encore largement inexploité. Par ailleurs, les *Escherichia sp.* marins sont reconnus comme indicateur de contamination fécale et de la santé d'écosystème marin. Néanmoins, les aspects sociétaux et le profil biotechnologique de cette espèce sont peu entamés.

L'étude des comportements sociaux des bactéries marines face à divers stress environnementaux, tels que la salinité, les hydrocarbures (pétrole brut et kérosène) ainsi que les métaux lourds (cuivre, plomb et mercure), constitue un sujet innovant et prometteur. La sociomicrobiologie, qui reconnaît les bactéries comme des organismes sociaux, met en avant leur capacité à interagir et à coordonner leurs réponses collectives. Au cœur de cette discipline se trouve le quorum sensing, un mécanisme de communication bactérienne par lequel les cellules émettent et perçoivent des autoinducteurs, régulant ainsi un ensemble de processus physiologiques. L'exploration bioinformatique du quorum sensing chez le modèle marin *Pseudomonas* est une approche originale, encore inexplorée en Algérie.

Comme mentionné précédemment, la signalisation *via* le QS optimise les réponses bactériennes aux divers stress. L'analyse du quorum sensing dans ce modèle bactérien marin révèle non seulement leur capacité à percevoir et à répondre aux autoinducteurs, mais aussi à agir par conséquent par la formation du biofilm comme refuges, qui leur confèrent protection et résistance. Durant ce processus, les bactéries alternent entre un mode planctonique mobile et un mode sessile, mettant en œuvre un mécanisme clé : le

chimiotactisme. Ce dernier leur permet d'explorer des ressources et des niches écologiques favorables (chimioattractants) tout en échappant aux substances toxiques (chimiorépulsifs). En outre, les bactéries marines représentent une source précieuse d'enzymes hydrolytiques et des métabolites d'intérêt, qui sont à la base de nombreuses industries et largement utilisées en biotechnologie.

Nos résultats soulignent une grande variabilité de réponses, dépendant à la fois au type du stress et à la souche bactérienne concernée. Les résultats cruciaux mettent en évidence la capacité intéressante des souches à former des biofilms. Tandis que cette faculté est intrinsèquement dépendante des propriétés physiologiques de chaque souches et de sa réponse spécifiques face à un stress donné. A certaine concentration de chlorure de sodium, le stress salin a favorisé l'adhérence et ultérieurement la formation du biofilm chez la majorité des souches, tandis que les hydrocarbures ont significativement favorisé la formation en biofilm avec une préférence marquée pour le pétrole brut. Néanmoins, la présence des métaux lourds a induit une formation du biofilm oscillante entre forte et faible.

Dans ce travail, le docking moléculaire a permis d'examiner l'effet de plusieurs molécules stressantes, telles que l'acétate de sodium, le naphthalène, le toluène, l'o-xylène, l'acétate de cuivre, l'acétate de plomb et l'acétate de mercure, sur les trois récepteurs de quorum sensing (LasR, LasI, et PqsR) du modèle *Pseudomonas sp.* Il est crucial de préciser que la sélection des ligands repose sur la disponibilité des structures tridimensionnelles dans la base de données PubChem. Le choix des hydrocarbures naphthalène, toluène et o-xylène découle de l'absence de données structurelles pour le pétrole brut et le kérosène, étant donné leur composition complexe. Ces composés ont donc été retenus en raison de leur présence fréquente dans le pétrole brut et le kérosène.

Les résultats du docking moléculaire révèlent que la majorité des ligands testés établissent des liaisons hydrogène ou hydrophobes avec les acides aminés présents dans le site actif des récepteurs LasR, LasI et PqsR. En particulier, les hydrocarbures interagissent exclusivement *via* des liaisons hydrophobes avec ces récepteurs. Les métaux lourds (cuivre, plomb, et mercure) forment, quant à eux, des liaisons hydrogène avec les acides aminés des sites actifs de LasR et LasI. Concernant le récepteur PqsR, les acétates de cuivre et de plomb interagissent principalement par des liaisons hydrophobes, tandis que l'acétate de mercure se lie essentiellement *via* des liaisons hydrogène.

Ces observations mettent en évidence la forte interaction des hydrocarbures avec les trois récepteurs du quorum sensing, suggérant un potentiel inhibiteur significatif de la communication bactérienne *via* ce mécanisme. En revanche, l'acétate de sodium et les trois métaux lourds montrent des interactions modérées à faibles, ce qui reflète un potentiel inhibiteur du quorum sensing plus limité.

Ces données incitent à envisager l'exploitation de ces souches marines dans des applications environnementales, telles que la bioremédiation des sites contaminés par les hydrocarbures et les métaux lourds. Le potentiel d'inhibition du quorum sensing ouvre également la voie à l'application du concept de quorum quenching, qui consiste à inhiber la communication cellulaire sans affecter la viabilité ou la croissance des bactéries. Ce phénomène peut se produire par l'inhibition de la synthèse des molécules de signalisation, leur inactivation, la compétition avec les autoinducteurs, ou encore en restreignant la formation du complexe récepteur-autoinducteur.

Ce mécanisme s'avère jouer un rôle particulier dans le contrôle des espèces pathogènes, en réduisant leur virulence sans les détruire directement et également dans le développement de l'industrie pharmaceutique, en particulier dans la conception des nouvelles stratégies antimicrobiennes. Il est recommandé de valider nos résultats issus du docking moléculaire par des simulations moléculaires des complexes ligand-récepteur pour évaluer la stabilité des complexes le long du processus de simulation.

Il est évident que les résultats issus de l'analyse *in silico* présentent des limitations sans une validation expérimentale adéquate. Ainsi, il est impératif d'intégrer le protocole actuel avec des expérimentations *in vitro*, telles que la production et l'extraction des AHLs, leur caractérisation par des techniques moléculaires (comme l'UHPLC et la RMN), ainsi que le suivi de l'impact des stress environnementaux sur la signalisation cellulaire des bactéries marines. Par ailleurs, une analyse génomique approfondie est nécessaire pour détecter, identifier et prédire les modifications génétiques induites.

En ce qui concerne la mobilité bactérienne, toutes nos souches sont mobiles. L'effet de la salinité (chlorure de sodium) sur la mobilité a été déterminé en confirmant que la présence d'une concentration de 2% a amélioré la diffusion bactérienne sur gélose. A partir de celle de 5%, la diffusion de la mobilité de type swarming est réduite. Il s'avère clair que le pétrole et le kérosène agissent comme des chimioattractants à certaines concentrations pour la majorité

des souches. La présence de pétrole et de kérosène révèle une modulation du comportement chimiotactique (*swarming*), entraînant une suppression des motifs dendritiques chez l'ensemble des souches marines. L'effet des métaux lourds sur la mobilité bactérienne est également investigué. Il a été constaté que le cuivre et le plomb réduisent le diamètre de la migration (*swarming*) à mesure que leur concentration augmente (chimiorépulsif). Tandis que l'ajout de mercure au milieu a inhibé la mobilité bactérienne à toutes les concentrations testées.

Nous avons également investigué le profil biotechnologique de plusieurs souches marines en condition saline (6% de NaCl). Parmi les neuf souches étudiées, 77.78% ont manifesté une hydrophobicité marquée *vis-à-vis* du pétrole brut, tandis que 66.67% ont démontré cette capacité en présence de kérosène. Les souches *Pseudomonas sp.* (S5A2, S6, S7, S8, S9A3, S11, S16, S25) et *Escherichia sp.* S30A1 ont présenté un potentiel prometteur d'émulsification pour ces deux hydrocarbures.

Par ailleurs, cinq souches (S5A2, S8, S9A3, S10 et S30A1) ont révélé une aptitude appréciable à la biosorption du cuivre et du plomb. En outre, les souches de *Pseudomonas sp.* se sont distinguées par la production de six à neuf enzymes hydrolytiques d'intérêt pour diverses industries biotechnologiques.

Les souches les plus performantes ont fait l'objet d'une caractérisation moléculaire, confirmant que S5A2 et S9A3 appartiennent à l'espèce *Pseudomonas aeruginosa* (numéros d'accèsion GenBank OR083417 et OR083419 respectivement), tandis que la souche S30A1 a été identifiée comme *Escherichia coli* (numéro d'accèsion GenBank OR083416).

Notre recherche représente une étude fondamentale explorant les comportements communautaires des bactéries autochtones face à divers stress environnementaux, tels que la salinité, les hydrocarbures, et les métaux lourds. Elle intègre également des essais appliqués visant la dépollution de ces éléments menaçant la vie marine. Il est recommandé de procéder à l'isolement et à l'exploration de la diversité et de la dynamique des communautés bactériennes par une analyse métagénomique des environnements marins du nord-ouest de l'Algérie, en utilisant des gènes marqueurs phylogénétiques comme l'ARNr 16S, pour mieux appréhender la complexité des interactions bactériennes. Les données biotechnologiques soulignent l'importance d'une analyse génomique approfondie pour identifier, prédire et caractériser les gènes et leurs produits. En parallèle, une analyse métagénomique

fonctionnelle est indispensable pour révéler le potentiel métabolique des modèles marins étudiés.

Ces résultats ouvrent des perspectives prometteuses pour l'étude des biocatalyseurs, notamment les enzymes et molécules bioactives impliquées dans l'émulsification des hydrocarbures et la biosorption des métaux lourds. Les technologies utilisées incluront la chromatographie par filtration sur gel (Sephadex G-75), la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS), l'UHPLC, ainsi que la spectrométrie de masse FAB-MS et ESI-MS. La métabolomique par résonance magnétique nucléaire (RMN) servira à explorer les phénotypes en lien avec les modifications métaboliques. L'analyse cinétique des enzymes sera réalisée via le site Enzyme Kinetics Analysis (EKA) pour une meilleure compréhension de leurs fonctions. La microscopie électronique à transmission (MET), la microscopie confocale à balayage laser (CLMS) et la microscopie de fluorescence à super-résolution (SRM) permettront l'étude dynamique des biofilms, qu'ils soient monospécifiques ou mixtes.

En général, les souches marines étudiées constituent une ressource précieuse et présentent un potentiel prometteur pour répondre aux enjeux environnementaux actuels, notamment la gestion des polluants organiques et métalliques, notamment en termes de quorum quenching, de production d'enzymes halophiles, et de métabolites d'intérêt (émulsifiants et biosorbants), ouvre des perspectives économiques importantes pour leur exploitation dans l'industrie et l'assainissement des polluants.

Références bibliographiques

- Abbas R, Rasul S, Aslam K, Baker M, Shahid Mubeen F, Naqqash T. 2018.** Halotolerant PGPR: A hope for cultivation of saline soils. *J King Saud Univ Sci.* 2018: 1–7.
- Abbott SL, O’Connor J, Robin T, Zimmer BL, Janda JM. 2003.** Biochemical properties of a newly described *Escherichia* species, *Escherichia albertii*. *J Clin Microbiol.* 41(10): 4852–4854.
- Abd Elnabi MK, Elkaliny NE, Elyazied MM, Azab SH, Elkhalifa SA, Elmasry S, Mouhamed MS, Shalamesh EM, Alhoriény NA, Ad Elaty AE, Elgendy IM, Etman AE, Saad KE, Tsigkou K, Ali SS, Kornaros M, Mahmoud YA-g. 2022.** Toxicity of heavy metals and recents advances in their removal: A review. *Toxins.* 11(7): 1–29
- Abebe G.M. 2020.** The role of bacterial biofilm in antibiotic resistance, and food contamination. *Int. J. Microbiol.* 2020: 1705814.
- Abena MTB, Chen G, Zheng X, Li S, Li T, Zhong W. 2020.** Microbial diversity changes and enrichment of potential petroleum hydrocarbon degarders in Crude oil-, diesel and gasoline-contaminated soil. *3 Biotech.* 10(42): 1–15.
- Abisado RG, Benomar S, Klaus JR, Dandekar AA, Chandlera JR. 2018.** Bacterial Quorum Sensing and Microbial Community Interactions. *mBIO.* 9(3): 1–14.
- Abou Raji El Feghali P, Nawas T. 2018.** Extraction and purification of pyocyanin: a simpler and more reliable method. *MOJ Toxicol.* 4(6): 417–422.
- Adeniran MA, Oladunjoye MA, Doro KO. 2023.** Soil and groundwater contamination by crude oil spillage: A review and implication projects in Nigeria. *Front Environ Sci.* 11: 1–20.

- Adipah S. 2019.** Introduction of Petroleum Hydrocarbons Contaminants and its Human Effects. *Int J Environ Res Public Health*. 3: 1–9.
- Agaras BC, Valverde C. 2018.** A Novel Oligonucleotide Pair for Genotyping Members of the *Pseudomonas* Genus by Single-Round PCR Amplification of the *gyrB* Gene. *Methods and Protoc*. 1(24): 1–13.
- Ahmad F, Zhu D, Sun J. 2020.** Bacterial chemotaxis: a way forward to aromatic compounds biodegradation. *Environ Sci Eur*. 32(52): 1–18.
- Ajjah N, Fiodor A, Pandey AK, Rana A, Pranaw K. 2023.** Plant Growth-Promoting Bacteria (PGPB) with Biofilm-Forming Ability: A Multifaceted Agent for Sustainable Agriculture. *Diversity*. 15(1): 1–21.
- Akinnawo SO. 2023.** Eutrophication: Causes, consequences, physical, chemical and biological techniques for mitigation strategies. *Environ Chall*. 12: 100733.
- Akiyama H, Morizane S, Yamasaki O, Oono T, Iwatsuki K. 2003.** Assessment of *Streptococcus pyogenes* microcolony formation in infected skin by confocal laser scanning microscopy. *J Dermatol Sci*. 32: 193–199.
- Akoh CC, Lee G, Liaw Y, Huang T, Shaw J. 2004.** GDSL family of serine esterases/lipases. *Prog Lipid Res*. 43: 534–552.
- Alam M, Imran M. 2018.** Screening and Potential of Gram Negative Bacterial Isolates for their Extracellular Enzymatic Activities Isolated from the Hospital Aquatic Environment. *J Basic Clin Pharma*. 9: 41–45.
- Al-Charrakh AH, El-Enzi RM. 2016.** Resistance to lead, copper, and mercury in *P. aeruginosa* isolated from hospitals in Iraq. *Res J Pharm Biol Chem Sci*. 7(5): 1–7.

- Alder J. 1966.** Chemotaxis in Bacteria. *Science*. 153: 708–716.
- Alder J. 1975.** Chemotaxis in Bacteria. *Ann Rev Biochem*. 44: 341–356.
- Aliane S, Meliani A, 2021.** Bacterial biofilms: Formation, advantages for community members, clinical implications, and antibiotic resistance. *Environ Exp Biol J*. 19: 121–130.
- Al-Mur B. 2020.** Assessing Nutrient Salt and trace metals distributions in the Coastal water of Jeddah, Red Sea. *Saudi J Biol Sci*. 27(11): 1–35.
- Al-Nasiry S, Geusens N, Hanssens M, Luyten C, Pijnenborg R. 2007.** The use of Alamar Blue assay for quantitative analysis of viability, migration and invasion of choriocarcinoma cells. *Hum Reprod*. 22(5): 1304–1309.
- Alonso B, Cruces R, Pérez A, Sanchez-carrillo C, Guembe M. 2017.** Comparison of the XTT and resazurin assays for quantification of the metabolic of *Staphylococcus aureus* biofilm. *J Microbiol Methods*. 139: 135–137.
- Al-Sulaiti MM, Soubra L, Al-Ghouti MA. 2022.** The causes and effects of mercury and methylmercury contamination in the marine environment: A review. *Curr Pollut Rep*. 8: 249–272.
- Alvarado-Campo KL, Quintero M, Cuadrado-Cano B, Montoya-Giraldo M, Otero-Tejada EL, Blandón L, Sánchez O, Zuleta-Correa A, Gómez-León J. 2023.** Heavy Metal Tolerance of Microorganisms Isolated from Coastal Marine Sediments and Their Lead Removal Potential. *Microorganisms*. 11(11): 2708.
- Ameen F, AlNadhari S, Al-Homaidan AA. 2021.** Marine microorganisms as an untapped source of bioactive compounds. *Saudi J Biol Sci*. 28(1): 224–231.

- Andualema B, Gessesse A. 2012.** Microbial lipases and their industrial application: Review. *Biotechnol.* 11(3): 100–118.
- Anes J, McCusker MP, Fanning S, Martins M. 2015.** The ins and outs of RND efflux pumps in *Escherichia coli*. *Front Microbiol.* 6: 1–14.
- Araújo WJ, Oliveira JS, Araújo SCS, Minnicelli CF, Silva-Portela RCB, da Fonseca MMB, Freitas JF, Silva-Barbalho KK, Napp AP, Pereira JES, Peralba MCR, Passaglia LMP, Vainstein MH, Agnez-Lima LF. 2020.** Microbial Culture in Minimal Medium With Oil Favors Enrichment of Biosurfactant Producing Genes. *Front Bioeng Biotechnol.* 8: 962.
- Arbab S, Ullah H, Wang W, Zhang J. 2022.** Antimicrobial drug resistance against *Escherichia coli* and its harmful effect on animal health. *Vet Med Sci.* 8(4): 1780–1786.
- Armbruster CE, Hodges SA, Mobley HLT. 2013.** Initiation of swarming motility by *Proteus mirabilis* occurs in response to specific cues present in urine and requires excess L-Glutamine. *J Bacteriol.* 195(6): 1305–1319.
- Armitage PJ, Pitta TS, Vigeant MS, Packer HL, Ford RM. 1999.** Transformation in Flagellar structure of *Rhodobacter sphaeroides* and possible relationship to changes in Swimming Speed. *J Biotechnol.* 181(16): 4825–4833.
- Arshad M, Seed PC. 2015.** Urinary tract infections in the infant. *Clin Perinatol.* (1): 17–28.
- Asad S, Opal SM. 2008.** Bench-to-bedside review: Quorum sensing and the role of cell-to-cell communication during invasive bacterial infection. *J Crit Care.* 12(6): 1–11.

- Asbury J., Jazayeri J.A. 2018.** The significance of *Pseudomonas aeruginosa* infection and biofilms to cystic fibrosis patients: The need for the development of new therapies. *Adv Biotechnol Microbiol.* 8: 555742.
- Asif S, Jan R, Kim N, Asaf S, Lubna, Khan MA, Kim E-G, Jang Y-H, Bhatta D, Lee I-J, Kim K-M. 2023.** Halotolerant endophytic bacteria alleviate salinity stress in rice (*Oryza sativa L.*) by modulating ion content, endogenous hormones, the antioxidant system and gene expression. *BMC Plant Biol.* 23: 1–16.
- Aswathanarayan JB, Rai RV. 2015.** Quorum-sensing systems in *Pseudomonas*, In: Quorum sensing vs Quorum Quenching: A Battle with No End in Sight, Eds. Springer. Singapore, 73–84.
- Atkinson S, Chang C, Sockett RE, Camara M, Williams P. 2006.** Quorum sensing in *Yersinia enterocolitica* controls swimming and swarming motility. *J Bacteriol.* 188(4): 1451–1461.
- Auling G. 1992.** Polyamines, Biomarker for taxonomy and ecology of phytopathogenic bacteria and other bacteria belonging to the Proteobacteria. *Belg J Bot.* 125 (2): 203–209.
- Ayé M. 2015.** Mise en évidence du système de communication quorum-sensing impliquant les AHLs chez des bactéries marines isolées de la méditerranée. Thèse du doctorat. L'université de Toulon.
- Aygan A, Arikan B. 2007.** An overview on bacterial motility detection. *Int J Agric Biol.* 9: 193–196.

- Azoddein AABM, Ahmadi MM, Yunus RM, Sulaiman NMN. 2016.** A bioremediation approach to mercury removal in a shake flask culture using *Pseudomonas putida* (ATCC49128). *J Anal Bioanal Tech.* 7(3): 1–6.
- Babaei P, Ghasemi-Kahrizsangi T, Marashi S. 2014.** Modeling the Differences in Biochemical Capabilities of *Pseudomonas* Species by Flux Balance Analysis: How Good Are Genome-Scale Metabolic Networks at Predicting the Differences? *Sci World J.* 1–12.
- Badamasi H, Yaro MN, Ibrahim A, Bashir IA. 2019.** Impacts of phosphates on water quality and life. *J Chem Res.* 4 (3): 124–133.
- Baezzat MR, Parsaeian G, Zare MA. 2011.** Determination of traces of nitrate in water samples using spectrophotometric method after its preconcentration on microcrystalline naphthalene. *Quim Nova.* 34(4): 607–609.
- Bai AJ, Rai VR. 2015.** Quorum-Sensing Systems in *Pseudomonas*. In: Quorum Sensing vs Quorum Quenching: A Battle with No End in Sight, Eds. Springer. Singapore, 73–83.
- Balaban N, Ren D, Givskov M, Rasmussen TB. 2008.** Introduction. In: Control of Biofilm Infections by Signal Manipulation, Eds. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 1–11.
- Banerjee A, Roy A, Dutta S, Mondal S. 2016.** Bioremediation of hydrocarbons- A review. *Int J Adv Res.* 4(6): 1303–1313.
- Bansal S, Singh A, Mangal M, Sharma SK. 2013.** Isolation and Characterization of Lactic Acid Bacteria from Fermented Foods. *VEGETOS.* 26 (2): 325–330.

- Barakat R. 2012.** Etude des propriétés biologiques et antimicrobiennes de la Pyocyanine, pigment redox-actif produit par *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse doctorat, Microbiologie, Université de la Rochelle, France.
- Baran RH, Ko H. 2008.** Detecting horizontally transferred and essential genes based on dinucleotide relative abundance. *DNA Res.* 15(5): 267-276.
- Barbieri P, Bestetti G, Reniero D, Galli E. 1996.** Mercury resistance in aromatic compound degrading *Pseudomonas* strains. *FEMS Microbiol Ecol.* 20(3): 185–194.
- Barbosa BF, Lopes-Maria JB, Gomes AO, Angeloni MB, Castro AS, Franco PS, Fermino ML, Roque-Barreira MC, Letta F, Martins-Filho OA, Silva DAO, Mineo JR, Ferro EAV. 2015.** IL10, TGF, IFN Gamma modulate Inter-cellular signaling pathways and cytokine production to control *Toxoplasma gondii* infection in BeWo Trophoblast cells. *Biol Reprod.* 92(3): 1–13.
- Barrionevo MR, Vullo DL. 2012.** Bacterial swimming, swarming and chemotactic response to heavy metal presence: which could be the influence on wastewater biotreatment efficiency. *World J Microbiol Biotechnol.* 28(9): 2813–2825.
- Baysse C, Budzikiewicz H, Fernandez DU, Cornelis P. 2002.** Impaired maturation of the siderophore pyoverdine chromophore in *Pseudomonas fluorescens* ATCC 17400 deficient for the cytochrome C biogenesis protein CcmC. *FEBS.* 523: 23–28.
- Bazire A, Diab F, Jebbar M, Haras D. 2007.** Influence of high salinity on biofilm formation and benzoate assimilation by *Pseudomonas aeruginosa*. *Indian J Microbiol Biotechnol.* 34(1): 5–8.

- Bekele CK, Gebrie SA, Abda EM, Shinshaw G, Hergegu S, Neige ZW, Tefesse M, Assefa F. 2023.** Kerosene biodegradation by highly efficient indigenous bacteria isolated from hydrocarbon-polluted sites. *Microbiol Insights*. 16: 1–9.
- Bekeshev Y, Mirkarimona B, Zhumabekova Z, Jumabayeva L. 2023.** Influence of Hydrocarbon rocket fuel kerosene T-1 on the physical and geochemical properties of different soil types. *Wat Air Soil*. 234: 1–13.
- Belas R, Scheneider R, Melch M. 1998.** Characterization of *Proteus mirabilis* precocious swarming mutants: Identification of *rsbA*, Encoding a regulator of swarming behavior. *J Bacteriol*. 180(23): 6126–6139.
- Ben Haj Khalifa A, Moissenet D, Vu Thien H, Khedher M. 2011.** Les facteurs de virulence de *Pseudomonas aeruginosa*: mécanismes et modes de régulations. *Ann Biol Clin Med*. 69(4): 393–403.
- Bengherbia A, Hamaidi F, Zahraoui R, Hamaidi MS, Megateli S. 2014.** Impacts des rejets des eaux usées sur la qualité physico-chimique et bactériologique de l'Oued Beni Aza (Blida, Algérie). *Leban Sci J*. 15(2): 40–51.
- Berg HC, Brown DA. 1972.** Chemotaxis in *Escherichia coli* analyzed by three-dimensional tracking. *Nature*. 239: 500–504.
- Berg HC, Pucell FC. 1977.** Physics of chemoreception. *Biophys J*. 20 (2): 193–219.
- Bernhoft RA. 2012.** Mercury toxicity and treatment: A review of the literature. *J Environ Public Health*. 2012: 1–10.
- Bertani B, Ruiz N. 2018.** Function and biogenesis of lipopolysaccharides. *EcoSal Plus*. 8(1): 1–33.

- Bertani I, Venturi V. 2004.** Regulation of the *N*-acyl homoserine lactone-dependent quorum-sensing system in rhizosphere *Pseudomonas putida* WCS358 and crosstalk with the stationary-phase RpoS sigma factor and the global regulator GacA. *Appl Environ Microbiol.* 70: 5493–5502.
- Bertheau L. 2013.** Caractérisation d'un phosphorelais multiple de type histidine-aspartate dans la transduction du signal de la contrainte osmotique chez le peuplier: mécanisme de régulation du fonctionnement d'un régulateurs de réponse de type $-\beta$ à l'échelle moléculaire. Biologie moléculaire. Université d'Orléans.
- Bezoui M. 2016.** Biofilms bactériens et leur implication en pathologie humaine. Thèse du Doctorat, Université Mohammed V-Rabat, Maroc.
- Bhedhi CD, Prevatte CW, Lookadoo MS, Waikel PA, Gillevet PM, Sikaroodi M, Campagna SR, Richardson LL. 2017.** Elevated temperature enhances short- to medium-chain acyl homoserine lactone production by black band disease-associated vibrios. *FEMS Microbiol Ecol.* 93(3): fix005.
- Bhuyan S, Yadav M, Giri SJ, Sarkar S, Begum S, Jayswal A, Kabyashree K, Kumar A, Mandala M, Ray SK. 2023.** Micro-colony observation: A rapid and simple approach to count bacterial colony forming units. *J microbiol Methods.* 207: 106707
- Bi S, Sourjik V. 2018.** Stimulus sensing and signal processing in bacterial chemotaxis. *Curr Opin Microbiol.* 45: 22–29.
- Bielaszewska M, Stoewe F, Fruth A, Zhang W, Prager R, Brockmeyer J, Mellmann A, Karch H, Friedrich AW. 2009.** Shiga Toxin, cyrilethal distending, toxin and hemolysin repertoires in clinical *Escherichia coli* O91 isolates. *J Clin Microbiol.* 47(7): 2061–2066.

- Bijlsma K, Loeschcke V. 1997.** Introductory remarks: Environmental stress, adaptation and evolution. In: Environmental Stress, Adaptation and Evolution, eds Springer, XIV–XVII.
- Bisi-Johnson MA, Obi CL, Vasaikar SD, Baba KA, Hattori T. 2011.** Molecular basis of virulence in clinical isolates of *Escherichia coli* and *Salmonella* species from a tertiary hospital in the Eastern Cape, South Africa. *Gut Pathog.* 9: 1–8.
- Biswal T, Malik JA. 2022.** Chapter 11: Role of biofilms in bioremediation. In: Malik JA: Microbes and microbial biotechnology for green remediation, Eds. Elsevier, 205–225.
- Biswas L, Biswas R, Schlag M, Bertram R, Gotz F. 2009.** Small-Colony Variant Selection as a Survival Strategy for *Staphylococcus aureus* in the Presence of *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl Environ Microbiol.* 75(21): 6910–6912.
- Bitton G, Chuckran DA, Chet I, Mitchell R. 1979.** Resistance of bacterial chemotaxis to blockage in petroleum waters. *Mar Pollut Bull.* 10(2): 48–49.
- Black R, Sartaj M, Mohammadian A, Qiblawey HA. 2014.** Biosorption of Pb and Cu using fixed and suspended bacteria. *J Environ Chem Eng.* 2(3): 1663–1671.
- Blaylock AD. 1994.** Soil salinity, salt tolerance and growth potentiel of horticultural and landscape plants. Co-operative Extension service, University of Wyoming, Département of Plant, Soil and insect sciences, college of Agriculture, Laeamie, Wyoming, 40–63.
- Blount ZD. 2015.** The natural history of model organisms: the unexhausted potential of *E. coli*. *eLife.* 4: 1–12.

- Bogino PC, Oliva MM, Sorroche FG, Giordano W. 2013.** The role of bacterial biofilms and surface components in plant-bacterial associations, *Int J Mol Sci.* 14: 15838–15859.
- Bohlin J, Snipen L, Hardy SP, Kristoffersen AB, Lagesen K, Dønsvik T, Skjerve E, Ussery DW. 2010.** Analysis of intra-genomic GC content homogeneity with prokaryotes. *BMC Genom.* 11: 1–8.
- Bollinger A, Thies S, Katzke N, Jaeger K. 2018.** The biotechnological potential of marine bacteria in the novel lineage of *Pseudomonas pertucinogena*. *Microb Biotechnol.* 13(1): 19–31.
- Bonilla CY. 2020.** Generally Stressed Out Bacteria: Environmental Stress Response Mechanisms in Gram-Positive Bacteria. *Integr Comp Biol.* 60(1): 126–133.
- Booth SC, George IFS, Zannoni D, Cappelletti M, Duggan GE, Ceri H, Turner RJ. 2013.** Effect of aluminium and copper biofilm development of *Pseudomonas pseudoalcaligenes* KF707 and *P. fluorescens* as a function of different media compositions. *Metallomics.* 5(6): 723–735.
- Borah D, Agarwal K, Khataniar A, Konwar D, Gogoi SB, Kallel M. 2019.** A newly strains of *Serratia sp.* from an oil spillage site of Assam shows excellent bioremediation potential. *3Biotech.* 9(7): 1–12.
- Bornscheuer TU. 2002.** Microbial carboxyl esterases: classification, properties and application in biocatalysis. *FEMS Microbiol Rev.* 26: 73–81.
- Borrelli GM, Trono D. 2015.** Recombinant Lipases and Phospholipases and Their Use as Biocatalysts for Industrial Applications. *Int J Mol Sci.* 16(9): 20774–20840.

- Bortolotti P, Hennart B, Thieffry C, Jausions G, Faure E, Grandjean T, Thepaut M, Dessein R, Allorge D, Guery BP, Faure K, Kipnis E, Toussaint B, Le Gouellec A. 2016.** Tryptophan catabolism in *Pseudomonas aeruginosa* and potential for inter-kingdom relationship. *BMC Microbiol.* 16 (137): 1–10.
- Bossis E, Lemanceau P, LatourX, Gardan L. 2000.** The taxonomy of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida*: current status and need for revision. *J Agron.* 20 (1): 51–63.
- Bottcher T, Elliott HL, Clardy J. 2016.** Dynamics of snake-like swarming behavior of *Vibrio alginolyticus*. *Biophys J.* 110(4): 981–992.
- Botzenhart K, Doring G. 1993.** Ecology and Epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa*. In: *Pseudomonas aeruginosa* as an Opportunistic Pathogen, eds Springer, New York. 1–18.
- Bouteiller M, Dupont C, Bourigault Y, Latour X, Barbey C, Konto-Ghiorghi Y, Merieau A. 2021.** *Pseudomonas* Flagella: Generalities and Specificities. *Int J Mol Sci.* 22(7): 1–28.
- Boyer M, Wisniewski-Dyé F. 2009.** Cell-cell signalling in bacteria: not simply a matter of quorum. *FEMS Microbiol Ecol.* 70(1): 1–19.
- Braissant O, Astasov-Frauenhoffer M, Waltimo T, Gernot B. 2020.** A review of methods to determine viability, vitality and metabolic rates in microbiology. *Front Microbiol.* 11: 1–25.
- Bravo G, Vega-Celedón P, Gentina JC, Seeger M. 2020.** Effects of mercury II on *Cupriavidus metallidurans* strain MSR33 during mercury bioremediation under aerobic and anaerobic conditions. *Processes.* 8(8): 1–14.

- Braz VS, Melchior K, Moreira CG. 2020.** *Escherichia coli* as a multifaceted pathogenic and versatile bacterium. *Front Cell Infect Microbiol.* 10: 11–9.
- Bren A, Eisenbach M. 2000.** How signals are heard during bacterial chemotaxis: Protein-protein interactions in sensory signals propagation. *J Bacteriol.* 182(24): 6865–6873.
- Brenner DJ, Davis BR, Steigerwalt AG, Riddle CF, McWhorter AC, Allen SD, Farmer JJ, Saitoh Y, Fanning GR. 1982.** Atypical biogroups of *Escherichia coli* found in clinical specimens and description of *Escherichia hermannii* sp. nov. *J Clin Microbiol.* 15(4): 703–713.
- Brodl E, Winkler A, Macheroux P. 2018.** Molecular Mechanisms of Bacterial Bioluminescence. *Comput Struct Biotechnol J.* 16: 551–564.
- Brouwer S, Pustelny C, Ritter C, Klinkert B, Narberhaus F, Häussler S. 2014.** The PqsR and RhIR transcriptional regulators determine the level of Pseudomonas quinolone signal synthesis in *Pseudomonas aeruginosa* by producing two different pqsABCDE mRNA isoforms. *J Bacteriol.* 196(23): 4163–4171.
- Bullivant A, Lozano-Huntelman N, Tabibian K, Leung V, Armstrong D, Dudley H, Savage VM, Rodríguez-Verdugo A, Yeh PJ. 2024.** Evolution Under Thermal Stress Affects *Escherichia coli*'s Resistance to Antibiotics. *bioRxiv* [Preprint]. 29: 1–34.
- Burdman S, Bahar O, Parker JK, La Fuente L. 2011.** Involvement of Type IV Pili in Pathogenicity of Plant Pathogenic Bacteria. *Genes.* 2: 706–735
- Burrows LL. 2012.** *Pseudomonas aeruginosa* twitching motility: type IV pili in action. *Annu Rev Microbiol.* 66: 493–520.

- Burton E, Yakandawala N, Lo Vetri K, Madhyastha MS. 2007.** A microplate spectrofluorometric assay for bacterial biofilms. *Indian J Microbiol Biotechnol* 34: 1–4.
- Cairns JR. 2013.** Stress, Environmental. In: Encyclopedia of Biodiversity. Waltham, MA: Academic Press. Elsevier Inc. 7(2): 39–44.
- Calatrava-Morales N, McIntosh M, Soto MJ. 2018.** Regulation Mediated by N-Acyl Homoserine Lactone Quorum Sensing Signals in the Rhizobium-Legume Symbiosis. *Genes*. 9(263): 1–21.
- Calvio C, Celandroni F, Ghelardi E, Amati G, Salvetti S, Ceciliani F, Galizzi A, Senesi S. 2005.** Swarming differentiation and swimming motility in *Bacillus subtilis* are controlled by *swrA*, a newly identified dicistronic operon. *J Bacteriol.* 187(15): 5356–5366.
- Camara B, Strompl C, Verborg S, Sproer C, Pieper DH, Tindall BJ. 2007.** *Pseudomonas reinekei* sp. nov., *Pseudomonas moorei* sp. nov. and *Pseudomonas mohnii* sp. nov., novel species capable of degrading chlorosalicylates or isopimaric acid. *Int J Syst Evol Microbiol.* 57: 923–931.
- Capdeville B, Nguyen KM. 1990.** Kinetics and modeling of aerobic and anaerobic film. *Water Sci Technol.* 22: 149–170.
- Capo E, Spong G, Königsson H, Byström P. 2020.** Effects of filtration methods and water volume on the quantification of brown trout (*Salmo trutta*) and Arctic char (*Salvelinus alpinus*) eDNA concentrations via droplet digital PCR. *Environ DNA.* 2: 152–160.

- Cappelari LDR, Bogino PS, Giordano FNW, Banchio E. 2023.** Exploring the differential impact of salt stress on root colonization adaptation mechanisms in plant growth promoting rhizobacteria. *Plants*. 12(23): 1–16.
- Cardona GI, Escobar MC, Acosta-González A, Marin P, Marqués S. 2022.** Highly mercury-resistant strains from different Colombian Amazon ecosystem affected by artisanal gold mining activities. *Appl Microbiol Biotechnol*. 106(7): 2775–2793.
- Carpentier B, Cerf O. 1993.** Biofilms and their consequences with particular reference to hygiene in the food industry. *J Appl Bacteriol*. 75: 499–511.
- Carrascosa C, Raheem D, Ramos F, Saraiva A, Raposo A. 2021.** Microbial Biofilms in the Food Industry A Comprehensive Review. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 18(4): 2014.
- Carrett TR, Bhakoo M, Zhang Z. 2008.** Bacterial adhesion and biofilm on surfaces. *Prog. Nat. Sci*. 18: 1049–1056.
- Carvalho G. 2017.** Resilience to antibiotics of bacterial biofilms: Concepts, modeling and experimentation. Ph.D Thesis. Clermont Auvergne University, France.
- Castillo-Juárez I, Maeda T, Mandujano-Tinoco EA, Tomás M, Pérez-Eretza B, García-Contreras SJ, Wood TK, García-Contreras R. 2015.** Role of quorum sensing in bacterial infections. *World J Clin Cases*. 3(7): 575-598.
- Cavaliere M, Feng S, Soyer OS, Jimenez JI. 2017.** Cooperation in microbial communities and their biotechnological applications. *Environ Microbiol*. 8: 2949–2963.
- Cavicchioli R, Ripple WJ, Timmis KN, Azam F, Bakken LR, Baylis M, Behrenfeld MJ, Boetius A, Boyd PW, Classen AT, Crowther TW, Danovaro R, Foreman CM,**

- Huisman J, Hutchins DA, Jansson JK, Karl DM, Koskella B, Mark Welch DB, Martiny JBH, Moran MA, Orphan VJ, Reay DS, Remais JV, Webster NS. 2019.** Scientists' warning to humanity: microorganisms and climate change. *Nat Rev Microbiol.* 17: 569–586.
- Chaker H. 2012.** Régulation de l'adaptation de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* à son hôte: implication des métabolites du tryptophane. Thèse de doctorat. Sciences agricoles. Université de Grenoble, France.
- Chalancon G, Madan Babu M. 2011.** Structure and Evolution of transcriptional regulatory. In: Bacterial stress response, 2nd eds ASM Press, États units.
- Chang D, Smalley DJ, Conway T. 2002.** Gene expression profiling of *Escherichia coli* growth transitions: an expanded stringent response model. *Mol Microbiol.* 45(2): 289–306.
- Chaouay A, Okhrib R, Hilali M, Bazzi L, Chahid A, Khiri F. 2016.** Contribution to the study of physico-chemical analysis and metal contamination of coastal Agadir seawater.) (South Morocco). *J Mater Environ Sci.* 7(8): 2748–2759.
- Characklis WG, Marshall KC. 1990.** Biofilms: a basis for an interdisciplinary approach. In: Biofilms, John Wiley & Sons, Inc, New York, 3–15.
- Chattopadhyay I, J RB, Usman TMM, Varjani S. 2022.** Exploring the role of microbial biofilm for industrial effluents treatment. *Bioengineered.* 13(3): 6420–6440.
- Chattopadhyay S, Moldovan R, Yeung C, Wu XL. 2006.** Swimming efficiency of bacterium *Escherichia coli*. *PNAS.* 103(37): 3712–13717.

- Chen X, Shi J, Chen Y, Xu X, Chen L, Wang H, Hu T. 2007.** Determination of copper binding in *Pseudomonas putida* CZ1 by chemical modifications and X-ray absorption spectroscopy. *Appl Microbiol Biotechnol.* 74(4): 881–889.
- Chiciudean I, Mereuta I, Ionescu R, Vassu T, Tanase A, Stoica I. 2019.** Jet A-1 bacterial contamination: a case study of cultivable bacteria diversity, alkane degradation and biofilm formation. *Pol J Environ Stud.* 28(6): 4139–4146.
- Christensen BB, Sternberg C, Andersen JB, Palmer RJ, Nielsen AT, Givskov M, Molin S. 1999.** Molecular tools for study of biofilm physiology. *Methods in Enzymol.* 310: 20–42.
- Chug R, Khosla B, Singh M. 2015.** modulation of the extracellular polymeric substances (EPS) production by quorum-sensing (QS) in bacteria. *Int J Curr Microbiol Appl Sci.* 4(6): 884–896.
- Ciofu O, Rojo-Molinero E, Macia MD, Oliver A. 2017.** Antibiotic treatment of biofilm infections. *APMIS.* 125: 304–319.
- Clarke PH. 1990.** Introduction: *Pseudomonas aeruginosa*, an opportunist pathogen. In: *Pseudomonas* infection and alginates, biochemistry, genetic and pathology. Eds. Chapman et Hall, New York, 60–72
- Clarke PH, Ornston N. 1975.** Métabolic pathways and regulation II. In: Genetics and biochemistry of *Pseudomonas*, eds Wiley, London, 27–45
- Clerc EE, Raina JB, Keegstra JM, Landry Z, Pontrelli S, Alcolombri U, Lambert BS, Anelli V, Vincent F, Masdeu-Navarro M, Sichert A, De Schaezen F, Sauer U, Simó R, Hehemann J, Vardi A, Seymour JR, Stocker R. 2023.** Strong chemotaxis

by marine bacteria towards polysaccharides is enhanced by the abundant organosulfur compound DMSP. *Nat Commun.* 14: 8080.

Cong C, Tan J, Li C, Liu F, Yu Q, Zhu L, Li y. 2022. Cloning of maize TED transposon into *Escherichia coli* reveals the polychromatic sequence landscape of refractorily propagated plasmids. *Int J Mol Sci.* 23(19): 1–17.

Connell JL, Whiteley M, Shear JB. 2012. Sociomicrobiology in engineered landscapes. *Nat Chem Biol.* 8(1): 10–13.

Conner DE, Kotrola JS. 1994. Growth and survival of *Escherichia coli* 0157:H7 under Acidic Conditions. *Appl Environ Microbiol.* 382–385.

Cooper DG, Goldenberg BG. 1987. Surface-active agents from two bacillus species. *Appl Environ Microbiol.* 53(2): 224–229.

Cooper KK, Mandrell RE, Louie JW, Korlach J, Clark TA, Parker CT, Huynh S, Chain PS, Ahmed S, Carter MQ. 2014. Comparative genomics of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O145: H28 demonstrates a common Evolutionary lineage with *Escherichia coli* 0157: H7. *BMC Genom.*15: 1–17.

Cornforth DM, Foster KR. 2013. Competition sensing: the social side of bacterial stress responses. *Nat Rev Microbiol.* 11: 285–293.

Corral P, Amoozegar MA, Ventosa A. 2020. Halophomes and their biomolecules: recent advances and future applications in biomedicine. *Mar Drugs.* 18(1): 1–33.

Costa P, Gomes ATPC, Braz M, Pereira C, Almeida A. 2021. Application of the resazurin cell viability assay to monitor *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* inactivation mediated by phages. *Antibiotics.* 10(8): 1–15.

- Costerton JW, Cheng KJ, Geesey GG, Ladd TI, Nickel JC, Dasgupta M, Marrie TJ. 1987.** Bacterial biofilms in nature and disease. *Annu Rev Microbiol.* 41: 435–464.
- Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. 1999.** Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science.* 284: 1318–22.
- Costerton JW. 2007.** Direct observations. *In: The biofilm primer.* Eds: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 3–84.
- Crawford DL, Crawford RL, Pometto AL. 1977.** Preparation of specific labeled 14C-(Lignin)- and 14C-(Cellulose)-Lignocelluloses and their decomposition by the microflora of soil. *Appl Environ Microbiol.* 33: 1247–1251.
- Culp E, Wright GD. 2017.** Bacterial proteases, untapped antimicrobial drug targets. *J Antibiot.* 70: 366–377.
- Czajkowski R, Jafra S. 2009.** Quenching of acylhomoserine lactone-dependent quorum sensing by enzymatic disruption of signal molecules. *Acta Biochim Pol.* 56: 1–16.
- Czaran T, Hoekstra RF. 2009.** Microbial Communication, Cooperation and Cheating: Quorum Sensing Drives the Evolution of Cooperation in Bacteria. *PloS ONE.* 4(8): 1–10.
- Dahah H. 2017.** Etude de l'effet antimicrobien et antioxydant des métabolites secondaires secrétés par des *Pseudomonas* originaires des conditions extrêmes. Thèse de Doctorat. Université Abdelhamid Ibn-Badis Mostaganem, Algérie.
- Darbandi A, Owlia P, Bouzari S, Saderi H. 2016.** Diarrheagenic *Escherichia coli* pathotypes frequency in Khuzestan province of Iran. *Iran J Microbiol.* 8(6): 352–358.

- Darwish SF, Asfour HAE. 2013.** Investigation of biofilm forming ability in staphylococci causing bovine mastitis using phenotypic and genotypic assays. *Sci World J.* 1–9.
- Das N, Chandran P. 2011.** Microbial Degradation of Petroleum Hydrocarbon Contaminants: An Overview. *Biotechnol Resear Int.* 2011: 1–13.
- Das P, chatterjee S, Bahera BK, Dangar TK, Das BK, Mahapatra T. 2019.** Isolation and characterization of marine bacteria from East Coast of India: Functional screening for salt stress tolerance. *Heliyon.* 5(6): 1–8.
- Dasgupta D, Ghosh R, Sengupta TK. 2013.** Biofilm-mediated enhanced crude oil degradation by newly isolated *Pseudomonas* species. *ISRN Biotechnol.* 2013: 1–13.
- Davey ME, O’Toole GA. 2000.** Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. *Microbiol Mol Biol Rev.* 64: 847–867
- Dawan J, Ahn J. 2022.** Bacterial Stress Responses as Potential Targets in Overcoming Antibiotic Resistance. *Microorganisms.* 10(7): 1385.
- Dayma P, Rawal IH, Joshi N, Patel NP, Haldar S, Mody KH. 2015.** Influence of low salinity stress on virulence and biofilm formation potential in *Vibrio alginolyticus*, isolated from the Gulf of Khambhat, Gujarat India. *Aquat. Living Resour.* 28: 99–109.
- de Andrade LA, Henrique C, Santos B, Frezarin ET, Sales LR, Rigobelo EC. 2023.** Plant promoting rhizobacteria for sustainable agricultural production. *Microorganisms.* 11(4): 1–15.

- de Araujo ALC, Melo de Oliveira MB. 2019.** Effect of heavy metals on the biofilm formed by microorganisms from impacted aquatic environments. In: Bacterial biofilms. Eds, IntechOpen. 1–14.
- de Bruijn FJ. 2016.** Introduction. In: Stress and environmental regulation of gene expression and adaptation in bacteria, JohnWiley & Sons. Hoboken, NewJersey. Inc. 1–22
- de Carvalho CCCR. 2018.** Marine biofilms: A successful microbial strategy with economic implications. *Front Mar Sci.* 5: 1–11.
- De Kievit T R. 2009.** Quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Environ Microbiol.* 11(2): 279–288.
- de la Fuente-Nunez C, Reffuveille F, Fernandez L, Hancock REW. 2013.** Bacterial biofilm development as a multicellular adaptation: antibiotic resistance and new therapeutic strategies. *Curr Opin Microbiol.* 16: 580–589.
- Deditius JA, Felgner S, Spring I, Kuhne C, Frahm M, Rohde M, Weiß S, Erhardt M. 2015.** Characterization of novel factors involved in swimming and swarming motility in *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium. *PLoS One.* 10(8): 1–15.
- Dehkordi MK, Halaji M, Nouri S. 2020.** Prevalence of class I integron in *Escherichia coli* isolated from animals sources in Iran: A systematic review and meta-analysis. *Trop Med Health.* 48: 1–7.
- Del Castillo T, Ramos JL, Rodríguez-Herva JJ, FuhrerT, Sauer U, Duque E. 2007.** Convergent peripheral pathways catalyze initial glucose catabolism in *Pseudomonas putida*: genomic and flux analysis. *J Bacteriol.* 189(14): 5142–5152.

- Delago A, Gregor R, Dubinsky L, Dandela R, Hendler A, Krief P, Rayo J, Aharoni A, Meijler MM. 2021.** A Bacterial Quorum Sensing Molecule Elicits a General Stress Response in *Saccharomyces cerevisiae*. *Front Microbiol.* 12: 632658.
- Deloney-Marino CR. 2013.** Observing Chemotaxis in *Vibrio fischeri* using soft agar assays in an undergraduate microbiology laboratory. *J Microbiol Biol Educ.* 14(2): 71–72.
- Demetrius L, Ziehe M. 2007.** Darwinian fitness. *Theor Popul Biol.* 72(3): 323–345.
- Deredjian A. 2013.** Les métaux lourds dans les écosystèmes anthropisés : une pression favorisant la sélection des pathogènes opportunistes résistants à des antibiotiques. Thèse de doctorat. Sciences agricoles. Université Claude Bernard-Lyon I, France.
- Dewangon SK, Shrivastata SK, Kadri MA, Saruta S, Yadav S, Minj N. 2023.** Temperature Effect on Electrical Conductivity (Ec) & Total Dissolved Solids (Tds) Of Water: A Review. *Int J Res Anal Rev.* 10(2): 514–520.
- Dewi RR, Hassan L, Daud HM, Matori MF, Nordin F, Ahmad NI, Zakaria Z. 2022.** Prevalence and Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli*, *Salmonella* and *Vibrio* Derived from Farm-Raised Red Hybrid Tilapia (*Oreochromis spp.*) and Asian Sea Bass (*Lates calcarifer*, Bloch 1970) on the West Coast of Peninsular Malaysia. *Antibiotics* (Basel). 11(2): 136.
- Déziel E, Comeau Y, Villemur R. 2001.** Initiation of biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* 57RP correlates with emergence of hyperpiliated and highly adherent phenotypic variants deficient in swimming, swarming, and twitching motilities. *J Bacteriol.* 183(4): 1195-1204.
- Déziel E, Lépine F, Milot S, He J, Mindrinos MN, Tompkins RG, Rahme LG. 2004.** Analysis of *Pseudomonas aeruginosa* 4-hydroxy-2-alkylquinolines (HAQs) reveals a

role for 4-hydroxy-2-heptylquinoline in cell to-cell communication. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 101: 1339–1344.

Dharmaprakash A, Reghunathan D, Sivakumar KC, Prasannakumar M, Thomas S.

2016. Insights into the genome sequences of an *N*-acyl homoserine lactone molecule producing two *Pseudomonas* spp. isolated from the Arctic. *Genome Announc.* 4: e00767–e00716.

Diaw D, Fall-Ndiaye MN, Ali oY, Sare IC, Diop TA. 2018. Effet de la salinité sur la densité

des isolats de *Pseudomonas spp fluorescens* de rhizosphère de plants de tomate, d'aubergine, et d'oignon au Sénégal. *Int J Biol Chem Sci.* 12(4): 1914–1919.

Didari M, Bagheri M, Amoozegar MA, Bouzari S, Babavalian H, Tebyanian H,

Hassanshahian M, Ventosa A. 2020. Diversity of halophilic and halotolerant bacteria in the largest seasonal hypersaline lake (Aran-Bigdol-Iran). *Int J Environ Health Eng.* 18(2): 961–971.

Diggle SP, Heeb S, Dubern JF, Fletcher MP, Crusz SA, Williams P, Camara M. 2008.

Quorum Sensing in Pseudomonads, In: *Pseudomonas* Model Organism, Pathogen, Cell Factory, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KgaA. Weinheim. 167–194

Dixit P, Pang TY, Maslov S. 2017. Recombination –Driven genome evolution and stability

of bacterial species. *Genetics.* 207(1): 281–295.

Dixit S, Dubey RC, Maheshwari DK, Seth PK, Bajpai VK. 2017. Roles of quorum sensing

molecules from *Rhizobium etli* RT1 in bacterial motility and biofilm formation. *Braz J Microbiol.* 48: 815–821.

- Doghri I. 2015.** Interactions moléculaires entre microorganismes au sein de biofilms en milieu marin:mise en évidence de biomolécules antibiofilm. Sciences agricoles, Thèse du doctorat. Université de La Rochelle, France.
- Dong YH, Zhang LH. 2005.** Quorum sensing and quorum-quenching enzymes. *J Microbiol.* 43: 10–109.
- Dong YH, Zhang XF, Soo HM, Greenberg EP, Zhang LH. 2005.** The two-component response regulator PprB modulates quorum-sensing signal production and global gene expression in *Pseudomonas aeruginosa*. *Mol Microbiol.* 56(5): 1287–1301.
- Donlan RM, Costerton JW. 2002.** Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev.* 15: 67–193.
- Donlan RM. 2002.** Biofilms: Microbial Life on Surface. *Emerg Infect Dis.* 8(9): 881–890.
- Donnarumma D, Buommino E, Fusco A, Paoletti I, Auricchio L, Tufano MA. 2010.** Effect of temperature on the shift of *Pseudomonas fluorescens* from an environmental microorganism to a potential human pathogen. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 23 (1): 227–234.
- Dranguet P, Freiburghaus A, Slaveykova VL, Le Fraucheur S. 2019.** Long-term effects of mercury on biofilms grown in contaminated microcosms: a pilot study. *Environments.* 6 (3): 1 –12.
- Dubravka M, Lazic S, Vidić B, Petrovic JM, Bugarski D, Seguljev Z. 2010.** Slime production and sliem ability by *Staphylococcus aureus* bovine mastitis isolates. *Acta Vet.* 60(2-3): 217–226.

- Dunlap PV. 1999.** Quorum Regulation of Luminescence in *Vibrio fischeri*. *J Molecular Microbiol Biotechnol.* 1(1): 5–12.
- Dunne WM J. 2002.** Bacterial adhesion: seen any good biofilms lately? *Clin Microbiol Rev.* 15: 155–166.
- Dunn-Siegrist I, Tissières P, Drifte G, Bauer J, Moutel S, Pugin J. 2012.** Toll-like receptor Activation of human cells by synthetic triacylated Lipid A-like molécules. *J Biol Chem.* 10(20): 16121–16131.
- Dutta B, Bandopadhyay R. 2022.** Biotechnological potentials of halophilic microorganisms and their impact on mankind. *Beni-Suef Univ J Basic Appl Sci.* 11(75): 1–16.
- Dutta P, Deb A, Majumdar S. 2016.** Optimization of the medium for the production of extracellular amylase by the *Pseudomonas stutzeri* ISL B5 isolated from municipal solid waste. *Int J Microbiol* 2016: 1–7.
- Dutta S, Singh P. 2016.** Chemotaxis of biofilm producing *Pseudomonas spp.* towards refined petroleum oil. *J Sci Res.* 8(2): 199–207.
- Eberhard A, Burlingame AL, Eberhard C, Kenyon GL, Neelson KH, Oppenheimer NJ. 1981.** Structural Identification of Autoinducer of Luciferase. *Biochemistry.* 20: 2444–2449.
- Ebrahimi-Zarandi M, Etesami H, Glick BR. 2023.** Fostering plant resilience to drought with Actinobacteria: Unveiling perennial allies in drought stress tolerance. *Plant Stress.* 10: 1–18.
- Edel M, Horn H, Gescher J. 2019.** Biofilm systems as tools in biotechnological production. *Appl Microbiol Biotechnol.* 103(13): 5095–5103.

- Eisenbach M, Lengeler JW, Varon M, Gutnick D, Meili R, Firtel RA, Segall JF, Omann GM, Tamada A, Murakami F. 2004.** Bacterial Chemotaxis. In: Chemotaxis, Imperial College Press, Singapore, 53–215.
- El-Demerdash AS, Bakry NR. 2020.** Evaluation of the synergistic effect of amikacin with cefotaxime against *Pseudomonas aeruginosa* and its biofilm genes expression. In: Gene expression and phenotypic traits. IntechOpen, 1–21.
- Elizabeth George S, Wan Y. 2019.** Advances in characterizing microbial community change and resistance upon exposure to lead contamination: Implications for ecological risk assessment. *Crit Rev Environl Sci Technol.* 50(21): 2223–2270.
- El-Shouny WA, Al-Baidani ARH, Hamza WT. 2011.** Antimicrobial Activity of Pyocyanin Produced by *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Surgical Wound-Infections. *Int. J Pharm S Med Sci.* 1 (1): 1–7.
- Emtiazi G, Shakarami H, Nahvi I, Mirdamadian SH. 2005.** Utilization of petroleum hydrocarbons by *Pseudomonas* sp. and transformed *Escherichia coli*. *Afr J Biotechnol.* 4(2): 172–176.
- Erdei-Tombor P, Gabriella K, Andrea T. 2024.** Biofilm Formation in Water Distribution Systems. *Processes.* 12(2): 1–15.
- Eselin J, Santos T, Hébraud M. 2018.** Dessication: An environmental and food industry stress that bacteria commonly face. *Food Microbiol.* 69: 82–88.
- Escamilla-Rodriguez A, Carlos-Hernandez S, Diaz-Jimenez D. 2021.** Evidence of resistance of heavy metals from bacteria isolated from natural waters of a mining area in Mexico. *Water.* 13: 1–15.

- Escobar-Muciño E, Arenas-Hernández MMP, Luna-Guevara ML. 2022.** Mechanisms of inhibition of quorum sensing as an alternative for the control of *E. coli* and *Salmonella*. *Microorganisms*. 10(5): 1–15.
- Ezenobi NO, Okpokwasili GC. 2016.** Combined effect of temperature and pH on *Pseudomonas aeruginosa* isolated from a cosmetic product. *Int J Curr Res*. 8(8): 37124–37130.
- Fakhar A, Gul B, Gurmani AR, Khan SM, Ali S, Sultan T, Chaudhary HJ, Rafique M, Rizwan M. 2020.** Heavy metal remediation and resistance mechanism of *Aeromonas*, *Bacillus* and *Pseudomonas*: A review. *Crit Rev Environ Sci Technol*. 1–48.
- Feng H, Fu R, Hou X, Lv Y, Zhang N, Liu Y, Xu Z, Miao Y, Krell T, Shen Q, Zhang R. 2021.** Chemotaxis of beneficial rhizobacteria to root exudates: The first step towards root-microbe rhizosphere interactions. *Int J Mol Sci*. 23(13): 1–14.
- Fernández M, Porcel M, de la Torre J, Molina-Henares MA, Daddaoua A, Llamas MA, Roca A, Carriel V, Garzón I, Ramos JL, Alaminos M, Duque E. 2015.** Analysis of the pathogenic potential of nosocomial *Pseudomonas putida* strains. *Front Microbiol*. 6(871): 1–11.
- Fisher FG, Dorfel H. 1955.** Die Polyuronsäuren der Braunalgen (Kohlenhydrate der Algen I). *Physiol Chem*. 302: 186–203.
- Floyd M, Winn M, Cullen C, Sil P, Chassaing B, YooD-goon Y, goon Yoo1, Gewirtz TA, Goldberg JB, McCarter LL, Rada B. 2016.** Swimming Motility Mediates the Formation of Neutrophil Extracellular Traps Induced by Flagellated *Pseudomonas aeruginosa*. *PLoS Pathog*. 12(11): 1–32.

- Folders J, Algra J, Roelofs MS, van Loon LC, Tommassen J, Bitter W. 2001.** Characterization of *Pseudomonas aeruginosa* chitinase, a gradually secreted protein. *J Bacteriol.* 183(24): 7044–7052.
- Foster-Nyarko E, Pallen MJ. 2022.** The microbial ecology of *Escherichia coli* in the vertebrate gut. *FEMS Microbiol Rev.* 46(3): 1–22.
- Fotadar U, Zaveloff P, Terracio L. 2005.** Growth of *Escherichia coli* at elevated temperatures. *J Basic Microbiol.* 45(5): 403–404.
- Freeman DJ, Falkiner FR, Keane CT. 1989.** New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci. *J Clin Pathol.* 42: 872–874.
- Frey B, Rast BM, Qi W, Stierli B, Brunner I. 2022.** Long-term mercury contamination does not affect the microbial gene potential for C and N cycling in soils but enhances detoxification genes abundance. *Front Microbiol.* 13: 1–18.
- Friedlander A, Nir S, Reches M, Shemesh M. 2019.** Preventing Biofilm Formation by Dairy-Associated Bacteria Using Peptide-Coated Surfaces. *Front Microbiol.* 10:1–9.
- Gacesa P, Russell NJ. 1990.** The structure and property of alginate. London, Chapman & Hall. 29–49.
- Gala VC, John NR, Bhagwat AM, Datar AG, Kharkar PS, Desai KB. 2016.** Attenuation of quorum sensing-regulated behavior by *Tinospora cordifolia* extract & identification of its actives constituents. *Indian J Med Res.* 144: 92–103.
- Galié S, García-Gutiérrez C, Miguélez EM, Villar CJ, Lombó F. 2018.** Biofilms in the Food Industry: Health Aspects and Control Methods. *Front Microbiol.* 9: 1–18.

- Galloway DR. 1991.** *Pseudomonas aeruginosa* elastase elastolysis revisited: recent development. *Mol Microbiol.* 5: 2315–2321.
- Gangloff SC, Hijiya N, Haziot A, Goyert SN. 1999.** Lipopolysaccharide structure influences the macrophage responses *Via* CD14-Independent and CD14-Dependent pathways. *Clin Infect Dis.* 28(3): 491–496.
- Gao X, Zhang N, Shen J, Niv J, Zhang X, Soleil Y, Li A, Wang Y, Cheng D, Zhao M, Zhang H, Li C, Soleil J. 2022.** Screening of the active compounds against neural oxidative damage from Ginseng Phloem using UPLC-Q-Exactive-MS coupled with content-effect weighted methods. *Molecules.* 27(24): 9061.
- Garba MA, Verma AK, Umar AM, Yakub AU, Adam UI, Abubakar SH, Mathur A. 2021.** Estimation of Biofilms from sewage Treatment Plants (STPs) of Mewar University. *J Indian Res.* 9(1-2): 51–57
- García-Contreras R, Nuñez-López L, Jasso-Chávez R, Kwan BW, Belmont JA, Rangel-Vega A, Maeda T, Wood TK. 2015.** Quorum sensing enhancement of the stress response promotes resistance to quorum quenching and prevents social cheating. *ISME J.* 9(1): 115–125.
- Garcia-Valdés E, Lalucat J. 2016.** *Pseudomonas* molecular phylogeny and current taxonomy. In: *Pseudomonas: molecular and applied biology.* Kahlon RS., eds. Cham, Switzerland: Springer International Publishing, 1–12.
- Gerba CP, McLeod JS. 1976.** Effect of sediments on the survival of *Escherichia coli* in Marine waters. *Appl Environ Microbiol.* 32(1): 114–120.

- Geurtsen J, de Been M, Weerdenburg E, Zomer A, McNally A, Poolman J. 2022.** Genomics and pathotypes of the many faces of *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol Rev.* 46(6): 1–30.
- Ghoul M, Mitri S. 2016.** The Ecology and Evolution of Microbial Competition. *Trends Microbiol.* 1-13.
- Giachino A, Wldron KJ. 2020.** Copper tolerance in bacteria requires the activation of multiples accessory pathways. *Mol Microbiol.* 114: 377–390.
- Goel N, Fatima SW, Kumar S, Sinha R, Khare SK. 2021.** Antimicrobial resistance in biofilms: Exploring marine actinobacteria as a potential source of antibiotics and biofilm inhibitors. *Biotechnol Rep.* 30: e00613.
- Goller CC, Romeo T. 2008.** Environmental influences on biofilm development. In: *Bacterial Biofilms*. Springer Verlag, Berlin. 37–66.
- Gomes TAT, Elias WP, Scaletsky ICA, Guth BEC, Rodrigues JF, Piazza RMF, Ferreira LCS, Martínez MB. 2016.** Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Braz J Microbiol.* 47(1): 3–30.
- Gomila M, Peña A, Mulet M, Lalucat J, García-Valdés E. 2015.** Phylogenomics and systematics in *Pseudomonas*. *Front Microbiol.* 6 (214): 1–13.
- Gonzalez JE, Marketon MM. 2003.** Quorum sensing in nitrogen-fixing rhizobia. *Microbiol Mol Biol Rev.* 67(4): 574–592.
- González-Reguero D, Rabas-Mora M, Labo AP, Gómez PAJ. 2023.** Bioremediation of environments contaminated with mercury. *World J Microbiol Biotechnol.* 39(9): 1–11.

- Greenberg EP. 2011.** The New Science of Sociomicrobiology and the Realm of Synthetic and Systems Ecology. In: The Science and Applications of Synthetic and Systems Biology: Workshop Summary. *Institute of Medicine*. 213–222.
- Greń I, Gąszczak A, Szczyrba E, Łabużek S. 2009.** Enrichment, Isolation and Susceptibility Profile of the Growth Substrate of Bacterial Strains Able to Degrade Vinyl Acetate. *Polish J Environ Stud*. 18(3): 383–390.
- Gross H, Loper JE. 2009.** Genomics of secondary metabolite production by *Pseudomonas* spp. *Nat Prod Rep*. 26: 1408–1446.
- Gruszecka J, Filip R. 2023.** Urinary tract infections in patients hospitalized in a gastroenterology Department study from a tertiary regional hospital in South-East Poland. *Gastrointest Disord*. 5(2): 1–11.
- Guan N, Li J, Shin H, Du G, Chen J. 2017.** Microbial response to environmental stresses: from fundamental mechanisms to practical applications. *Appl Microbiol Biotechnol*. 101: 3991–4008
- Guan N, Liu L. 2020.** Microbial response to acid stress: mechanisms and applications. *Appl Microbiol Biotechnol*. 104(1): 51–65.
- Guevara-Luna J, Arroyo-Herrera I, Tapia-Garcia EY, Esterada-de los Santos P, Ortega-Nava AJ, Vasque-Murrieta MS. 2024.** Diversity and biotechnological potential of cultivable halophilic and halotolerance bacteria from the “Los Negritos” geothermal area. *Microorganisms*. 12(3): 1–15.
- Guilhen C, Forestier C, Balestrino D. 2017.** Biofilm dispersal: multiple elaborate strategies for dissemination of bacteria with unique properties. *Mol Microbiol*. 105(2): 188–210.

- Gupta S, Sharma P, Dev K, Sourirajan A. 2016.** Halophilic Bacteria of Lunsu Produce an Array of Industrially Important Enzymes with Salt Tolerant Activity. *Biochem Res Int.* 1-10.
- Gupta R, Gupta N, Rathi P. 2004.** Bacterial lipases: an overview of production, purification and biochemical properties. *Appl Microbiol Biotechnol.* 64(6): 763–781.
- Gworek B, Dmuchowski W, Baczewska-Dąbrowska AH. 2020.** Mercury in terrestrial environment: A review. *Environ Sci Eur.* 32: 1–19.
- Ha C, Park SJ, Im SJ, Lee JH. 2012.** Interspecies signaling through QscR, a quorum receptor of *Pseudomonas aeruginosa*. *Mol Cell.* 33: 53–59.
- Ha DG, Kuchma SL, O’Toole GA. 2014.** Plate-based assay for swimming motility in *Pseudomonas aeruginosa*. *Methods Mol Biol.* 1149: 59–65.
- Hafeez H, Farheen H, Mahmood F, Shahzad T, Shahid M, Iqbal M, Rasul S, Manzoor H, Hussain S. 2018.** Isolation and characterization of a Lead (Pb) tolerant *Pseudomonas aeruginosa* strain HF5 for decolorization of reactive red-120 and other azo dyes. *Ann Microbiol.* 68: 943–952.
- Hall JPJ, Harrison E, Lilley AK, Paterson S, Spiers AJ, Brockhurst MA. 2015.** Environmentally co-occurring mercury resistance plasmids are genetically and phenotypically diverse and confer variable context-dependent fitness effects. *Environ Microbiol.* 17(12): 5008–5022.
- Hammadi KM, Yousif AA. 2014.** Detection of slime material in *Staphylococcus aureus* bacteria from ovine matitis by transmission electron microscope and Congo red agar method. *Int J Curr Microbiol Appl Sci.* 3(4): 304–309.

- Hamouche L, Laalami S, Daerr A, Song S, Holland IB, Séror SJ, Hamze K, Putzer H. 2017.** Bacillus subtilis swarmer cells Lead the swarm, multiply, and generate a tail of quiescent descendants. *mBio*. 8(1): 1–14.
- Hamza TA. 2017.** Bacterial Protease Enzyme: Safe and Good Alternative for Industrial and Commercial Use. *Int J Chem Biomol Sci*. 3(1): 1–10.
- Haras D. 2005.** Biofilms et altérations des matériaux: de l'analyse du phénomène aux stratégies de prévention. *Mater Tech*. 93: 27–41.
- Harshey RM. 2003.** Bacterial motility on a surface: Many ways to a common goal. *Ann Rev Microbiol*. 57: 249–273.
- Hawver LA, Jung SA, Ng W-L. 2016.** Specificity and complexity in bacterial quorum-sensing systems. *FEMS Microbiol Rev*. 40: 738–752.
- He YW, and Zhang LH. 2008.** Quorum sensing and virulence regulation in *Xanthomonas campestris*. *FEMS Microbiol Rev*. 32: 842–85.
- Henrichsen J. 1972.** Bacterial surface translocation: a survey and a classification. *Bacteriol Rev*. 36(4): 478–503.
- Hentati D. 2018.** Isolement et caractérisation des bactéries marines hydrocarbonoclastes, production des biosurfactants et études de la biodiversité microbienne au sein de trois ports de Sfax, Tunisie. Thèse de doctorat. Université Montpellier; Université de Sfax (Tunisie). 99–136.
- Heo M. 2016.** Functional dynamics of the bacterial flagellar motor driven by fluorescent protein tagged stators and by evolutionary modified foreign stators. Thèse. Molecular Biology. Université de Montpellier, France.

- Hernández DJ, David AS, Menges ES, Searcy CA, Afkhami ME. 2021.** Environmental stresses destabilizing microbial network. *ISME J.* 15: 1722–1734.
- Hews CL, Tran S, Wegmann U, Brett B, Walsham ADS, Kavanaugh D, Ward NJ, Juge N, Scüller S. 2017.** The StcE metalloprotease of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* reduces the inner mucus layer and promotes enhance adherence to human colonic epithelium *ex vivo*. *Cell Microbiol.* 19(6): 1–10.
- Heydorn A, Nielsen A T, Hentzer M, Sternberg C, Givskov M, Ersbøll B K, Molin S. 2000.** Quantification of biofilm structures by the novel computer program comstat. *Microbiol.* 146 (10): 2395–2407.
- Hibbing ME, Fuqua C, Parsek MR, Peterson SB. 2010.** Bacterial competition: surviving and thriving in the microbial jungle. *Nat RevMicrobiol.* 8(1): 15–25
- Hinthong W, Srisook T, Tanyong W, Kongngoen T, Mahikul W, Santajit S, Sookrung N, Indrawattana N. 2024.** Investigation of the marine bacterial community along the coastline of the Gulf of Thailand. *Heliyon.* 10(11): e31896.
- Hofmann L, Hirsch M, Ruthstein S. 2021.** Advances in Understanding of the copper homeostasis in *Pseudomonas aeruginosa*. 24(2): 1–23.
- Højby N, Johansen HK, Moser C, Ciofu O. 2008.** Clinical Relevance of *Pseudomonas aeruginosa*: A Master of Adaptation and Survival Strategies. In: *Pseudomonas Model Organism, Pathogen, Cell Factory*. Eds, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. 25–44.
- Horswill AR, Stoodley P, Stewart PS, Parsek MR. 2007.** The effect of the chemical, biological, and physical environment on quorum sensing in structured microbial communities. *Anal Bioanal Chem.* 387: 371–380.

- Houvion E. 2014.** Dental biofilm: composition, formation and properties. Thèse du doctorat. Université de Lorraine, France.
- Howard SA, McCarthy RR. 2023.** Modulating biofilm can potentiate activity of novel plastic-degrading enzymes. *npj Biofilms Microbiomes*. 9(72): 1–10.
- Hsieh SA, Allen PM. 2020.** Immunomodulatory roles of polysaccharide capsules in the intestine. *Front Immunol*. 11: 1–10.
- Huang Y, Zeng Y, Yu Z, Zhang J, Feng H, Lin X. 2013.** *In silico* and experimental methods revealed highly diverse bacteria with quorum sensing and aromatics biodegradation systems – A potential broad application on bioremediation. *Biores Technol*. 148: 311–316.
- Huma N, Shankar P, Kushwah J, Bhushan A, Joshi J, Mukherjee T, Raju SC, Purohit HJ, Kalia VC. 2011.** Diversity and polymorphism in AHL-lactonase gene (*aiiA*) of *Bacillus*. *J Microbiol Biotechnol*. 21: 1001–1011.
- Huo H, He R, Zhang R, Yuan J. 2021.** Swimming *Escherichia coli* Cells Explore the Environment by Lévy Walk. *Appl Environ Microbiol*. 87(6): 1-8.
- Igiri BE, Okoduwa SIR, Idoko GO, Akabuogu EP, Adeyi AO, Ejiogu IK. 2018.** Toxicity and Bioremediation of Heavy Metals Contaminated Ecosystem from Tannery Wastewater: A Review. *J Toxicol*. 2018: 1–17.
- Imhoff J. 2005.** *Pseudomonas*. In: Bergey's Manual Of Systematic Bacteriology, 2ndeds, *Gammaproteobacteria*, springer. 13–27.
- Irie Y, Parsek MR. 2008.** Quorum Sensing and Microbial Biofilms. *Curr Top Microbiol Immunol*. 322: 67–79.

- Ismail VS. 2023.** The Blue Molybdenum Reaction for the Determination of Phosphate in Natural Water and Detergent Samples. *J Univ Babylon*. 31(3): 10–25.
- Ivanova A, Ivanova K, Tzanko R. 2018.** Strategies for Silencing Bacterial Communication. In: *Biotechnological Applications of Quorum Sensing Inhibitors*, Eds.Springer. Singapore, 33–52.
- Jaeger K, Ransac S, Dijkstra BW, Colson C, Heuvel MV, Misset O. 1994.** Bacterial lipase. *FEMS Microbiol Rev*. 15(1): 29–63
- Jahan S, Strezov V. 2017.** Water quality assessment of Australian ports using water quality evaluation indices. *PLoS One*. 12(12): e0189284.
- Jahid IK, Mizan MDFR, Ha AJ, Ha S. 2015.** Effect of salinity and incubation time of planktonic cells on biofilm formation, motility, exoprotease production, and quorum sensing of *Aeromonas hydrophila*. *Food Microbiol*. 49: 142–151.
- Jain R, Behrens AJ, Kaever V, Kazmierczak BI. 2012.** Type IV pilus assembly in *Pseudomonas aeruginosa* over a broad range of Cyclic di-GMP Concentrations. *J Bacteriol*. 194(16): 4285–4294.
- Jaishshankar M, Tseten T, Anbalagan N, Mathew BB, Beeregowda KN. 2014.** Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdiscip Toxicol*. 7(2): 60–72.
- Jakuszeit T, Lindsey-Jones J, Peaudecerf FJ, Croze OA. 2021.** Migration and accumulation of bacteria with chemotaxis and chemokinesis. *Eur Phys J*. 44: 32.
- Jamal M, Ahmed W, Andleeb S, Jalil F, Imran M, Nawaz MA, Ali M, Rafiq M, Kamil MA. 2018.** Bacterial biofilm and associated infections. *J Chin Med Assoc*. 81: 7–11.

- Januário AP, Afonso CN, Mendes S, Rodrigues MJ. 2020.** Fecal indicator bacteria and *Pseudomonas aeruginosa* in marine coastal waters: Is there a relationship? *Pathogens*. 9(1): 13.
- Jaques S, McCarter LL. 2006.** Three new Regulators of swarming in *Vibrio parahaemolyticus*. *J Bacteriol*. 188(7): 2625–2635.
- Jardak M, Abdelli F, Laadhar R, Lami R, Stien D. 2017.** The evaluation of biofilm-forming ability of bacterial strategy strains isolated from the roof of an old house. *J Gen Appl Microbiol*. 63(3): 186–194.
- Jaroslawska A, Piotrowska-Seget Z. 2014.** Lead resistance in Microorganisms. *Microbiol*. 160(1): 12–25.
- Jassim B, Al-Nashi AAA. 2018.** Efficiency of *Escherichia coli* in the Dissociation of Hydrocarbons and Statement their Molecular Characterization of Biodegradable. *Int J Pharm Res*. 10(4): 491–497.
- Jasu A, Ray RR. 2021.** Biofilm mediated strategies to mitigate heavy metal pollution: A critical review in metal Bioremediation. *Biocatal Agric Biotechnol T*. 37(1): 102183.
- Javed S, Azeem F, Hussain S, Rasul I, Siddique MH, Riaz M, Afzal M, Kouser A, Nadeem H. 2018.** Bacterial lipases: A review on purification and characterization. *Prog Biophys Mol Biol*. 132: 23–34.
- Jayaseelan S, Ramaswamy D, Dharmaraj S. 2013.** Pyocyanin: production, applications, challenges and new insights. *World J Microbiol Biotechnol*. 30(4): 1159–1168.
- Jefferson KK. 2004.** What drives bacteria to produce a biofilm? *FEMS Microbiol Lett*. 236(2): 193–173.

- Ji M, Kong W, Yue L, Wang J, Deng Y, Zhu L. 2019.** Salinity reduces bacterial diversity, but increases network complexity in Tibetan Plateau lakes. *FEMS Microbiol Ecol.* 95(12): 1–10.
- Jia W, Cheng L, Tan Q, Liu Y, Dou J, Yang K, Yang Q, Wang S, Li J, Niu G, Zheng L, Ding A. 2023.** Response of the soil microbial community to petroleum hydrocarbon stress shows a threshold effect: research on aged realistic contaminated fields. *Front Microbiol.* 14: 1–15.
- Jiang W, Xia S, Liang J, Zhang Z, Hermanowics SW. 2013.** Effect of quorum quenching on the reactor performance, biofouling and biomass characteristics in membrane bioreactors. *Water Res.* 47: 187–196.
- Jiménez-Pichardo R, Hernández-Martínez I, Regalado-González C, Santos-Cruz J, Meas-Vong Y, Wachter-Rodarte MdC, Carrillo-Reyes J, Sánchez-Ortega I, García-Almendárez BE. 2021.** Innovative Control of Biofilms on Stainless Steel Surfaces Using Electrolyzed Water in the Dairy Industry. *Foods.* 10(1): 1–21.
- Jin J, Cheng J, Wang Y, Shen X. 2018.** The Pseudomonas quinolone signal (PQS): Not just For Quorum sensing anymore. *Front Cell Infect Microbiol.* 8: 1–9.
- Joddha HB, Mathakiya RA, Joshi KV, Khant RB, Golaviya AV, Hinsu AT, Desai MR, Jakhesara SJ, Koringa PG. 2023.** Profiling of antimicrobial resistance genes and integron from *Escherichia coli* isolates using whole genome sequencing. *Genes.* 14(6): 1–12.
- John RC, Okpokwasili GC. 2012.** Crude oil-degradation and plasmid profile of nitrifying bacteria isolated from oil-impacted mangrove sediment in the Niger Delta of Nigeria. *Bull Environ Contam Toxicol.* 88 (6): 1020–1026.

- Julkowska D, Obuchowski M, Holland IB, Séror SJ. 2005.** Comparative analysis of the development of swarming communities of *Bacillus subtilis* 168 and a natural wild type: critical effects of surfactin and the composition of the medium. *J Bacteriol.* 187(1): 65–76.
- Jung AV, Le Cann P, Roig B, Thomas O, Baurès E, Thomas MF. 2014.** Microbial contamination detection in water resources: interest of current optical methods, trends and needs in the context of climate change. *Int J Environ Res Public Health.* 11(4): 4292–4310.
- Jung HB, Richards J, Fitzgerald A. 2020.** Temporal and spatial variations of water quality in the Newark Bay Estuary. *Reg Stud Mar Sci.* 41: 1–12.
- Justin A, Jalal AJ. 2018.** The significance of *Pseudomonas aeruginosa* infection and biofilms to cystic fibrosis patients: The need for the development of new therapies. *Adv Biotechnol Microbiol.* 8(4): 1–7.
- Jyot J, Ramphal R. 2008.** Flagella and pili of *Pseudomonas aeruginosa*. In: *Pseudomonas Model Organism, Pathogen, Cell Factory*. Eds, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. 85–108.
- Kacziba B, Szierer A, Mészáros E, Rónavári A, Konya Z, Feigl G. 2023.** Exploration the homeostasis of signaling molecules in monocotyledonous crops with different CuO nanoparticle tolerance. *Plant Stress.* 7: 1–9
- Kadouri D, O’Toole GA. 2005.** Susceptibility of biofilms to *Bdellovibrio bacteriovorus* attack. *Appl Environ Microbiol.* 7: 4044–4051.

- Kagan JCI, SuT, Horng T, Chow A, Akira S, Medzhitov R. 2008.** TRAM couples endocytosis of Toll like receptor 4 to the induction of interferon-beta. *Nat Immunol.* 9: 361–368.
- Kalia VC, Prakash J, Koul S, Ray S. 2018.** Quorum Sensing and Its Inhibition: Biotechnological Applications, In: Quorum Sensing and its Biotechnological Applications, Eds.Springer. Singapore. 3–16.
- Kalia VC, Raju SC, Purohit HJ. 2011.** Genomic analysis reveals versatile organisms for quorum quenching enzymes: acyl-homoserine lactoneacylase and lactonase. *Open Microbiol.* 5:1–13.
- Kalita D, Joshi SR. 2017.** Study on bioremediation of lead by exopolysaccharide producing mettalophilic bacterium isolated from extreme habitat. *Biotechnol Rep.* 16: 48–57.
- Kanak KR, Dass RS, Pan A. 2023.** Antiquorum sensing potential of selenium nanoparticles against LasI/R, RhlI/R, and PQS/MvfR in *Pseudomonas aeruginosa*: a molecular docking approach. *Front Mol Biosci.* 10: 1–19.
- Kang D, Kirienkoa DR, Webster P, Fisher AL, Kirienko NV. 2018.** Pyoverdine, a siderophore from *Pseudomonas aeruginosa*, translocates into *C. elegans*, removes iron, and activates a distinct host response. *Virulence.* 9(1): 804–817.
- Kaplan JB. 2010.** Biofilm dispersal: Mechanisms, clinical implications, and potential therapeutic uses. *J Dent Res.* 93(3): 205–2018.
- Karbasdehi VN, Dobaradaran S, Nabipour I, Ostovar A, Arfaeinia H, Vazirizadeh A, Mirahmadi R, Keshtkar M, Ghasemi FF, Khalifei F. 2017.** Indicator bacteria community in seawater and coastal sediment: the Persian Gulf as a case. *J Environ Health Sci Eng.* 15: 6.

- Kashmiri Zn, Mankar SA. 2014.** Free radicals and oxidative stress in bacteria. *Inter J Curr Microbiol Appl Sci.* 3(9): 34–40.
- Kasotia A, Ajit Varma A, Choudhary DK. 2015.** *Pseudomonas*-Mediated Mitigation of Salt Stress and Growth Promotion in Glycine max. *Agr Res.* 4: 31–41.
- Kato J, Kim H-E, Takiguchi N, Kuroda A, Ohtake H. 2008.** *Pseudomonas aeruginosa* as a model microorganism for investigation of chemotactic behaviors in Ecosystem. *J Biosci Bioeng.* 1(1-7): 1–7.
- Kearns DB, Losick R. 2003.** Swarming motility in undomesticated *Bacillus subtilis*. *Mol Microbiol.* 49(3): 581–590.
- Kearns DB. 2010.** A field guide to bacterial swarming motility. *Nat Rev Microbiol.* 8(9): 634–644.
- Kebede G, Tefese T, Abda EM, Kamaraj M, Assefa F. 2021.** Factors Influencing the Bacterial Bioremediation of Hydrocarbon Contaminants in the Soil: Mechanisms and Impacts. *J Chem.* 2021: 1–17.
- Kernan M, Hughes M, Helliwell R.C. 2002.** Chemical variation and catchment characterization high altitude lochs in Scotland, U.K. *Water, Air & Soil pollution.* 61–73.
- Khalilzadeh P. 2009.** Formation de Biofilm à *Pseudomonas aeruginosa*: évaluation d'inhibiteurs potentiels du Quorum Sensing. Thèse du doctorat. L'université Paul Sabatier-Toulouse III. Toulouse.

- Khan M, Kamran M, Kadi RH, Hassan MM, Elhakem A, Soliman MH, Mumtaz MZ, Ashraf M, Shamim S. 2022.** Harnessing the potential of *Bacillus altitudinis* MT422188 for Copper Bioremediation. *Front Microbiol.* 13: 1–16.
- Khan NH, Ahsan M, Taylor WD, Kogure K. 2010.** Culturability and survival of marine, freshwater and clinical *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbes Environ.* 25(4): 266–274.
- Khangholi M, Jamalli A. 2016.** The effects of sugars on the biofilms formations of *Escherichia coli* 185p on stainless steel and polyethylene terephthalate surfaces in laboratory model. *Jundishapur J Microbiol.* 9(9): 1–7.
- Khosravi A, Javdan M, Yazdanpanah G, Malakootian M. 2020.** Removal of heavy metals by *Escherichia coli* (*E. coli*) biofilm placed on zeolite from aqueous solutions (case study: the wastewater of Kerman Bahonar Copper Complex). *Appl Water Sci.* 10: 167.
- Kida Y, Higashimoto Y, Inoue H, Shimizu T, Kuwano K. 2008.** A novel secreted protease from *Pseudomonas aeruginosa* activates NF- κ B through protease-activated receptors. *Cell Microbiol.* 10(7): 1491–1504.
- Kiil K, Binnewies TT, Willenbrock H, Kirkelund Hansen S, Yang L, Jelsbak L, Ussery DW, Friis C. 2008.** Comparative genomics of *Pseudomonas*, In: *Pseudomonas* Model Organism, Pathogen, Cell factory. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. 1–24.
- Kim W, Surette MG. 2005.** Prevalence of surface swarming behavior in Salmonella. *J Bacteriol.* 187(18): 6580–6583.

- Kimata N, Nishino T, Suzuki S, Kogure K. 2004.** *Pseudomonas aeruginosa* isolated from marine environments in Tokyo Bay. *Microb Ecol.* 47(1): 41–47.
- Kirov SM, Tassell BC, Semmler ABT, O'Donovan LA, Rabaan AA, Shaw JG. 2002.** Lateral flagella and swarming motility in *Aeromonas* species. *J Bacteriol.* 184(2): 547–555.
- Klein E, Wurst R, Rehlund D, Gescher J. 2024.** Elucidating the development of cooperative anode-biofilm-structures. *Biofilm.* 7: 1-9.
- Kleiner-Grote GRM, Risse JM, Friehs K. 2018.** Secretion of recombinant proteins from *E. coli*. *Eng Life Sci.* 18(8): 532–550.
- Klockgether J, Wurdemann D, Wehlmann L, Binnewies TT, Ussery DW, Tumbler B. 2008.** Genome diversity of *Pseudomonas aeruginosa*. In: *Pseudomonas* Genomics and molecular biology, eds Cornelis. 19–42.
- Knobloch JK, Horsetkotte MA, Rohde H, Mack D. 2002.** Evaluation of different detection methods of biofilm formation in *Staphylococcus aureus*. *Med Microbiol Immunol.* 191(2): 101–106.
- Koh XP, Shen Z, Woo CF, Yu Y, Lun HI, Cheung SW, Kwan JKC, Lau SCK. 2023.** Genetics and ecological diversity of *Escherichia coli* and cryptic *Escherichia* clades in subtropical aquatic environments. *Front Microbiol.* 13: 1–17.
- Kokare CR, Chakraborty S, Khopade AN, Mahadik KR. 2009.** Biofilm: importance and applications. *Indian J Biotechnol.* 8: 159–168.
- Kokare CR, Kadam SS, Mahadi KR, Khopade BA. 2007.** Studies on bioemulsifier production from marine *Streptomyces* sp. S1. *Indian J Biotechnol.* 6: 78–84.

- Krohn I, Bergmann L, Qi M, Indenbirken D, Han Y, Perez-Garcia P, Katzowitsch E, Hagele B, Lubcke T, Siry C, Riemann R, Alawi M, Streit WR. 2021.** Deep (Meta) genomics and (Meta) transcriptome analyses of fungal and bacteria consortia from aircraft tanks and kerosene identify key genes in fuel and tank corrosion. *Front Microbiol.* 12: 1–14.
- Kroupova H, Machova J, Svobodova Z. 2005.** Nitrite influence on Fish (a review). *Vet Med.* 50 (11): 461–471.
- Kumar A, Kumar A, Chaturvedi AK, Shabnam AA, Subrahmanyam G, Mondal R, Gupta DK, Malyan SK, Kumar SS, Khan SA, Yadav KK. 2020.** Lead Toxicity: Health Hazards, Influence on Food Chain, and Sustainable Remediation Approaches. *Int J Environ Res Public Health.* 17(7): 1–33.
- Kumar M, Upreti RK. 2000.** Impact of lead stress and adaptation in *Escherichia coli*. *Ecotoxicol Environ Saf.* 47: 246–252.
- Kumar S. 2018.** Occupational and environmental exposure to Lead and reproductive health impairment: An Overview. *Indian J Occup Environ Med.* 22(3): 128–137.
- Kumar V, Pnadita S, Singh GP, Sharma A, Khanna K, Kaur P, Bali A, Setia R. 2021.** Copper bioavailability, uptake, toxicity and tolerance in plants: A review. *Chemosphere.* 262: 1–25.
- Kumari S, Das S. 2019.** Expression of metallothionein encoding gene bmtA in biofilm-forming marine bacterium *Pseudomonas aeruginosa* N6P6 and understanding its involvement in Pb (II) resistance and bioremediation. *Environ Sci Pollut Res Int.* 26(28): 28763–28774.

- Kumari S, Regar RK, Manickam N. 2018.** Improved polycyclic aromatic hydrocarbon degradation in a crude oil by individual and a consortium of bacteria. *Bioresour. Technol.* 254: 174-179.
- Kurioka S, Liu PV. 1967.** Effect of the hemolysin of *Pseudomonas aeruginosa* on phosphatides and on phospholipase C activity. *J Bacteriol.* 93(2): 670–674.
- Kusumawati DR. 2021.** The effect of the mercury exposure to *Escherichia coli* bacteria-resistant to mercury and *Escherichia coli* Esbl *in vitro*. *Int Islam Med J.* 2(2): 72–80.
- Labbate M, Queck SY, Koh KS, Rice SA, Givskov M, Kjelleberg S. 2004.** Quorum Sensing-Controlled Biofilm Development in *Serratia liquefaciens* MG1. *J Bacteriol.* 692–698.
- Lacal J, Munoz-Martinez F, Reyes-Darias JA, Duque E, Matilla M, Segura A, Calvo JJO, Jimenez-Sanchez C, Krell T, Ramos JL. 2011.** Bacterial chemotaxis towards aromatic hydrocarbons in *Pseudomonas*. *Environ Microbiol.* 13(7): 1733–1744.
- Lade H, Paul D, Kweon H. 2014.** Quorum Quenching Mediated Approaches for Control of Membrane Biofouling. *Int J Biol Sci.* 10(5): 547–562.
- Ladomersky E, Pétris MJ. 2015.** Copper tolerance and virulence in bacteria. *Metallomics.* 7(6): 957–964.
- Lalucat J, Bennasar A, Bosch R, Garcia-Valdes E, Palleroni NJ. 2006.** Biology of *Pseudomonas stutzeri*. *Microbiol Mol Biol Rev.* 70(2): 510–547.
- Lame NL, Smith KR, Gauthier A, Bates MN. 2012.** Kerosene: A review of household uses and their hazards in Low-and Middle-Income countries. *J Toxicol Environ Health-B: Crit Rev.* 15(6): 396–432.

- Lamont JR, Jenkison HF. 2012.** Life below the gum line: Pathogenic mechanisms of *Porphyromonas gingivalis*. *Microbiol Mol Biol Rev.* 62: 1244–1263.
- Lamont LL, Beare PA, Ochsner U, Vasil AI, Vasil MI. 2002.** Siderophore-mediated signaling regulates virulence factor production in *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 99(10): 7072–7077.
- Larkin MA, Blackshields G, Brown NP, Chenna R, McGettigan PA, McWilliam H. 2007.** ClustalW and ClustalX version 2. *Bioinformatics.* 23: 2947–2948.
- LaSarre B, Federle MJ. 2013.** Exploiting quorum sensing to confuse bacterial pathogens. *Microbiol Mol Biol Rev.* 77(1): 73–111.
- Latour X, Lemanceau P. 1997.** Métabolisme carboné et énergétique des *Pseudomonas spp* fluorescents saprophytes à oxydase positive. *Agronomie.* 17(9-10): 427–443.
- Lau CKY, Ishida H, Liu Z, Vogel HJ. 2013.** Solution structure of *Escherichia coli* FeoA and its potential role in bacterial ferrous Iron transport. *J Bacteriol.* 195(1): 46–55.
- Laue BE, Jiang Y, Chhabra SR, Jacob S, Stewart GSAB, Hardman A, Downie JA, O’Gara F, Williams P. 2000.** The biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* F113 produces the *Rhizobium* small bacteriocin, N-(3-hydroxy-7-cistetradecenoyl) homoserine lactone, via HdtS, a putative novel N-acylhomoserine lactone synthase. *Microbiol.* 146: 2469–2480.
- Lautrop H. 1961.** *Bacterium anitratum* transferred to the genus *Cytophaga*. *Int J Syst Evol Microbiol.* 11: 107–108.
- Lawarée E, Gillet S, Louis G, Tilquin F. 2016.** *Caulobacter crescentus* intrinsic dimorphism provides a prompt bimodal response to copper stress. *Nat Microbiol.* 1(9): 1–7.

Leal PP, Hurd C, Sander SG, Armstrong E, Fernandez PA, Suhrhoff TJ, Roleda MY.

2018. Copper pollution exacerbates the effects of ocean acidification and warming on kelp microscopic early life stages. *Sci Rep.* 8: 14763.

Leal PP, Hurd C, Sander SG, Armstrong E, Fernandez PA, Suhrhoff TJ, Roleda MY.

2018. Copper pollution exacerbates the effects of ocean acidification and warming on kelp microscopic early life stages. *Sci Rep.* 8: 14763.

Lebeaux D, Ghigo J. 2012. Infections associées aux biofilms. *Med Sci.* 28: 727–739.

Lebrun I, Marques-Porto R, Pereira AS, Pereira A, Perpetuo EA. 2009. Bacterial

Toxins: An Overview on Bacterial Proteases and their Action as Virulence Factors. *Mini-Rev Med Chem.* 9: 820–828

Lee J, Pai H, Kim YK, Kim NH, Eun BW, Kang HJ, Park KH, Choi EH, Shin HJ, Kim

EC, Lee HJ, Ahn HS. 2007. Control of extended spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in children's hospital by changing antimicrobial agent usage policy. *J Antimicrob Chemother.* 60: 629–637.

Lee JS, Giesler DL, Gellad WF, Fine MF. 2016. Antibiotic therapy for adults hospitalized

with community-acquired pneumonia: A systematic review. *JAMA.* 315: 593–602.

Lee JH, Lequette Y, Greenberg EP. 2006. Activity of purified QscR, a *Pseudomonas*

aeruginosa orphan quorum-sensing transcription factor. *Mol Microbiol.* 59: 602–609.

Lelliot RA. 1966. A Determinative Scheme for the Fluorescent Plant Pathogenic

Pseudomonads. *J Appl Bacteriol.* 29 (3): 470–489

Lemieux AA. 2012. Génomique fonctionnelle des gènes uniques chez *Pseudomonas*

aeruginosa LESB58 et essentiels à l'infection pulmonaire chronique. Mémoire de

maitrise. Science biologique. Faculté de Médecine, L'université de Laval, Québec, Canada.

Lew S, Glinska-Lewczuk K, Burandt P, Kulesza K, Kobus S, Obolewski K. 2022.

Salinity as determinant structuring microbial communities in Coastal lakes. *Int J Environ Res Public Health*. 19: 1–16.

Lewandowski Z, Beyenal H. 2014. Introduction to biofilms and to biofilm research. In:

Fundamentals of biofilm research, 2nd Eds, Taylor & Francis Group, LLC. 1–65.

Li F, Xiong X-S, Yang Y-Y, Wang JJ, Wang M-M, Tang J-W, Liu Q-H, Wang L, Gu B.

2021. Effects of NaCl Concentrations on Growth Patterns, Phenotypes Associated With Virulence, and Energy Metabolism in *Escherichia coli* BW25113. *Front Microbiol*. 12: 1–19.

Li Q, Chang W, Zhang H, Hu D, Wang X. 2019. The role of plasmids in the multiple

Antibiotic resistance transfer in ESBLs-producing *Escherichia coli* isolated from wastewater treatment plants. *Front Microbiol*. 10: 1–8.

Li WKW, Dickie PM. 1985. Growth of bacteria in seawater filtered through 0.2 µm

nucleopore membrane: implication for dilution experiments. *Mar Ecol Prog Ser*. 26(3): 245–252.

Li Y, Narayanan M, Shi X, Chen X, Li C, Ma Y. 2024. Biofilms formation in plant growth-

promoting bacteria for alleviating agro-environmental stress. *Sci Total Environ*. 907: 1–10.

Li Y, Qu Y, Yang H, Zhou X, Xiao P, Shao T. 2023. Combatting biofilms in potable water

systems: A comprehensive overview to ensuring industrial water safety. *Environ Microbiol Rep*. 15: 445–454.

- Li Y, Tian X. 2012.** Quorum Sensing and Bacterial Social Interactions in Biofilms. *Sensors*. 12: 2519–2538.
- Li Y, Xiao P, Wang Y, Hao Y. 2020.** Mechanisms and control measures of mature biofilm resistance to antimicrobial agents in the clinical context. *ACS Omega*. 5: 22684–22690.
- Liang K, Gao R, Wang C, Wang W, Yan W. 2021.** Chemotaxis towards crude oil by an oildegrading *Pseudomonas aeruginosa* 6-1B strain. *Pol J Microbiol*. 70(1): 69–78.
- Liaquat I, Khalid A, Rubab S, Rashid F, Latif AA, Naseem S, Bibi A, Khan BN, Ansar W, Javed A, Afzaal M, Summer M, Majid S, Aftab MN. 2023b.** *In vitro* biofilm-mediated biodegradation of pesticides and dye-contaminated effluents using bacterial biofilms. *Microorganisms*. 11(9): 2163.
- Liaquat I, Muhammad N, Ara C, Hanif U, Andleeb S, Arshad M, Aftab MN, Raza C, Mubin M. 2023a.** Bioremediation of heavy metals polluted environment and decolourization of black liquor using microbial biofilms. *Mol Biol Rep*. 50(5): 3985–3997.
- Lidor O, Al-Quntar A, Pesci EC, Steinberg D. 2015.** Mechanistic analysis of a synthetic inhibitor of the *Pseudomonas aeruginosa* LasI quorum-sensing signal synthase. *Sci Rep*. 5: 16569.
- Lima JLC, Alves LR, Jacomé PRLA, Neto JPB, Maciel MAV, Morais MMC. 2018.** Biofilm production by clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and structural changes in LasR protein of isolates non biofilm-producing. *Braz J Infect Dis*. 22: 129–136.

- Lima JLDC, Alves LR, Paz JNPD, Rabelo MA, Maciel MAV, Morais MMC. 2017.** Analysis of biofilm production by clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from patients with ventilator-associated pneumonia. *Rev Bras Ter Intensiva.* 29(3): 310–316.
- Lin C, Tsai Y, Chang C, Tseng S, Wu T, Lu C, Wu T, Lu J, Horg J, Martel J, Ojcius DM, Lai H, Young JD. 2016.** An iron detection system determines bacterial swarming initiation and biofilm formation. *Nature.* 6: 1–13.
- Little K, Tipping MJ, Gibbs KA. 2018.** Swarmer cells development of the bacterium proteus mirabilis requires the conserved enterobacterial common antigen Biosynthesis gene *rffG*. *J Bacteriol.* 200(18): e00218–e00230
- Liu HB, Koh KP, Lee JH, Kim JS, Park S. 2009.** Characterization of LasR protein involved in bacterial quorum sensing mechanism of *Pseudomonas aeruginosa*. *Biotechnol Bioprocess Eng.* 14: 146–154.
- Liu L, Bilal M, Luo H, Zhao Y, Iqbal HMN. 2019.** Metabolic engineering and fermentation process strategies for L-tryptophan production by *Escherichia coli*. *Processes.* 7(4): 1–17.
- Liu PV. 1979.** Toxins of *Pseudomonas aeruginosa*. In: *Pseudomonas aeruginosa* clinical manifestations of infection and current therapy, Academic Press, New York. 63–88.
- Loeschcke A, Thies S. 2015.** *Pseudomonas putida*—a versatile host for the production of natural products. *Appl Microbiol Biotechnol.* 99: 6197–6214.
- Löffler M, Simen JC, Jager G Scaferhoff K, Freund A, Takors R. 2016.** Engineering *E. coli* for large-scale-production-strategies considering ATP expenses and transcriptional responses. *Metab Eng.* 38: 73–85.

- Lorusso AB, Carrara JA, Barroso CDN, Tuon FF, Faoro H. 2022.** Role of Efflux Pumps on Antimicrobial Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Mol Sci.* 23(24): 1–21.
- Lotfi N, Soleimani A, çakmakçi R, Vahdati K, Mohammadi P. 2022.** Characterization of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) in Persian walnut associated with drought stress tolerance. *Sci Rep.* 12: 1–13.
- Louis G, Cherry P, Michaux C, Rahuel-Clermont S, Dieu M, Tilquin F, Maertens L, Van Houdt R, Renard P, Perpete E, Matroule JY. 2023.** A cytoplasmic chemoreceptor and reactive oxygen species mediate bacterial chemotaxis to copper. *J Biol Chem.* 299(10): 105207.
- Lu SH, Zhao Z, Avillan JJ, Liu J, Call DR. 2017.** Autoinducer-2 Quorum Sensing Contributes to Regulation of Microcin PDI in *Escherichia coli*. *Front Microbiol.* 8: 1–12.
- Lu Y, Zeng J, Wu B, E S, Wang L, Cai R, Zhang N, Li Y, Huang X, Huang B, Chen C. 2017.** Quorum Sensing N-acyl Homoserine Lactones-SdiA Suppresses *Escherichia coli*-*Pseudomonas aeruginosa* Conjugation through Inhibiting traI Expression. *Front Cell Infect Microbiol.* 7: 7.
- Luo X, Xiang X, Huang G, Song X, Wang P, Fu K. 2019.** Bacterial Abundance and Physicochemical Characteristics of Water and Sediment Associated with Hydroelectric Dam on the Lancang River China. *Int J Environ Res Public Health.* 16(11): 2031.

- Lupp C, Urbanowski M, Greenberg EP, Ruby EG. 2003.** The *Vibrio fischeri* quorum-sensing systems *ain* and *lux* sequentially induce luminescence gene expression and are important for persistence in the squid host. *J Mol Microbiol.* 50(1): 319–331.
- Ma SN, Wang HJ, Wang HZ, Li Y, Liu M, Liang XM, Yu Q, Jeppesen E, Søndergaard M. 2018.** High ammonium loading can increase alkaline phosphatase activity and promote sediment phosphorus release: A two-month mesocosm experiment. *Water Res.* 145: 388–397.
- Madsen JS, Burmolle M, Hansen LH, Sorensen SJ. 2012.** The interconnection between biofilm formation and horizontal genetransfer. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 65: 183–195.
- Mah TF, O’Toole GA. 2001.** Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends Microbiol.* 9: 34–39.
- Mahanavelu A, Naganna SR, Al-Ansari N. 2021.** Irrigation induced salinity and sodicity hazards on soil and groundwater: An overview of its causes, impacts and mitigation. *Agriculture.* 11(10): 1–17.
- Mangwani N, Kumari S, Das S. 2016.** Bacterial biofilms and quorum sensing: fidelity in bioremediation technology. *Biotechnol Genet Eng J.* 32(1-2): 43–73.
- Marathe R, Meel C, Schmidt NC, Dewenter L, Kurre R, Greune L, Schmidt MA, Muller MJJ, Lipowsky R, Maier B, Klumpp S. 2014.** Bacterial twitching motility is coordinated by a two-dimensional tug-of-war with directional memory. *Nat Commun.* 5: 1–10.
- Marketon MM, Glenn SA, Eberhard A, González JE. 2003.** Quorum sensing controls exopolysaccharide production in *Sinorhizobium meliloti*. *J Bacteriol.* 185: 325–331.

- Martin-Mora D, Reyes-Darias JA, Garcia V, López-Farfán D, Matilla MA, Krell T. 2016.** Identification of a chemoreceptor in *Pseudomonas aeruginosa* that mediates chemotaxis towards α -ketoglutarate. *Front Microbiol.* 7: 1–9.
- Martinson JNV, Walk ST. 2020.** *Escherichia coli* residency in the gut and healthy human adults. *EcoSal Plus.* 9(1): 1–27.
- Maruvada R, Kim KS. 2012.** IbeA et OmpA of *Escherichia coli* K1 exploit Rac1 activation for invasion of human brain microvascular endothelial cells. *Infect Immun.* 80 (6): 2035–2041.
- Matilla MA, Krell T. 2017.** Chemoreceptor based signal sensing. *Curr Opin Biotechnol.* 45: 8–14.
- Matilla MA, Krell T. 2018.** The effect of bacterial chemotaxis on host infection and pathogenicity. *FEMS Microbiol Rev.* 42 (1): 40–67
- Mattick JS. 2001.** Non-coding RNAs: the architects of eukaryotic complexity. *Eur Mol Biol Org Rep.* 2: 986–991.
- Mattick JS. 2002.** Type IV pili and twitching motility. *Ann Rev Microbiol.* 56: 289–314.
- Mayer C, Borges A, Flament-Simon S, Simões M. 2023.** Quorum sensing architecture network in *Escherichia coli* virulence and pathogenesis. *FEMS Microbiol Rev.* 47: 1–18.
- Mazgaen L, Prajwal Gurung P. 2020.** Recent Advances in Lipopolysaccharide Recognition Systems. *Int J Mol Sci.* 21 (379): 1–18.
- McBride MJ. 2001.** Bacterial gliding motility: Multiple mechanisms for cell movement over surface. *Ann Rev Microbiol.* 55: 49–75.

- McBride MJ. 2019.** Nonflagellar bacterial motility. *Encyclo Microbiol.* 4: 319–328.
- McCann J, Stabb EV, Millikan DS, Ruby EG. 2003.** Population dynamics of *Vibrio fischeri* during infection of *Euprymna scolopes*. *Appl Environ Microbiol.* 69(10): 5928–5934.
- McCarter LL. 2004.** Dual flagellar systems enable motility under different circumstances. *J Mol Microbiol Biotechnol.* 7(1-2): 18–29.
- McDougald D, Klebensberg J, Tolker-Nielsen T, Webb JS, Conibear T, Rice SA, Kinov SM, Matz C, Kjelleberg S. 2008.** *Pseudomonas aeruginosa*: a model for biofilm formation. In: *Pseudomonas Model Organism, Pathogen, Cell Factory*. Eds, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 215–253.
- Meghdas I, Hamze M, Dabboussi F, Baida N, Izard D. 2004.** Taxonomie de genre *Pseudomonas*: Rétrospective et actualité. *Leban Sci J.* 5(1): 115–138.
- Meilke HW, Gonzales CR, Powell ET, Egendorf SP. 2022.** Lead in air, soil, and blood: Pb poisoning in a Changing world. *Int J Environ Res Public Health.* 19(15): 1–11
- Meliani A, Bensoltane A. 2018.** Chemotaxis Behavior of *Pseudomonas* Species and Biodegradation of Pollutants. In E. Lichtfouse (Ed.), *Sustainable Agriculture Reviews*. Springer International Publishing, 31: 305–331.
- Meliani A. 2012.** Contribution à l'étude de la diversité écologique et fonctionnelle des *Pseudomonas fluorescens*. Thèse de doctorat. Université d'Oran, Algérie.
- Meyer JM, Stintzi A, Coulanges V, Shivaji S, Voss JA, Taraz K, Budzikiewicz H. 1998.** Siderotyping of the fluorescent pseudomonads: *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida* strains from Antarctica. *Microbiol.* 144: 3119–3126.

- Mezaache S. 2012.** Localisation des déterminants de la suppression de quelques souches de *Pseudomonas* isolées de la rhizosphère de la pomme de terre. Thèse de Doctorat. Université de Ferhat Abbas Sétif, Algérie.
- Mishra S, Huang Y, Li J, Wu X, Zhou Z, Lei Q, Bhatt P, Chen S. 2022.** Biofilm-mediated bioremediation is a powerful tool for the removal of environmental pollutants. *Chemosphere*. 294: 133609.
- Mitchell JG, Kogure K. 2005.** Bacterial motility: links to the environnement and a driving force for microbial physics. *FEMS Microbiol*. 55: 3–16.
- Mitra A, Chatterjee S, Katakai S, Rastogi RP, Gupta DK. 2021.** Bacterial tolerance strategies against lead toxicity and their relevance in bioremediation application. *Environ Sci Pollut Res*. 28: 14271–14284.
- Mitra S, Chakraborty AJ, Tareq AM, Emran TB, Nainu F, Khurso A, Abubakr, Idris, Khnadaker MU, Osman H, Alhumaydhi FA, Simal-Gandara J. 2022.** Impact of heavy metals on the environments and human health: Novel therapeutic insights to counter the toxicity. *J King Saud Univ Sci*. 34(3): 1–21.
- Mittal S, Sharma M, Chaudhary U. 2015.** Biofilm and multidrug resistance in uropathogenic *Escherichia coli*. *Pathog Glob Health*. 109: 26–29.
- Mohajeri M, Ebrahimi SN, Gholamnia M, Boyati M. 2023.** Naturally occurring quorum sensing inhibitors for *Pseudomonas aeruginosa* by molecular modeling. *Biointerface Res App Chem*. 13(2): 1–14.
- Monnet V, Juillard V, Gardan R. 2016.** Peptide conversations in Gram-positive bacteria. *Crit Rev Microbiol*. 42: 339–351.

- Montgomery K, Charlesworth JC, LeBard R, Visscher PT, Burns BP. 2013.** Quorum sensing in extreme environments. *Life* (Basel). 3(1): 131–148.
- Morcillo RJL, Manzanera M. 2021.** The Effects of Plant-Associated Bacterial Exopolysaccharides on Plant Abiotic Stress Tolerance. *Metabolites*. 11(6): 337.
- Morimoto YV, Morimoto T. 2017.** Structure and Function of the Bi-Directional Bacterial Flagellar Motor. *Biomolecules*. 4: 217–234
- Mosa KA, Saadoun I, Kumar K, Helmy M, Dhankher P. 2016.** Potential biotechnological strategies for the cleanup of heavy metals and metalloids. *Front Plant Sci*. 7: 1–15.
- Mosley LM, Aalbersberg WGL. 2003.** Nutrient levels in sea and river water along the coral coast of Viti Levu, Fiji. *South Pacific J Nat Sci*. 21 (1): 35–40.
- Moss CW, Samuels SB, Weaver RE. 1972.** Cellular Fatty Acid Composition of Selected *Pseudomonas* Species. *Appl Microbiol*. 24(4): 596–598.
- Moyal J, Dave PH, Wu M, Karimpour S, Brar SK, Zhong H, Kwong RW. 2023.** Impact of biofilm formation on the physiochemical properties and toxicity of microplastics: A concise Review. *Rev Environ Contam Toxicol*. 261(1): 1–17.
- Mu DS, Wang S, Liang QY, Du Z, Tian R, Ouyang Y, Wang X, Aifen Zhou, Gong Y, Chen G, Nostrand JV, Yang Y, Zhou J, Du Z. 2020.** *Bradymonabacteria*, a novel bacterial predator group with versatile survival strategies in saline environments. *Microbiome*. 8(126): 1–15.
- Muhammadi, Ahmed N. 2007.** Genetics of bacterial alginate: alginate genes distribution, organization and biosynthesis in bacteria. *Curr Genomics*. 8(3): 191–202.

- Muhsin J, Ufaq T, Tahir H, Saadia A. 2015.** Bacterial Biofilm: Its Composition, Formation and Role in Human Infections. *J Microbiol Biotechnol.* 4: 1–14.
- Mukhi M, Vishwanathan AS. 2022.** Beneficial biofilms: A minireview of strategies to enhance biofilm formation for biotechnological applications. *Appl Environ Microbiol.* 88(3): 1–6.
- Mulet M, Gomila M, Scotta C, Sánchez D, Lalucat J, and García-Valdés E. 2012a.** Concordance between whole-cell matrix-assisted laser-desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry and multilocus sequence analysis approaches in species discrimination within the genus *Pseudomonas*. *Sys Appl Microbiol.* 35: 455–464.
- Munene PM, Mbugua G, Wanjau RN, Ndiritu J. 2023.** Analysis of Physico-Chemical Parameters And Selected Heavy Metals In Aquatic Ecosystems. *IOSR J Appl Chem.* 16(9): 59–64.
- Murali M, Ahmed F, Gowtham HG, Aribisala JO, Abdulsalam RA, Shati AA, Alfaifi MY, Sayyed RZ, Sabiu S, Amruthesh KN. 2023.** Exploration of CviR-mediated quorum sensing inhibitors from *Cladosporium spp.* against *Chromobacterium violaceum* through computational studies. *Sci Rep.* 13: 15505.
- Muriel-Millan LP, Rodriguez-Mejia JL, Godoy-Lozano EE, Rivera-Gomez N, Gutierrez Rios R, Morales-Guzman D, Trejo-Hernandez MR, Estradas-Romero A, Pardo Lopez L. 2019.** Functional and Genomic characterization of a *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from the southwestern Gulf of Mexico Reveals an enhanced adaptation for long-chain alkane degradation. *Front Mar Sci.* 6: 1–15.

- Murphy CWM, Davis GB, Rayner JL, Walsh T, Bastow TP, Butier AP, Puzon GJ, Morgan MJ. 2022.** The role of predicted chemotactic and hydrocarbon degrading taxa in natural source zone depletion at legacy petroleum hydrocarbon site. *J Hazard Mater.* 430: 1–12.
- Musa OI, Akande SA, Ijah UJJ, Abioye OP, Maude AM, Samuel JO, Mustapha A, Abdulrahim AM, Gusdanis ACG. 2024.** Biofilms communities in the soil: characteristic and interactions using mathematical model. *Res Microbiol.* 175(3): 1–9.
- Mwajitan MR, Murage H, Tani A, Kahangi EM. 2013.** Evaluation of rhizosphere, rhizoplane and phyllosphere bacteria and fungi isolated from rice in Kenya for plant growth promoters. *SpringerPlus.* 2: 1–9.
- Na-Ayudhya PI, Na-Ayudhya CI, Treeratanapaiboon L, Kakisun K, Thipkeaw K, Prachayasittikul V. 2009.** Proteomic profiling of *Escherichia coli* in Response to Heavy metals stress. *Eur J Sci Res.* 25(4): 679–688.
- Naga NG, El-Badan DE, Ghanem KM, Shaaban MI. 2023.** It is the time for quorum sensing inhibition as alternative strategy of antimicrobial therapy. *Cell Commun Signal.* 21 (133): 1–14.
- Naga NG, EL-Badran DE, Rateb HS, Ghanem KM, Shaaban MI. 2021.** Quorum sensing inhibiting activity of cefoperazone and its metallic derivatives on *Pseudomonas aeruginosa*. *Front Cell Infect Microbiol.* 11: 1–15.
- Naga NG, Zaki AA, EL-Badran DE, Rateb HS, Ghanem KM, Shaaban MI. 2023.** Inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing by méthyl gallate from *Mangifera indica*. *Sci Rep.* 13: 1–13.

- Naik MM, Dubey SK. 2013.** Lead resistant bacteria: lead resistance mechanisms, their applications in lead bioremediation and biomonitoring. *Ecotoxicol Environ Saf.* 98: 1–7.
- Najera I, Lin C, Kohbodi GA, Jay JA. 2005.** Effect of Chemical Speciation on Toxicity of Mercury to *Escherichia coli* Biofilms and Planktonic Cells. *Environ Sci Technol.* 39 (9): 3116–3120
- Nakamura T, Minamino S. 2019.** Flagella-Driven motility of Bacteria. *Biomolecules.* 9: 279–302.
- Nandakafle G, Blasius LA, Seale T, Brözel VS. 2023.** *Escherichia coli* strains display varying susceptibilities to grazing by the soil Amoeba *Dictyostelium discoideum*. *Microorganisms.* 11(6): 1–14.
- Narendrakumar L, Das B, Paramasivan B, Rasu J, Thomas S. 2018.** *Quorum Quenching and Biofilm Inhibition: Alternative Imminent Strategies to Control the Disease Cholera.* In: *Biotechnological Applications of Quorum Sensing Inhibitors,* Eds. Springer. Singapore, 63-77.
- Naseem H, Bano A. 2014.** Role of plant growth-promoting rhizobacteria and their exopolysaccharide in drought tolerance of maize. *J Plant Interact.* 9(1): 689–701.
- Nath S, Deb B, Sharma I, Pandey P. 2014.** Role of Cadmium and Lead tolerant *Pseudomonas aeruginosa* in Seedling germination of rice (*Oryza sativa L.*). *J Environ Anal Toxicol.* 4 (4): 1–14.
- Nausch M, Achterberg EP, Bach LT, Brussaard CPD, Crawford KJ, Fabian J, Riebesell U, Stühr A, Unger J, Wannicke N. 2018.** Concentrations and uptake of

Dissolved Organic Phosphorus compounds in the Baltic Sea. *Front Mar Sci.* 5(386): 1-18.

Nealson KH, Platt T, Hastings JW. 1970. The cellular control of the synthesis and activity of the bacterial luminescent system. *J Bacteriol.* 104: 313-322.

Nealson KH. 1977. Autoinduction of bacterial luciferase. Occurrence, mechanism and significance. *Arch Microbiol.* 112:73-79.

Neut D, Hendriks JGE, Horn JRV, Van der Mei HC, Busscher HJ. 2005. *Pseudomonas aeruginosa* formation and slime excretion on antibiotic-loaded bone cement. *Acta Orthop.* 76(1): 109-114.

Ng W. 2018. Effect of temperature on growth of *Pseudomonas protegens* pf-5 and *Pseudomonas aeruginosa* PRD-10 in LB Lennox Medium. *PeerJ Prepr.* 1-8.

Nies DH. 2000. Heavy metal-resistant bacteria as extremophiles: molecular physiology and biotechnological use of *Ralstonia sp.* CH34. *Extremophiles.* 4(2): 77-82.

Nisenbaum M, Bouchet A, Guzman MN, Gonzalez JF. 2014. Dynamic laser speckle and fuzzy mathematical morphology applied to studies of chemotaxis towards hydrocarbons. *Int J Environ Health.* 7(1): 58-69.

Nisenbaum M, Sendra GH, Gilbert GAC, Scagliola M, Gonzalez JF, Murialdo SE. 2013. Hydrocarbon biodegradation and dynamic laser speckle for detecting chemoattractant responses at low bacterial concentration. *J Environ Sci.* 25(3): 1-13.

Nokman W, Benluvankar V, Packiam SM, Vincent S. 2019. Screening and molecular identification of heavy metal resistant *Pseudomonas putida* S4 in tannery effluent wastewater. *Biocatal Agric Biotechnol.* 18: 1-5.

- Nong Q, Yuan K, Li Z, Chen P, Huang Y, Hu L, Jiang J, Luan T, Chen B. 2019.** Bacterial resistance to Lead: Chemical basis and environmental relevance. *J Environ Sci.* 85: 46–55.
- Noor H, Satti SM, ud Din S, Farman M, Hasan F, Khan S, Badshah M, Shah AA. 2020.** Insight on esterase from *Pseudomonas aeruginosa* strain S3 that depolymerize poly(lactic acid) (PLA) at ambient temperature. *Polym Degrad Stab.* 174: 109096.
- Noor R, Islam Z, Munshi SK, Rahman F. 2013.** Influence of temperature on *Escherichia coli* growth in different media. *J Pure Appl Microbiol.* 7(2): 899–904.
- Norwitz G, Keliher PN. 1984.** Spectrophotometric Determination of Nitrite with Composite Reagents Containing Sulphanilamide, Sulphanilic Acid or 4-Nitroaniline as the Diazotisable Aromatic Amine and N-(1-Naphthyl)ethylenediamine as the Coupling Agent. *Analyst.* 109: 1281–1286.
- Noto MJ, Burns WJ, Beavers WN, Skaar EP. 2017.** Mechanisms of pyocyanin toxicity and genetic determinants of resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol.* 199(17): 1–13.
- Nunes-Halldorson VS, Duran NL. 2003.** Bioluminescent bacteria: *lux* genes as environmental biosensors. *Braz J Microbiol.* 34: 91–96.
- O’Gara JP, Humphreys H. 2001.** *Staphylococcus epidermis* biofilms: importance and implications. *J Med Microbiol.* 50: 582–587.
- O’Rear J, Arberti L, Harshey RM. 1992.** Mutations that impair swarming motility in *Serratia marcescens* 274 include but are not limited to those affecting chemotaxis or flagellar function. *J Bacteriol.* 174(19): 6125–6137.

- Ochoa-Herrera V, León G, Banihani Q, Field JA, Sierra-Alvarez R. 2011.** Toxicity of copper (II) ions to microorganisms in biological wastewater treatment systems. *Sci Total Environ.* 412-413: 380–385.
- Okada M, Sato I, Jeong Cho S, Iwata H, Nishio T, Dubnau D, Sakagami Y. 2005.** Structure of the *Bacillus subtilis* quorum-sensing peptide pheromone ComX. *Nat Chem Biol.* 1: 23–24.
- Olanbiwoninu AA, Popoola BM. 2023.** Biofilms and their impact on the food industry. *Saudi J Biol Sci.* 30(2): 1–9.
- Oliveira NM, Wheeler JHR, Deroy C, Booth SC, Walsh EJ, Durham WM Foster KR. 2022.** Suicidal chemotaxis in bacteria. *Nat Commun.* 13: 7608.
- Östblom A, Adlerberth I, Wold AE, Nowrouzian FL. 2011.** Pathogenecity Island Markers, Virulence determinants *malX* and *usp*, and the capacity of *Escherichia coli* to persist in Infants' Commensal microbiotas. *Appl Environ Microbiol.* 77(7): 2303–2308.
- Othmer HG, Xin X, Xue C. 2013.** Excitation and Adaptation in Bacteria—a Model Signal Transduction System that Controls Taxis and Spatial Pattern Formation. *Int J Mol Sci.* 14: 9205–9248.
- Oubekka SD. 2012.** Dynamique réactionnelle des antibiotiques dans les biofilms de *Staphylococcus aureus* : contribution de la microscopie à fluorescence multimodale. Thèse de doctorat, Université Paris Sud, France.
- Overhage J, Bains M, Brazas MD, Hancock REW. 2008.** Swarming of *Pseudomonas aeruginosa* is a complex adaptation leading to increased production of virulence factors and antibiotic resistance. *J Bacteriol.* 190(8): 2671–2679.

- Palleroni NJ. 2005.** Genus *Pseudomonas* Migula. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. 2, Part B. Springer, New York, 323–370.
- Palleroni NJ, Doudoroff M. 1956.** Mannose isomerase of *Pseudomonas saccharophila*. *J Biol Chem.* 218: 535–548.
- Palleroni NJ, Kunisawa R, Contopoulou R, Doudoroff M. 1973.** Nucleic acid homologies in genus *Pseudomonas*. *J Syst Evol Microbiol.* 23: 333–339.
- Palleroni NJ. 1981.** Introduction to the family *Pseudomonaceae*. In: The Procaryotes, eds springer, Berlin, Heidelberg, 655–665.
- Palleroni NJ. 1984.** Genus I. *Pseudomonas*. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 1, Williams and Wilkins, Baltimore, 141–199.
- Palleroni NJ. 2005.** *Pseudomonas* genus Migula 1884. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. 2, the *Proteobacteria Gammaprotobacteria*. Part B. New York, Springer-Verlag, 323–379.
- Palleroni NJ. 2010.** The *Pseudomonas* Story. *Environ Microbiol.* 12(6): 1377–1383.
- Palma V, Gutiérrez MS, Vargas O, Parthasarathy R, Navarrete P. 2022.** Methods to evaluate bacterial motility and its role in bacterial-host interactions. *Microorganisms.* 10(3): 1–14.
- Pande V, Pandey SC, Sati D, Bhatt P, Samant M. 2022.** Microbial Interventions in Bioremediation of Heavy Metal Contaminants in Agroecosystem. *Front Microbiol.* 13: 824084.

- Pandit S, Sarode S, Chandrasekhar K. 2018.** Fundamentals of Bacterial Biofilm: Present State of Art. In: Quorum Sensing and its Biotechnological Applications, Eds. Springer. Singapore, 43–60.
- Pandolfo E, Cracciolo AB, Rolando L. 2023.** Recent advances in bacterial degradation of hydrocarbons. *Water*. 15(2): 1–18.
- Parai D, Banerjee M, Dey P, Chakraborty A, Islam E, Mukherjee SK. 2018.** Effect of reserpine on *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing mediated virulence factors and biofilm formation. *Biofouling*. 34(2): 320–334.
- Park H, Lee K, Yeo S, Shin H, Holzapfel WH. 2017.** Autoinducer-2 quorum sensing viability of *Escherichia coli* O157:H7 under osmotic stress and *in vitro* Gastrointestinal stress conditions. *Front Microbiol*. 8: 1–10.
- Parkinson JS, Ames P, Studdert CA. 2005.** Signalisation collaborative par les chimiorécepteurs bactériens. *Curr Opin Microbiol*. 8(2): 116–121.
- Parkinson JS, Hazelbauer GL, Falke JJ. 2015.** Signaling and sensory adaptation in *Escherichia coli* chemoreceptors: 2015 update. *Trends Microbiol*. 23(5): 257–266.
- Parsek MR, Greenberg EP. 2005.** Sociomicrobiology: the connections between quorum sensing and biofilms, *Trends Microbiol*. 13: 27–33.
- Parte AC. 2014.** LPSN-list of prokaryotic names with standing in nomenclature. *Nucleic Acids Res*. 42: 613–616.
- Passos da Silva D, Schofield MC, Parsek MR, Boo Shan Tseng BS. 2017.** An Update on the Sociomicrobiology of Quorum Sensing in Gram-Negative Biofilm Development. *Pathogens*. 6(51): 1–9.

- Patey MD, Rijkenberg MJA, Statham PJ, Stinchcombe MC, Achterberg EP, Mowlem M. 2008.** Determination of nitrite and phosphatz in seawater at nanomolar concentrations. *Trends Anal Chem.* 27(2): 169–182.
- Patil R, Das S, Stanley A, Yadav L, Sudhakar A, Varma AK. 2010.** Optimized hydrophobic interactions and hydrogen bonding at the target-ligand interface leads the pathways of drug-designing. *PLoS One.* 5(8): 1–10.
- Patrick JE, Kearns DB. 2012.** Swarming motility and the control of master regulators of flagellar biosynthesis. *Mol Microbiol.* 83(1): 14–23.
- Peix A, Ramirez-Bahena M, Velasquez E. 2009.** Historical evolution and current status of the taxonomy of genus *Pseudomonas*. *Infect Genet Evol.* 9: 1132–1147.
- Peladan F, Monteil H. 1988.** Identification of *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, and *Alcaligenes* with the API 20 NE system. *Pathol Biol (Paris).* 36(2): 187–192.
- Pellock BJ, Teplitski M, Boinay RP, Bauer WD, Walker GC. 2002.** A LuxR homolog controls production of symbiotically active extracellular polysaccharide II by *Sinorhizobium meliloti*. *J Bacteriol.* 184: 5067–5076.
- Pepi M, Focardi S, Tarabelli A, Volterrani M, Focardi SE. 2013.** Bacterial strains resistant to inorganic and organic forms of mercury isolated from polluted sediments of the Orbetello Lagoon, Italy, and their possible use in bioremediation processes. *E3S Web Conf.* 1: 1–3.
- Pérez J, Moraleda-Muñoz A, Marcos-Torres FJ, Muñoz-Dorado J. 2016.** Bacterial predation: 75 years and counting! *Environ Microbiol.* 18(3): 766–779.

- Pérez V, Hengst M, Kurte L, Dorador C, Jeffrey WH, Wattiez R, Molina V, Matallana-Surget S. 2017.** Bacterial Survival under Extreme UV Radiation: A Comparative Proteomics Study of *Rhodobacter sp.*, Isolated from High Altitude Wetlands in Chile. *Front Microbiol.* 8: 1–16.
- Pesci EC, Milbank JB, Pearson JP, McKnight S, Kende AS, Greenberg EP, Iglewski BH. 1999.** Quinolone signaling in the cell-to-cell communication system of *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 96(20): 11229–11234.
- Petersen F, Hubbart JA. 2020.** Physical factors impacting the survival and occurrence of *Escherichia coli* in secondary habitats. *Water.* 12(6): 1–15.
- Petri J, Shimaki Y, Jiao W, Bridges HR, Euan R, Russell ER, Parker EJ, Aragão D, Gregory M, Cook GM, Nakatani Y. 2018.** Structure of the NDH²- HQNO inhibited complex provides molecular insight into quinone-binding site inhibitors. *Biochim Biophys Acta Biogene.* 1859: 482–490.
- Picard B, Garcia JS, Gouriou S, Duriez P, Brahim N, Bingen E, Elion J, Denamur E. 1999.** The link between phylogeny and virulence in *Escherichia coli* Extraintestinal infection. *Infect Immun J.* 67(2): 546–553.
- Pijit P, Sreedharan S, Unni KN, Anderson RC, Benjamin S. 2017.** *Pseudomonas sp.* BUP6, a novel isolate from malabari goat produces an efficient rhamnolipid type biosurfactant. *J Basic Microbiol.* 57(1): 21–33.
- Poli A, Finore I, Romano I, Gioiello A, Lama L, Nicolaus B. 2017.** Microbial Diversity in Extreme Marine Habitats and Their Biomolecules. *Microorganisms.* 5(2): 25.
- Pollard AM, Bilwes AM, Crane BR. 2010.** Structure of a soluble chemoreceptor suggest a mechanism for propagating conformational signals. *Biochem.* 48(9): 1936–1946.

- Pollitt E J G, Diggle S P. 2017.** Defining motility in the Staphylococci. *Cell Mol Life Sci.* 74: 2943–2958.
- Poltorak A, He X, Smirnova I, Liu M Y, Van Huffel C, Du X, Birdwell D, Alejos E, Silva M, Galanos C, Freudenberg M, Ricciardi-Castagnoli P, Layton B, Beutler B. 1998.** Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: Mutations in *Tlr4* gene. *Science.* 282(5396): 2085–2088.
- Porschen R K, Stalons D R. 1976.** Evaluation of Simplified *Dichotomous Schemata* for the Identification of Anaerobic Bacteria from Clinical Material. *J Clin Microbiol.* 3(2): 161–171.
- Porter S L, Wadhams G H, Armitage J P. 2008.** *Rhodobacter sphaeroides*: complexity in chemotactic signalling. *Cell.* 16(6): 251–260.
- Porter S L, wadhams G H, Armitage J P. 2011.** Signal processing in complex chemotaxis pathways. *Nat Rev Microbiol*9(3): 153–165.
- Posada L, Acosta I, Rodriguez P, Huertas M G, Zambrano M M. 2020.** Biofilm and persister cell formation variability in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* in Colombia. *Univ Sci.* 25: 545–571.
- Prasad M P, Manjunath K. 2011.** Comparative study on biodegradation of lipid-rich wastewater using lipase producing bacterial species. *Indian J Biotechnol.* 10: 121–124.
- Priha O, Juvonen R, Tapani K, Storgårds E. 2011.** Acyl Homoserine Lactone Production of Brewery Process Surface Bacteria. *J Inst Brewing.* 117: 182–187.

- Priyadarshane M, Das S. 2021.** Bioremediation potential of biofilm forming multi-metal resistant marine bacterium *Pseudomonas chengduensis* PPSS-4 isolated from contaminated site of Paradip Port, Odisha. *Earth Syst Sci Data*. 125–130.
- Prosser J, Bohannan B, Curtis T, Ellis RJ, Firestone MK, Freckleton RP, Green JL, Green LE, Killham K, Lennon JJ, Osborn AM, Solan M, van der Gast CJ, Young JPW. 2007.** The role of ecological theory in microbial ecology. *Nat Rev Microbiol*. 5: 384–392.
- Qu C, Feng F, Tang J, Tang X, Wu D, Xiao R, Min X, Tang CJ. 2023.** A review of quorum sensing regulating heavy metal resistance in anammox process: Relations, mechanisms and prospects. *Crit Rev Environ Sci Technol*. 54 (5): 369–384.
- Quddus S, Liaqat Z, Azam S, Haq MU, Ahmad S, Alharbi M, Khan I. 2023.** Identification of Efflux Pump Mutations in *Pseudomonas aeruginosa* from Clinical Samples. *Antibiotics (Basel)*. 12(3): 1–17.
- Rabin N, Zheng Y, Opoku-Temeng C, Du X, Bonsu E, Sintim OH. 2015.** Biofilm formation mechanisms and targets for developing antibiofilm agents. *Future Med Chem*. 7(4): 493–512.
- Radouane F, Mourad L. 2017.** Determination of the sea waters quality of Arzew-Algeria Gulf. *J Pollut Eff Cont*. 5(1): 1–6.
- Rahman SS, Siddique R, Tabassum N. 2017.** Isolation and identification of halotolerant soil bacteria from coastal Patenga area. *BMC Res Notes*. 10: 1–6.
- Raj K, Das AP. 2023.** Lead pollution: Impact on environment and human health and approach for a sustainable solution. *Environ Chem Ecotoxicol*. 5: 79–85.

- Ramirez MI, Arevalo AP, Sotomayor S, Bailon-Moscoso N. 2017.** Contamination by oil extraction-refinement and their effect on human health. *Environ Pollut.* 213: 415–425.
- Ramos S, Silva V, Dapkevicius MLD, Caniça M, Tejedor-Junco MT, Igreas G, Poeta P. 2020.** *Escherichia coli* as commensal and pathogenic bacteria among food (producing animals: Health implications of extended spectrum β -lactamase (ESBL) production. *Animals.* 10(12): 1–15.
- Rangseekaew P, Barros-Rodriguez A, Pathom-aree W, Manzanera M. 2021.** Deep-Sea actinobacteria mitigate salinity stress in tomato seedlings and their biosafety testing. *MDPI Plants.* 10(8): 1–23.
- Rani SA, Pitts B, Beyanal H, Veluchamy RA, Lewandowski Z, Davison WM, Buckingham_Meyer K, Stewart PS. 2007.** Spatial patterns of DNA replication, protein synthesis, and oxygen concentration within bacterial biofilms reveal diverse physiological states. *J Bacteriol.* 189(11): 4223–4233.
- Rath MK, Fierer N, Murphy DV, Rousk J. 2019.** Linking bacterial community composition to soil salinity along environmental gradients. *ISME J.* 13: 836–846.
- Rather MA, Gupta K, Mandal M. 2021.** Inhibition of biofilm and quorum sensing-regulated virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa* by *Cuphea carthagenensis* (Jacq.) J. F. Macbr. Leaf extract: An *in vitro* study. *Ethnopharmacol.* 269: 113699.
- Rather MA, Saha D, Bhuyan S, Jha AN, Mandal M. 2022.** Quorum Quenching: A Drug Discovery Approach Against *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiol Res.* 264: 127173.
- Ray H, Saetta D, Boyer TH. 2017.** Characterization of urea hydrolysis in fresh humanurine and inhibition by chemical addition. *Environ. Sci: Water Res Technol.* 1–12.

- Ren P, Schmidt BV, Liu Q, Wang S, Liu X, Liu K, Shi D. 2023.** Fractionation of toxic metal Pb from truly dissolved and colloidal phases of seaward rivers in a coastal delta. *Front Mar Sci.* 9: 1–20.
- Ren Y, Zhu R, You X, Li DD, Guo M, Fei B, Liu Y, Yang X, Liu X, Li Y. 2024.** Quercetin: a promising virulence inhibitor of *Pseudomonas aeruginosa* LasB *in vitro*. *Appl Microbiol Biotechnol.* 108: 1–20.
- Reva ON, Weinel C, Weinel M, Böhm K, Stjepandic D, Hoheisel JD, Tümmler B. 2006.** Functional Genomics of Stress Response in *Pseudomonas putida* KT2440. *J Bacteriol.* 188(11): 4079–4092.
- Rex DA, Saptami K, Chandrasekaran J, Rekha PD. 2023.** Pleotropic potential of quorum sensing mediated N-acylhomoserine lactones (AHLs) at the LasR and RhIR receptors of *Pseudomonas aeruginosa*. *Struct Chem.* 34: 1327–1339.
- Riley EE, Das D, Lauga E. 2018.** Swimming of peritrichous bacteria is enabled by an elastohydrodynamic instability. *Nature.* 8: 1–7.
- Riley LW. 2020.** Distinguishing pathovars from nonpathovars: *Escherichia coli*. *Microbiol Spectr.* 8(4): 1–23.
- Rinaudi-Marron LV, González JF. 2015.** Regulation of Symbiotically Important Functions by Quorum Sensing in the *Sinorhizobium meliloti*–Alfalfa Interaction, In: Biological Nitrogen Fixation, Eds. John Wiley & Sons, Inc. Hoboken, New Jersey. 381–388.
- Rocha FR, Fehlberg LCC, Cordeiro–Moura JR, Ramos AC, Pinto VT, Barbosa FCB. 2019.** High frequency of extended–spectrum beta-lactamase–production *Klebsiella pneumoniae* nosocomial strains isolated from a teaching hospital in Brazil. *Microbiol Drug Resist.* 25: 909–914.

- Rodis N, Tsapadikou VK, Potsios C, Xaplanteri P. 2020.** Resistance Mechanisms in Bacterial Biofilm Formations: A Review. *J Emerg Intern Med.* 3(2): 7–18.
- Rodriguez J, Andersson A, Bjorn E, Timonen S, Brugel S, Skrobonja A, Rowe O. 2022.** Inputs of terrestrial dissolved organic matter enhanced bacterial production and methylmercury formation in oxic coastal water. *Front Microbiol.* 13: 1–14.
- Rodríguez-Rubio L, Haarmann N, Schwidder M, Muniesa M, Schmidt H. 2021.** Bacteriophages of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* and their contribution to pathogenicity. *Pathogens.* 10(4): 1–23.
- Roger P, Puchelle E, Bajolet-Laudinat O, Tournier J-M, Debordeaux C, Plotkowski M-C Cohen JHM, Sheppard D, de Bentzmann S. 1999.** Fibronectin and $\alpha 5 \beta 1$ integrin mediate binding of *Pseudomonas aeruginosa* to repairing airway epithelium. *Eur Respir J.* 13: 1301–1309
- Roleda MY, Hurd CL. 2019.** Seaweed nutrient physiology: application to aquaculture and bioremediation. *Phycologia.* 58(5): 552–562.
- Rosenau F, Jaeger K. 2000.** Bacterial lipases from *Pseudomonas*: Regulation of gene expression and mechanisms of secretion. *Biochem.* 82(11): 1023–1032.
- Rowe DC, McGettrick AF, Latz E, Monks BG, Gay NJ, Yamamoto M, Akira S, O'Neill LA, Fitzgerald KA, Golenbock DT. 2006.** The myristoylation of TRIF-related adaptor molecule is essential for Toll-Like receptor 4 signal transduction. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 103(16): 6299–6304.
- Roy R, Tiwari M, Donelli G, Tiwari V. 2018.** Strategies for combating bacterial biofilms: a focus on anti-biofilm agents and their mechanisms of action. *Virulence.* 9: 522–554.

- Ruer S, Stender S, Filloux A, de Bentzmann S. 2007.** Assembly of fimbrial structures in *Pseudomonas aeruginosa*: Functionality and specificity of chaperone- Usher machineries. *J Bacteriol.* 189 (9): 3547–3555.
- Rutherford ST, Bassler BL. 2012.** Bacterial quorum sensing: its role in virulence and possibilities or its control. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2: 1–25.
- Salam LB. 2016.** Metabolism of waste engine oil by *Pseudomonas* species. *3 Biotech.* 6(98): 1–10.
- Salam LB, Shomope H, Umami Z, Bukar F. 2019.** Mercury contamination imposes structural shift on the microbial community of an agricultural soil. *Bull Natl Res Cent.* 43: 163.
- Salveti S, Faegri K, Ghelardi E, KolstØ A, Sanesi S. 2011.** Global Gene Expression Profile for Swarming *Bacillus cereus* Bacteria. *Appl Environ Microbiol.* 77(15): 5149–5156.
- Samad T, Billings N, Birjiniuk A, Crouzier T, Doyle PS, Ribbeck K. 2017.** Swimming bacteria promote dispersal of non-motile staphylococcal species. *ISME J.* 11(8): 1933–1937.
- Samanovic MI, Ding C, Thiele DJ, Darwin KH. 2012.** Copper in microbial pathogenesis: meddling with the metal. *Cell Host Microbe.* 11(2): 106–115.
- Sampedro I, Parales RE, Krell T, Hill JE. 2015.** *Pseudomonas* chemotaxis. *FEMS Microbiol Rev.* 39: 17–46.
- Sandoz KM, Mitzimberg SM, Schuster M. 2007.** Social cheating in *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 104(40): 15876–15881.

- Sangeetha S, Arulpandi I, Geetha A. 2011.** Bacterial lipase as potentiel industrial biocatalysts: Overview. *Res J Microbiol.* 6: 1–24.
- Sarfo MK, Gyasi SF, Kabo-bah AT, Adu B, Mokhtar Q, Appiah AS, Serfor-Armah Y. 2023.** Isolation and characterization of crude-oil dependant bacteria from the coast of Ghana using oxford nanopore sequencing. *Heliyon.* 1–13.
- Sarkar S, Ulett GC, Totsika M, Phan M, Schembri MA. 2014.** Role of Capsular and O antigen, in the virulence of uropathogenic *Escherichia coli*. *PLOS One.* 9(4): 1–11.
- Sasongko A, Nugroho RW, Mulyani D. 2018.** Ammonia determination in bottled water using spectrophotometer: comparison between nessler and berthelot methods. *J Sains Teknol.* 7(1): 126–134.
- Satpute SK, Banpurkar AG, Banat IM, Sangshetti JN, Patil RH, Gade WN. 2016.** Multiples roles of biosurfactants in biofilms. *Curr Pharm Des.* 22: 1429–1448.
- Sauer K, Cullen MC, Rickard AH, Zeef LA, Davies DG, Gilbert P. 2004.** Characterization of nutrient-induced dispersion in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 biofilm. *J Bacteriol.* 186: 7312–7326.
- Schoeffel E, Link KP. 1933.** Isolation of α - and β -d- mannuronic acid. *J Biol Chem.* 100: 397–405.
- Schoina E, Doulgeraki AI, Miliou H, Nychas G-JE. 2022.** Dynamics of Water and Biofilm Bacterial Community Composition in a Mediterranean Recirculation Aquaculture System. *Aquac.* 2(2): 164–179.
- Schuster M, Greenberg EP. 2007.** Early activation of quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* reveals the architecture of a complex regulon. *BMC Genom.* 8: 1–11.

- Schuster M, Lostroh CP, Ogi T, Greenberg EP. 2003.** Identification, timing, and signal specificity of *Pseudomonas aeruginosa* quorum-controlled genes: a transcriptome analysis. *J Bacteriol.* 185: 2066–2079.
- Scott R, Hasty J. 2016.** Quorum sensing communication modules for microbial consortia. *ACS Synth Biol.* 5: 969–977.
- Selye H. 1973.** The evolution of the stress concept. *Amer Sci.* 61: 629–699.
- Semmler ABT, Whitchurch CB, Mattick JS. 1999.** A re-examination of twitching motility in *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiol.* 145: 2863–2873.
- Seymour JR, Brumley DR, Stocker R, Raina J. 2024.** Swimming towards each other: the role of chemotaxis in bacterial interactions. *Trends Microbiol.* 32(7): 640–649.
- Shahaliyan F, Safahieh A, Abyar H. 2015.** Evaluation of Emulsification Index in Marine Bacteria *Pseudomonas sp.* and *Bacillus sp.* *Arab J Sci Eng.* 40: 1849–1854
- Shanks RMO, Lahr RM, Stella NA, Arena KE, Brothers KM, Kwak DH, Liu X, Kalivoda EJ. 2013.** A *Serratia marescens* PigP Homolg Controls prodigiosin biosynthesis, swarming motility and hemolysis and is regulated by cAMP-CRP and HexS. *PLOS ONE.* 8(3): 1–16.
- Sharan M, Vijay D, Dhaka P, Bedi JS, Gill JPS. 2022.** Biofilms as a microbial hazard in the food industry: A scoping review. *J Appl Microbiol.* 133(4): 2210–2234.
- Sharma C, Rokana N, Chandra M, Singh BP, Gulhane RD, Gill JPS, Rau P, Puniya AK, Panwar H. 2018.** Antimicrobial resistance: its surveillance, impact, an alternative management strategies in dairy animals. *Front Vet Sci.* 4: 237.

- Sharma D, Misba L, Khan AU. 2019.** Antibiotics versus biofilm: an emerging battleground in microbial communities. *Antimicrob Resist Infect Contr.* 8: 76.
- Sharma S, Mohler J, Mahajan SD, Schwartz SA, Bruggemann L, Aalinkeel R. 2023.** Microbial Biofilm: A Review on Formation, Infection, Antibiotic Resistance, Control Measures, and Innovative Treatment. *Microorganisms.* 11(6): 1614.
- Shehata TE, Marr AG. 1971.** Effect of nutrient concentration on the growth of *Escherichia coli*. *J Bacteriol.* 107(1): 210–216.
- Shi H, Sun G, Gou L, Guo Z. 2022.** Rhizobia-Legume Symbiosis Increases Aluminum Resistance in Alfalfa. *Plants (Basel).* 11(10): 1275.
- Shin D, Gorgulla C, Boursier ME, Rexrode N, Brown EC, Arthanari H, Blackwell HE, Nagarajan R. 2019.** N-Acyl Homoserine Lactone Analog Modulators of the *Pseudomonas aeruginosa* RhII Quorum Sensing Signal Synthase. *ACS Chem Biol.* 14(10): 2305–2314.
- Shukla A, Parmar P, Patel B, Goswami D, Saraf M. 2021.** Breaking bad: Better call gingerol for improving antibiotic susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* by inhibiting multiple quorum sensing pathways. *Microbiol Res.* 252: 126863.
- Sibly RM, Calow P. 1989.** A life cycle theory of response to stress. *Biol J of the Linn Soc.* 37: 101–116.
- Sierra G. 1957.** A simple method for the detection of lipolytic activity of micro-organisms and some observations on the influence of the contact between cells and fatty substrates. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 23(1): 15–22.
- Singh AK, Dhanjal S, Cameotra SS. 2014.** Surfactin restores and enhances swarming motility under heavy metal stress. *Colloids Surf B: Biointerfaces.* 116: 26–31.

- Sivakumar K, Scarascia F, Zaouri N, Wang T, Kaksonen AH, Hong P. 2019.** Salinity mediated increment in sulfat reduction, biofilm formation, and quorum sensing: A potential connection quorum sensing and sulfate reduction? *Front Microbiol.*10 (188): 1–13.
- Skrypnik L, Maslennikov P, Novikova A, Kojikine M. 2021.** Effect of crude oil on growth, oxidative stress and response of antioxidative system of two Rye (*Secale cereale L.*) Varieties. *Plants.* 10(1): 1–21.
- Smith JL, Fratamico PM, Yan X. 2011.** Eavesdropping by bacteria: The role of SidA in *Escherichia coli* et *Salmonella* sérovar Typhimurium quorum sensing. *Foodborne Pathog Dis.* 8(2): 169-178.
- Soo P, Horng T, Wei J, Shu J, Lu C, Lai H. 2008.** Regulation of swarming motility and *flhDC_{sm}* expression by RssAB signaling in *Serratia marescens*. *J Bacteriol.* 100(7): 2496–2504.
- Soto S.M. 2014.** Importance of biofilm in urinary tract infections: new therapeutic approaches. *Adv Biol.* 2014: 543974.
- Sourjik V, Armitage JP. 2010.** Spatial organization in bacterial chemotaxis. *EMBO Rep J.* 29(16): 2724–2733.
- Sourjik V, Wingreen NS. 2012.** Responding to chemical gradients: bacterial chemotaxis. *Curr Opin Cell Biol.* 20 (2): 262–268.
- Srivastava A, Saavedra DEM, Thomson B, García JAL, Zhao Z, Patrick WM, Herndl GJ, Baltar F. 2021.** Enzyme promiscuity in natural environments: alkaline phosphatase in the ocean. *ISME J.* 15(11): 3375–3383.

- Stancu MM, Vila J. 2013.** Physiological response of *Escherichia coli* IBB_{C11} to n-alkane and kerosene. *Environ Forensics*. 14(1): 50–58.
- Stancu MM. 2020.** Kerosene tolerance in *Achromobacter* and *Pseudomonas* species. *Ann Microbiol*. 70(8): 1–13.
- Stanford ECC. 1883.** On algin: a new substance obtained from some of the commoner species of marine algae. *Chem News*. 47(2): 254–267
- Stanier YRY, Palleroni NJ, Doudoroff M. 1966.** The Aerobic Pseudomonads: a Taxonomic Study. *J Gen Microbiol*. 43: 159–271.
- Styles KM, Locke RK, Cowley LA, Brown AT, Sagona AP. 2022.** Transposable element insertions into the *Escherichia coli* polysialic resistance to K1F Bacteriophage. *Microbiol spectrum*. 10(3): e02112–e02121.
- Styles MJ, Early SA, Tucholski T, West KHJ, Ge Y, Blackwell HE. 2020.** Chemical control of quorum sensing in *E. coli*: Identification of small molecule modulators of SidA and mechanistic characterization of a covalent inhibitor. *ACS Infect Dis*. 12: 3092–3103
- Surendran PK, Iyer KM, Gopakumar K. 1983.** Salt tolerance of bacteria isolated from tropical marine fish and Prawn. *Fish Technol*. 20: 105–110.
- Sutter VL. 1968.** Identification of *Pseudomonas* species isolated from hospital environment and human sources. *Appl Microbiol*. 16(10): 1532–1538.
- Swiecicki JM, Sliusarenko O, Weibel DB. 2013.** From swimming to swarming: *Escherichia coli* cell motility in two-dimensions. Integrative biology: quantitative biosciences from nano to macro. *Integr Biol*. 5(12): 1490–1494.

- Tahoun UM, Hamza WT. 2022.** *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa* as potent protease enzyme producers isolated from the aquatic environment. *Egypt J Aquat Biol Fish.* 26(4): 197–213.
- Tamano K. 2014.** Enhancing microbial metabolite and enzyme production: current strategies and challenges. *Front Microbiol.* 5: 718.
- Tamar E, Koler M, Vaknin A. 2016.** The role of motility and chemotaxis in the bacterial colonization of protected surfaces. *Sci Rep.* 6:19616.
- Tamilvanan S, Venkateshan N, Ludwig A. 2008.** The potential of lipid- and polymer -based drug delivery carriers for eradicating biofilm consortia on device-related nosocomial infections. *J Control Release.* 128: 2 –22.
- Tamilvanan S. 2010.** Introduction and overview of biofilm. In: Biofilm eradication and prevention. Eds. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, 3–34.
- Tan CH, Koh KS, Xie C, Zhang J, Tan XH, Lee GP, Zhou Y, Ng WJ, Rice SA, Kjelleberg S. 2015.** Community quorum sensing signaling and quenching: microbial granular biofilm assembly. *NPJ Biofilms Microbiomes.* 1: 1–9.
- Tan Y-S, Zhang R-K, Liu Z-H, Li B-Z and Yuan Y-J. 2022.** Microbial Adaptation to Enhance Stress Tolerance. *Front Microbiol.* 13: 888746.
- Tanet L, Tamburini C, Baumas C, Garel M, Simon G, Casalot L. 2019.** Bacterial Bioluminescence: Light Emission in *Photobacterium phosphoreum* Is Not Under Quorum-Sensing Control. *Front Microbiol.* 10: 1–9.

- Tao H, Bausch C, Richamond C, Blattner FR, Conway T. 1999.** Functional genomics: expression analysis of *Escherichia coli* growing on minimal and rich media. *J Bacteriol.* 181(20): 6425–6440.
- Tchounwou BB, Yedjou CG, Pattolla AK, Sutton DJ. 2014.** Heavy metals toxicity and the Environment. *EXS.* 101: 133–164.
- Teiba II, El-Bilawy EH, Elsheery NI, Rastogi A. 2024.** Microbial Allies in Agriculture: Harnessing Plant Growth-Promoting Microorganisms as Guardians against Biotic and Abiotic Stresses. *Horticulturae.* 10(1): 1–29.
- Teitzel GH, Parsek MR. 2003.** Heavy metal resistance of biofilm and planktonic *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl Environ Microbiol.* 69(4): 2313–2320.
- Terada IS, Johansen KA, Nowbar S, Vasil AI, Vasil MI. 1999.** *Pseudomonas aeruginosa* hemolytic phospholipase C supresses neutrophil respiratory burst activity. *Infecti Immun.* 67: 2371–2376.
- Thakur N, Singh SP, Zhang C. 2022.** Microorganisms under extreme environments and their applications. *Curr Res Microb Sci.* 1–2.
- Thakur Y, Pande R. 2021.** Exploration of *In-silico* screening of therapeutic agents against SARS-CoV-2. *Chem Phys.* 551: 1–10.
- Tian M, Wu Z, Zhang R, Yuan J. 2022.** A new mode of swimming in singly flagellated *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 119 (14): 1–10.
- Timsit Y, Lescot M, Valiadi M, Not F. 2021.** Bioluminescence and Photoreception in Unicellular Organisms: Light-Signalling in a Bio-Communication Perspective. *Int J Mol Sci.* 22(21): 11311.

- Tolku AK, Toubanaki DK, Kyzas GZ. 2023.** Detection of arsenic, Chromium, cadmium, lead, and mercury in fish: Effects on the sustainable and healthy development of aquatic life and human consumers. *Sustainability*. 15(23): 16242.
- Toyofuku M, Inaba T, Kiyokawa T, Obana N, Yawata Y, Nomura N. 2016.** Environmental factors that shape biofilm formation. *Biosci Biotechnol Biochem*. 80(1): 7–12.
- Trapet P, Avoscan L, Klinguer A, Pateyron S, Citerne S, Chervin C, Mazurier S, Lemanceau P, Wendehenne D, Besson-Bard A. 2016.** The *Pseudomonas fluorescens* Siderophore Pyoverdine Weakens *Arabidopsis thaliana* Defense in Favor of Growth in Iron-Deficient Conditions. *Plant Physiol*. 171: 675–693.
- Trapet P. 2015.** Incidence physiologique et étude du mode d'action de la pyoverdine de *Pseudomonas fluorescens* chez *Arabidopsis thaliana*: liens avec l'homéostasie du fer, la croissance et les défenses. Thèse de doctorat. Biochimie, Biologie Moléculaire. Université de Bourgogne, France.
- Tremblay J. 2007.** Caractérisation de la mobilité de type « swarming » chez *Pseudomonas aeruginosa*. Mémoire, INRS-Institut Armand-Frappier, Canada.
- Trevors JT, Cotter CM. 1990.** Copper toxicity and uptake in microorganisms. *J Ind Microbiol*. 6: 77–84.
- Tripathi AK, Saxena P, Thakur P, Rauniyar S, Samanta D, Gopalakrishnan V, Sign RN, Sani RK. 2022.** Transcriptomics and functional analysis of copper stress response in the sulfate-reducing bacterium *Desulfovibrio alaskensis* G20. *Int J Mol Sci*. 23(3): 1–25.

- Trognon J, Vera G, Rima M, Stigliani J, Amielet L, El Hage S, Lajoie B, Roques C, El Garah F. 2022.** Investigation of direct and retro chromone-2-carboxamides based analogs of *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing as new anti-biofilm agents. *Pharmaceuticals*. 15(4): 1–26.
- Truskewycz A, Gundry TD, Khudur LS, Kolobaric A, Taha M, Aburto-Medina A, Ball AS, Shahsavari E. 2019.** Petroleum Hydrocarbon Contamination in Terrestrial Ecosystems-Fate and Microbial Responses. *Molecules*. 24(18): 3400.
- Tsagkari E, Keating C, Couto JM, Sloan WT. 2017.** A Keystone Methylobacterium Strain in Biofilm Formation in Drinking Water. *Water*. 9(10): 778.
- Tsang N, Macnab R, Koshland DCE. 1973.** Common mechanism for repellents and attractants in bacterial chemotaxis. *Science*. 181: 60–63.
- Turovskiy Y, Kashtanov D, Paskhover B, Chikindas ML. 2007.** Quorum sensing: fact, fiction, and everything in between. *Adv Appl Microbiol*. 62: 191–234.
- Tyler RH, Boyer TP, Minami T, Zweng MM, Reagan JR. 2017.** Electrical conductivity of the global Ocean. *Earth Planets Space*. 69: 1–10.
- Udaondo Z, Ramos J, Segura A, Krell T, Daddaoua A. 2018.** Regulation of carbohydrate degradation pathways in *Pseudomonas* involves a versatile set of transcriptional regulators. *Microb Biotechnol*. 11: 442–454.
- Ueki T, Sakamoto Y, Yamaguchi N, Michibata H. 2003.** Bioaccumulation of copper ions by *Escherichia coli* expressing vanabin genes from the vanadium-rich ascidian *Ascidia sydneiensis samea*. *Appl Environ Microbiol*. 69(11): 6442–6446.

- Ugur A, Ceylan O, Aslim B. 2012.** Characterization of *Pseudomonas spp.* from seawater of the southwest coast of Turkey. *J Biol Environ Sci.* 6(16): 15–23.
- Ullah A, Bano A, Khan N. 2021.** Climate change and salinity effects on crops and chemical communication between plants and plants growth-promoting microorganisms under stress. *Front Sustain Food Syst.* 5: 1–16.
- Uruén C, Chopo–Escuin G, Tommassen J, Mainar-Jaime RC, Arenas J. 2020.** Biofilms as promoters of bacterial antibiotic resistance and tolerance. *Antibiotics.* 10: 3.
- Vaidyanathan R, Sreedevi SM, Ravichandran K, Vinod SM, Krishnan YH, Babu LK, Parthiban PS, Basker L, Perumal T, Rajaraman V, Arumugam G, Rajendran K, Mahalingam V. 2023.** Molecular docking approach on the binding stability of derivatives of phenolic acids (DPAs) with human serum albumin (HAS) hydrogen-binding versus hydrophobic interactions or combined influences? *JCIS Open.* 12: 100096.
- Vallet I, Olson JW, Lory S, Lazdunski A, Filloux A. 2001.** The chaperone/usher pathways of *Pseudomonas aeruginosa*: identification of fimbrial gene clusters (cup) and their involvement in biofilm formation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 98(12): 6611–6616.
- Van Delden C, Iglewski BH. 1998.** Cell-to-cell signaling and *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Emerg Infect Diss.* 4: 551–560.
- Vandamme P, Pot B, Gillis M, De Vos P, Kersters K, Swings J. 1996.** Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. *Microbiol Rev.* 60(2): 407–438.
- Vatansever C, Turetgen I. 2018.** Investigating the Effects of Different Physical and Chemical Stress Factors on Microbial Biofilm. *Water SA.* 44(2): 308–317.

- Vater D. 2014.** Swimming behavior of *Pseudomonas aeruginosa* studied by holographic 3D tracking. *PLoS One*. 9 (1): 1–11.
- Vestby LK, Grønseth T, Simm R, Nesse LL. 2020.** Bacterial Biofilm and its Role in the Pathogenesis of Disease. *Antibiotics* (Basel). 9(2): 1–29.
- Vicario JC, Dardanelli MS, Giordano W. 2015.** Swimming and swarming motility properties of peanut-nodulating rhizobia. *FEMS Microbiol*. 362: 1–6.
- Vimont A, Vernozy-Rozand C, Montet MP, Lazizzera C, Bavai C, Delignette-Muller ML. 2006.** Modeling and predicting the simultaneous growth of *Escherichia coli* O157:H7 and ground beef background microflora for various enrichment protocols. *Appl Environ Microbiol*. 72(1): 261–268.
- Viramontes-Ramos S, Portillo-Ruiz MC, Nevarez-Moorillon GV. 2010.** Selection of biosurfactan/bioemulsifier producing bacteria from hydrocarbon-contaminated soil. *Braz J Microbiol*. 41(3): 668–675.
- Virieux-petit M, Hammer-Dedet F, Aujoulat F, Jumas-Bilak E, Romano-Bertrand S. 2022.** From copper tolerance to resistance in *Pseudomonas aeruginosa* towards patho-adaptation and hospital success. *Genes*. 13 (301): 1–24.
- Visick KL, Stabb EV, Ruby EG. 2021.** A lasting symbiosis: how *Vibrio fischeri* finds a squid partner and persists within its natural host. *Nat Rev Microbiol*. 19(10): 654–665.
- Visintin A, Mazzoni A, Spitzer JH, Wyllie DH, Dower SK, Segal DM. 2001.** Regulation of Toll-like receptors in human monocytes and dendritic cells. *J Immunol*. 166(1): 249–255.

- Vladimirov N, Sourjik V. 2009.** Chemotaxis: How bacteria use memory. *Biol Chem.* 390(11): 1097–1104.
- Vulpe CB, Matica MA, Kovacevic R, Isvoran A, Ostafe V, Menghiu G. 2023.** Copper Accumulation Efficiency in Different recombinant microorganism strains available for bioremediation of heavy metal-polluted waters. *IJMS.* 24(8): 7575.
- Wadhams GH, Armitage JP. 2004.** Making sense of it all: bacterial chemotaxis. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 5: 1024–1037.
- Wang D, Lin J, Lin J, Wang W, Li S. 2019.** Biodegradation of petroleum hydrocarbons by *Bacillus subtilis* BL-27, a strain with weak hydrophobicity. *Molecules.* 24: 1–15.
- Wang M, Zhao L, Wu H, Zhao C, Gong Q, Yu W. 2020.** Cladonionen is a potential quorum sensing inhibitor against *Pseudomonas aeruginosa*. *Mar Drugs.* 18(4): 1–14.
- Wang MQ, Sun L. 2016.** *Pseudomonas oceani* sp. nov., isolated from deep seawater. *Int J Syst evol Microbiol.* 66(10): 4250–4255.
- Wang R, Ding W, Long L, Lan Y, Tong H, Saha S, Wong YH, Sun J, Li Y, Zhang W, Qian PY. 2020.** Exploring the Influence of Signal Molecules on Marine Biofilms Development. *Front Microbiol.* 11: 571400.
- Wang S, Su X, Cui H, Wang M, Hu X, Ding W, Zhang W. 2022.** Microbial Richness of Marine Biofilms Revealed by Sequencing Full-Length 16S rRNA Genes. *Genes.* 13(6): 1–12.
- Wani AB, Ara A, Usmani JA. 2015.** Lead toxicity: A review. *Interdis Toxicol.* 8(2): 55–64.

- Weber-Scannell PK, Duffy LK. 2007.** Effects of total dissolved solids on aquatic organisms: A review of littérature and recommendation for Salmonid Species. *Amer J Environ Sci.* 3(1): 1–6.
- Weerasuriya S, Schneider BM, Manson MD. 1998.** Chimeric chemoreceptors in *Escherichia coli*: signaling properties of Tar-Tap and Tap-Tar hybrids. *J Bacteriol.* 180(4): 914–920.
- Weisburg WG, Barns SM, Pelletier DA, Lane DJ. 1991.** 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *J Bacteriol.* 173(2): 697-703.
- Werbow O, Kaczorowski T. 2016.** Plasmid pEC156, a naturally occurring *Escherichia coli* genetic element that carries genes of the EcoVIII restriction-modification system, is mobilizable among Enterobacteria. *PLos One.* 12(2): 1–19.
- West SA, Griffin AS, Gardner A, Diggle SP. 2006.** Social evolution theory for microorganisms. *Nat Rev Microbiol.* 4: 597–610.
- Whiteley M, Diggle SP, Greenberg EP. 2017.** Progress in and promise of bacterial quorum-sensing research. *Nature.* 551: 313–320.
- Wilhelm S, Gdynia A, Tielen P, Rosenau F, Jaeger KE. 2007.** The autotransporter esterase EstA of *Pseudomonas aeruginosa* is required for Rhamnolipid production, cell motility and biofilm formation. *J Bacteriol.* 189(18): 6695–6703.
- Wretling B, Pavlovskis OR. 1983.** *Pseudomonas aeruginosa* Elastase and Its Role in *Pseudomonas* Infections. *Rev Infect Dis.* 5(5): 999–1004.

- Wu X, Al Farraj DA, Rajaselvam J, Alkufeidy RM, Agastian P, Alshammari MK. 2020.** Characterization of biofilm formed by multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* DC-17 isolated from dental caries. *Saudi J Biol Sci.* 27(11): 2955–2960.
- Wu Y, Cai P, Jing X, Niu X, Ji D, Ashry NM, Gao C, Huang Q. 2019.** Soil biofilm formation enhances microbial community diversity and metabolic activity. *Environ Int.* 132: 1–8.
- Wu Z, He R, Zhang R, Yuan J. 2020.** Swarming Motility without Flagellar Motor Switching by Reversal of Swimming Direction in *E. coli*. *Front Microbiol.* 11: 1–11.
- Wucher BR, Elsayed M, Adelman JS, Kadouri DE, Nadell CD. 2021.** Bacterial predation transforms the landscape and community assembly of biofilms. *Curr Biol.* 31 (12): 2643–2651.
- Xavier JB, Foster KR. 2007.** Cooperation and conflict in microbial biofilms. *PNAS.* 104(3): 876–881.
- Xavier JB. 2016.** Sociomicrobiology and Pathogenic Bacteria. *Microbiol Spectrum.* 4(3): 1–10.
- Xavier KB, Bassler BL. 2005.** Interference with AI-2-Mediated Bacterial Cell-Cell Communication. *Nature.* 437: 750–753.
- Xia F, Hao H, Qi Y, Bai H, Li H, Shi Z, Shi L. 2023.** Effect of salt stress on microbiome structure and diversity in Chamomile (*Matricaria Chamomilla L.*) Rhizosphere soil. *Agronomy.* 13(6): 1–15.

- Xu X, Liu W, Tian S, Wang W, Qi Q, Jiang P, Gao X, Li F, Yu H. 2018.** Petroleum hydrocarbon-degrading bacteria for the remediation of oil pollution under aerobic conditions: A perspective analysis. *Front Microbiol.* 9: 1–11.
- Xue Q, Liu X, Russell P, Li J, Pan W, Fu J, Zhang A. 2022.** Evaluation of the binding performance of flavonoids to estrogen receptor alpha by Autodock, Autodock Vina and Surflex-Dock. *Ecotoxicol Environ Saf.* 233: 113323.
- Yan S, Wu G. 2019.** Can biofilm be reversed through quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*? *Front microbiol.* 10: 1-9.
- Yang A, Tang WS, Si T, Tang JX. 2017.** Influence of physical effects on the swarming motility of *Pseudomonas aeruginosa*. *Biophys J.* 112(7): 1462–1471.
- Yang J, Li X, Xiong Z, Wang M, Liu Q. 2020.** Environmental pollution effect analysis of Lead compounds in China based on line cycles. *Int J Environ Res Public Health.* 17(7): 1–17.
- Yang X, Wan Y, Zheng Y, He F, Yu Z, Huang J, Wang H, Ok YS, Jiang Y, Gao B. 2019.** Surface functional groups of carbon-based absorbents and their roles in the removal of heavy metals from aqueous solutions: A critical review. *Chem Eng J.* 366: 608–621.
- Yeung ATY, Torfs ECW, Jamshidi F, Bains M, Wiegand I, Hancock REW, Overhage J. 2009.** Swarming of *Pseudomonas aeruginosa* is controlled by a broad spectrum of transcriptional regulators, including MetR. *J Bacteriol.* 191(18): 5592–5602.
- Yin W, Wang Y, Liu L, He J. 2019.** Biofilms: the “protective clothing” in extreme environments. *Intl J Mol Sci.* 20(14): 1–18.

- Yong C, Menge JA, Cooksey DA. 1993.** Role of Copper Resistance in Competitive Survival of *Pseudomonas fluorescens* in Soil. *Appl Environ Microbiol.* 59(2): 580-584.
- Yousuf B, Adachi K, Nakayama J. 2018.** Developing Anti-virulence Chemotherapies by Exploiting the Diversity of Microbial Quorum Sensing Systems, In: *Biotechnological Applications of Quorum Sensing Inhibitors*, Eds. Springer. Singapore, 151–208.
- Yu H, Heng L, Qu F, Xu G, Hu H, Li G. 2016.** Biofouling Control by Biostimulation of Quorum-Quenching Bacteria in a Membrane Bioreactor for Wastewater Treatment. *Biotechnol Bioeng.* 99: 1–9.
- Zagadło K, Gieroń M, Żarnowiec P, Durlík-Popińska K, Kręcisz B, Kaca W, Czerwonka G. 2023.** Bacterial motility and its role in skin and wound infections. *Int J Mol Sci.* 24: 1–13.
- Zahedi MM, Amiri AH, Nasiri M. 2017.** Spectrophotometric monitoring of nitrite in seawater after liquid microextraction of its dirivate with 2, 3-diaminonaphtalene. *Water Qual Res J.* 52 (1): 11–17.
- Zahir F, Rizwi SJ, Haq SK, Khan RH. 2005.** Low dose mercury toxicity and human health. *Environ Toxicol Pharmacol.* 20: 351–360.
- Zakaria AS, Edward EV, Mohamed NM. 2022.** Pathogenecity Islands in uropathogenic *Escherichia coli* Clinical isolate of the globally disseminated 025: H4-ST131 pandemic clonal lineage: First report from Egypt. *Antibiotics.* 11(1): 1–16.
- Zakem EJ, Al-Haj A, Church MJ, van Dijken GL, Dutkiewicz S, Foster SQ, Fulweiler RW, Mills MM, Follows MJ. 2018.** Ecological control of Nitrite in the upper ocean. *Nat Commu.* 9 (1206): 1–13.

- Zatakia HM, arapov TD, Meier VM, Scharf BE. 2018.** Cellular stoichiometry of methyl-Accepting chemotaxis proteins in *Sinorhizobium meliloti*. *J Bacteriol.* 200(6): e00617–e00617.
- Zhang J, Hou H, Chen G, Wang S, Zhang J. 2016.** The isolation and functional identification on producing cellulase of *Pseudomonas mendocina*. *Bioengineered.* 7(5): 382–391.
- Zhang S, Li R, Bai W, Yang Q. 2021.** Effects of oil contamination on the physical-mechanical behavior of Loess and its mechanisms analysis. *Geofluids.* 2021: 1–12.
- Zhang TC, Fu YC, Bishop PL 1995.** Competition for Substrate and Space in Biofilms. *Water Environ Res.* 67(6): 992–1003.
- Zhang W, Chen L, Liu D. 2012.** Characterization of a marine isolated mercury-resistant *Pseudomonas putida* strains SP1 and its potential application in marine mercury reduction. *Appl Microbiol Biotechnol.* 93(3): 1305–1314.
- Zhang X, Ward BB, Sigman DM. 2020.** Global nitrogen Cycle: Critical enzymes, organisms and processes for nitrogen budgets and dynamics. *Chem Rev.* 120 (12): 5308–5351.
- Zhao S, Shi X, Sun B, Liu Y, Tian Z, Huotari J. 2022.** Effects of pH on phosphorus form transformation in lake sediments. *Water Supply.* 22(2): 1231–1243.
- Zhao X, Ford RM. 2022.** Marine Bacteria Chemotaxis to Crude Oil Components with Opposing Effects. *BioRxiv.* 1–26.
- Zhao X, Kuipers OP. 2016.** Identification and classification of known and putative antimicrobial compounds produced by a wide variety of Bacillales species. *BMC Genom.* 17: 882.

- Zhao X, Yu Z, Ding T. 2020.** Quorum-Sensing Regulation of Antimicrobial Resistance in Bacteria. *Microorganisms*. 8(3): 1–21.
- Zheng F, Wang S, Hou W, Xiao Y, Liu P, Shi X, Shen M. 2021.** Comparative study of resazurin reduction and MTT assay cytocompatibility evaluation of nanofibrous materials. *Anal Methods*. 4: 1–7.
- Zheng R, Wu S, Ma N, Sun C. 2018.** Genetic and physiological adaptations of marine bacterium *Pseudomonas stutzuri* 273 to mercury stress. *Front Microbiol*. 9: 1–14.
- Zheng X, Cao H, Liu B, Zhang M, Zhang C, Chen P, Yang B. 2022.** Effect of mercury contamination on microbial diversity of different kinds of soil. *Microorganisms*. 10(5): 1–13.
- Zheng Z, Breedveld G, Aagaard P. 2001.** Biodegradation of soluble aromatic compounds of jet fuel under anaerobic conditions: laboratory batch experiments. *Appl Microbiol Biotechnol*. 57: 572–578.
- Zheng Z, Fu Y, Liu K, Xiao R, Wang X, Shi H. 2018.** Three-stage Vertical distribution of seawater conductivity. *Sci Rep*. 8 (9916): 1–10.
- Zhi S, Banting G, Li Q, Edge T, Topp E, Sokurenko M, Scott C, Braithwaite S, Ruecker NJ, Yasui Y, McAllister T, Chui L, Neumann NF. 2016.** Evidence of naturalized stress-tolerant strains of *Escherichia coli* in municipal wastewater treatment plants. *Appl Environ Microbiol*. 82(18): 5505–5518.
- Zhou S, Tovkach O, Golovaty D, Sokolov A, Aranson IS, Lavrentovich OD. 2017.** Dynamic states of swimming bacteria in a nematic liquid crystal cell with homeotropic alignment. *New J Phys*. 19: 1–20.

Zhuang X, Gao J, Ma A, Fu S, Zhuang G. 2013. Bioactive Molecules in Soil Ecosystems: Masters of the Underground. *Int J Mol Sci.* 14: 8841–8868.

Zughaier SM, Ryley HC, Jackson SK. 1999. Lipopolysaccharides (LPS) from *Burkholderia cepacia* Is more active than LPS from *Pseudomonas aeruginosa* and *Stenotrophomonas maltophilia* in Stimulating Tumor necrosis factor Alpha from Human monocytes. *Infect Immun.* 67(3): 1505–1507.

Annexes

ANNEXES I

1. Milieux de culture

Milieux	Ingrédients	g/L
Gélose Luria Bertani (Wang et al., 2023)	Peptone Extrait de viande Chlorure du sodium Agar pH= 7.0± 0.2	10 3 5 15
Gélose Minérale Bushnell-Haas (Araújo et al., 2020)	MgSO ₄ CaCl ₂ KH ₂ PO ₄ K ₂ HPO ₄ (NH ₄) ₂ SO ₄ FeCl ₃ Agar pH= 7.0± 0.2	0.20 0.02 1.00 1.00 1.00 0.05 15
Gélose Pseudomonas F (Khan et al., 2018)	K ₂ HPO ₄ Peptone MgSO ₄ .7H ₂ O Glycérol Agar pH= 7.0± 0.2	20 2 1.5 15 15
Milieu de Swimming (Déziel et al., 2001)	Tryptone NaCl Agar pH= 7.0± 0.2	10 5 3
Milieu de Swarming (Déziel et al., 2001)	Bouillon nutritif Agar pH= 7.0± 0.2	8 5
Milieu de Twitching (Déziel et al., 2001)	Peptone NaCl Extrait de levure Agar pH= 7.0± 0.2	10 3 5 10
Bouillon Tryptone Soja (Wani et Mir, 2020)	Tryptone Soytone Dextrose NaCl K ₂ HPO ₄ pH= 7.0± 0.2	17 3 2.5 5 2.5
Bouillon tryptone salin (Norris et al., 2022)	Tryptone NaCl pH= 7.0± 0.2	10 5

2. Tampon

Tampon	Ingrédients	g/L
Tampon de chimiotaxie (Liang et <i>al.</i> , 2021)	Na ₂ HPO ₄ KH ₂ PO ₄ Extrait de levure Agar pH= 7.0± 0.2	25 25 1.0 10
Tampon	Ingrédients	mM
Tampon phosphate salin (Klein et <i>al.</i> , 2024)	NaCl KCl Na ₂ HPO ₄ KH ₂ PO ₄ pH= 7.0± 0.2	136.9 2.7 10.1 1.8

3. Solution de colorants

Solution	Ingrédients	mg/mL
Rouge Congo (Kaiser et <i>al.</i> , 2013)	Rouge Congo Eau distillée pH= 7.0± 0.2	8 100
Cristal violet (Verma et <i>al.</i> , 2023)	Cristal violet Eau distillée pH= 7.0± 0.2	0.5 100
Résazurine (Costa et <i>al.</i> , 2021)	Résazurine Eau distillée pH= 7.0± 0.2	15 100

ANNEXE II

1. Identification par galerie API 20E

La galerie API 20E commercialisée par la société « bioMérieux » est un système miniaturisé, prêt à l'emploi et standardisé. La galerie comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Au-dessous de chaque tube, un sigle indique la nature du test. Les tubes sont ensemencés avec une suspension bactérienne effectuée en eau physiologique.

Tableau 10. Tableau de lecture des résultats d'identification par la galerie API 20E.

Tests	Substrats	Réactions /enzymes	Résultats	
			Négatifs	positif
ONPG	Ortho- nitro-phényl-galactoside	β galactosidase	Incolore	Jaune (1)
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/orangé (2)
LDC	Lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Orangé(2)
ODC	Ornithine	Ornithine décarboxylase	jaune	Rouge-/orangé(2)
CIT	Citrate de sodium	Utilisation de citrate	Vert pale	Bleu vert /bleu(3)
H ₂ S	Thiosulfate de sodium	Production de H ₂ S	Incolore /grisâtre	Dépôt noir/fin de liseré
URE	urée	Uréase	jaune	Rouge /orangé
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	TDA immédiat	
			jaune	Marron foncé
IND	Tryptophane	Production d'indole	JAMES immédiat ou IND/2min	
			JAMES Incolore vert pale-jaune IND jaune	JAMES rose IND Anneau rouge
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	VP1 +VP2 /10min	
			incolore	Rosé-Rouge
GEL	Gélatine de Kohn	gélatinase	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	glucose	Fermentation /oxydation(4)	Bleu /Bleu vert	Jaune
MAN	Mannitol	Fermentation /oxydation(4)	Bleu /Bleu vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation /oxydation(4)	Bleu /Bleu vert	Jaune
SOR	Sorbitol	Fermentation /oxydation(4)	Bleu /Bleu vert	Jaune
RHA	Rhamnose	Fermentation /oxydation(4)	Bleu /Bleu vert	Jaune
SAC	saccharose	Fermentation /oxydation(4)	Bleu /Bleu vert	Jaune
MEL	melibiose	Fermentation /oxydation(4)	Bleu /Bleu vert	Jaune
ARA	arabinose	Fermentation /oxydation(4)	Bleu /Bleu vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation /oxydation(4)	Bleu /Bleu vert	Jaune

(1) une très légère couleur jaune est également positive.

(2) une couleur orange apparaissant après 24h doit être considérée négative.

(3) lecture dans la cupule (zone aérobie).

(4) fermentation commence dans la partie inférieure des tubes alors que l'oxydation commence dans la cupule.

La lecture de ces réactions s'effectue à l'aide d'un tableau de lecture, et l'identification est obtenue grâce au tableau d'identification et l'identification est réalisée par le logiciel **API WEB**.

2. Identification par galerie API 20NE

Une identification biochimique *via* une galerie API 20E et API 20NE a été entreprise pour nous orienter vers le genre et l'espèce bactérienne de nos souches. La galerie API 20 NE est composée de 20 microtubes contenant des milieux et substrats sous forme déshydratée. Elle permet la réalisation de 20 tests biochimiques, combinant 8 tests conventionnels et 12 tests d'assimilation. Le 21^e test, l'oxydase, est effectué en dehors de la galerie conformément aux instructions du fabricant (Peladan et Monteil, 1988).

Tableau 11. Tableau de lecture des résultats d'identification par la galerie API 20NE.

Tests	Substrats	Réaction/enzymes	Résultats	
			Positif	Négatif
NO ₃	Potassium nitrate	Réduction des nitrates en nitrites	NIT 1+NIT2 / 5min	
			Incolore	Rose-rouge
		Réduction des nitrites en azote	Zinc/5min	
			Rose	incolore
TRP	L-tryptophane	Formation d'indole	James/immédiat	
				Incolore, vert pale/jaune
<u>GLU</u>	D-glucose	Fermentation	Bleu à vert	Jaune
<u>ADH</u>	L-arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Orange/rose/rouge
<u>URE</u>	Urée	Uréase	Jaune	Orange/rose/rouge
ESC	Esculine citrate de fer	Hydrolyse/ β -glucosidase	Jaune	Gris/marron/noir
GEL	Gélatine	Hydrolyse/protéase	Pas de diffusion du pigment	diffusion du pigment
PNPG	4-nitrophényl- β D- galactopyranoside	B-galactosidase	Incolore	Jaune
GLU	D-glucose	Assimilation	Transparence	Trouble
ARA	D-arabinose	Assimilation	Transparence	Trouble
MNE	D-mannose	Assimilation	Transparence	Trouble
MAN	D-mannitol	Assimilation	Transparence	Trouble
NAG	N-acétyl-glucosamine	Assimilation	Transparence	Trouble
MAL	D-Maltose	Assimilation	Transparence	Trouble
GNT	Potassium gluconate	Assimilation	Transparence	Trouble
CAP	Acide caprique	Assimilation	Transparence	Trouble
ADI	Acide adipique	Assimilation	Transparence	Trouble
MLT	Acide malique	Assimilation	Transparence	Trouble
CIT	Trisodium citrate	Assimilation	Transparence	Trouble
PAC	Acide phénylacétique	Assimilation	Transparence	Trouble

ANNEXE III

1. Identification des séquences d'ARNr S16 de la souche *Pseudomonas aeruginosa* S5A2

Pseudomonas aeruginosa strain S5A2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: OR083417.1

[FASTA](#) [Graphics](#)

Go to:

LOCUS OR083417 1092 bp DNA linear BCT 09-JUN-2023
DEFINITION *Pseudomonas aeruginosa* strain S5A2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence.
ACCESSION OR083417
VERSION OR083417.1
KEYWORDS .
SOURCE *Pseudomonas aeruginosa*
ORGANISM [Pseudomonas aeruginosa](#)
Bacteria; Pseudomonadota; Gammaproteobacteria; Pseudomonadales; Pseudomonadaceae; *Pseudomonas*.
REFERENCE 1 (bases 1 to 1092)
AUTHORS Aliane,S.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (03-JUN-2023) Science of nature and life, Mustapha Stambouli University mascara, Sidi said, Mascara 29000, Algeria
COMMENT Sequences were screened for chimeras by the submitter using MEGA V11.

##Assembly-Data-START##
Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
##Assembly-Data-END##

FEATURES Location/Qualifiers
source 1..1092
/organism="Pseudomonas aeruginosa"
/mol_type="genomic DNA"
/strain="S5A2"
/isolation_source="seawater"
/db_xref="taxon:287"
/country="Algeria"
/collection_date="12-Jan-2019"
/collected_by="ALIANE Samia"
/identified_by="ALIANE Samia"
/PCR_primers="fwd_name: 27F, fwd_seq:
agagtttgatcctggctcag, rev_name: 1492R, rev_seq:
cagtcaattccttgagttt"
[rRNA](#)
<1..>1092
/product="16S ribosomal RNA"

>OR083417 *Pseudomonas aeruginosa* S5A2

```
TGCAAGTCGAGCGGATGAAGGGAGCTTGCTCCTGGATTCAGCGGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAATCTGCCTGGTA  
GTGGGGGATAACGTCGGAAACGGGCGCTAATACCGCATACGTCCTGAGGGAGAAAGTGGGGGATCTTCGGACCTCACGC  
TATCAGATGAGCCTAGGTCGGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAAGGCCTACCAAGGCGACGATCCGTAAGTGGTCTGAGAG  
GATGATCAGTCACACTGGAAGTGGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCGAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGA  
AAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGAAGAAGTCTTCGGATTGTAAAGCACTTTAAGTTGGGAGGAAGGGCAGTAA  
GTTAATACCTTGCTGTTTTGACGTTACCAACAGAATAAGCACCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGAAGG  
GTGCAAGCGTTAATCGGAATTAAGGGCGTAAAGCGCGCTAGGTGGTTTCAGCAAGTTGGATGTGAAATCCCGGGCTCA  
ACCTGGGAACTGCATCCAAAATACTGAGCTAGAGTACGGTAGAGGGTGGTGGAAATTTCTGTGTAGCGGTGAAATGCGT  
AGATATAGGAAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGATCACCTGGACTGATACTGACACTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAA  
ACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCACGCGTAAACGATGTCGACTAGCCGTTGGGATCCTTGAGATCTTAGTGGCGCAG  
CTAACCGGATAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCGACAAGCG  
GTGGAGCATGTGGTTAATTCGAAGCAACGCAAGAACCTTACCTGGCCTTGACATGCTGAGAAGTTCAGAGATGGAT  
TGGTGCCTTCGGGAACTCAGACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTGAGTCTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGTA  
ACGAGCGCAACCCTTGCTCTTAGTTACCAGCACCTCGGGTGGGCACTCTAAG
```

2. Identification des séquences d'ARNr S16 de la souche *Pseudomonas aeruginosa* S9A3

Pseudomonas aeruginosa strain S9A3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: OR083419.1

[FASTA](#) [Graphics](#)

Go to: 

LOCUS OR083419 1090 bp DNA linear BCT 09-JUN-2023
DEFINITION *Pseudomonas aeruginosa* strain S9A3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence.
ACCESSION OR083419
VERSION OR083419.1
KEYWORDS .
SOURCE *Pseudomonas aeruginosa*
ORGANISM [Pseudomonas aeruginosa](#)
Bacteria; Pseudomonadota; Gammaproteobacteria; Pseudomonadales; Pseudomonadaceae; *Pseudomonas*.
REFERENCE 1 (bases 1 to 1090)
AUTHORS Aliane,S.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (03-JUN-2023) Science of nature and life, Mustapha Stambouli University mascara, Sidi said, Mascara 29000, Algeria
COMMENT Sequences were screened for chimeras by the submitter using MEGA v11.

```
##Assembly-Data-START##  
Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing  
##Assembly-Data-END##  
FEATURES  
    source                Location/Qualifiers  
                        1..1090  
                        /organism="Pseudomonas aeruginosa"  
                        /mol_type="genomic DNA"  
                        /strain="S9A3"  
                        /isolation_source="seawater"  
                        /db_xref="taxon:287"  
                        /country="Algeria"  
                        /collection_date="12-Jan-2019"  
                        /collected_by="ALIANE Samia"  
                        /identified_by="ALIANE Samia"  
                        /PCR_primers="fwd_name: 27F, fwd_seq:  
agagtttgatcctggctcag, rev_name: 1492R, rev_seq:  
ccgtcaattccttggattt"  
    rRNA                 <1..>1090  
                        /product="16S ribosomal RNA"
```

>OR0834419 *Pseudomonas aeruginosa* S9A3

```
AGTCGAGCGGGATGAAGGGAGCTTGCTCCTGGATTACGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAATCTGCCTGGTAGTG  
GGGGATAACGTCGGAAACGGGCGCTAATACCGCATACGTCCTGAGGGAGAAAGTGGGGGATCTTCGGACCTCACGCTAT  
CAGATGAGCTAGGTCGGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAAGGCCATACCAAGGCGACGATCCGTAACCTGGTCTGAGAGGAT  
GATCAGTCACACTGGAACCTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGAAAG  
CCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTAAAGCACTTTAAGTTGGGAGGAAGGGCAGTAAGTT  
AATACCTTGCTGTTTTGACGTTACCAACAGAATAAGCACCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGAAGGGTG  
CAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGTGGTTTCAGCAAGTTGGATGTGAAATCCCCTGGGCTCAACC  
TGGGAACTGCATCCAAAATACTGAGCTAGAGTACGGTAGAGGGTGGTGGAAATTCCTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGA  
TATAGGAAGGAACACCACTGGCGAAGGCGACCACTGGACTGATACTGACACTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACA  
GGATTAGATACCTGGTAGTCCACGCCGTAACAGATGTCGACTAGCCGTTGGGATCCTTGAGATCTTAGTGGCGCAGCTA  
ACCGGATAAGTCGACCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCAACAAGCGGTG  
GAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGCCTTGACATGCTGAGAAGCTTTCCAGAGATGGATTGG  
TGCCTTCGGGAACTCAGACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCCTAACG  
AGCGCAACCCCTTGTCTTAGTTACCAGCACCTCGGGTGGGCACTCTAAGG
```

3. Identification des séquences d'ARNr S16 de la souche d'*Escherichia coli* S30A1

Escherichia coli strain S30A1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: OR083416.1

[FASTA](#) [Graphics](#)

LOCUS OR083416 1113 bp DNA linear BCT 09-JUN-2023
DEFINITION Escherichia coli strain S30A1 16S ribosomal RNA gene, partial
sequence.
ACCESSION OR083416
VERSION OR083416.1
KEYWORDS .
SOURCE Escherichia coli
ORGANISM [Escherichia coli](#)
Bacteria; Pseudomonadota; Gammaproteobacteria; Enterobacterales;
Enterobacteriaceae; Escherichia.
REFERENCE 1 (bases 1 to 1113)
AUTHORS Aliane,S.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (03-JUN-2023) Science of nature and life, Mustapha
Stambouli University mascara, Sidi said, Mascara 29000, Algeria
COMMENT Sequences were screened for chimeras by the submitter using MEGA
v11.

##Assembly-Data-START##
Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
##Assembly-Data-END##

FEATURES Location/Qualifiers
source 1..1113
/organism="Escherichia coli"
/mol_type="genomic DNA"
/strain="S30A1"
/isolation_source="seawater"
/db_xref="taxon:562"
/country="Algeria"
/collection_date="12-Jan-2019"
/collected_by="ALIANE Samia"
/identified_by="ALIANE Samia"
/PCR_primers="fwd_name: 27F, fwd_seq:
agagtttgatcctggctcag, rev_name: 1492R, rev_seq:
ccgtcaattcctttgagttt"
rRNA
<1..>1113
/product="16S ribosomal RNA"

>OR083416 Escherichia coli S30A1

```
AAGTCGAACGGTAACAGGAAGAAGCTTGCTTCTTTGCTGACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGGAAACTGCCTG
ATGGAGGGGGATAACTACTGGAACGGTAGCTAATACCGCATAACGTCGCAAGACCAAAGAGGGGGACCTTCGGGCCTCT
TGCCATCGGATGTGCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGTAACGGCTCACCTAGGCGACGATCCCTAGTGGTCTGA
GAGGATGACCAGCCACACTGGAAGTGGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGAATATTGCACAATGGG
CGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTTCAGCGGGGAGGAAGGGAGT
AAAGTTAATACCTTTGCTCATTGACGTTACCCGCAGAAGAAGCACCAGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGG
AGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTTGTAAAGTCAGATGTGAAATCCCCGGGC
TCAACCTGGGAAGTGCATCTGATACTGGCAAGCTTGAGTCTCGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATG
CGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCTGGACGAAGACTGACGCTCAGGTGCCAAAGCGTGGGGAG
CAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGTCGACTTGGAGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCG
GAGCTAACCGGTTAAGTCGACCGCTGGGGAGTACGGCCGAAGGTTAAAACCTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAA
GCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGTCTTGACATCCACGGAAGTTTTTCAGAGATG
AGAATGTGCTTCGGGAACCGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTGAGCTCGTGTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCC
GCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCGGTCGGCCGGGAAGTCAAAGGAGACTGCCAGTGATAAA
```

ANNEXE IV

4. Matrices de corrélation

Tableau 12. Matrice de corrélation entre les différentes températures. Les valeurs marquées en rouges sont significatives ($P < 0.05$).

Variable	25°C	37°C	42°C
25°C	1,000000	0,939657	0,733197
37°C	0,939657	1,000000	0,718558
42°C	0,733197	0,718558	1,000000

Tableau 13. Matrice de corrélation entre les différents pH. Les valeurs marquées en rouges sont significatives ($P < 0.05$).

Variable	pH= 5	pH= 6	pH= 7	pH= 8	pH= 9	pH= 10
pH= 5	1,000000	0,728821	0,730012	0,653327	0,670557	0,689121
pH= 6	0,728821	1,000000	0,800394	0,576746	0,571471	0,718178
pH= 7	0,730012	0,800394	1,000000	0,731827	0,749536	0,754340
pH= 8	0,653327	0,576746	0,731827	1,000000	0,564952	0,559235
pH= 9	0,670557	0,571471	0,749536	0,564952	1,000000	0,801908
pH= 10	0,689121	0,718178	0,754340	0,559235	0,801908	1,000000

Tableau 14. Matrice de corrélation entre les différentes concentrations de chlorure de sodium. Les valeurs marquées en rouges sont significatives ($P < 0.05$).

Variable	4%	2%	8%	6%	10%	1%	0%
4%	1,000000	0,397586	0,315662	0,512854	-0,009535	0,195493	0,286112
2%	0,397586	1,000000	0,708168	0,383149	0,699252	0,670411	-0,015944
8%	0,315662	0,708168	1,000000	0,370143	0,582634	0,543837	-0,153640
6%	0,512854	0,383149	0,370143	1,000000	0,045115	0,130752	-0,026954
10%	-0,009535	0,699252	0,582634	0,045115	1,000000	0,633532	0,032361
1%	0,195493	0,670411	0,543837	0,130752	0,633532	1,000000	-0,010346
0%	0,286112	-0,015944	-0,153640	-0,026954	0,032361	-0,010346	1,000000

Tableau 15. Matrice de corrélation entre les différentes concentrations d'actétate de cuivre pour la viabilité cellulaire, évaluée à l'aide de la résazurine. Les valeurs marquées en rouges sont significatives ($P < 0.05$).

Variable	0,5mM	1 mM	1,5mM	2mM	2,5mM	3mM
0,5mM	1,000000	0,858867	0,398650	0,435499	0,766764	0,576837
1 mM	0,858867	1,000000	0,280406	0,541904	0,668957	0,462335
1,5mM	0,398650	0,280406	1,000000	0,692679	0,404708	0,299780
2mM	0,435499	0,541904	0,692679	1,000000	0,438015	0,336042
2,5mM	0,766764	0,668957	0,404708	0,438015	1,000000	0,824807
3mM	0,576837	0,462335	0,299780	0,336042	0,824807	1,000000

Tableau 16. Matrice de corrélation entre les différentes concentrations d'actétate de plomb pour la viabilité cellulaire, évaluée à l'aide de la résazurine. Les valeurs marquées en rouges sont significatives ($P < 0.05$).

Variable	0,5mM	1 mM	1,5mM	2mM	2,5mM	3mM
0,5mM	1,000000	0,858867	0,398650	0,435499	0,766764	0,576837
1 mM	0,858867	1,000000	0,280406	0,541904	0,668957	0,462335
1,5mM	0,398650	0,280406	1,000000	0,692679	0,404708	0,299780
2mM	0,435499	0,541904	0,692679	1,000000	0,438015	0,336042
2,5mM	0,766764	0,668957	0,404708	0,438015	1,000000	0,824807
3mM	0,576837	0,462335	0,299780	0,336042	0,824807	1,000000

Tableau 17. Matrice de corrélation entre les différentes concentrations d'actétate de mercure pour la viabilité cellulaire, évaluée à l'aide de la résazurine. Les valeurs marquées en rouges sont significatives ($P < 0.05$).

Variable	0,5mM	1 mM	1,5mM	2mM	2,5mM	3mM
0,5mM	1,000000	0,494406	0,677187	0,512920	0,570408	0,013593
1 mM	0,494406	1,000000	0,697455	0,543668	0,338928	-0,161293
1,5mM	0,677187	0,697455	1,000000	0,697207	0,366518	-0,253934
2mM	0,512920	0,543668	0,697207	1,000000	0,422674	0,049160
2,5mM	0,570408	0,338928	0,366518	0,422674	1,000000	0,514764
3mM	0,013593	-0,161293	-0,253934	0,049160	0,514764	1,000000

Tableau 18. Matrice de corrélation entre les différentes concentrations de chlorure de sodium et la formation du biofilm. Les valeurs marquées en rouges sont significatives ($P < 0.05$).

Variable	0%	1%	2%	6%	4%	10%	8%
0%	1,000000	0,138082	0,175549	0,190585	-0,144557	0,165325	0,363651
1%	0,138082	1,000000	0,473109	0,460862	0,155937	0,032156	0,385664
2%	0,175549	0,473109	1,000000	0,784690	0,053575	-0,108592	0,251295
6%	0,190585	0,460862	0,784690	1,000000	0,325931	-0,003278	0,396498
4%	-0,144557	0,155937	0,053575	0,325931	1,000000	0,701110	0,231205
10%	0,165325	0,032156	-0,108592	-0,003278	0,701110	1,000000	0,298003
8%	0,363651	0,385664	0,251295	0,396498	0,231205	0,298003	1,000000

Tableau 19. Matrice de corrélation entre les différentes concentrations de pétrole brut et la formation du biofilm. Les valeurs marquées en rouges sont significatives ($P < 0.05$).

Variable	0%	0,5%	1%	1,5%	2%	3%	4%
0%	1,000000	0,084234	0,166972	0,093341	0,361537	0,153200	0,370728
0,5%	0,084234	1,000000	0,544328	0,394400	0,113623	0,187893	0,389709
1%	0,166972	0,544328	1,000000	0,366841	-0,191779	0,120803	0,584737
1,5%	0,093341	0,394400	0,366841	1,000000	0,208852	-0,059249	0,224339
2%	0,361537	0,113623	-0,191779	0,208852	1,000000	0,029340	0,141300
3%	0,153200	0,187893	0,120803	-0,059249	0,029340	1,000000	0,258509
4%	0,370728	0,389709	0,584737	0,224339	0,141300	0,258509	1,000000

Tableau 20. Matrice de corrélation entre les différentes concentrations de kérosène la formation du biofilm. Les valeurs marquées en rouges sont significatives ($P < 0.05$).

Variable	0,5%	3%	0%	1%	1,5%	2%	4%
0,5%	1,000000	0,464261	-0,207094	0,109644	0,088855	-0,107743	-0,276808
3%	0,464261	1,000000	-0,138930	0,196761	-0,004810	-0,051308	0,269248
0%	-0,207094	-0,138930	1,000000	0,112656	0,085656	-0,181308	0,206095
1%	0,109644	0,196761	0,112656	1,000000	0,537811	0,375936	0,350275
1,5%	0,088855	-0,004810	0,085656	0,537811	1,000000	0,361163	0,225640
2%	-0,107743	-0,051308	-0,181308	0,375936	0,361163	1,000000	0,329186
4%	-0,276808	0,269248	0,206095	0,350275	0,225640	0,329186	1,000000

Tableau 21. Matrice de corrélation entre les différentes concentrations d'acétate de cuivre et la formation du biofilm. Les valeurs marquées en rouges sont significatives ($P < 0.05$).

Variable	2,5mM	3mM	2mM	1 mM	1,5mM	0,5mM
2,5mM	1,000000	0,543898	0,284278	0,178784	0,249085	0,099981
3mM	0,543898	1,000000	0,695289	0,674360	0,715218	0,558371
2mM	0,284278	0,695289	1,000000	0,791143	0,760265	0,750074
1 mM	0,178784	0,674360	0,791143	1,000000	0,855654	0,860758
1,5mM	0,249085	0,715218	0,760265	0,855654	1,000000	0,909482
0,5mM	0,099981	0,558371	0,750074	0,860758	0,909482	1,000000

Tableau 22. Matrice de corrélation entre les différentes concentrations d'acétate de plomb et la formation du biofilm. Les valeurs marquées en rouges sont significatives ($P < 0.05$).

Variable	2mM	3mM	2,5mM	1,5mM	1 mM	0,5mM
2mM	1,000000	0,241918	0,602145	0,749698	0,697320	0,313018
3mM	0,241918	1,000000	0,711121	0,462366	0,258279	0,240943
2,5mM	0,602145	0,711121	1,000000	0,716136	0,540781	0,282064
1,5mM	0,749698	0,462366	0,716136	1,000000	0,792509	0,563760
1 mM	0,697320	0,258279	0,540781	0,792509	1,000000	0,625681
0,5mM	0,313018	0,240943	0,282064	0,563760	0,625681	1,000000

Tableau 23. Matrice de corrélation entre les différentes concentrations d'acétate de mercure et la formation du biofilm. Les valeurs marquées en rouges sont significatives ($P < 0.05$).

Variable	3mM	2,5mM	2mM	1,5mM	1 mM	0,5mM
3mM	1,000000	0,333222	0,058737	-0,025096	0,345628	-0,079440
2,5mM	0,333222	1,000000	0,021520	0,193966	0,394771	0,344051
2mM	0,058737	0,021520	1,000000	0,737131	0,669870	0,145624
1,5mM	-0,025096	0,193966	0,737131	1,000000	0,701759	0,447340
1 mM	0,345628	0,394771	0,669870	0,701759	1,000000	0,510382
0,5mM	-0,079440	0,344051	0,145624	0,447340	0,510382	1,000000

Tableau 24. Matrice de corrélation entre les différentes concentrations de chlorure de sodium et la mobilité de type swarming. Les valeurs marquées en rouges sont significatives ($P < 0.05$).

Variable	0%	2%	4%	6%
0%	1,000000	0,294828	-0,058226	-0,009868
2%	0,294828	1,000000	0,396370	-0,422143
4%	-0,058226	0,396370	1,000000	-0,300252
6%	-0,009868	-0,422143	-0,300252	1,000000

Tableau 25. Matrice de corrélation entre les différentes concentrations d'acétate de cuivre sur la mobilité de type swarming. Les valeurs marquées en rouges sont significatives ($P < 0.05$).

Variable	0 mM	0,25 mM	0,5 mM	1mM
0 mM	1,000000	-0,460624	-0,287571	-0,218384
0,25 mM	-0,460624	1,000000	0,824729	0,291790
0,5 mM	-0,287571	0,824729	1,000000	0,266004
1mM	-0,218384	0,291790	0,266004	1,000000

Tableau 26. Matrice de corrélation entre les différentes concentrations d'actéte de plomb sur la mobilité du type swarming. Les valeurs marquées en rouges sont significatives ($P < 0.05$).

Variable	0 mM	0,25 Mm	0,5 mM	1mM
0 mM	1,000000	0,014032	-0,175232	-0,414743
0,25 Mm	0,014032	1,000000	0,584203	0,017598
0,5 mM	-0,175232	0,584203	1,000000	0,153651
1mM	-0,414743	0,017598	0,153651	1,000000