

République Algérienne Démocratique et Populaire



Université Abdelhamid Ibn
Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie

جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة والحياة



DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

Présenté par

BAKRETI DIT BENALLOU Abdelkrim

Pour l'obtention du diplôme de

Master en Sciences Biologiques

Spécialité : Génétique fondamentale et appliquée

THÈME

Courbe de mortalité de la bactérie *Proteus mirabilis* par irradiation UV

Soutenu le 30/09/2025

DEVANT LE JURY COMPOSÉ DE :

Présidente	Brahmi Nabila	MCA	Université de Mostaganem
Encadrant	Chibani Abdelwahab	Pr	Université de Mostaganem
Examineur	Guedouar youcef	MCA	Université de Mostaganem

Année universitaire 2024/2025

REMERCIEMENTS

Louange à Allah, par Sa grâce les bonnes œuvres s'accomplissent. Par Sa faveur et Sa générosité, Il m'a accordé la force, la patience et la volonté, et m'a permis de réaliser ce modeste travail.

J'exprime ma profonde gratitude et mes sincères remerciements à Monsieur **Chibani Abdelwahab**, directeur de ce mémoire, pour son encadrement précieux, ses orientations judicieuses et son suivi attentif tout au long de la réalisation de ce travail.

J'adresse également mes vifs remerciements à Madame **Brahmi . N** pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant de présider le jury.

Je remercie aussi Monsieur **Guedouar .Y** pour avoir bien voulu examiner et évaluer ce travail.

Je tiens enfin à exprimer toute ma reconnaissance aux techniciens du laboratoire de microbiologie pour leur collaboration et leur aide précieuse, qui ont grandement contribué à l'aboutissement de cette recherche.

Dédicace

À ma chère **mère**,

Tu as été à la fois une mère et un père pour moi. Source de tendresse, symbole de générosité et modèle de patience et de sacrifice. Tu as été mon véritable soutien à chaque instant, et tes prières constantes ont illuminé mon chemin. Que Dieu te protège et t'accorde une longue vie.

À l'âme de mon cher **père**,

Qu'Allah t'accorde Sa miséricorde et t'accueille dans Son vaste paradis. Tu as toujours été pour moi une source de force et d'inspiration, et ton souvenir restera à jamais gravé dans mon cœur.

À mes chers frères et sœurs : **Mohamed et Zahra**

Je vous dédie ce travail en signe d'amour et de profonde gratitude. Merci d'avoir toujours été à mes côtés.

À mes fidèles amis : **Ghali, Chemssou, Abdenour, Mohamed, Amine, Ghachem, Slimane, Oussama, Sofiane.**

Votre amitié m'a porté et votre soutien a été une vraie force dans mon parcours.

Je remercie également quelques filles de ma classe qui m'ont apporté leur aide et leur soutien, qu'Allah les récompense pour moi.

Merci à vous tous... C'est carré.

Liste des abréviations

- UV – Rayons Ultraviolets.**
- LD₉₅ – Dose réduisant la population bactérienne de 95%**
- PCR – Polymérase Chain Réaction.**
- ADN – Acide Désoxyribonucléique**
- CFU – Colony Forming Unit.**
- OMS – Organisation Mondiale de la Santé.**
- RND – Résistance Naturelle aux Antimicrobiens**
- ROS – Reactive Oxygen**
- MBC – Minimal Bactericidal Concentration**
- MIC – Minimal Inhibitory Concentration**
- ATP – Adenosine Triphosphate**
- RNA – Ribonucleic Acid**
- VRE – Vancomycin-Resistant Enterococci**
- BHV – Bacilles à Haute Virulence**
- ATCC – American Type Culture Collection**

Liste des figures

N°		Page
Figure 01	Importance des bactéries dans l'écosystème	06
Figure 02	La scissiparité (fission binaire)	10
Figure 03	Aspet microscopique de la bactérie <i>Proteus mirabilis</i>	13
Figure 04	Aspet microscopique de la bactérie <i>Proteus vulgaris</i>	14
Figure 05	Aspet microscopique de la bactérie <i>Proteus penneri</i>	14
Figure 06	<i>Proteus mirabilis</i> O18 O antigène gene cluster arrangement.	30
Figure 07	Whole génome comparaison of <i>Proteus mirabilis</i> génomes	32
Figure 08	La méthode d'ensemencement	41
Figure 09	Schéma l'ensemencement de <i>Proteus mirabilis</i>	42
Figure 10	Schéma de repiquage des colonies	43
Figure 11	Les tubes de dilution de <i>Proteus mirabilis</i> après l'irradiation UV.	45
Figure 12	Protocole de dilution décimale	45
Figure 13	Protocole d'étalement	46
Figure 14	Protocole de la première expérience de l'antibiogramme.	47
Figure 15	Protocole de la deuxième expérience de l'antibiogramme.	48
Figure 16	Aspect macroscopique des colonies <i>Proteus mirabilis</i> sur LB.	49
Figure 17	Croissance bactérienne <i>Proteus mirabilis</i> après l'irradiation par UV a différentes dilutions.	50
Figure 18	Comptage des colonies bactériennes sur milieu LB.	51
Figure 19	Variation du taux de survie (%) de <i>Proteus mirabilis</i> en fonction du temps d'exposition aux UV	52
Figure 20	Différence de croissance bactérienne entre le milieu LB et le milieu LB + ampicilline.	53
Figure 21	Croissance bactérienne de <i>Proteus mirabilis</i> dans le milieu LB + ampicilline après exposition aux UV (45 s et 60 s)	53

Liste des tableaux

Tableau 01	Exemples de bactéries Gram +	08
Tableau 02	Quelques bactériennes d'intérêt médical et leurs pathologies associées espèces	09
Tableau 03	Différences structurales et caractéristiques entre les bactéries Gram positif et Gram négatif	10
Tableau 04	Classification des bactéries selon leur besoin en oxygène	11
Tableau 05	Rôles des bactéries dans différents domaines et leur importance	13
Tableau 06	Fonctions principales des gènes <i>licABCD</i> impliqués dans le métabolisme de la choline et la modification du LPS chez <i>Proteus mirabilis</i>	31
Tableau 07	Les gènes putatifs de résistance aux antibiotiques identifiés dans le génome de <i>P. mirabilis</i> PrK 34/57	32
Tableau 08	Principales méthodes d'évaluation de la viabilité bactérienne	36
Tableau 09	Trois techniques couramment utilisées dans la recherche microbiologique	37
Tableau 10	Les dilutions en fonction du temps d'exposition	44
Tableau 11	Nombre de colonies de <i>Proteus mirabilis</i> en fonction des dilutions et des durées d'exposition aux rayons UV.	50
Tableau 12	Taux de survie (%) de <i>Proteus mirabilis</i> en fonction de la durée d'exposition aux rayons UV	50

RESUMÉS

RESUMÉ

La mutation est définie comme un changement imprévu qui se produit dans les caractères héréditaires des êtres vivants. C'est un phénomène rare, souvent associé à un dysfonctionnement des mécanismes naturels, mais qui demeure important dans l'étude de la diversité génétique et des altérations touchant les bactéries.

Dans ce travail, les rayons ultraviolets ont été utilisés comme agent mutagène physique pour induire des mutations chez *Proteus mirabilis*. Les résultats ont montré qu'une exposition prolongée à ces rayons entraîne un affaiblissement progressif de l'activité bactérienne et une augmentation de sa sensibilité, aboutissant finalement à la mort des cellules.

Les tests de sensibilité aux antibiotiques, réalisés avant et après l'exposition aux rayons, ont indiqué que les souches étudiées sont restées sensibles à ces antibiotiques et n'ont montré aucune nouvelle résistance.

Ces résultats confirment l'effet inhibiteur et létal des rayons ultraviolets sur *Proteus mirabilis*, soulignant ainsi leur importance comme outil expérimental dans l'étude des mutations et de la viabilité bactérienne.

Mots-clés : mutations, rayons ultraviolets, *Proteus mirabilis*, antibiotiques.

SUMMARY

A mutation is defined as an unexpected change that occurs in the hereditary traits of living organisms. It is a rare phenomenon, often associated with a dysfunction in natural mechanisms, but it remains important in the study of genetic diversity and the changes affecting bacteria.

In this work, ultraviolet rays were used as a physical mutagenic agent to induce mutations in *Proteus mirabilis*. The results showed that prolonged exposure to these rays leads to a gradual weakening of bacterial activity and an increase in its sensitivity, eventually resulting in cell death.

Antibiotic sensitivity tests, carried out before and after exposure to the rays, indicated that the studied strains remained sensitive to these antibiotics and did not show any new resistance.

These results confirm the inhibitory and lethal effect of ultraviolet rays on *Proteus mirabilis*, thus highlighting their importance as an experimental tool in the study of mutations and bacterial viability.

Keywords: mutations, ultraviolet rays, *Proteus mirabilis*, antibiotics.

الملخص

تُعرّف الطفرة بأنها تغيير غير متوقع يحدث في الصفات الوراثية للكائنات الحية، وهي ظاهرة نادرة غالباً ما ترتبط بخلل في الآليات الطبيعية، لكنها تبقى مهمة في دراسة التنوع الوراثي والتغيرات التي تصيب البكتيريا.

في هذا العمل، استُخدمت الأشعة فوق البنفسجية كعامل مطّرف فيزيائي لإحداث طفرات في المعجزة السوطية. وقد أظهرت النتائج أن التعرض المطّول لهذه الأشعة يؤدي إلى ضعف تدريجي في نشاط البكتيريا وزيادة حساسيتها، وصولاً إلى موت الخلايا.

كما بينت اختبارات الحساسية للمضادات الحيوية، المنجزة قبل وبعد التعرض للأشعة، أن السلالات المدروسة بقيت حساسة تجاه هذه المضادات ولم تُظهر أي مقاومة جديدة.

تؤكد هذه النتائج التأثير المثبط والمميت للأشعة فوق البنفسجية على المعجزة السوطية، مما يبرز أهميتها كأداة مخبرية في دراسة الطفرات والبقاء البكتيري.

الكلمات المفتاحية: الطفرات، الأشعة فوق البنفسجية، المعجزة السوطية، مضادات حيوية.

Table des matières

Remerciements	
Didicase	
Liste des abréviations	
Résumé	
Summary	
ملخص	
Introduction	1
Chapitre I : Généralités sur les bactéries	
I /Les bactéries	05
I.1/ Histoire et Définition	05
I.2 Classification et Formes des bactéries	07
I.3/ Modes de reproduction et de nutrition	10
I.4/ Rôles écologiques et industriels des bactéries	12
II- <i>Proteus mirabilis</i>	13
II-1 le genre <i>Proteus</i>	13
II-2 Caractéristiques des bactéries du genre <i>Proteus</i>	14
II-3- Caractéristiques morphologiques et biochimiques de <i>Proteus mirabilis</i>	15
Chapitre II – ADN bactérien et effets des rayons UV	
I.1 Sensibilité des bactéries aux rayons UV	24
I.2. Organisation du génome bactérien : ADN chromosomique et plasmides	26
I.3. Mécanismes de réparation de l'ADN endommagé par les rayons UV	27
I.3.1. Réparation photo réactive	27
I.3.2. Réparation par excision de nucléotides	28
I.4. Effets des mutations induites par les UV sur la variabilité génétique	28
I.5. Étude génomique de <i>Proteus mirabilis</i> séro groupe O18	29
II. Irradiation UV : Principe et effets	33
II.1. Définition des rayons UV et leurs types (UV-A, UV-B, UV-C)	33
II.2. Effets des rayons UV sur les cellules vivantes	33
II.3. Mécanisme de formation des dimères de pyrimidine	33
II.4. Conséquences de ces dommages sur la survie bactérienne	34
III. Courbe de destruction bactérienne	34
III.1. Principe de la courbe de destruction bactérienne	35
III.2. Facteurs influençant la courbe de destruction	35
III.3. Études antérieures sur les courbes de destruction	35
De bactéries sous irradiation UV	35
IV. Méthodes de détection et d'évaluation des dommages induits par les UV	35
IV.1. Techniques pour évaluer la survie bactérienne après exposition aux UV	35
IV.2. Méthodes moléculaires pour mesurer les dommages À l'ADN	35
Chapitre III : Matériel et méthodes	
I Matériel et méthodes	40
I.1 Problématique.	40

I.2 Origine des isolats.	40
I.3 Lieux de travail.	40
I.4 Les milieux de cultures.	40
I.4.1 Les milieux liquides.	40
I.4.1.1 Le bouillon LB.	40
I.4.2 Les milieux solides.	41
I.4.2.1 Milieu luria-Bertani LB.	41
I.4.2.2 Milieu minimum.	41
I.5 Techniques d'études.	41
I.5.1 l'ensemencement.	42
I.5.2 Le repiquage.	42
I.5.3 Exposition aux rayons UV.	43
I.5.4. Dilutions décimales et étalement	44
I.5.5 Antibiogramme.	44
I.5.6. Sélection des mutants.	48
II Résultats.	49
II.1 Aspect macroscopique.	49
II.2 Résultat de la mutagènese.	49
II.2.1 Interprétation des résultats.	
II.3 Résultats l'antibiogramme.	52
II.3.1 Interprétation.	
III. discussion	55
Conclusion	57
Liste de référence	59
Annexes	65

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Introduction

Les bactéries occupent une place centrale en microbiologie, tant du point de vue écologique que médical. Présentes dans presque tous les environnements, elles jouent un rôle fondamental dans le fonctionnement des écosystèmes en participant à des processus essentiels tels que le recyclage de la matière organique, la fixation de l'azote, la dégradation des polluants ou encore la fermentation. Leur diversité et leur adaptabilité en font également des modèles d'étude incontournables en génétique, biologie moléculaire, biochimie ou biotechnologie, ainsi que des outils précieux dans l'industrie pour la production de médicaments, la transformation agroalimentaire ou le traitement des eaux usées. (Madigan *et al.*, 2018).

Cependant, certaines espèces bactériennes peuvent aussi être pathogènes, c'est-à-dire responsables d'infections humaines, animales ou végétales. Ces bactéries pathogènes possèdent des mécanismes spécifiques, comme la sécrétion de toxines, la formation de biofilms ou encore l'expression de facteurs de virulence, leur permettant d'échapper aux défenses immunitaires et de coloniser efficacement un hôte. Elles sont impliquées dans une large gamme de maladies touchant différents systèmes (respiratoire, digestif, nerveux, urinaire...), et représentent une menace croissante en raison du développement de résistances aux antibiotiques, un phénomène jugé critique par l'Organisation mondiale de la santé. (Brock, 1999).

Dans ce contexte préoccupant, il devient urgent de développer des stratégies alternatives de désinfection, efficaces et durables, notamment dans les milieux sensibles comme les hôpitaux. L'irradiation par rayonnement ultraviolet (UV), en particulier les UV-C (100 à 280 nm), se présente comme une méthode prometteuse pour l'inactivation des micro-organismes. Cette technique physique agit principalement sur l'ADN bactérien en induisant la formation de dimères de pyrimidines, bloquant ainsi la réplication et la transcription cellulaires, ce qui conduit à la mort cellulaire.

Contrairement aux antibiotiques, l'UV ne laisse pas de résidus chimiques et ne favorise pas l'émergence de résistances croisées. L'efficacité de cette méthode dépend cependant de nombreux paramètres, comme la durée d'exposition, l'intensité de la source lumineuse ou la nature du micro-organisme ciblé.

C'est pourquoi il est essentiel d'étudier précisément la courbe de destruction bactérienne, afin de déterminer la dose létale minimale (ex. LD₉₅) et d'optimiser les conditions de traitement. Dans cette optique, *Proteus mirabilis* représente un modèle d'étude particulièrement intéressant. Cette bactérie Gram négatif de la famille des Enterobacteriaceae est connue pour sa mobilité (grâce à ses flagelles péritriches et son comportement de « swarming »), sa capacité à former des biofilms résistants, et surtout son rôle dans les infections urinaires compliquées, notamment chez les patients hospitalisés porteurs de sondes urinaires. Elle produit également une enzyme, l'uréase, qui augmente le pH urinaire et favorise la formation de cristaux pouvant évoluer en calculs rénaux, supports idéaux pour la colonisation bactérienne. Du fait de ses nombreuses résistances naturelles et acquises aux antibiotiques, *P. mirabilis* constitue un véritable enjeu pour les établissements de santé. (Shaaban *et al.*, 2022).

Introduction

L'évaluation de sa sensibilité à l'irradiation UV permettrait ainsi de mieux comprendre son comportement face à cette méthode de stérilisation et d'envisager des applications concrètes pour la désinfection de surfaces, d'instruments médicaux ou de systèmes de traitement d'eau.

Ce mémoire vise donc à analyser la sensibilité de *P. mirabilis* aux rayons UV-C à travers l'établissement de sa courbe de destruction bactérienne, en soumettant une culture standardisée à des doses croissantes d'irradiation et en étudiant l'évolution de la viabilité cellulaire. L'objectif est d'identifier la dose létale nécessaire pour une inactivation efficace, d'analyser les effets des UV sur la morphologie et l'ADN de la bactérie, et de comparer ces résultats avec ceux obtenus pour d'autres espèces afin de situer le niveau de résistance de *P. mirabilis*. En apportant une meilleure compréhension de la réponse de ce pathogène à l'irradiation UV, cette étude contribue au développement de protocoles de désinfection plus performants, en particulier dans les contextes où la maîtrise des agents infectieux est cruciale.

Par ailleurs, l'étude des effets des rayonnements UV sur les micro-organismes ne se limite pas uniquement à l'efficacité de désinfection, mais ouvre également la voie à une meilleure compréhension des mécanismes de réparation de l'ADN chez les bactéries.

Certaines espèces, dont *Proteus mirabilis*, peuvent activer des systèmes enzymatiques de réparation comme la photo-réactivation ou la réparation par excision en réponse à une exposition sublétale aux UV. Ces mécanismes peuvent influencer sur la survie bactérienne après traitement et doivent donc être pris en compte dans la mise en place de protocoles de stérilisation fiables.

Étudier ces réponses cellulaires peut également permettre d'identifier des seuils critiques d'exposition au-delà desquels l'inactivation est irréversible. Ainsi, en intégrant l'analyse de la viabilité cellulaire à celle des éventuels processus de réparation, ce travail se propose de fournir une vision complète et rigoureuse de la cinétique de destruction de *Proteus mirabilis* sous irradiation UV, contribuant à l'amélioration des méthodes de lutte contre les infections nosocomiales et à la sécurité des environnements sensibles.

Chapitre I

Généralités sur les bactéries

1. Les bactéries

1. 1 Histoire et découverte des bactéries

Les bactéries sont des organismes extrêmement anciens, apparus bien avant les plantes, les animaux ou les champignons. Les études géologiques et paléontologiques estiment que les premières formes de bactéries existaient il y a environ 3,5 à 3,8 milliards d'années, ce qui en fait les premières formes de vie sur Terre. Ces micro-organismes primitifs ont joué un rôle clé dans la transformation de l'atmosphère terrestre, notamment par la production d'oxygène grâce à des cyanobactéries photosynthétiques, à l'origine de la « grande oxydation ».

Leur découverte scientifique est beaucoup plus récente. Au XVII^e siècle, Antonie van Leeuwenhoek, un commerçant néerlandais passionné par l'optique, est le premier à observer des micro-organismes vivants à l'aide d'un microscope rudimentaire qu'il avait conçu lui-même. Il décrit ces êtres vivants invisibles à l'œil nu comme des "animalcules", observés dans de l'eau, de la salive, ou encore du vinaigre. (Madigan *et al.*, 2018).

Au XIX^e siècle, avec le développement des techniques de culture et de coloration, la microbiologie devient une discipline à part entière. Des scientifiques comme Louis Pasteur démontrent que les micro-organismes sont responsables de la fermentation et de certaines maladies infectieuses. Robert Koch, quant à lui, établit les postulats de Koch, des critères scientifiques permettant de lier un micro-organisme spécifique à une maladie déterminée, jetant ainsi les bases de la microbiologie médicale moderne.

La suite de l'histoire verra l'émergence de la bactériologie, de la virologie, puis de la biologie moléculaire, permettant de mieux comprendre le fonctionnement génétique, biochimique et évolutif de ces organismes microscopiques. (Carter, 1988).

Définition des bactéries

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires, appartenant au domaine des procaryotes. Contrairement aux cellules eucaryotes (animales, végétales, fongiques), elles ne possèdent pas de noyau, ni d'organites délimités par des membranes. Leur matériel génétique est généralement contenu dans un nucléoïde, zone du cytoplasme où se trouve un ADN circulaire.

Caractéristiques principales :

- Taille : entre 0,2 μm et 10 μm
- Forme : variable (coques, bacilles, spirilles...)
- Paroi cellulaire : présente (sauf exceptions), constituée principalement de peptidoglycane
- Mode de reproduction : principalement par scissiparité (division binaire), très rapide (20 minutes chez certaines espèces)
- Métabolisme : extrêmement diversifié (aérobie, anaérobie, chimioorganotrophe, phototrophe...) (Prescott *et al.*, 2005).

Ces caractéristiques permettent aux bactéries d'être extrêmement adaptables et de vivre dans des milieux variés, y compris les environnements extrêmes comme les sources chaudes, les milieux salins, acides, ou anoxiques .comme illustré dans la Figure 1.

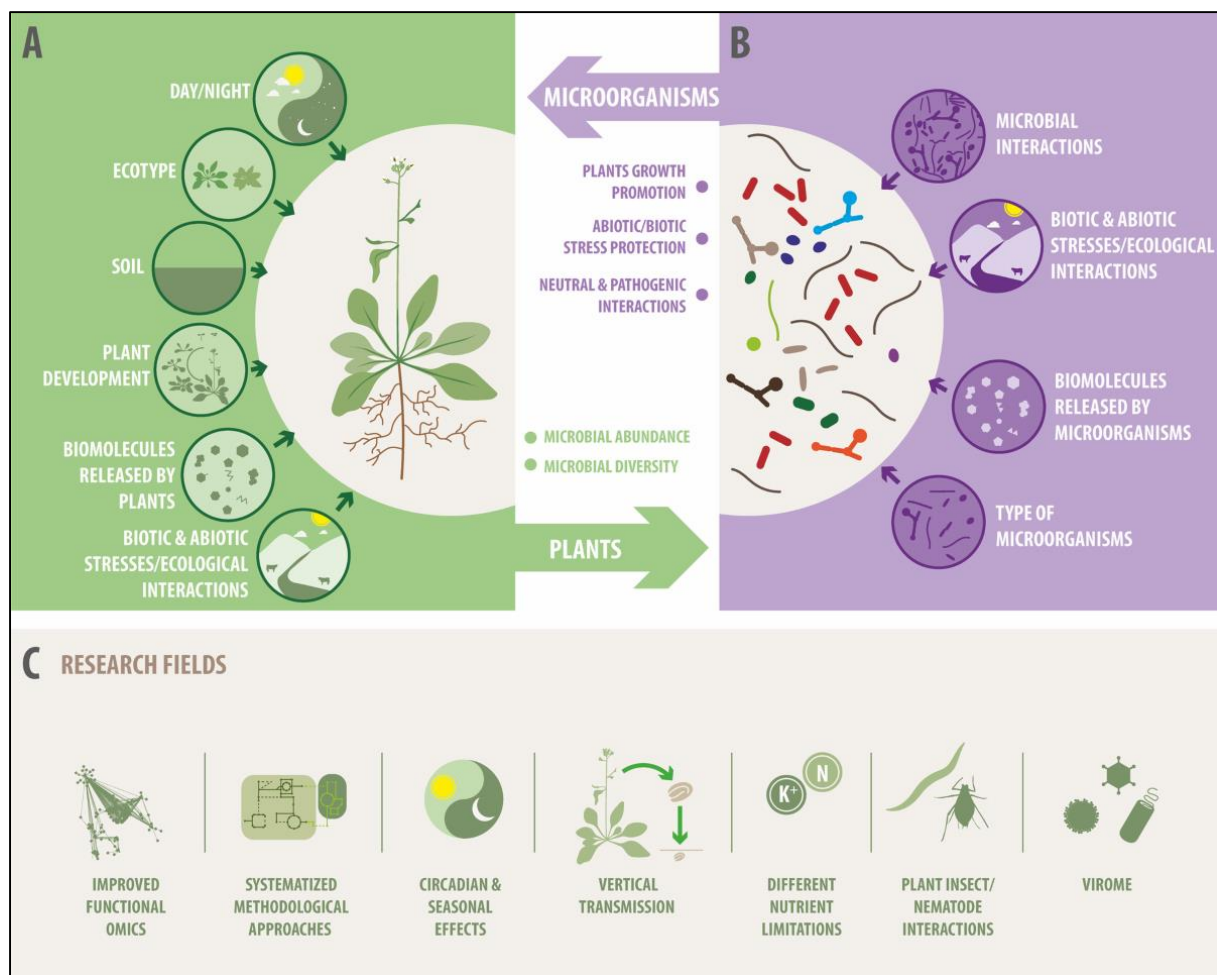


Figure 1 : Rôle des bactéries et des microorganismes dans les écosystèmes (Madigan et al., 2018).

Les bactéries sont omniprésentes : on les retrouve dans l'air, l'eau, le sol, les organismes vivants, voire dans des milieux extrêmes comme les fonds marins ou les déserts. Leur rôle est essentiel au bon fonctionnement des écosystèmes, notamment à travers :

I. 1.2 . Recyclage de la matière organique

Les bactéries décomposent les matières organiques mortes (plantes, animaux, excréments), libérant des éléments nutritifs (azote, carbone, phosphore) réutilisables par les plantes. Elles sont donc au cœur de la chaîne de décomposition et assurent le recyclage naturel (Prescott *et al* .,2005)

I. 1.3. Fixation de l'azote

Certaines bactéries du sol, comme les Rhizobium, vivent en symbiose avec les racines des légumineuses et transforment l'azote atmosphérique (N₂), inutilisable directement par les plantes, en composés azotés assimilables (ammonium, nitrates), participant ainsi au cycle de l'azote.

I. 1.4. Fermentation naturelle

Les bactéries fermentatives, comme les lactobacilles, transforment les sucres en acide lactique ou en alcool, processus exploité en alimentation (fromages, yaourts, choucroute, pain, vin...) (Prescott *et al* ., 2005)

I. 1.5 Dépollution (bioremédiation)

Certaines bactéries ont la capacité de dégrader des polluants organiques ou inorganiques, y compris les hydrocarbures, métaux lourds, pesticides. Elles sont donc utilisées dans des stratégies de traitement des sols contaminés ou d'épuration des eaux usées. (Prescott *et al* .,2005).

I. 1.6. Interactions symbiotiques

Dans les intestins humains, les bactéries du microbiote intestinal (ex. *Escherichia coli*, *Bactéroïdes*, *Lactobacillus*) participent à la digestion, à la synthèse de vitamines (K, B₁₂) et à la protection contre les agents pathogènes par effet de compétition.

Les bactéries sont des acteurs invisibles mais indispensables à la vie sur Terre. Leur diversité, leur adaptabilité et leur capacité à interagir avec leur environnement en font des organismes majeurs dans la régulation des écosystèmes, la santé humaine, l'industrie et la recherche scientifique. Les comprendre, les maîtriser, ou les exploiter, constitue un enjeu clé de la microbiologie moderne (Singh et Ward 2004).

I.2 Classification des bactéries selon leur paroi cellulaire : Gram positif vs Gram négatif

La classification des bactéries est essentielle en microbiologie pour comprendre leurs caractéristiques, leur comportement, et surtout leur sensibilité aux traitements. Parmi les critères de classification les plus utilisés, celui basé sur la structure de la paroi cellulaire, révélé par la coloration de Gram, est fondamental. Cette méthode permet de diviser les bactéries en deux

grands groupes : Gram positif et Gram négatif, selon la capacité de leur paroi à retenir le colorant violet lors du processus de coloration. (Hayet , 2023).

I.2.1. Exemples de bactéries Gram +

Tableau 1 : Exemples de bactéries Gram positives

Espèce	Pathologie associée
<i>Staphylococcus aureus</i>	Infections cutanées, septicémies, endocardite
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Pneumonies, otites, méningites
<i>Clostridium tetani</i>	Tétanos
<i>Bacillus anthracis</i>	Charbon
<i>Listeria monocytogenes</i>	Listériose (infection alimentaire)

I.2.2. Caractéristiques des bactéries Gram positif

I.2.2.1 Structure de la paroi

- Couche épaisse de peptidoglycane (20 à 80 nm).
- Présence d'acides téichoïques et Lip téichoïques, insérés dans la paroi, jouant un rôle dans la rigidité et l'interaction avec l'environnement.
- Absence de membrane externe.
- Enveloppe cellulaire plus simple que chez les Gram -, mais très résistante à la pression osmotique (Hayet ,2023).

I.2.2.2 Propriétés biologiques

- Sensibles aux antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi, comme les bêtalactamines (pénicilline, amoxicilline).
- Moins résistantes aux agents physiques (chaleur, UV) que les Gram -.
- Production fréquente d'exotoxines (toxines sécrétées à l'extérieur de la cellule).

I.2.3 Caractéristiques des bactéries Gram négatif

I.2.3.1 Structure de la paroi

- Couche mince de peptidoglycane (2 à 7 nm), située entre deux membranes : la membrane interne (cytoplasmique) et la membrane externe.
- Membrane externe riche en lipopolysaccharides (LPS), dont la partie lipidique (lipide A) est une endotoxine puissante, responsable de chocs septiques.
- Présence d'un espace périplasmique, contenant des enzymes, des protéines de transport, et des facteurs de résistance.
- Structure plus complexe, mais offrant une meilleure protection. (Yacine ,2022)

I.2.3.2. Propriétés biologiques

- Plus résistantes aux antibiotiques classiques à cause de la membrane externe.
- Capacité à produire des enzymes de dégradation, comme les bêta-lactamases, qui inactivent certains antibiotiques.
- Libèrent souvent des endotoxines lors de leur lyse.

I.2.3.3 Caractéristiques des bactéries Gram négatif

I.2.3.3.1. Structure de la paroi

Couche mince de peptidoglycane (2 à 7 nm), située entre deux membranes :

- Membrane interne (cytoplasmique)
- Membrane externe, riche en lipopolysaccharides (LPS)
- Lipide A (partie des LPS) est une endotoxine puissante, à l'origine de chocs septiques
- Espace périplasmique entre les deux membranes :
- Contient enzymes, protéines de transport, facteurs de résistance
- Structure plus complexe, mais meilleure protection (Ahmed ,2023).

I.2.3.3.2 Propriétés biologiques

- Résistance accrue aux antibiotiques classiques (à cause de la membrane externe)
- Production de bêta-lactamases (enzymes qui inactivent certains antibiotiques)
- Libération d'endotoxines lors de la lyse bactérien (Ahmed,2023).

Voici quelques bactériennes d'intérêt médical et leurs pathologies associées espèces 'tableau 2'

Tableau 2 : Quelques bactéries d'intérêt médical et leurs pathologies associées

Espèce	Pathologie associée
<i>Escherichia coli</i>	Infections urinaires, gastro-entérites
<i>Proteus mirabilis</i>	Infections urinaires, formation de calculs urinaires
<i>Salmonella enterica</i>	Salmonellose (toxi-infection alimentaire)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Infections nosocomiales, pulmonaires, plaies
<i>Neisseria meningitidis</i>	Méningite bactérienne

I.2.3.4.1 Comparaison entre bactéries Gram + et Gram –

Les bactéries se distinguent par leur structure de paroi cellulaire , permettant de les classer en **gram positif** et **négatif** ,selon leur réaction à la **coloration de gram** (tableau 3).

Tableau 3 : Différences structurales et caractéristiques entre les bactéries Gram positif et Gram négatif

Caractéristique	Gram positif	Gram négatif
Peptidoglycane	Épais (20–80 nm)	Fin (2–7 nm)
Membrane externe	Absente	Présente
Coloration de Gram	Violette	Rose / Rouge
Acides téichoïques	Présents	Absents
Lipopolysaccharides (LPS)	Absents	Présents (dans la membrane externe)
Résistance aux antibiotiques	Moins résistantes	Plus résistantes

I.3 Modes de reproduction et de nutrition des bactéries

Les bactéries sont des organismes unicellulaires capables de se multiplier très rapidement et de s'adapter à une grande variété d'environnements. Cela est rendu possible par :

I.3.1 Mode de reproduction : la scissiparité (fission binaire)

La scissiparité est le mode de reproduction asexuée le plus courant chez les bactéries.

Étapes principales (figure 2) :

- Réplication de l'ADN : l'ADN bactérien (généralement circulaire) est dupliqué.
- Élongation cellulaire : la cellule s'allonge pour séparer les deux copies d'ADN.
- Formation d'un septum : cloisonnement de la cellule au centre.
- Scission : séparation en deux cellules filles génétiquement identiques. **Medical History**

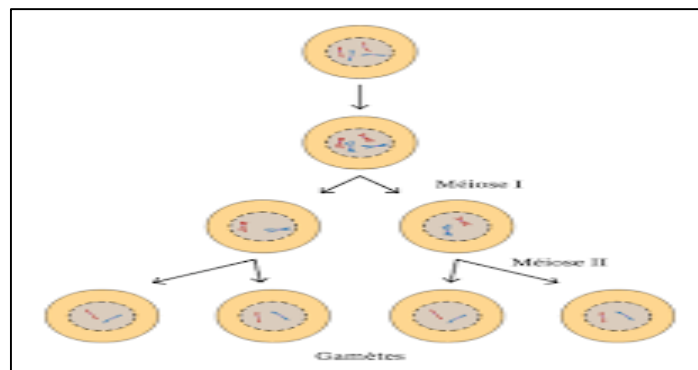


Figure 2 : la scissiparité (fission binaire) (Raven *et al.*, 2023)

I.3.2 Caractéristiques :

Très rapide : certaines bactéries comme *E. coli* peuvent se diviser toutes les 20 minutes dans des conditions optimales.

Pas de brassage génétique, sauf via échanges horizontaux (conjugaison, transformation, transduction).

La scissiparité permet une croissance exponentielle des populations B. Modes de nutrition : selon la présence ou non d'oxygène

Les bactéries se distinguent aussi par leurs besoins en oxygène, ce qui influence leur répartition dans les milieux (sol, corps humain, aliments, etc.) bactériennes. (Medical History) comme illustré dans le tableau 4.

Tableau 4 : Classification des bactéries selon leur relation à l'oxygène" (Rescott *et al.*, 2005).

Type	Besoin en O ₂	Caractéristiques	Exemples
Aérobies strictes	Oxygène indispensable	Utilisent la respiration aérobie (O ₂ comme accepteur final d'électrons)	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
Anaérobies strictes	L'oxygénées toxique	Métabolisme fermentaire ou respiration anaérobie	<i>Clostridium botulinum</i>
Anaérobies facultatives	Peuvent vivre avec ou sans O ₂	S'adaptent aux deux conditions (fermentation ou respiration)	<i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella</i>
Micro aérophiles	Besoin en O ₂ , mais en faible concentration	Trop d'oxygène devient toxique	<i>Helicobacter pylori</i>
Aérotolérantes	Ne l'utilisent pas, mais ne sont pas tuées par l'O ₂	Métabolisme anaérobie uniquement, mais tolérance à l'oxygène	<i>Lactobacillus</i>

I.4 Rôles écologiques, médicaux et industriels des bactéries :

I.4.1 Rôles écologiques

Décomposition

- Les bactéries décomposent la matière organique morte (plantes, animaux), libérant des nutriments dans le sol.
- Ex : *Bacillus*, *Pseudomonas* → recyclent le carbone, l'azote, etc.

Cycle de l'azote

- **Fixation de l'azote** : certaines bactéries transforment l'azote atmosphérique (N₂) en ammoniac utilisable par les plantes.
Ex : *Rhizobium* (symbiose avec les légumineuses)
- **Nitrification** : conversion de l'ammoniac en nitrites/nitrates par *Nitrosomonas*, *Nitrobacter*.
- **Dénitrification** : retour de l'azote dans l'atmosphère par des bactéries anaérobies (*Pseudomonas dénitrifiants*) (Rescott *et al* .,2005).

I.4.2. Rôles industriels

Fermentation

- Utilisées dans la production de yaourt, fromage, choucroute, alcool...
- Ex : *Lactobacillus* → acide lactique (fromages, yaourts)
- *Saccharomyces* (levure) n'est pas une bactérie, mais la fermentation alcoolique est souvent accompagnée par des bactéries qui influencent la saveur.

Biotechnologie

- Production d'antibiotiques (ex : *Streptomyces* produit la streptomycine).
- Ingénierie génétique : *Escherichia coli* utilisée pour produire de l'insuline, hormones, enzymes.
- Dépollution : bioremédiation (ex : dégradation de pétrole par *Pseudomonas putride*)

I.4.3. Rôles médicaux

Pathogénicité (agents de maladies)

- Certaines bactéries causent des infections ou maladies :
 - *Mycobacterium tuberculosis* → tuberculose
 - *Salmonella*, *Escherichia coli* pathogènes → intoxications alimentaires
 - *Streptococcus pneumoniae* → pneumonie (**Brock,1999**).

Applications médicales :

- Production de vaccins, antibiotiques, enzymes digestives.
- Études du microbiote intestinal → rôle dans la digestion, immunité, santé mentale.

Les bactéries interviennent des plusieurs domaines essentiels . le tableau suivant présente leurs principaux rôles .quelques exemples et leur importance .

Tableau 5 : rôles des bactéries dans différents domaines et leur importance (**Brock,1999**).

Rôle	Exemples de bactéries	Importance
Écologique	Rhizobium, Nitrobacter	Fertilité des sols, recyclage des nutriments
Industriel	Lactobacillus, Streptomyces	Fermentation, production d'antibiotiques
Médical	Escherichia coli, Mycobacterium	Santé humaine, agents infectieux et thérapies

II.1 Introduction au genre *Proteus*

Le genre *Proteus* fait partie de la famille des Enterobacteriaceae, un grand groupe de bactéries Gram négatif. Ces bactéries sont bacilliformes, mobiles grâce à des flagelles péritriches (répartis tout autour de la cellule), et se déplacent souvent en masse sur les milieux solides, un phénomène appelé "swarming" (on y reviendra dans la section 2.2). Elles sont non sporulées et peuvent vivre dans des conditions aérobie ou anaérobie facultative. (**Harmouche,2010**). Ce genre regroupe plusieurs espèces, dont les principales sont :

- ***Proteus mirabilis*** : est une bactérie qui vit souvent dans l'intestin humain sans poser de problème. Mais parfois, elle peut causer des infections, surtout urinaires. Elle est connue pour se déplacer très vite grâce à ses flagelles, ce qui la rend différente d'autres bactéries. (**Figure 3**)

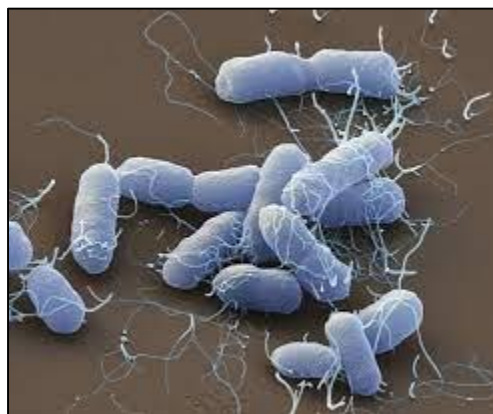


Figure 3 : Aspect microscopique de la bactérie *Proteus mirabilis* (Science photo library ,2019)

• ***Proteus vulgaris*** : est une bactérie de la famille des entérobactéries. Elle vit parfois dans l'intestin, mais peut devenir pathogène et provoquer des infections, surtout urinaires et parfois hospitalières. Elle est connue pour sa forte mobilité grâce à ses flagelles et pour produire des enzymes qui la rendent résistante à certains antibiotiques. (Figure 4)

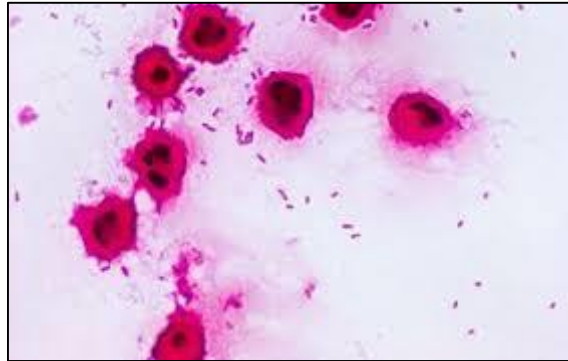


Figure 4 : Aspect microscopique de la bactérie *Proteus vulgaris* (James *et al.*.,2011)

• ***Proteus penneri*** : est une bactérie de la même famille que *Proteus mirabilis*. On la trouve parfois dans l'intestin, mais elle peut aussi causer des infections, surtout chez des personnes malades ou fragiles. Comme les autres *Proteus*, elle peut infecter les voies urinaires. Elle se déplace aussi grâce à ses flagelles, ce qui la rend mobile. (Figure 5)



Figure 5 : Aspect microscopique de la bactérie *Proteus penneri* (Hickman *et al.* .1982)

II.2 Caractéristiques des bactéries du genre *Proteus*

II.2.1 Habitat naturel et réservoirs

Les *Proteus* sont dites ubiquistes, c'est-à-dire qu'on les retrouve dans de nombreux environnements naturels :

- Le sol
- L'eau stagnante ou usée
- Les débris organiques

- Le tube digestif humain et animal (flore intestinale normale)

Bien qu'elles fassent partie de la flore intestinale commensale, elles peuvent devenir pathogènes opportunistes si elles pénètrent dans d'autres parties du corps, comme les voies urinaires ou les plaies (Harmouche, 2010).

II.2.2 Importance en médecine

Le genre *Proteus*, en particulier *P. mirabilis*, est considéré comme cliniquement significatif car il est responsable de nombreuses infections, surtout en milieu hospitalier (infections nosocomiales).

Types d'infections :

- Infections urinaires (IU) : *P. mirabilis* est l'un des agents les plus fréquents des IU compliquées, surtout chez les patients sondés. Sa capacité à produire une enzyme appelée **uréase** modifie le pH de l'urine, favorisant la formation de calculs rénaux.
- Infections des plaies : *Proteus* peut coloniser des plaies chirurgicales ou cutanées, en particulier chez les personnes immunodéprimées.
- Septicémies et bactériémies : Dans des cas graves, surtout chez les personnes fragiles ou hospitalisées, *Proteus* peut passer dans le sang.
- Infections respiratoires ou digestives : Plus rares, mais possibles chez les patients fragiles ou avec des dispositifs médicaux. (R46 plasmid and UV-resistance in *Proteus mirabilis*).

II.3 Caractéristiques morphologiques, biochimiques de *Proteus mirabilis*

II.3.1 Morphologie

Proteus mirabilis est une bactérie en forme de bacille, c'est-à-dire un bâtonnet allongé, typique des bactéries de la famille des Enterobacteriaceae (Chakkour *et al.*, 2024). Elle mesure généralement entre **1 à 3** micromètres de long. À l'examen microscopique, elle apparaît Gram négatif, ce qui signifie qu'elle possède une paroi cellulaire mince composée de peptidoglycane et une membrane externe riche en lipopolysaccharides (Schaffer, Pearson., 2015). La structure de la paroi Gram négatif, associée à la production de biofilm et à la présence de multiples gènes de virulence (*ureC*, *zapA*, *mrpA*, *ucaA*, etc.), confère à *P. mirabilis* une résistance accrue aux antibiotiques et aux désinfectants, ainsi qu'une forte capacité à provoquer des infections persistantes (Algammal *et al.*, 2021)

Cette bactérie ne forme pas de spores, ni de capsule protectrice (Chakkour *et al.*, 2024), mais elle se distingue par la présence de flagelles péritriches (répartis tout autour du corps cellulaire), qui lui confèrent une mobilité exceptionnelle. Cette capacité de mouvement joue un rôle essentiel dans son comportement et dans sa virulence, comme nous allons le voir plus loin (Li *et al.*, 2023).

II.3.2. Caractéristiques biochimiques

Sur le plan biochimique, *P. mirabilis* est particulièrement identifiable par certaines activités enzymatiques spécifiques :

- Elle est uréasique positive : elle produit une enzyme appelée uréase, qui hydrolyse l'urée en ammoniac (NH_3) et en dioxyde de carbone (CO_2). Cela a pour effet de rendre le milieu plus alcalin (augmentation du pH), ce qui a des conséquences importantes dans les infections urinaires (formation de calculs).
- Elle est également productrice d' H_2S (sulfure d'hydrogène), visible sur les milieux de culture contenant du fer comme la gélose TSI, où un précipité noir se forme.
- Elle est négative pour le test de l'oxydase, mais positive pour la catalase, ce qui permet de la distinguer d'autres bactéries dans les diagnostics différentiels.
- Elle fermente le glucose sans production de gaz et ne fermente pas le lactose, ce qui la rend identifiable sur des milieux comme la gélose MacConkey, où ses colonies restent incolores. (Suter *et al.*, 1968)

Un autre test important est le test de l'indole : *P. mirabilis* est indole négatif, contrairement à *P. vulgaris* qui est indole positif — c'est un critère de distinction majeur entre les deux espèces.

I.3.3 Comportements spécifiques : le "swarming"

Un comportement très typique et fascinant de *Proteus mirabilis* est le phénomène de swarming (ou essaimage). Lorsqu'elle est cultivée sur une gélose solide (comme la gélose ordinaire ou gélose du sang), la bactérie ne forme pas une colonie unique et compacte, mais elle se déplace activement à la surface, formant des ondes concentriques ou des zones d'étalement en vagues régulières (Gazel *et al.*, 2021)

Ce comportement est dû à la transformation de la forme classique du bacille en des cellules "swarmer" : elles deviennent beaucoup plus longues (jusqu'à 80 μm) et développent encore plus de flagelles pour se déplacer en groupe (Stolarek *et al.*, 2023). Ce mouvement de masse est coordonné, rapide, et facilite l'invasion de surfaces (Belas *et al.*, 1991) comme les tissus ou les dispositifs médicaux (Jones *et al.*, 2004).

Ce phénomène peut compliquer les analyses en laboratoire, car *P. mirabilis* peut envahir toute la surface de la boîte de Pétri, rendant l'observation d'autres colonies plus difficile (Jones *et al.*, 2004).

II.3.4 Capacité à former des biofilms

P. mirabilis est capable de former des biofilms, notamment sur des surfaces inertes comme les sondes urinaires. Un biofilm est une communauté bactérienne protégée par une matrice de substances polymériques extracellulaires (EPS). Ce qui lui permet de :

- Résister à la dessiccation,

- Échapper à l'action du système immunitaire,
- Résister aux antibiotiques.

Cette capacité est une des raisons pour lesquelles *P. mirabilis* est un pathogène redouté dans les hôpitaux, notamment en **urologie** (Singla *et al.*, 2015).

II.3.5 Pathogénicité de *Proteus mirabilis* :

II.3.5.1 Généralités sur la pathogénicité de *P. mirabilis*

Proteus mirabilis est un pathogène opportuniste, ce qui signifie qu'il ne cause généralement pas de maladie chez les personnes en bonne santé, mais qu'il peut devenir dangereux dans certains contextes : hospitalisation, immunodépression, présence de sondes urinaires, etc. Il est surtout connu pour provoquer des infections urinaires compliquées, en particulier chez les patients sondés ou atteints de malformations urinaires (Wasfi *et al.*.,2020). Sa pathogénicité repose sur plusieurs facteurs de virulence qui lui permettent d'adhérer aux cellules, de coloniser les voies urinaires, de modifier le pH, et d'échapper au système immunitaire (Rocha *et al.*.,2007).

II.3.5.2. Infections urinaires causées par *P. mirabilis*

Principaux types d'infections urinaires :

- **Cystite** : inflammation de la vessie
- **Pyélonéphrite** : infection des reins
- **Urétrite** : inflammation de l'urètre
- **Infections urinaires associées aux sondes** : fréquentes en milieu hospitalier

La bactérie entre généralement dans les voies urinaires par voie ascendante (depuis l'urètre vers la vessie et les reins), surtout lorsqu'il y a une sonde vésicale ou une manipulation (Wasfi *et al.*.,2020)

II.3.5.3 Facteurs de virulence impliqués

a. Fimbriae (pili d'adhésion)

Ces structures permettent à *P. mirabilis* de s'attacher aux cellules épithéliales urinaires, même en présence du flux d'urine qui pourrait normalement éliminer les bactéries. Il existe plusieurs types de fimbriae chez cette espèce, qui facilitent l'invasion (Chakkour *et al.*,2024)

b. Uréase

L'enzyme uréase est l'un des principaux outils pathogènes de *P. mirabilis*. Elle transforme l'urée (présente dans l'urine) en ammoniac et CO₂ :



Cela entraîne une augmentation du pH de l'urine (plus alcaline), ce qui a deux effets majeurs :

- Cela irrite les tissus urinaires.
- Cela favorise la précipitation de minéraux (struvite et apatite) → formation de calculs urinaires (lithiases). (Gmiter et Kaca .,2022).

c. Motilité (swarming)

Le swarming permet à la bactérie de coloniser rapidement toute la surface d'un cathéter ou de l'épithélium urinaire, augmentant sa capacité de dissémination (Durgadevi *et al.* ,2019).

d. Formation de Biofilm

Une fois installée, *P. mirabilis* forme un biofilm sur les surfaces internes des sondes, ce qui :

- protège la bactérie des antibiotiques,
- empêche l'action des globules blancs,
- favorise les infections chroniques ou récidivantes. (Wasfi *et al.*2020) .

e. Production des Toxines

Certaines souches produisent des hémolysines, qui peuvent lyser les globules rouges et d'autres cellules, aggravant l'infection (Filipiak *et al.* ,2020) .

II.3.5.4 Formation de calculs urinaires (lithiases)

Le lien entre *P. mirabilis* et les calculs urinaires est bien établi. La production d'ammoniac modifie le pH et provoque la cristallisation de sels minéraux dans l'urine, notamment :

- **Struvite** : phosphate ammoniac-magnésien
- **Apatite** : phosphate de calcium (Norsworthy et pearson .,2017).

Ces cristaux s'agrègent pour former des **calculs** qui peuvent :

- Bloquer l'écoulement urinaire,
- Causer de fortes douleurs,
- Nécessiter une intervention chirurgicale ou un traitement par ultrasons.

Les calculs servent aussi de réservoir pour les bactéries, ce qui rend les infections persistantes, car même après traitement antibiotique, des bactéries peuvent rester cachées dans le calcul (Schaffer *et al.* ,2016) .

II.3.5.5 Conséquences cliniques

- Les infections à *P. mirabilis* peuvent devenir chroniques (Wasfi *et al.*,2020), récidivantes et difficiles à traiter. Elles sont souvent associées à :

- de longues hospitalisations,
- des interventions chirurgicales (ablation de calculs),
- et parfois à des complications rénales graves (pyélonéphrite, insuffisance rénale (**Chakkour et al.,2024**)).

II.3.6 Résistances et défis cliniques associés à *Proteus mirabilis*

Proteus mirabilis est naturellement doté d'un arsenal biologique qui lui permet de survivre dans des environnements difficiles, en particulier en présence d'antibiotiques. Sa capacité à résister à plusieurs molécules antimicrobiennes rend son traitement médical plus complexe et plus long, en particulier dans les infections chroniques ou hospitalières (**Eltaweel et al.,2024**).

En milieu hospitalier, où les patients sont souvent affaiblis et sous traitement, cette bactérie peut devenir multirésistante et parfois impossible à traiter par les antibiotiques classiques. Cela fait de *P. mirabilis* un pathogène prioritaire dans la lutte contre l'antibiorésistance. (**Li et al .,2023**).

II.3.7 Mécanismes moléculaires de résistance

II.3.7 .1 Production de β -lactamases

C'est le mécanisme le plus courant chez *P. mirabilis*. Ces enzymes permettent d'inactiver les antibiotiques β -lactamines, une famille qui comprend (**Bedenić et al ., 2025**) :

- Les pénicillines (amoxicilline, pipéracilline...),
- Les céphalosporines,
- Et parfois les carbapénèmes.

Il existe plusieurs types de β -lactamases :

- Pénicillinases simples (hydrolysent seulement les pénicillines)
- BLSE (β -lactamases à spectre étendu) : elles inactivent même les céphalosporines de 3e génération (comme la ceftriaxone), qui sont souvent des antibiotiques de réserve.
- Carbapénémases : très rares mais très dangereuses, elles rendent inefficaces les carbapénèmes, qui sont les traitements de dernier recours (**Nordmann et al .,2011**).

II.3.7.2 Systèmes d'efflux

Les pompes à efflux sont des protéines membranaires qui expulsent activement les antibiotiques hors de la cellule. *P. mirabilis* peut activer ces pompes en réponse à un stress antibiotique, ce qui diminue la concentration intracellulaire de l'antibiotique et le rend inefficace (**Kaye et al.,2015**).

Ce mécanisme est notamment impliqué dans la résistance aux :

- Fluoroquinolones (ex. : ciprofloxacine),
- Chloramphénicol,

- Tétracyclines (Nakano *et al* 2019) .

II.3.7.3 Modification des cibles intracellulaires

Certains antibiotiques agissent en se fixant à des protéines spécifiques de la bactérie (ex : ADN gyrase, ribosomes). *P. mirabilis* peut développer des mutations sur ces cibles, rendant l'attachement de l'antibiotique impossible. Par exemple :

- Des mutations sur la gyrase rendent les quinolones inefficaces.
- Des modifications des protéines PBP (pénicilline-binding protéines) (Kaye *et al.*,2015).

II.3.7.4 Inactivation enzymatique directe

Outre les β -lactamases, *P. mirabilis* peut parfois produire d'autres enzymes spécifiques qui dégradent des antibiotiques ciblés, comme certaines aminoglycosides (amikacine, gentamicine (Eltaweel *et al.*2024).

II.3.7.4.1. Résistance naturelle

Un point important : même sans mutation ni gène de résistance acquis, *Proteus mirabilis* est naturellement résistant à certains antibiotiques, notamment :

- **La colistine** : un antibiotique de dernier recours pour d'autres Gram –, mais totalement inefficace ici.
- **La nitrofurantoïne** : couramment utilisée pour les infections urinaires, mais inutilisable contre *P. mirabilis*.

Cette résistance intrinsèque doit être connue pour éviter une antibiothérapie inadéquate dès le départ (Girlich *et al.*,2019).

II.3.7.4.2 Transmission et dissémination des résistances

La capacité de *P. mirabilis* à acquérir de nouveaux gènes de résistance est facilitée par le transfert horizontal de gènes, un processus courant chez les bactéries :

- Via des plasmides (ADN circulaire échangeable),
- Des transposons (séquences d'ADN mobiles),
- Ou par conjugaison (passage direct d'un gène d'une bactérie à une autre).

En milieu hospitalier, ces échanges sont fréquents, notamment avec d'autres bactéries résistantes comme *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, ou *Pseudomonas aeruginosa*. Cela crée un réservoir génétique de résistance dans l'environnement (Mirzaei *et al.*,2001).

II.3.7.4.3. Défis cliniques posés par ces résistances

3.a- Diagnostic plus compliqué

Face à une infection à *P. mirabilis*, les médecins doivent systématiquement effectuer un antibiogramme pour tester la sensibilité de la souche. Le traitement empirique (avant résultats du labo) est risqué car la souche peut être résistante aux molécules classiques. (Eltaweel *et al* .,2024).

3.b- Réduction des options thérapeutiques

Lorsque plusieurs résistances sont combinées (BLSE + efflux + mutations), il ne reste parfois que quelques antibiotiques utilisables, souvent plus toxiques, plus chers, ou moins efficaces (Li *et al*.,2023).

3. c- Allongement des hospitalisations

Les patients infectés par des souches résistantes nécessitent souvent :

- des traitements plus longs,
- des hospitalisations prolongées,
- une surveillance plus stricte (Shaaban *et al*.,2022).

3.d- Risque de propagation

Les souches résistantes peuvent coloniser les mains du personnel soignant, les équipements, ou les surfaces, et se transmettre à d'autres patients, provoquant des épidémies nosocomiales (Han *et al* .,2024).

3.e- Stratégies de lutte contre la résistance

Pour limiter les résistances, plusieurs stratégies sont mises en œuvre :

- Réduction de l'usage inutile d'antibiotiques (en médecine humaine et vétérinaire)
- Antibiogrammes systématiques avant traitement
- Hygiène stricte à l'hôpital (lavage des mains, désinfection, isolement des patients infectés)
- Surveillance microbiologique et traçabilité des souches résistantes
- Recherche de nouveaux traitements : combinaisons d'antibiotiques, inhibiteurs de β -lactamases, phagothérapie, thérapies à base de peptides ou d'ARN antisen (Dong *et al* .,2024).

Chapitre II

ADN bactérien et effets des rayons UV

I.1 Intérêt de *Proteus mirabilis* comme modèle pour l'étude de la sensibilité aux rayons UV

Les rayons UV (ultraviolets) sont des agents physiques mutagènes et stérilisants. Leur application dans le domaine médical, industriel et expérimental repose sur leur capacité à :

- Altérer les structures biologiques, en particulier l'ADN,
- Induire des mutations, et provoquer la mort cellulaire (effet létal).

Chez les bactéries, l'étude de la sensibilité aux UV est cruciale pour :

- Comprendre les mécanismes de défense génétique,
- Tester des protocoles de stérilisation (en laboratoire ou en milieu hospitalier),
- Observer les réponses phénotypiques et comportementales face à un stress physique. (Harm,1980).

I.1.1 Choisir *Proteus mirabilis* comme modèle expérimental

I.1.1.1 Facilité de culture et d'observation

P. mirabilis est une bactérie très facile à cultiver en laboratoire. Elle présente une croissance rapide, des colonies bien visibles, et ne demande pas de milieux spéciaux. Cela permet une manipulation efficace pour des tests en série, avec reproductibilité expérimentale élevée. (Harm.1980).

I.1.1.2. Swarming : un indicateur comportemental unique

Le swarming (essaimage) est une forme de mobilité collective propre à certaines bactéries comme *P. mirabilis*. Sur un milieu solide légèrement humide, cette bactérie forme des zones concentriques de migration rapide. Ce comportement est très sensible aux facteurs de stress, notamment les UV.

Une altération du swarming après exposition est un indicateur rapide de dommages cellulaires, sans même avoir besoin d'analyses moléculaires poussées. (Harm, 1980).

I.1.1.3. Un génome bien caractérisé

Le génome de *P. mirabilis* est séquencé et bien étudié, ce qui facilite l'analyse des gènes impliqués dans la réponse aux dommages de l'ADN (De vries et Wackernagel.,1994) :

uvrA, *uvrB*, *uvrC* : impliqués dans la réparation par excision de nucléotides.

recA, *lexA* : activent la réponse SOS, un mécanisme global de survie en cas de stress sévère à l'ADN.

I.1.2. Effets des UV sur *Proteus mirabilis*

L'exposition aux rayons ultraviolets, notamment aux UV-C, a des conséquences importantes sur la viabilité et le fonctionnement cellulaire de *Proteus mirabilis*. Cette bactérie, connue pour sa motilité caractéristique et sa résistance à divers stress, subit néanmoins des altérations notables lorsqu'elle est exposée à une irradiation UV. Ces effets touchent particulièrement l'intégrité de son matériel génétique et ses capacités de survie. (Harm,1980).

I.1.2.1. Dommages à l'ADN

L'un des premiers effets des UV sur *P. mirabilis* concerne son ADN. L'irradiation provoque des lésions spécifiques qui perturbent la réplication et la transcription. Ces altérations peuvent entraîner des mutations, un arrêt de la division cellulaire, voire la mort de la cellule si les mécanismes de réparation sont insuffisants. Les UV-C (254 nm) provoquent notamment :

- La formation de **dimères de pyrimidine**, principalement des dimères de **thymine** ;
- Un **blocage de la réplication de l'ADN** ;
- Une **induction de la mort cellulaire programmée (apoptose bactérienne)** si les dommages ne sont pas réparés. (Hofemeister,1977).

I.1.2.2 Effet dose-dépendant

Faibles doses : mutations sublétals, modification du phénotype (ex. : swarming, croissance lente). Doses modérées : induction de la réponse SOS. Doses élevées : arrêt de la division, perte de viabilité bactérienne (Sato *et al.*.,2022).

I.1.3 Mécanismes de réparation activés

P. mirabilis possède plusieurs voies de réparation de l'ADN activées après exposition :

- NER (Nucleotide Excision Repair) : élimine les dimères UV et restaure l'intégrité de l'ADN.
- Réponse SOS : un mécanisme d'urgence qui déclenche une réparation plus rapide mais moins fidèle, parfois source de mutations (Hofemeister *et al.*.,1979).

Applications concrètes

I.1.3.1. Désinfection et stérilisation

Étudier la sensibilité UV permet de définir les conditions optimales de stérilisation des surfaces médicales contaminées (sondes, cathéters...), améliorer la désinfection des eaux usées ou hospitalières contenant *P. mirabilis* (Rastog *et al.*.,2010).

I.1.3.2. *P. mirabilis* un modèle de recherche fondamentale

P. mirabilis sert aussi à comprendre les mutations induites par les UV, étudier les systèmes de réparation ADN chez les bactéries, tester des molécules inhibant la réparation, utiles en thérapie combinée avec des agents mutagènes. (Guerrero et Barbosa ,2004).

I.2. Organisation du génome bactérien : ADN chromosomique et plasmides

Les bactéries possèdent une organisation génétique caractéristique, différente de celle des eucaryotes. Leur matériel génétique est principalement constitué d'un chromosome circulaire unique localisé dans une région du cytoplasme appelée nucléoïde, bien que certaines espèces puissent également contenir des plasmides, éléments d'ADN extra chromosomiques. Ces structures jouent un rôle fondamental dans l'adaptation, la virulence, la résistance aux antibiotiques et la survie des bactéries dans des environnements hostiles, comme ceux exposés aux agents mutagènes tels que les rayons UV. (Zhang *et al.* ,2025).

Chez *Proteus mirabilis*, bactérie Gram-négative appartenant à la famille des Enterobacteriaceae, le génome est relativement bien étudié. Le chromosome de *P. mirabilis* mesure environ 4,1 millions de paires de bases, codant pour plus de 3 500 gènes. Il contient de nombreux gènes impliqués dans la mobilité (grâce à ses flagelles péritriches), la virulence (toxines, adhésines), ainsi que la résistance aux stress environnementaux. Cette organisation permet à la bactérie d'adapter rapidement ses réponses métaboliques aux conditions changeantes de son milieu, notamment en cas d'exposition à un stress oxydatif ou aux rayonnements UV) (Shelenkov, *et al.* ,2020).

En plus de son chromosome principal, *P. mirabilis* peut héberger des plasmides de tailles variables, qui contiennent des gènes de résistance (notamment aux β -lactamines et aux aminoglycosides), mais aussi parfois des gènes liés à la réparation de l'ADN. Ces plasmides peuvent être transmissibles par conjugaison, ce qui contribue à la propagation de la résistance dans des environnements hospitaliers où cette espèce est souvent retrouvée, notamment dans les infections urinaires nosocomiales (Sato *et al.* ,2022).

L'existence conjointe du génome chromosomique et des plasmides permet à *P. mirabilis* de disposer d'un arsenal génétique souple et modulable, qui lui offre une capacité de survie exceptionnelle, y compris face à des agents mutagènes comme les rayons UV. Ces derniers peuvent endommager l'ADN bactérien, en provoquant notamment des dimères de pyrimidine, mais la présence de gènes de réparation sur le chromosome ou sur des plasmides peut permettre une récupération partielle ou complète, assurant la viabilité cellulaire (Zhang *iet al.* ,2025).

Ainsi, l'étude de l'organisation génétique de *Proteus mirabilis* fournit des bases essentielles pour comprendre les mécanismes moléculaires de résistance ou de sensibilité aux stress UV, et ouvre la voie à des applications potentielles, comme le développement de traitements ciblés ou l'utilisation de la mutagenèse UV dans la recherche génétique.

I.3. Mécanismes de réparation de l'ADN endommagé par les rayons UV (réparation photo réactive, réparation par excision de nucléotides)

L'exposition des bactéries aux rayons ultraviolets (UV), en particulier aux UV-C (200–280 nm), provoque des lésions spécifiques de l'ADN, notamment la formation de dimères de pyrimidine, principalement des dimères de thymine. Ces liaisons anormales entre bases adjacentes perturbent la réplication et la transcription, menaçant la viabilité cellulaire. Pour contrer ces effets délétères, les bactéries ont développé plusieurs mécanismes de réparation de l'ADN, dont les plus importants sont la réparation photo réactive (photolyase) et la réparation par excision de nucléotides (NER : Nucleotide Excision Repair).

I.3.1 La réparation photo réactive

Ce mécanisme dépend d'une enzyme appelée photolyase, activée par la lumière visible (longueur d'onde entre 300 et 500 nm). Cette enzyme reconnaît les dimères de pyrimidine et utilise l'énergie lumineuse pour casser les liaisons anormales, restaurant la configuration normale de l'ADN. Cette voie est considérée comme rapide, spécifique et peu coûteuse en énergie, mais elle nécessite une exposition à la lumière, ce qui limite son efficacité dans des environnements obscurs.

Chez *Proteus mirabilis*, la présence de gènes codant pour des photolyases a été identifiée dans plusieurs souches. Toutefois, l'efficacité de la réparation photo réactive varie selon les conditions environnementales et l'expression génétique. Dans les environnements hospitaliers peu exposés à la lumière, ce mécanisme peut être moins actif. (Shelenkov *et al.*,2020).

I.3.2 La réparation par excision de nucléotides (NER)

En l'absence de lumière visible, ou lorsque les dommages sont complexes, les bactéries recourent au système NER. Ce mécanisme implique plusieurs enzymes, dont les protéines **UvrA**, **UvrB**, **UvrC** et **UvrD**, qui coopèrent pour :

1. **Reconnaître la lésion** (UvrA/B),
2. **Couper l'ADN endommagé** de part et d'autre du site lésé (UvrC),
3. **Retirer l'oligonucléotide endommagé**,
4. **Synthétiser un nouveau fragment d'ADN** complémentaire à l'aide de l'ADN polymérase I,
5. Et enfin **refermer la chaîne** avec une ligase.

Des études ont montré que *Proteus mirabilis* active le système NER de manière efficace en réponse à une exposition prolongée aux UV-C. Cela suggère que cette espèce possède une capacité adaptative importante, lui permettant de survivre à des stress génétiques répétés. (Sato, *et al.*,2022).

• Autres systèmes de réparation impliqués

P. mirabilis peut également activer des réponses de réparation SOS, un mécanisme global déclenché en cas de dommages importants à l'ADN. Ce système induit l'expression de gènes comme **recA** et **lexA**, qui modulent l'activité des enzymes de réparation. Toutefois, ce système est plus sujet aux erreurs et peut conduire à des mutations permanentes, ce qui contribue à la **variabilité génétique**. (Hofemeister *et al.*, 1979).

I.4. Effets des mutations induites par les UV sur la variabilité génétique

Les rayonnements ultraviolets, en particulier les UV-C, sont des agents mutagènes puissants capables de modifier l'ADN bactérien de manière significative. L'effet principal des UV sur l'ADN est la formation de dimères de pyrimidine (principalement des dimères de thymine), qui perturbent la réplication et la transcription. Lorsque ces lésions ne sont pas réparées correctement, elles peuvent entraîner des mutations ponctuelles, des délétions, des insertions ou même des cassures de l'ADN. Ces mutations, bien que souvent délétères, peuvent parfois être bénéfiques en termes d'évolution et d'adaptation bactérienne

Chez *Proteus mirabilis*, les mutations induites par les UV peuvent jouer un rôle crucial dans l'augmentation de la variabilité génétique, c'est-à-dire la diversité des séquences d'ADN au sein d'une population bactérienne. Cette variabilité est un facteur clé dans l'adaptation rapide aux changements environnementaux, notamment face aux antibiotiques, désinfectants ou encore conditions physiques extrêmes, comme l'exposition à des UV en milieu hospitalier (Sato *et al.*, 2022).

I.4.1. Types de mutations induites par les UV

Les mutations provoquées par les UV se traduisent le plus souvent par :

- **Substitutions de bases** : lorsque la polymérase insère une base incorrecte face à une lésion mal réparée ;
- **Délétions** ou **insertions** de petites séquences nucléotidiques, perturbant la lecture des gènes ;
- Mutations silencieuses, faux-sens ou non-sens, qui peuvent respectivement être neutres, modifier la fonction protéique, ou la stopper prématurément.

Ces altérations génétiques peuvent affecter des gènes impliqués dans la virulence, la mobilité, la production d'enzymes ou la résistance aux antibiotiques, influençant directement la physiologie et la pathogénicité de *P. mirabilis*. (Hofemeister *et al.*, 1979).

I.4.2. Conséquences biologiques

Les mutations peuvent entraîner une perte de fonction (mutation délétère), une fonction modifiée (mutation adaptative) ou encore une acquisition de nouvelles propriétés avantageuses. Par exemple, une mutation dans un gène de porine pourrait réduire la perméabilité

membranaire, rendant la bactérie moins sensible à certains antibiotiques. À l'inverse, une mutation dans un gène essentiel peut conduire à la mort cellulaire.

Chez *P. mirabilis*, des études ont montré que l'exposition répétée aux UV pouvait sélectionner des clones présentant une résistance accrue à certains stress ou une augmentation de la production de biofilm, un facteur clé de survie en milieu clinique (Sato *et al.*, 2022).

I.4.3. Importance de la variabilité génétique

La variabilité génétique induite par les UV est une source de matière première pour la sélection naturelle. Dans un environnement changeant ou hostile, comme un hôpital ou un sol contaminé, cette diversité permet à certains variants de survivre et de se multiplier. Cela représente un avantage évolutif, mais peut aussi constituer un risque en santé publique si les mutations conduisent à l'émergence de souches pathogènes plus résistantes.

Par ailleurs, cette capacité des UV à induire des mutations est exploitée en recherche fondamentale et en biotechnologie, notamment pour sélectionner des mutants d'intérêt (par exemple, avec une production enzymatique accrue ou une tolérance améliorée à certains composés). (Sato *et al.*, 2022).

I.5. Étude génomique de *Proteus mirabilis* O18

Dans le cadre de l'approfondissement des connaissances sur *Proteus mirabilis*, l'étude génomique réalisée par Czerwionka *et al.* (2021) portant sur la souche PrK 34/57 appartenant au séro groupe O18. Cette souche est caractérisée par une particularité rare : la présence d'un antigène O décoré par de la phosphocholine (ChoP), une modification qui influence l'adhésion bactérienne, la résistance aux peptides antimicrobiens ainsi que la sensibilité au système du complément.

L'analyse génomique révèle que le génome de cette souche a une taille de 3,97 Mb, avec un contenu GC de 38,7 %, contenant 3 722 gènes codants pour des protéines, des gènes liés à la mobilité (57 gènes pour la chimiotaxie et les flagelles), à l'acquisition du fer (56 gènes) et à la tolérance aux antibiotiques et métaux lourds.

Plus important encore, le cluster génétique codant pour la biosynthèse de l'antigène O a été intégralement décrit. Il contient les gènes *licA*, *licB*, *licC* et *licD*, impliqués respectivement dans l'absorption de la choline, sa phosphorylation, sa transformation en CDP-choline, et son transfert sur l'antigène O. Ces gènes sont organisés de façon spécifique autour de *wzx*, le gène codant pour la flippase, enzyme clé qui transloque les unités d'O-antigène à travers la membrane.

Les résultats confirment l'importance de ces modifications pour la virulence et la capacité d'échappement immunitaire de *P. mirabilis* O18, notamment dans les infections urinaires compliquées (NDM-1 chez *P. mirabilis* animal (Corée): génome de 4 Mb sans plasmide)

I.5.1 Analyse approfondie du génome de *Proteus mirabilis* O18 (souche PrK 34/57)

L'étude génomique menée par Czerwionka et al. (2021) a permis de décrypter le génome de la souche **PrK 34/57** de *Proteus mirabilis*, appartenant au séro groupe O18, connue pour sa capacité unique à orner ses lipopolysaccharides (LPS) avec de la phosphocholine (ChoP), une caractéristique rare parmi les bactéries Gram-négatives.

I.5.1.1. Caractéristiques générales du génome :

- **Taille totale du génome** : 3 970 593 pb
- **Nombre total de gènes codants** : 3 722
- **Contenu en GC** : 38,7 %
- **Nombre de gènes liés à la mobilité et chimiotaxie** : 57
- **Nombre de gènes liés à l'acquisition du fer** : 56
- **Nombre de gènes associés à la virulence (protéases, hémolysine, fimbriae)** : élevé et diversifié.

I.5.1.2. Organisation du cluster antigénique O :

Le cluster génétique de biosynthèse de l'antigène O chez *P. mirabilis* O18 est situé entre les gènes **cpxA** et **secB**. Il utilise la voie biosynthétique **Wzx/Wzy-dépendante**, la plus courante pour l'assemblage de l'antigène O :

- **wzx** : code pour une flippase transmembranaire essentielle à la translocation des unités antigéniques.
- **wzy** : code pour la polymérase qui assemble les unités O.
- **wzz** : régule la longueur des chaînes polysaccharidiques

Dans le cluster spécifique O18, quatre gènes critiques ont été identifiés :

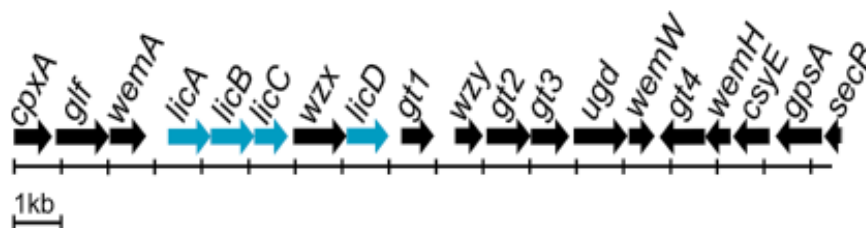


Figure 6 : Organisation du cluster de gènes de l'antigène O18 chez *Proteus mirabilis*. Les gènes mis en évidence représentent les gènes licABCD et leur organisation dans le cluster de gènes de biosynthèse de l'antigène O dépendant de Wzx/Wzy. Schéma modifié d'après Yu et al. (2017).

Tableau 06: Fonctions principales des gènes licABCD impliqués dans le métabolisme de la choline et la modification du LPS chez *Proteus mirabilis*

Gène	Fonction principale
licA	Choline kinase (phosphorylation de la choline)
licB	Perméase de choline (transport membranaire de la choline)
licC	CTP:phosphocholine cytidylyltransférase (activation de la choline en CDP-choline)
licD	Choline phosphotransférase du LPS (décoration des glycanes avec ChoP)

I.5.2. Décoration du LPS par phosphocholine (ChoP) :

La présence de ChoP sur les LPS est cruciale pour :

- L'adhésion bactérienne aux surfaces muqueuses.
- La résistance aux peptides antimicrobiens.
- La modulation de la sensibilité au complément immunitaire
- Le processus de décoration ChoP comprend :
 1. Absorption de choline via **LicB** ou la perméase à haute affinité **BetT**.
 2. Phosphorylation par **LicA**.
 3. Activation en CDP-choline par **LicC**.
 4. Transfert final sur les unités antigéniques O par **LicD**
 5. Facteurs de virulence identifiés
- 5. Gènes de résistance aux antibiotiques :

L'analyse du resistome a révélé des gènes de résistance à :

- β -lactamines
- Aminosides
- Fluoroquinolones
- Tétracycline
- Phénicol

Principalement via des pompes d'efflux et des altérations des cibles moléculaires

Cette caractérisation complète du génome de *P. mirabilis* O18 montre son potentiel d'adaptation aux conditions hostiles et son aptitude à causer des infections chroniques, notamment via la modification de surface par ChoP et la possession de multiples systèmes de virulence et de résistance .

I.5.3. Identification des gènes putatifs de résistance aux antibiotiques

Sur la base de la base de données CARD (Comprehensive Antibiotic Research Database), l'outil d'identification des gènes de résistance (RGI) a identifié des homologues de gènes responsables de la résistance aux aminosides (amikacine, tobramycine) et aux bêta-lactamines (ampicilline, pipéracilline, amoxicilline). Les résultats sont présentés dans le tableau 6. La résistance aux peptides antimicrobiens de cette souche est vraisemblablement confirmée par des homologues des pompes d'efflux KpnFH de *Klebsiella pneumoniae* (Poirel *et al.*, 2017 ; Aghapour *et al.*, 2019), comme illustré dans la Figure 7 et tableau 7.

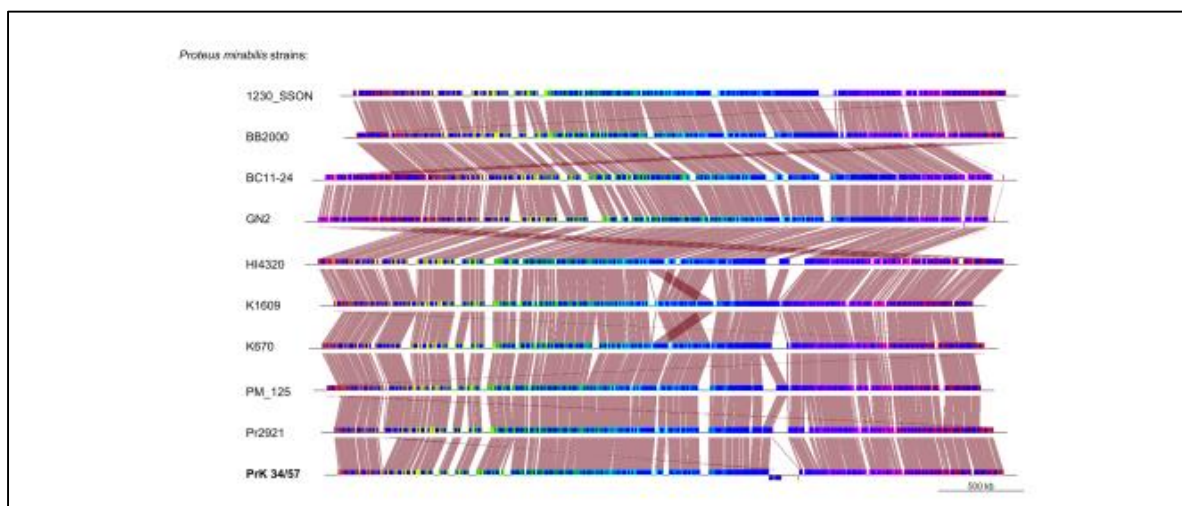


Figure 7: Comparaison génomique complète des génomes de *Proteus mirabilis* utilisant l'option progressiveMauve du logiciel Mauve. Les génomes sont représentés en bleu, et les blocs avec des bordures de différentes couleurs sont homologues entre les génomes. Le fichier backbone a été visualisé à l'aide du package R genoPlotR.

Tableau 7 : Les gènes putatifs de résistance aux antibiotiques identifiés dans le génome de *P. mirabilis* PrK 34/57

ARO Term*	SNP	Detection Criteria	AMR Gene Family	Drug Class	Resistance Mechanism	% Identity of Matching Region	% Length of Reference Sequence
<i>adeF</i>		protein homolog model	resistance-nodulation-cell division (RND) antibiotic efflux pump	fluoroquinolone antibiotic, tetracycline antibiotic	antibiotic efflux	42.17	99.34
<i>tet(D)</i>		protein homolog model	major facilitator superfamily (MFS) antibiotic efflux pump	tetracycline antibiotic	antibiotic efflux	53.79	101.02
CRP		protein homolog model	resistance-nodulation-cell division (RND) antibiotic efflux pump	macrolide antibiotic, fluoroquinolone antibiotic, penam	antibiotic efflux	98.1	100.00
<i>catA4</i>		protein homolog model	chloramphenicol acetyltransferase (CAT)	phenicol antibiotic	antibiotic inactivation	96.77	100.00
<i>rsmA</i>		protein homolog model	resistance-nodulation-cell division (RND) antibiotic efflux pump	fluoroquinolone antibiotic, diaminopyrimidine antibiotic, phenicol antibiotic	antibiotic efflux	92.98	101.64
<i>Klebsiella pneumoniae KpnH</i>		protein homolog model	major facilitator superfamily (MFS) antibiotic efflux pump	macrolide antibiotic, fluoroquinolone antibiotic, aminoglycoside antibiotic, carbapenem, cephalosporin, penam, peptide antibiotic, penem	antibiotic efflux	72.71	100.00
<i>Klebsiella pneumoniae KonF</i>		protein homolog model	major facilitator superfamily (MFS) antibiotic efflux pump	macrolide antibiotic, aminoglycoside antibiotic, cephalosporin, tetracycline antibiotic, peptide antibiotic, rifamycin antibiotic	antibiotic efflux	68.81	100.92
<i>Haemophilus influenzae</i> PBP3 conferring resistance to beta-lactam antibiotics	D350N	protein variant model	Penicillin-binding protein mutations conferring resistance to beta-lactam antibiotics		antibiotic target alteration	51.45	98.03
<i>Morganella morganii gyrB</i> conferring resistance to fluoroquinolones	S463A	protein variant model	fluoroquinolone resistant gyrB	fluoroquinolone antibiotic	antibiotic target alteration	84.58	100.00
<i>Escherichia coli</i> EF-Tu mutants conferring resistance to Pulvomycin	R234F	protein variant model	eflarmycin resistant EF-Tu	eflarmycin antibiotic	antibiotic target alteration	94.91	96.09

*ARO, Antibiotic Resistance Ontology.

II. Irradiation UV : Principe et Effets

II.1 Définition des rayons UV et leurs types (UV-A, UV-B, UV-C)

Les rayonnements ultraviolets (UV) sont des ondes électromagnétiques situées entre la lumière visible et les rayons X, avec des longueurs d'onde comprises entre 100 et 400 nanomètres (nm). On distingue trois principaux types de rayons UV selon leur longueur d'onde :

- **UV-A (315 – 400 nm)** : ce sont les moins énergétiques. Ils pénètrent profondément dans les tissus vivants, mais provoquent peu de dommages directs à l'ADN.
- **UV-B (280 – 315 nm)** : plus énergétiques, ils peuvent induire des lésions de l'ADN et participer à la mutagenèse.
- **UV-C (100 – 280 nm)** : les plus énergétiques et les plus dangereux. Ils sont fortement absorbés par l'ADN et provoquent des dommages létaux. En laboratoire, on utilise principalement les UV-C (souvent à 254 nm) pour stériliser ou induire des mutations. (D'Orazio *et al.*, 2013).

II.2 Effets des rayons UV sur les cellules vivantes, en particulier sur l'ADN

L'exposition aux UV, notamment UV-C, entraîne des dommages directs à l'ADN des cellules vivantes, en particulier les micro-organismes unicellulaires comme les bactéries. L'énergie absorbée par l'ADN peut causer des réarrangements chimiques, perturbant sa structure et sa fonction.

Chez les bactéries comme *Proteus mirabilis*, les rayons UV provoquent :

- **Des mutations** par altération des bases nucléotidiques ;
- **L'arrêt de la réplication et de la transcription** ;
- **Une perte de viabilité** si les dommages sont trop étendus.

Ces effets peuvent être létaux ou conduire à une sélection de mutants, selon la dose d'exposition et les capacités de réparation de la cellule. (Genome structure of *Proteus mirabilis* HI4320) (Yang *et al.*, 2019).

II.3 Mécanisme de formation des dimères de pyrimidine sous l'effet des UV

L'effet le plus typique de l'irradiation UV sur l'ADN est la formation de dimères de pyrimidine, principalement des dimères de thymine. Cela se produit lorsque deux bases pyrimidiques adjacentes (T-T ou C-T) sur un brin d'ADN forment une liaison covalente suite à l'absorption d'un photon UV (Genome structure of *Proteus mirabilis* HI4320) (Kripke *et al.*, 1992).

Ce dimère entraîne :

- Une **distorsion de la double hélice** d'ADN ;
- Un **blocage de la polymérase ADN** durant la réplication ;
- Une **erreur de copie** si la cellule tente de répliquer malgré la lésion.

Chez *P. mirabilis*, la formation de ces dimères peut mener à des mutations stables si la réparation échoue, modifiant ainsi les traits physiologiques de la bactérie. (Genome structure of *Proteus mirabilis* HI4320)

II.4 Conséquences de ces dommages sur la survie bactérienne et l'activité métabolique

Lorsque *Proteus mirabilis* est exposé aux UV-C :

- **La viabilité cellulaire diminue** en fonction de la dose reçue. Un taux élevé de dimères non réparés entraîne la **mort cellulaire** ;
- **L'activité métabolique ralentit** ou s'arrête. La synthèse des protéines est affectée par l'arrêt de la transcription ;
- **Les fonctions vitales (réplication, division, mobilité)** sont altérées. Cela affecte la capacité de la bactérie à se multiplier ou à coloniser son environnement ;
- **La production de biofilm** peut être réduite ou modifiée, influençant la résistance aux stress extérieurs (Genome structure of *Proteus mirabilis* HI4320)

Cependant, certaines cellules peuvent **survivre** grâce à des mécanismes de réparation (comme la photo réactivation ou l'excision de nucléotides), et même devenir **plus résistantes** par mutation.

III. Courbe de destruction bactérienne

L'étude de la courbe de destruction bactérienne est essentielle pour comprendre la cinétique d'inactivation d'un micro-organisme sous l'effet d'un agent physique ou chimique. Dans le cas de l'irradiation UV, cela permet de quantifier l'efficacité des rayons UV-C à tuer *Proteus mirabilis*, une bactérie pathogène souvent impliquée dans les infections urinaires.

III.1 Principe de la courbe de destruction bactérienne : explication des concepts de D-value et Z-value

La courbe de destruction bactérienne représente la diminution du nombre de cellules viables en fonction du temps d'exposition aux UV (ou de la dose UV reçue). Elle est généralement exprimée en échelle semi-logarithmique (**Kim et al .,2019**).

D-value (valeur décimale) : c'est le temps d'exposition nécessaire pour réduire la population bactérienne de 90 %, soit d'un facteur 10. Par exemple, si une souche de *P. mirabilis* a une D-value de 30 secondes, cela signifie qu'il faut 30 secondes d'exposition aux UV pour réduire 100 000 cellules à 10 000.

- **Z-value** : c'est la variation de dose UV nécessaire pour modifier la D-value d'un facteur 10. Elle permet d'évaluer la sensibilité thermique ou lumineuse d'un micro-organisme **Dash et deka .,2021**.
- Ces deux valeurs sont cruciales pour déterminer l'efficacité des traitements UV dans les procédés de stérilisation ou de désinfection.

III.2 Facteurs influençant la courbe de destruction : intensité des rayons, durée d'exposition, densité bactérienne, type de milieu

Plusieurs facteurs influencent la forme et la pente de la courbe :

- **Intensité des UV-C (mW/cm^2)** : une intensité plus élevée accélère la destruction des bactéries ;
- **Durée d'exposition** : plus elle est longue, plus la dose reçue est élevée, augmentant l'effet létal ;
- **Densité bactérienne initiale** : une densité élevée peut entraîner une **protection mutuelle** des cellules (effet d'ombre), réduisant l'efficacité du rayonnement ;
- **Type de milieu** : les milieux liquides ou contenant des substances absorbant les UV (comme les protéines ou les pigments) peuvent atténuer la pénétration des rayons UV.

Chez *Proteus mirabilis*, connu pour sa capacité à former des biofilms ou à se regrouper, l'effet de densité cellulaire est particulièrement important. Les biofilms peuvent protéger les cellules internes, rendant la stérilisation plus difficile (Labadie *et al.*, 2021).

III.3 Études antérieures sur les courbes de destruction de bactéries sous irradiation UV

De nombreuses études ont évalué la sensibilité de différentes bactéries à l'irradiation UV. Pour *P. mirabilis*, les résultats indiquent généralement :

- Une bonne sensibilité aux UV-C, comparable à d'autres entérobactéries comme *Escherichia coli* ;
- Une D-value comprise entre 20 et 60 secondes, selon les conditions expérimentales ;
- Une résistance accrue en biofilm ou en présence de matière organique, ce qui limite l'efficacité des traitements UV dans les milieux complexes.

Ces données sont utilisées pour calibrer les dispositifs de stérilisation UV dans les hôpitaux, les laboratoires ou les systèmes de traitement des eaux usées (Oguadinma *et al.*, 2022).

IV. Méthodes de détection et d'évaluation des dommages induits par les UV

IV.1. Techniques pour évaluer la survie bactérienne après exposition aux UV

- **Comptage des colonies (CFU)** : après irradiation, les bactéries sont ensemencées sur gélose. Le nombre de colonies formées permet d'évaluer la survie.
- **Dilutions en série et culture en milieu liquide** : méthode quantitative pour détecter les bactéries viables, même en faibles concentrations.
- **Test de turbidité** : mesure indirecte de la croissance bactérienne, souvent utilisée pour estimer la densité cellulaire post-exposition (Cebrián *et al.*, 2016).
- **IV.2 Méthodes moléculaires pour mesurer les dommages à l'ADN**
- **PCR (réaction de polymérisation en chaîne)** : permet de détecter l'ADN endommagé ou non amplifiable après exposition aux UV.

- **Électrophorèse sur gel d'agarose** : met en évidence les cassures ou modifications dans l'ADN génomique.
- **Test de photo réactivation in vitro** : pour mesurer la capacité des cellules à réparer l'ADN via l'enzyme photolyase.

Ces méthodes sont utilisées pour établir la relation entre dose UV, dommages cellulaires et capacité de réparation. Chez *Proteus mirabilis*, elles permettent aussi d'explorer la résilience génétique face aux stress environnementaux.

IV.2.1 Méthodes de détection et d'évaluation des dommages induits par les UV

L'analyse des effets de l'irradiation UV sur les bactéries nécessite des méthodes précises permettant de mesurer à la fois la survie cellulaire et les dommages moléculaires, en particulier ceux portés à l'ADN. Chez *Proteus mirabilis*, ces méthodes permettent d'évaluer son degré de sensibilité aux UV-C ainsi que ses capacités de réparation.

IV.2.2 Techniques pour évaluer la survie bactérienne après exposition aux UV

Afin d'évaluer l'effet des rayons UV sur la viabilité de *Proteus mirabilis*, différentes méthodes peuvent être utilisées. Chacune possède ses spécificités, ses avantages et ses limites (tableau 8).

Le tableau 8 : suivant résume les principales méthodes d'évaluation de la viabilité bactérienne :

Méthode	Principe	Avantages	Inconvénients
Comptage des CFU	Colonies sur gélose	Précis, quantitatif	Long temps d'incubation
Turbidité	Opacité du milieu	Rapide	Peu précis
Test MTT / resurine	Réduction enzymatique	Donne une idée du métabolisme	Ne distingue pas les bactéries mortes

IV.2.2.1. Comptage des unités formant colonies (CFU)

C'est la méthode la plus utilisée pour quantifier la survie bactérienne. Elle consiste à :

- Irradier une suspension de *P. mirabilis* à différentes doses d'UV ;
- Réaliser des dilutions en série ;
- Ensemencer les échantillons sur gélose nutritive ;
- Incuber puis compter les colonies.

Le nombre de CFU est directement proportionnel au nombre de bactéries viables après traitement. Cela permet de tracer une courbe de survie et de déterminer les valeurs D.

IV.2.2.2 Mesure de la turbidité

Cette méthode est basée sur l'opacité du milieu de culture (ex. : bouillon nutritif). Une culture irradiée montrera une turbidité plus faible si la viabilité est réduite. Elle est rapide mais moins précise que le comptage des colonies.

IV.2.2.3 Tests colorimétriques (MTT, resazurine)

Ces tests évaluent l'**activité métabolique** des cellules. Par exemple, un test MTT met en évidence la capacité des cellules vivantes à réduire un sel tétrazolium en formazan violet. Une réduction de cette activité après UV reflète un stress métabolique ou une mortalité cellulaire.

IV.2.3. Méthodes moléculaires pour mesurer les dommages à l'ADN

Outre l'évaluation de la survie cellulaire, il est essentiel de mesurer les dommages directs causés à l'ADN par les rayons UV. Pour cela, plusieurs méthodes moléculaires sont utilisées afin de détecter et quantifier ces altérations (tableau 9).

Le tableau 9 :suivant résume trois techniques couramment utilisées dans la recherche microbiologique

Méthode	Ce qu'elle détecte	Utilité principale
Électrophorèse	Cassures de l'ADN	Visualiser les fragments
PCR	Blocage d'amplification	Détecter les dommages subtotaux
Photo réactivation	Réparation enzymatique	Tester les mécanismes de réparation

IV.2.3.1 Électrophorèse sur gel d'agarose

Après irradiation, l'ADN de *P. mirabilis* peut être extrait puis visualisé sur gel d'agarose. Cette méthode permet de détecter :

- Les **cassures simples ou doubles brins** ;
- Les **fragmentations** importantes ;
- La **formation de dimères de thymine** si accompagnée d'enzymes spécifiques.

L'ADN endommagé migre différemment sur le gel par rapport à l'ADN intact.

IV.2.3.2 PCR (Polymerase Chain Reaction)

La PCR permet d'amplifier des régions spécifiques de l'ADN. En présence de lésions causées par les UV :

- L'ADN polymérase peut produire des fragments incomplets ;
- La réduction ou l'absence d'amplification indique des dommages.
- être bloquée ou Cette méthode est utile pour quantifier les effets sublétaux des UV sur le génome de *Proteus mirabilis*.

IV.2.3.3 Tests enzymatiques de réparation (photolyase, excision)

On peut également tester l'activité des enzymes de réparation après irradiation :

- **Photo réactivation** : les cellules exposées aux UV sont ensuite placées à la lumière visible. Si les photolyases sont actives, elles réparent les dimères, ce qui peut être quantifié par la récupération de viabilité.
- **Tests d'excision nucléotidique** : permettent d'observer si *P. mirabilis* utilise ce mécanisme pour corriger les lésions UV.

Chapitre III

Matériel et méthodes

I. Matérielle et méthode

L'objectif de ce travail est d'exposer la souche choisie aux rayons ultraviolets pendant des périodes successives afin d'évaluer leur effet sur la survie bactérienne et sa capacité à développer une résistance à ces rayons, ainsi que la possibilité d'induire des mutations de résistance aux antibiotiques.

I.1 Problématique :

Les rayons ultraviolets sont des agents physiques qui agissent directement sur le matériel génétique des bactéries, pouvant entraîner leur mort ou induire des mutations modifiant leurs caractéristiques. Ils sont utilisés en laboratoire pour étudier les transformations génétiques possibles telles que la résistance aux antibiotiques. Quel est l'effet de ces rayons sur la survie bactérienne et l'émergence de mutations influençant leur sensibilité ou leur résistance aux antibiotiques ?

I.2 Origine des isolats

La souche utilisée dans ce travail a été obtenue au Laboratoire de Recherche "Microbiologie et Biologie Végétale" de l'Université de Mostaganem, où elle a été isolée puis purifiée avec soin avant son utilisation dans les différentes expérimentations. La souche sélectionnée est *Proteus mirabilis*.

Proteus mirabilis : code ATCC 53659

I.3 Lieux de travail :

Ce travail a été mené au Laboratoire de Recherche [Microbiologie et Biologie Végétale] Université de Mostaganem entre 06 /04/2025 et 25/06/2025 .

I.4 Les milieux de cultures :

I.4.1. Les milieux liquides :

Les milieux liquides sont des milieux de culture ne contenant pas de gélose, ce qui leur confère un état liquide. Ils peuvent être constitués soit de bouillons nutritifs à base de produits carnés ou protéiques, soit de solutions synthétiques riches, et sont couramment utilisés pour la culture de microorganismes en laboratoire. La croissance bactérienne dans ces milieux s'effectue généralement dans des tubes, des flacons ou des erlenmeyers, et est suivie par turbidimétrie : le milieu, initialement limpide, devient progressivement trouble à mesure que les bactéries se multiplient.

I.4.1.1. Le bouillon LB :

Le bouillon LB (Luria-Bertani), également appelé milieu LB, est un milieu nutritif liquide largement utilisé pour la culture bactérienne (NDM-1 chez *P. mirabilis* animal (Corée): génome de 4 Mb sans plasmide) Il présente les mêmes propriétés nutritives que le milieu solide LB, à la différence qu'il ne contient pas d'agar-agar, ce qui permet son utilisation sous forme liquide. Ce bouillon est généralement placé dans des tubes ou des flacons pour être stérilisé, puis utilisé lors des étapes de repiquage bactérien.

I.4.2. Les milieux solides :

Les milieux solides sont largement utilisés dans les laboratoires de microbiologie. Ils constituent un outil fondamental pour l'isolement des bactéries, l'étude des caractéristiques de leurs colonies et l'évaluation de leur pureté. Ces milieux sont préparés en dissolvant les composants dans de l'eau, en y ajoutant de l'agar, puis en chauffant le tout à 100°C pour obtenir une consistance liquide. Ensuite, le milieu est refroidi à 50°C avant d'être versé dans des boîtes de Pétri, ce qui permet la formation d'une surface solide et lisse, favorisant une croissance bactérienne visible et ordonnée.

I.4.2.1. Milieu Luria-Bertani (LB) :

Le milieu LB est un milieu non sélectif utilisé pour la culture d'une grande variété de souches bactériennes, y compris *Proteus mirabilis*, en raison de sa richesse en nutriments.

Il permet de différencier certaines espèces bactériennes selon l'aspect de leurs colonies : *Klebsiella pneumoniae* forme des colonies jaunes, tandis que *Staphylococcus aureus* produit des colonies blanches. Ce milieu favorise la croissance des bactéries autotrophes ainsi que des bactéries auxotrophes.

I.4.2.2. Milieu minimum :

Le milieu minimum, ou milieu défini, est composé uniquement de sels minéraux et d'éléments chimiques essentiels nécessaires à la croissance de certaines bactéries. En raison de sa pauvreté en nutriments, seules les bactéries autotrophes peuvent s'y développer, telles que *Klebsiella pneumoniae* et certaines souches résistantes de *Proteus mirabilis*.

Ce milieu est caractérisé par sa transparence et est souvent utilisé pour tester la capacité des bactéries à survivre dans des conditions nutritives limitées.

I.5. Technique d'étude

I.5.1. L'ensemencement :

1. La méthode d'ensemencement se déroule comme suit : des milieux LB sont préparés en surfusion à 45°C, puis versés dans des boîtes de Pétri et laissés refroidir. Chaque boîte est ensuite ensemencée en quadrant à l'aide d'une anse de platine, avec une goutte de la solution mère préalablement préparée. Une fois ensemencées, les boîtes sont placées en incubation aérobie à 37°C pendant 24 heures. (Figures 8 et 9).

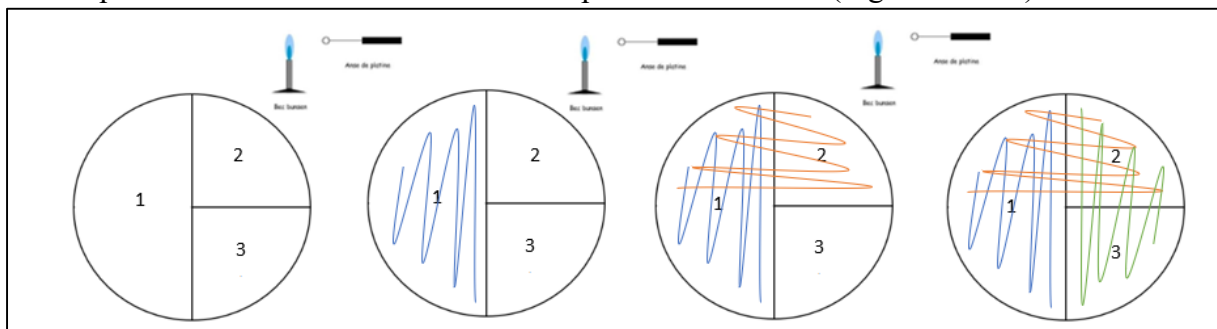


Figure 08 : La méthode d'ensemencement

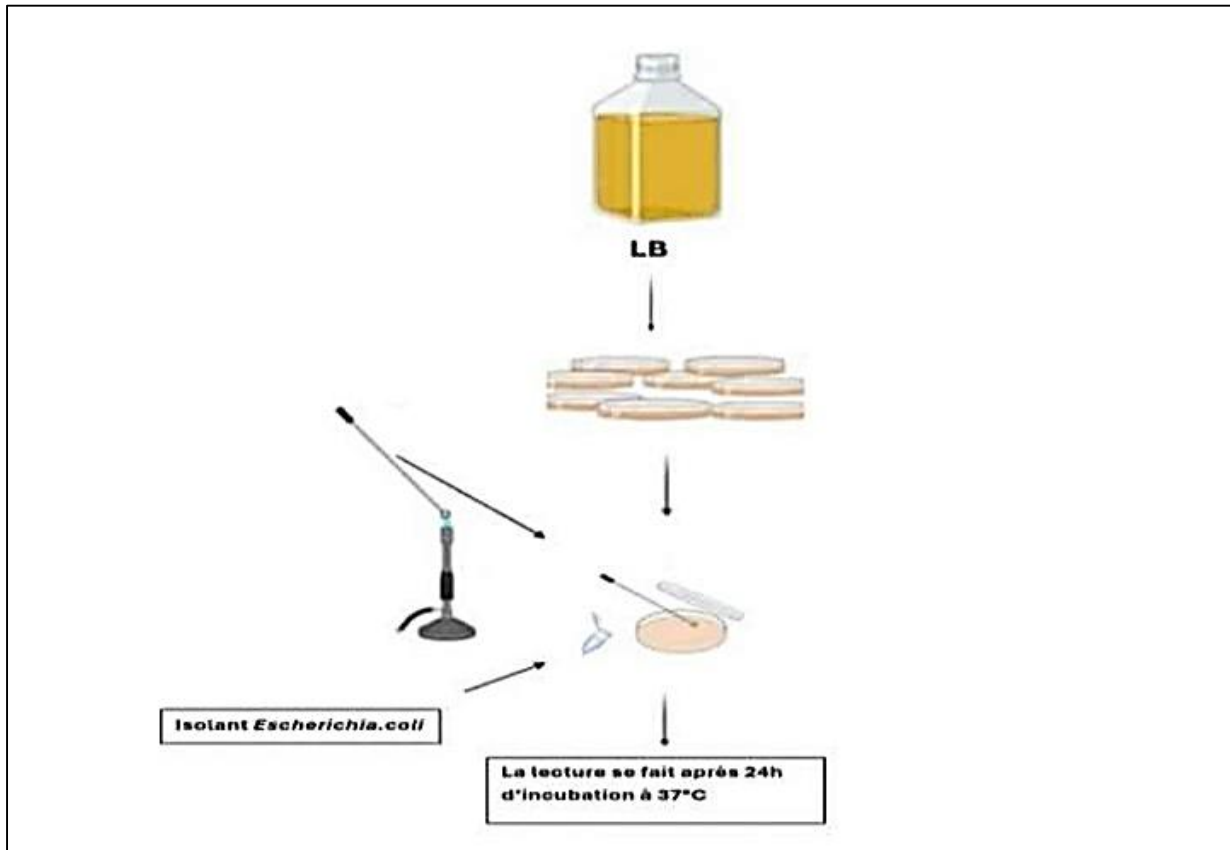
L'ensemencement :

Figure 09 : Schéma l'ensemencement de *Proteus mirabilis*

I.5.2 Le repiquage :

Le repiquage des colonies est une méthode efficace pour isoler et cultiver les micro-organismes de manière sélective, en transférant une seule colonie dans un nouveau milieu nutritif stérile. Cette technique est utilisée pour étudier les caractéristiques des micro-organismes et les préparer à des expériences ultérieures ou à des applications en biotechnologie.

Dans des conditions stériles, et à l'aide d'un bec Bunsen, une anse de platine est stérilisée en la passant à travers la flamme, puis utilisée pour transférer une colonie isolée de la souche *Proteus mirabilis* dans un flacon contenant du bouillon LB liquide stérile. Ensuite, le flacon est placé dans un incubateur orbital à 37 °C, à une vitesse de 160 tours par minute, pendant 24 heures. (Figure 10).

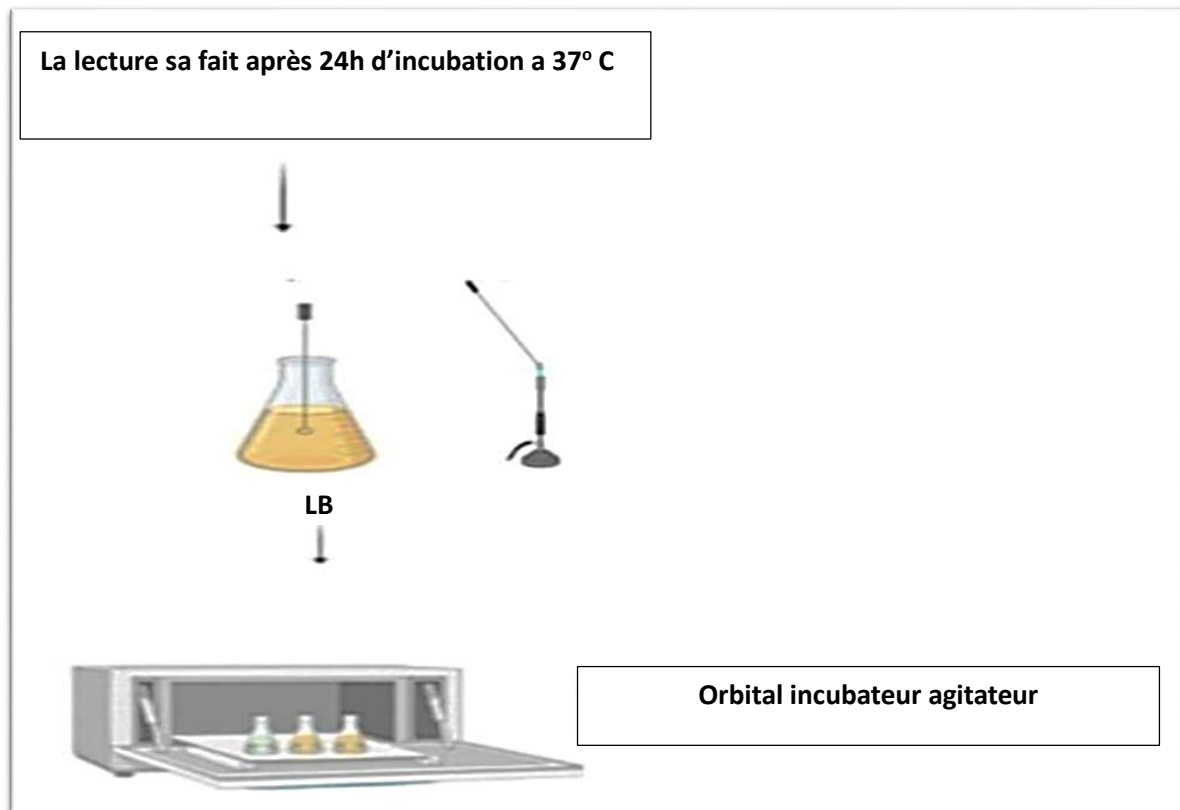


Figure 10 : schéma de repiquage des colonies

I.5.3 Exposition aux rayons UV :

Les rayons ultraviolets (UV) représentent un agent physique efficace pour induire des mutations génétiques chez les micro-organismes, en provoquant des dommages à l'ADN, ce qui perturbe le processus de réplication cellulaire. En absence d'agents mutagènes chimiques, ces rayons sont utilisés comme alternative pour induire la mutagenèse, comme c'est le cas dans cette expérience sur la souche *Proteus mirabilis*.

Les rayons UV sont une forme de rayonnement électromagnétique similaire à la lumière visible, mais avec une longueur d'onde plus courte, ce qui les rend invisibles à l'œil humain et plus capables d'interagir avec le matériel génétique.

Après avoir mesuré la concentration microbienne dans la suspension d'origine, l'échantillon est réparti dans cinq tubes d'essai, chacun contenant 10 ml de la suspension. Le contenu de chaque tube est ensuite transféré dans une boîte de Pétri vide, puis exposé individuellement aux rayons UV à une distance fixe de 10 cm de la source lumineuse, et cela pendant les durées suivantes :

t = 0 seconde, t = 30 secondes, t = 45 secondes, t = 60 secondes, t = 75 secondes.

Afin d'éviter toute exposition involontaire à la lumière, les tubes sont enveloppés dans du papier aluminium tout au long de la préparation et de l'expérimentation, sauf au moment de l'exposition aux UV.

I.5.4. Dilutions décimales et étalement après exposition aux rayons ultraviolets (UV) ;

Le tube correspondant au temps $t = 0$ seconde, contenant 10 ml de la suspension de *Proteus mirabilis* après exposition aux UV, a été prélevé. Ensuite, six tubes ont été préparés, chacun contenant 9 ml d'eau distillée stérile.

À l'aide d'une micropipette stérile, 1 ml du tube initial ($t = 0s$) a été transféré dans le premier tube de dilution (-1), puis 1 ml de ce dernier a été transféré dans le tube suivant (-2), et ainsi de suite jusqu'au tube final (-6).

Les mêmes étapes de dilution ont été appliquées pour chaque tube correspondant aux temps suivants :

$t = 0s, t = 30s, t = 45s, t = 60s, t = 75s,$

De manière à effectuer une série de dilutions décimales séparées pour chaque durée d'exposition. (Figures 11 et 12).

Tableau 10 : des dilutions en fonction du temps d'exposition

Temp « s »	Tube 01	Tube 02	Tube 03	Tube 04	Tube 05	Tube 06
0	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}
30	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	
45	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}		
60	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}			
75	10^{-1}	10^{-2}				

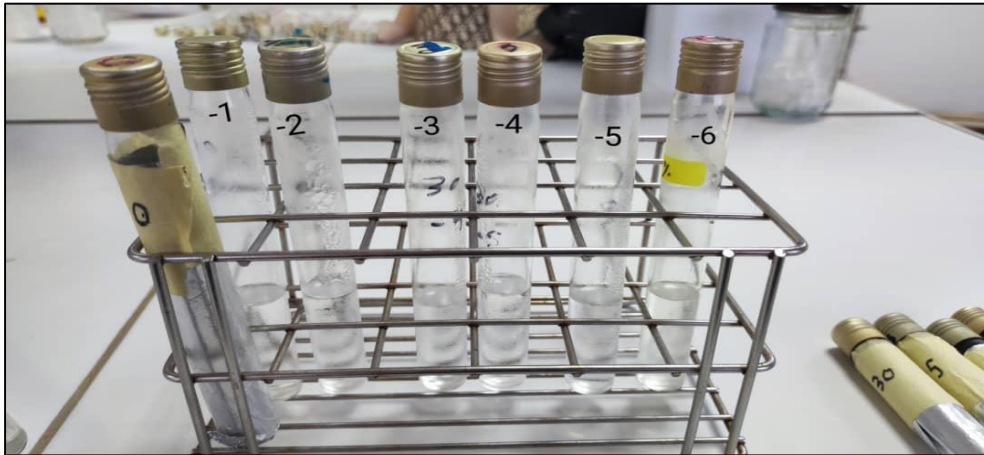


Figure 11 : les tubes de dilution de *Proteus mirabilis* après l'irradiation UV .

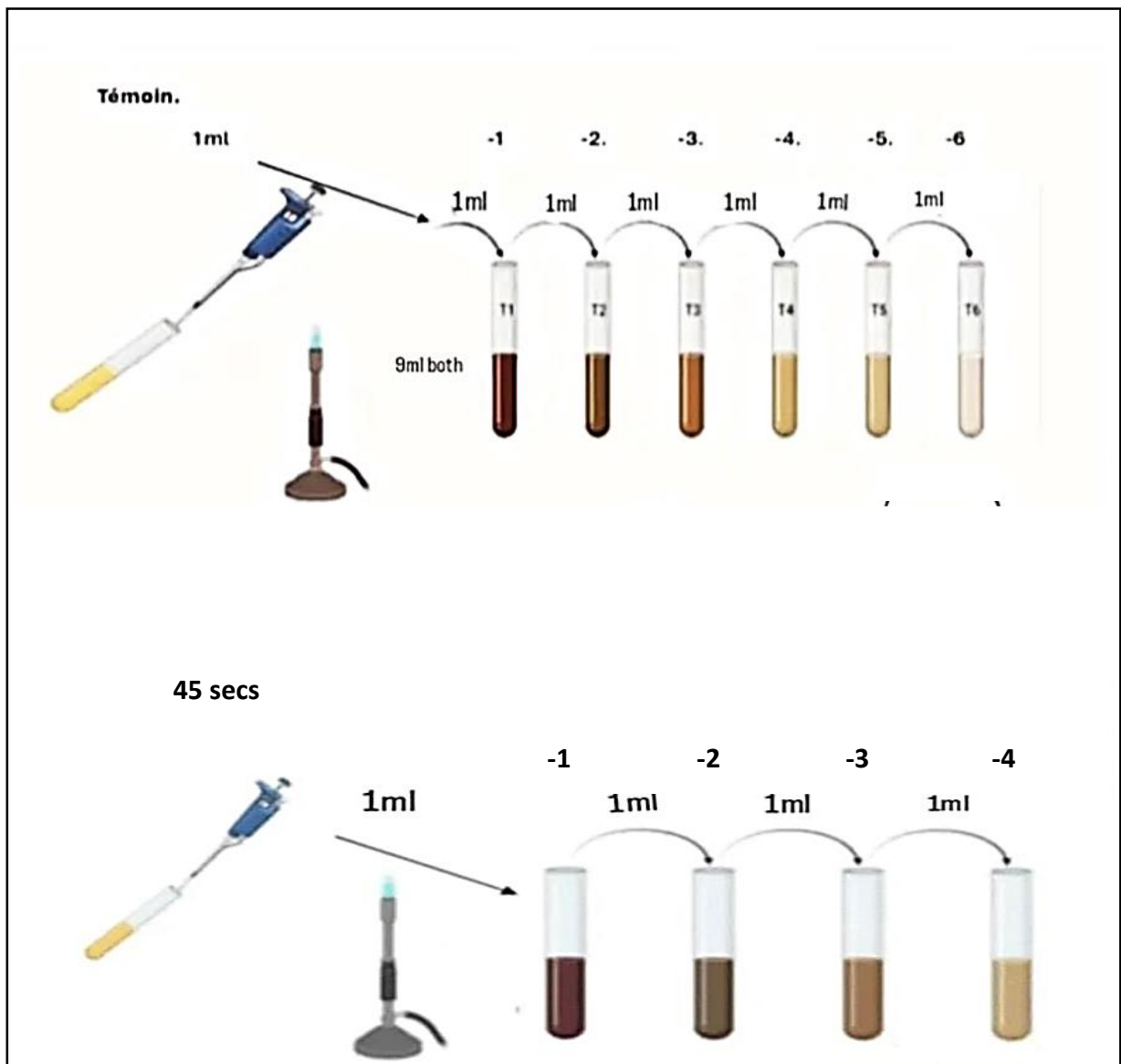


Figure 12 : protocole de dilution décimale

Après dilution, 250 µl ont été prélevés des tubes (les deux dernières dilutions) de chaque série et étalés sur la surface d'un milieu LB solide dans des boîtes de Pétri stériles.

L'étalement a été réalisé à l'aide d'une pipette Pasteur, dont l'extrémité a été modifiée en forme de râteau puis stérilisée à la flamme d'un bec Bunsen.

Les boîtes ont ensuite été incubées à 37°C pendant 48 heures, après quoi le nombre de colonies a été compté et exprimé en UFC/ml (Unités Formant Colonie par millilitre), afin d'évaluer la viabilité de *Proteus mirabilis* après différentes durées d'exposition aux UV. (Figure 13).

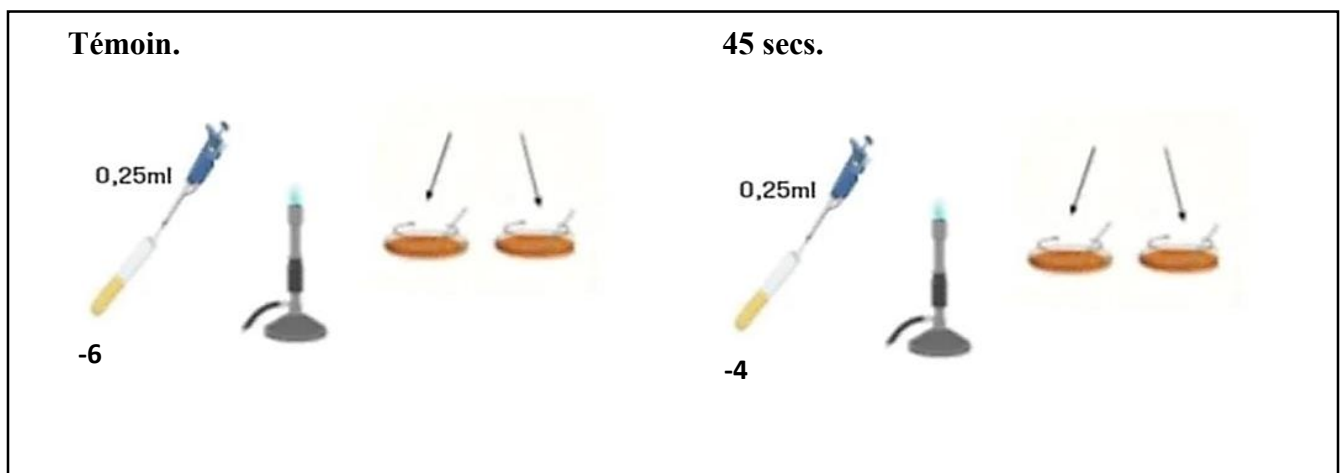


Figure 13 : Protocole d'étalement

I.5.5 Antibiogramme :

Nous avons testé la sensibilité de *Proteus mirabilis* à un seul antibiotique, l'ampicilline, à travers deux expériences de laboratoire comme suit :

Première expérience :

Nous avons préparé 180 ml de milieu liquide LB, puis ajouté un volume calculé d'ampicilline (la concentration de la solution mère et de 50 mg/ml) afin d'obtenir une concentration finale de 50 µg/ml dans le milieu.

Pour calculer le volume nécessaire d'ampicilline, nous avons utilisé la relation :

$$V1 = C2 \times V2 / C1$$

Où :

C1 = 50 mg/ml : concentration de la solution mère.

V1 : volume à ajouter (inconnu).

C2 = 0,05 mg/ml = 50 µg/ml : concentration finale souhaitée.

$V_2 = 180 \text{ ml}$: volume total du milieu.

En remplaçant :

$$V_1 = (0,05 \times 180) / 50 = 0,18 \text{ ml} = 180 \mu\text{l}$$

Ainsi, nous avons ajouté 180 μl de la solution mère d'ampicilline de façon aseptique au milieu LB.

Nous avons préparé deux boîtes : l'une contenant seulement le milieu LB (témoin) et l'autre contenant le milieu LB supplémenté avec l'antibiotique. Après solidification du milieu, nous avons ajouté 0,25 ml de la suspension bactérienne (après repiquage) et réparti uniformément à la surface à l'aide d'une pipette Pasteur en effectuant un étalement en quadrillage. Les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24 heures. (Figure 14).

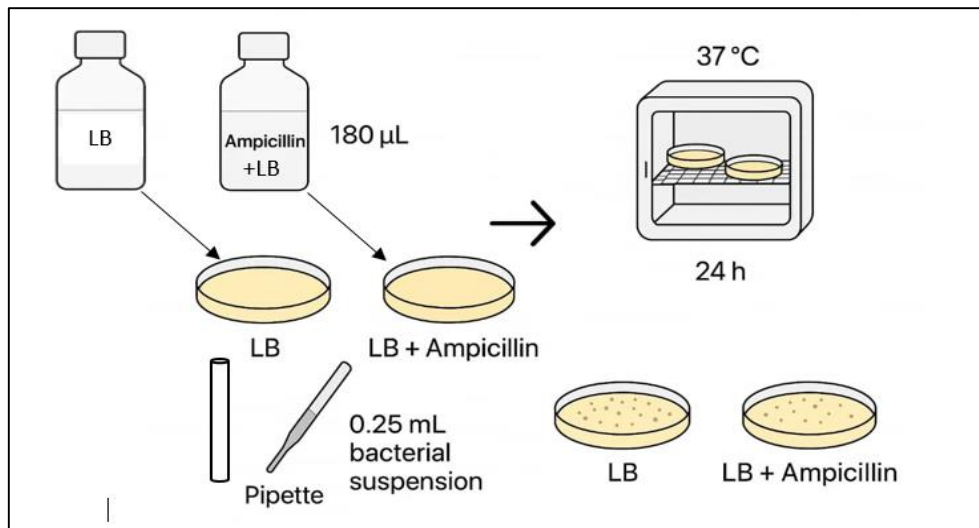


Figure 14 : Protocole de la première expérience de l'antibiogramme.

Dans une autre expérience nous avons préparé le milieu LB supplémenté avec l'antibiotique de la même manière que précédemment, puis nous l'avons versé dans des boîtes de Pétri et laissé solidifier. Ensuite, nous avons pris la suspension bactérienne (après repiquage) et nous l'avons exposée aux rayons ultraviolets UV pendant 45 secondes et 60 secondes. Nous avons ensuite ensemencé 0,25 ml de chaque suspension bactérienne sur le milieu LB + antibiotique, en répartissant uniformément à l'aide d'une pipette Pasteur par étalement en quadrillage. Les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24 heures (Figure 15).

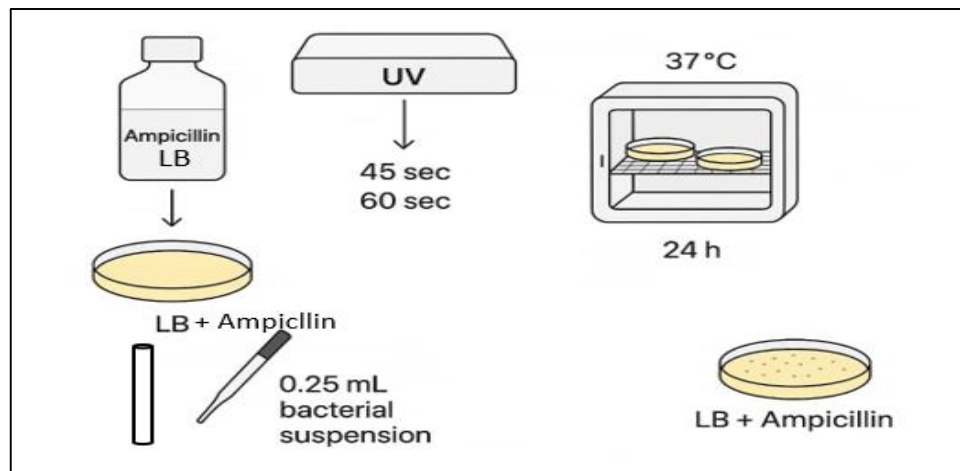


Figure 15 : Protocole de la deuxième expérience de l'antibiogramme.

I.5.6. Sélection des colonies mutantes

La suspension bactérienne a été exposée aux rayons ultraviolets (UV) pendant des durées de 45 secondes et 60 secondes. Immédiatement après l'exposition, un volume de 0,25 ml de chaque suspension traitée a étéensemencé sur des milieux LB contenant l'antibiotique.

L'objectif de cette expérience était de vérifier la possibilité d'apparition de mutations dans le génome bactérien conférant une résistance à l'antibiotique, ainsi que de comparer la capacité de croissance après exposition avec les résultats obtenus lors de la première expérience.

De plus, c'était prévu de collecter les colonies obtenues (en cas d'apparition) afin de les arranger en lignes et constituer une boîte maîtresse (Master Plate), et de l'utiliser ultérieurement selon la méthode des répliques ou empreintes de Lederberg (Lederberg's Replica Plating), qui consiste à transférer une empreinte depuis une boîte contenant des colonies cultivées sur milieu LB vers une nouvelle boîte contenant un milieu minimum (MM) dépourvu de certains nutriments, dans le but d'identifier les colonies capables de croître dans des conditions sélectives. Cependant, les résultats obtenus sur le milieu LB additionné de l'antibiotique n'ont pas permis de poursuivre cette étape du travail.

II. Résultat

II.1 Aspect macroscopique

Dans le milieu Luria Bertani (LB), les colonies de *Proteus mirabilis* apparaissent blanchâtres à grisâtres, de grande taille, et se caractérisent par un phénomène de swarming qui recouvre progressivement toute la surface du milieu. (Figure 16).

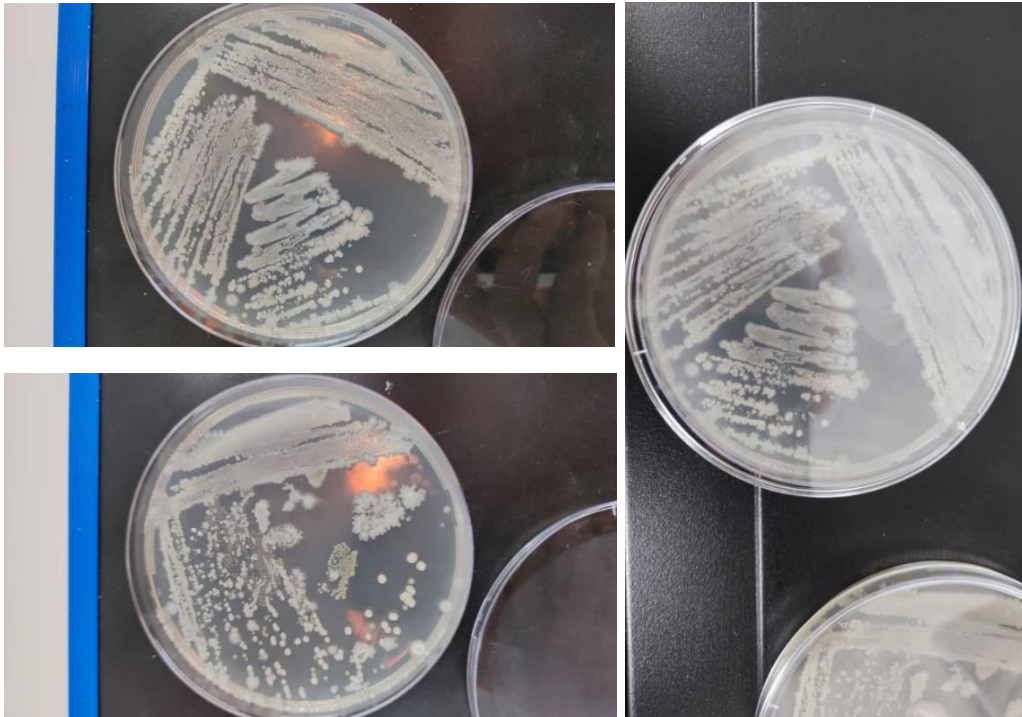


Figure 16: Aspect macroscopique des colonies *Proteus mirabilis* sur LB.

II.2. Résultats de la mutagenèse :

Après avoir exposé les isolats de *Proteus mirabilis* aux rayons ultraviolets pendant des durées variables (0, 30, 45, 60 et 75 secondes), puis les avoir incubés dans l'étuve pendant 24 heures à 37 °C, les résultats obtenus sont présentés dans les figures (...).

Les dilutions en série ont été réalisées immédiatement après chaque temps d'exposition, puis un volume précis de 0,25 ml de chaque échantillon a été réparti sur le milieu Luria Bertani (LB) afin de permettre la croissance des colonies.

Il convient de noter que la quantité exacte de rayonnement reçue par les cellules n'a pas pu être déterminée, en raison de l'absence d'un dispositif de surveillance de l'intensité des UV durant l'expérience. (Figures 17 et 18).

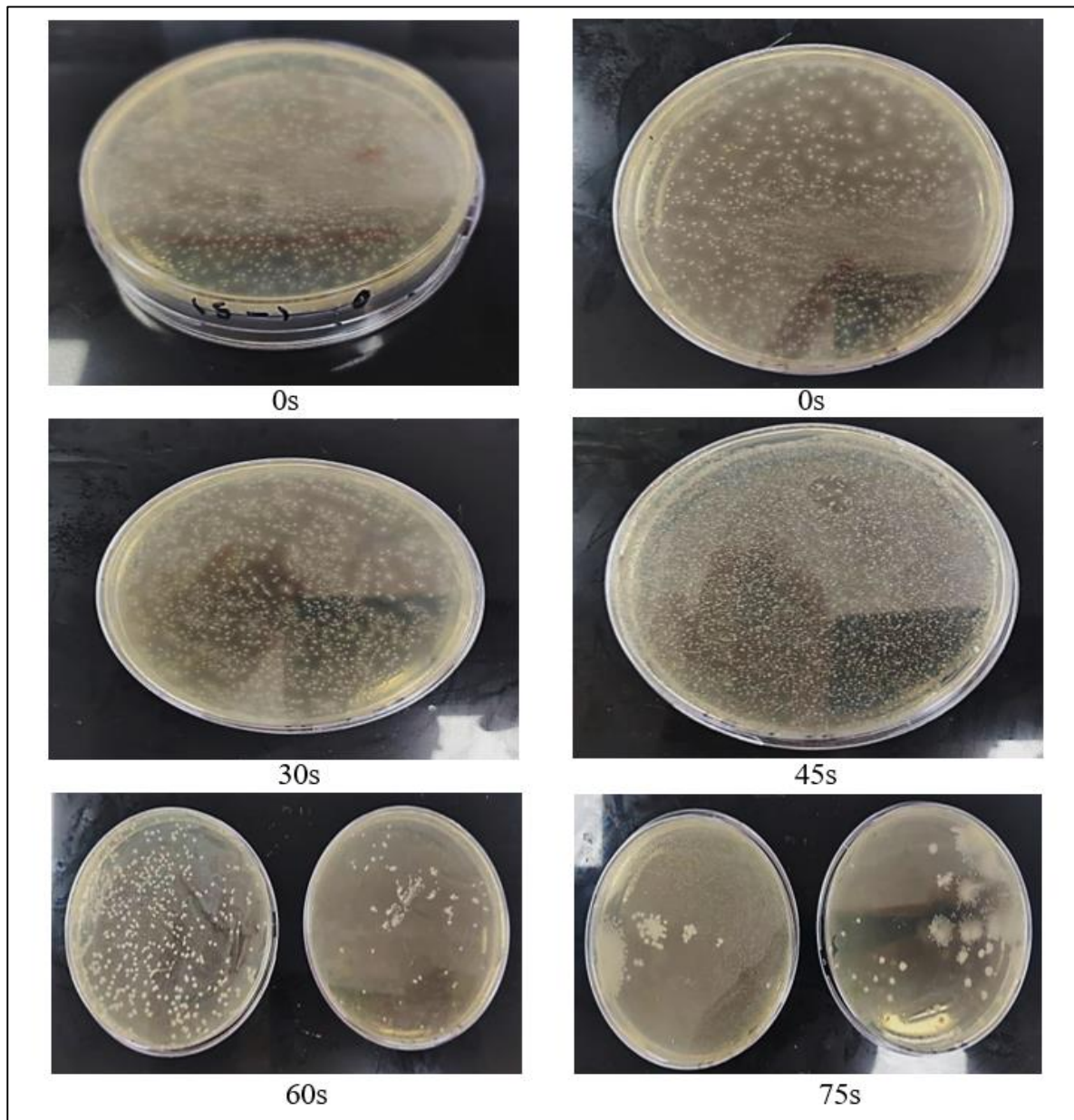


Figure 17: Croissance bactérienne *Proteus mirabilis* après l'irradiation par UV a différentes doses et dilutions.

Nous avons ensuite procédé au comptage des colonies dans chaque boîte en utilisant un stylo, en marquant un point sur chaque colonie afin de faciliter le dénombrement. Sur la base de ces données, nous avons établi un tableau représentant le nombre de colonies observées dans chaque boîte en fonction des différentes durées d'exposition aux rayons UV. (Tableau 11)

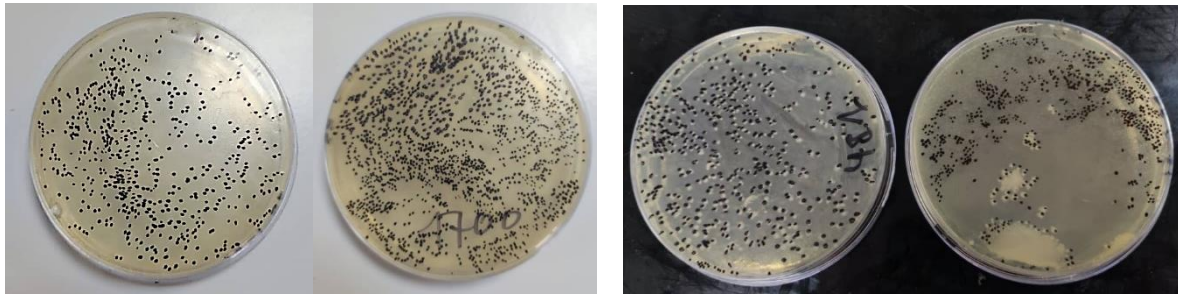


Figure 18: Comptage des colonies bactériennes sur milieu LB.

Tableau 11: Nombre de colonies de *Proteus mirabilis* en fonction des dilutions et des durées d'exposition aux rayons UV.

Période sous UV	0 _s		30 _s		45 _s		60 _s		75 _s	
Dilution	-5	-6	-4	-5	-3	-4	-2	-3	-1	-2
Nombre des colonies	1720	616	1700	720	2100	3070	510	366	323	193
	172000000	616000000	17000000	72000000	2100000	30700000	51000	366000	3230	19300

Tableau 12: Taux de survie (%) de *Proteus mirabilis* en fonction de la durée d'exposition aux rayons UV

time s	0	30	45	60	75
CFU	172000000	17000000	2100000	51000	3230
	616000000	72000000	30700000	366000	19300
rate of survival (%)	100	9.88372093	1.22093023	0.02965116	0.00187791
rate of survival (%)	100	11.6883117	4.98376623	0.05941558	0.00313312

Après comparaison des boîtes de *Proteus mirabilis* irradiées avec la boîte témoin et une incubation de 24 heures à 37 °C, il a été observé que les boîtes exposées pendant des durées courtes présentaient un nombre plus élevé de colonies, tandis que la boîte soumise à une exposition de 75 secondes montrait une diminution nette de la densité coloniale. (**Figure 19**)

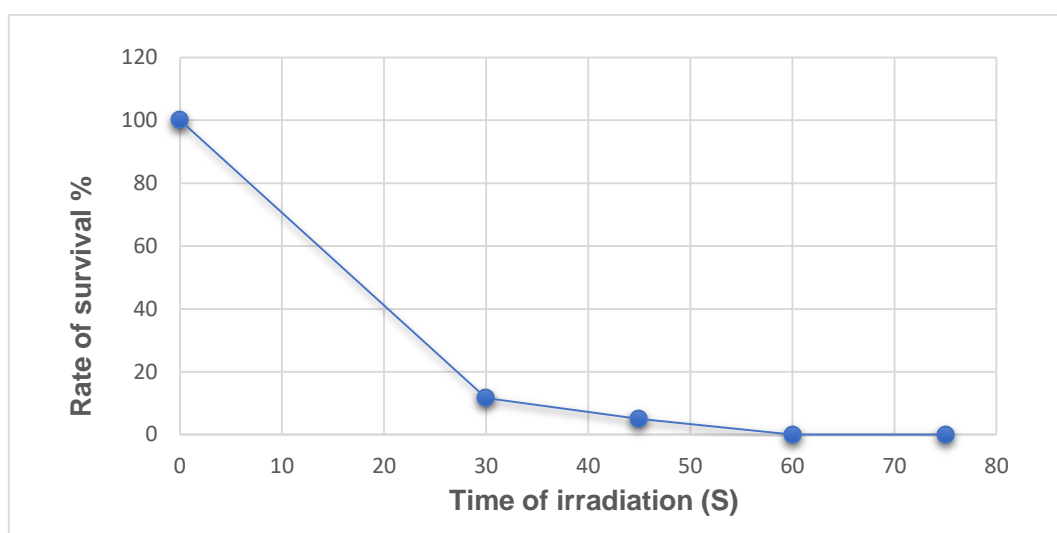


Figure 19 : Variation du taux de survie (%) de *Proteus mirabilis* en fonction du temps d'exposition aux UV

Selon ce qui est représenté dans le graphe, le taux de survie de *Proteus mirabilis* diminue de façon drastique avec l'augmentation du temps d'exposition aux UV, pour atteindre presque zéro après 75 secondes d'irradiation. Cela démontre que l'augmentation de la durée d'exposition aux UV entraîne une réduction significative de la survie bactérienne. Ainsi, on peut conclure que *Proteus mirabilis* manifeste une sensibilité élevée aux rayonnements ultraviolets et que sa survie après irradiation dépend directement de la durée d'exposition

II.2.1 Interprétation des résultats :

D'après le tableau et le graphe, il apparaît qu'il existe une relation inverse claire entre la durée d'exposition aux rayons ultraviolets et la survie de *Proteus mirabilis*. Dès les premières 30 secondes, le nombre de colonies commence à diminuer de façon significative, puis il se réduit progressivement et fortement à 45 et 60 secondes, pour atteindre des niveaux presque nuls après 75 secondes. Cette diminution rapide de la densité coloniale montre que la bactérie est très sensible aux rayons UV, en raison des dommages causés à l'ADN tels que la formation de dimères de pyrimidine et l'inactivation des mécanismes de réparation génétique. Ainsi, l'effet des UV ne se limite pas seulement à la destruction des cellules, mais peut également provoquer des modifications génétiques (mutations) dans le génome bactérien chez certaines cellules survivantes.

II.3. Résultats d'antibiogramme :

Dans le but d'évaluer la sensibilité de la bactérie *Proteus mirabilis* à l'antibiotique ampicilline, ainsi que d'étudier l'effet des rayons ultraviolets (UV) sur la possibilité d'apparition de mutations résistantes, nous avons réalisé une série d'expériences sur cette souche bactérienne.

Lors de la première expérience, *Proteus mirabilis* a étéensemencée sur un milieu nutritif de type LB, ainsi que sur un autre milieu supplémenté en ampicilline. Après incubation à 37°C pendant 24 heures, une croissance normale et abondante des colonies a été observée sur le

milieu LB, tandis qu'aucune croissance n'a été détectée sur le milieu contenant de l'ampicilline, ce qui indique une sensibilité marquée de la bactérie à cet antibiotique (Figure 20).

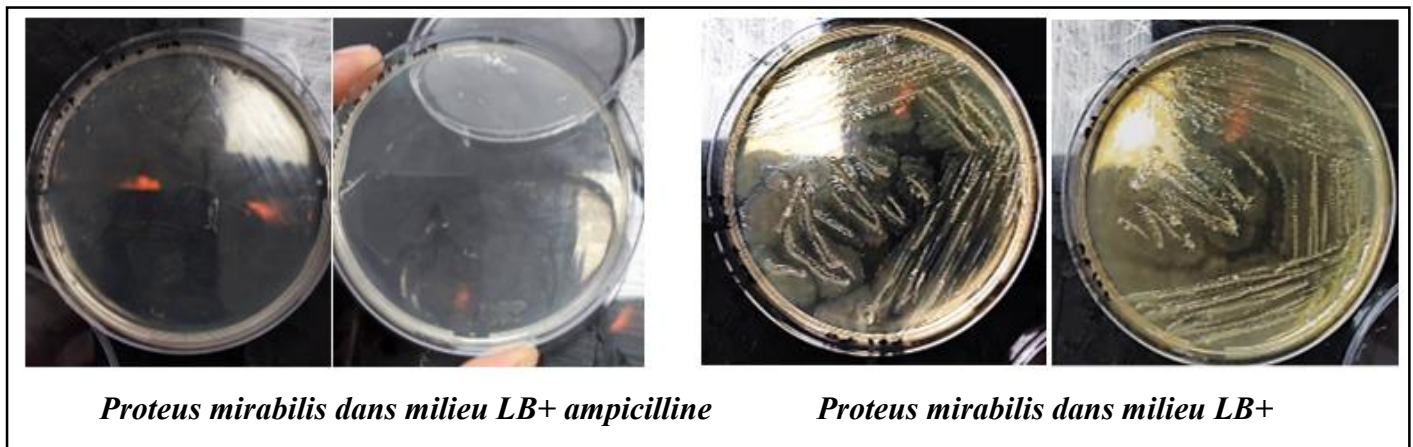


Figure 20 : Différence de croissance bactérienne entre le milieu LB et le milieu LB + ampicilline.

Dans la deuxième expérience, la suspension bactérienne a été exposée aux rayons ultraviolets (UV) pendant 45 secondes et 60 secondes, puis 0,25 ml de chaque suspension ont été ensemencés sur un milieu LB + ampicilline. Après incubation à 37°C pendant 24 heures, aucune croissance de *Proteus mirabilis* n'a été enregistrée, ni après 45 secondes ni après 60 secondes d'exposition (Figure 21).

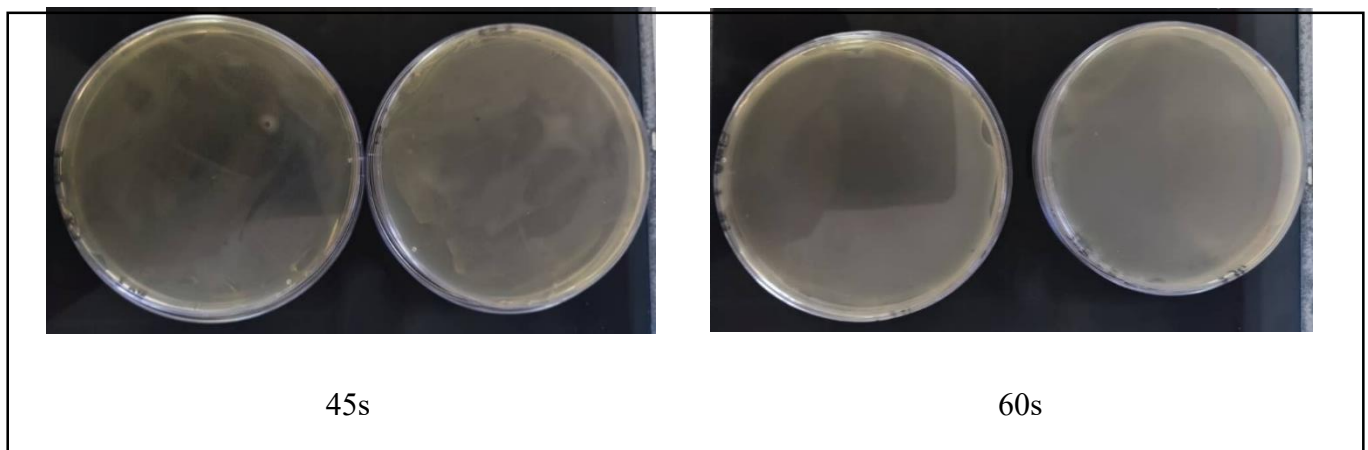


Figure 21: Croissance bactérienne de *Proteus mirabilis* dans le milieu LB + ampicilline après exposition aux UV (45 s et 60 s)

II.3.1 Interprétation

Ces résultats montrent clairement que *Proteus mirabilis* est sensible à l'ampicilline, puisqu'aucune croissance n'a été observée en sa présence, que ce soit avant ou après l'exposition aux rayons UV. D'un point de vue scientifique, on peut expliquer cela par le fait que les rayons UV n'ont probablement pas induit de mutations conférant une résistance à

l'antibiotique, mais qu'ils ont peut-être provoqué des dommages supplémentaires au niveau du matériel génétique, renforçant ainsi l'inhibition de la croissance bactérienne. En raison de l'absence de croissance, il n'a pas été possible de poursuivre la deuxième partie de l'expérience, qui consistait à collecter les colonies et à appliquer la technique de Replica Plating, ce qui confirme la sensibilité marquée de la souche à l'ampicilline.

Remarque

Ces deux expériences ont été répétées environ six fois afin de confirmer la fiabilité et la validité des résultats obtenus, ce qui renforce la crédibilité des conclusions tirées

Discussion

Dans ce travail, nous avons montré que l'exposition de *Proteus mirabilis* aux rayons ultraviolets entraîne une diminution progressive et nette de la survie bactérienne. Dès les premières secondes de traitement, le nombre de colonies décroît, et après 75 secondes l'irradiation provoque une mortalité quasi totale. après exposition aux rayons ultraviolets, avec une mortalité quasi totale au-delà de 75 secondes. Ce comportement traduit l'action germicide bien connue des UV, qui agissent principalement en endommageant l'ADN. Le mécanisme le plus documenté est la formation de **dimères de pyrimidine**, en particulier de thymine, qui perturbent la réplication et la transcription (Setlow, 1974).

Lorsque ces altérations dépassent la capacité de réparation cellulaire, notamment par photoréactivation ou par excision de nucléotides, elles entraînent l'arrêt de la division et la mort de la cellule (Friedberg et al., 2006). Ces résultats confirment que cette bactérie est hautement sensible aux UV, ce qui est en accord avec les travaux anciens de Eisenstark et al. (1975) qui ont rapporté que *P. mirabilis* présente une survie réduite après exposition aux UV, en raison de la formation de dimères de pyrimidine et de l'efficacité limitée de ses systèmes de réparation de l'ADN. De plus, Greener & Hill (1979) ont montré que certains plasmides pouvaient améliorer la tolérance aux UV et induire une mutagenèse, mais dans notre cas aucune réactivation n'a été observée, ce qui suggère l'absence de tels plasmides protecteurs dans la souche étudiée. De plus, Rastogi et al. (2010) rappellent que l'effet létal dépend non seulement de la durée, mais aussi de la longueur d'onde et de l'intensité du rayonnement. L'absence dans notre protocole d'un dispositif de mesure précise de l'intensité constitue donc une limite, car il devient difficile de comparer quantitativement nos résultats à ceux rapportés dans la littérature.

Il est intéressant de noter que, malgré leur action létale, les UV peuvent aussi induire des mutations viables dans une fraction minoritaire des cellules survivantes, ce qui a été largement exploité en microbiologie pour étudier la mutagenèse et la résistance aux antibiotiques (Jagger, 1967). Dans notre étude, aucune mutation stable n'a été observée, ce qui suggère que la durée et les conditions d'irradiation appliquées favorisent davantage l'effet létal que l'effet mutagène.

Dans ce contexte, nos résultats montrent qu'après 45 et 60 secondes d'irradiation aucune colonie résistante à l'ampicilline n'a pu être détectée. Ceci indique que les dommages causés par les UV ont été majoritairement létaux, ne permettant pas la fixation de mutations viables. Ce constat rejoint l'idée avancée par Greener & Hill (1979), selon laquelle l'équilibre entre létalité et mutagenèse est déterminant : des doses trop élevées d'UV entraînent la mort cellulaire avant toute émergence de mutants.

L'antibiogramme réalisé a mis en évidence une sensibilité marquée de *Proteus mirabilis* à l'ampicilline. La souche étudiée n'a montré aucune croissance sur milieu supplémenté en antibiotique, aussi bien avant qu'après l'exposition aux UV. Ces observations sont cohérentes avec les travaux cliniques de Rozalski et al. (2012), qui ont décrit que malgré l'émergence de souches multirésistantes dans les hôpitaux, un nombre important d'isolats de *P. mirabilis* demeure sensible aux aminopénicillines. Dans notre cas, l'absence de croissance

confirme que la souche testée ne possède pas de plasmide codant pour une β -lactamase capable d'inactiver l'ampicilline.

Cette étude met en évidence que *Proteus mirabilis* est hautement sensible à la fois aux rayons UV et à l'ampicilline, et que les conditions appliquées n'ont pas permis d'induire de mutants résistants. Ces résultats sont en accord avec les données de la littérature et ouvrent la voie à des perspectives futures, notamment en ajustant les durées d'irradiation afin d'explorer plus précisément le potentiel mutagène des UV sur cette espèce bactérienne.

Enfin, ces résultats ouvrent des perspectives d'application : les UV pourraient être utilisés comme méthode de stérilisation efficace contre *P. mirabilis* en laboratoire et dans les environnements cliniques, à condition d'optimiser les doses et les temps d'exposition. Des travaux futurs devraient intégrer un suivi précis de l'intensité lumineuse, tester différentes longueurs d'onde (UV-A, UV-B, UV-C), et comparer la sensibilité de plusieurs espèces bactériennes afin de mieux comprendre les différences de tolérance observées.

Conclusion

Conclusion

Les rayons ultraviolets (UV) constituent une méthode physique efficace capable d'inactiver les bactéries pathogènes. Dans ce travail, nous avons étudié l'effet des rayons UV sur *Proteus mirabilis* en évaluant sa survie, sa sensibilité à l'ampicilline et la possibilité d'apparition de mutants résistants.

Les résultats obtenus ont montré une diminution nette et progressive du nombre de colonies viables dès les premières secondes d'exposition, avec une survie presque nulle après 75 secondes. Cette sensibilité élevée est liée aux dommages causés à l'ADN, notamment la formation de dimères de pyrimidine, entraînant des altérations irréversibles des mécanismes de réparation génétique.

Par ailleurs, les tests d'antibiogramme ont révélé que *Proteus mirabilis* demeure sensible à l'ampicilline, et qu'aucune mutation conférant une résistance n'a été détectée après l'exposition aux UV. De plus, la tentative de sélection de mutants n'a montré aucune croissance sur milieux sélectifs, confirmant l'absence de variants résistants dans les conditions expérimentales appliquées.

En conclusion, cette étude met en évidence l'efficacité des rayons UV comme agent antimicrobien puissant contre *Proteus mirabilis*, et souligne leur potentiel d'utilisation dans la réduction des bactéries pathogènes. Elle démontre également que, bien que les UV puissent induire des dommages génétiques, leur impact ne favorise pas forcément l'émergence de souches résistantes aux antibiotiques, renforçant ainsi leur intérêt comme outil de désinfection et de stérilisation.

Références bibliographiques

Liste des références :

• Liste des références :

A

- **Algammal**, A. M., Hashem, H. R., Alfifi, K. J., Hetta, H., Sheraba, N., Ramadan, H., & El-Tarabili, R. (2021). atpD gene sequencing, multidrug resistance traits, virulence determinants, and antimicrobial resistance genes of emerging XDR and MDR *Proteus mirabilis*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *11*, 686510.

B

- **Bankier**, C., Cheong, Y., Mahalingam, S., Edirisinghe, M., & Ren, G. (2018). A rapid method to assess bacterial viability and membrane integrity using flow cytometry. *Scientific Reports*, *8*(1), 16329.
- **Barer**, M. R., & Harwood, C. R. (1999). Bacterial viability and culturability. *Advances in Microbial Physiology*, *41*, 93–137
- **Bedenić**, B., Pospíšil, M., Nađ, M., & Bandić Pavlović, D. (2025). Evolution of β -lactam antibiotic resistance in *Proteus* species: From extended-spectrum and plasmid-mediated AmpC β -lactamases to carbapenemases. *Antibiotics*, *14*(3), 215.
- **Belas**, R., Erskine, D., & Flaherty, D. (1991). *Proteus mirabilis* mutants defective in swarmer cell differentiation and multicellular behavior. *Journal of Bacteriology*, *173*(19), 6279–6288.

C

- **Cebrián**, G., Mañas, P., & Condón, S. (2016). Comparative resistance of bacterial foodborne pathogens to non-thermal technologies for food preservation. *Frontiers in Microbiology*, *7*, 734
- **Chakkour**, M., Hammoud, Z. M., Farhat, S., El Roz, A., Ezzeddine, Z., & Ghssein, G. (2024). Overview of *Proteus mirabilis* pathogenicity and virulence: Insights into the role of metals. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *15*, 1383618.
- CLSI. (2018). *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically* (11th ed.). Clinical and Laboratory Standards Institute.
- **Czerwonka**, G., Gmitter, D., & Durlík-Popińska, K. (2021). Draft genome of *Proteus mirabilis* serogroup O18 elaborating phosphocholine-decorated O antigen. *Genes*, *12*(4), 498.

D

- **Dash**, K., & Deka, P. (2021). *Thermal processing of food*. Academic Press.
- **Dong**, Z., Wu, R., Liu, L., Ai, S., Yang, J., Li, Q., Fu, K., Zhou, Y., Fu, H., Zhou, Z., Liu, H., Zhong, Z., Qiu, X., & Peng, G. (2024). Phage P2-71 against multi-drug resistant *Proteus mirabilis*: Isolation, characterization, and non-antibiotic antimicrobial potential. *Frontiers in Microbiology*, *15*, 1372.
- **D’Orazio**, J., Jarrett, S., Amaro-Ortiz, A., & Scott, T. L. (2013). UV radiation and the skin. *International Journal of Molecular Sciences*, *14*(6), 12222–12248.

Liste des références :

E

- **Eitaweel, M., Said, H., & Barwa, R.** (2024). Emergence of extensive drug resistance and high prevalence of multidrug resistance among clinical *Proteus mirabilis* isolates in Egypt. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 23, 46.

F

- **Filipiak, A., Chrapek, M., Literacka, E., Wawszczak, M., Głuszek, S., Majchrzak, M., Wróbel, G., Łysek-Gładysińska, M., Gniadkowski, M., & Adamus-Białek, W.** (2020). Pathogenic factors correlate with antimicrobial resistance among clinical *Proteus mirabilis* strains. *Frontiers in Microbiology*, 11, 603389.

G

- **Gant, V. A., Warnes, G., Phillips, I., & Savidge, G. F.** (1993). The application of flow cytometry to the study of bacterial responses to antibiotics. *Journal of Medical Microbiology*, 39(2), 147–154.
- **García-Cayuela, T., de Llanos, R., González, C., & Peláez, C.** (2014). Comparison of the MTT assay and other methods for evaluating cell viability in probiotic bacteria. *Food Research International*, 62, 867–871
- **Girlich, D., Bonnin, R., Dortet, L., & Naas, T.** (2020). Genetics of acquired antibiotic resistance genes in *Proteus* spp. *Frontiers in Microbiology*, 11, 256.
- **Gmitter, D., & Kaca, W.** (2022). Into the understanding of the multicellular lifestyle of *Proteus mirabilis* on solid surfaces. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(17), 9800.
- **Guerrero-Beltrán, J. Á., & Barbosa-Cánovas, G. V.** (2004). Molecular mechanisms of ultraviolet radiation-induced DNA damage and repair. *Journal of Nucleic Acids*.

H

- **Han, Y., Gao, Y.-F., Xu, H., Li, J., Li, C., Song, C.-L., Lei, C., Chen, X., Wang, Q., Ma, B., & Wang, H.-N.** (2024). Characterization and risk assessment of novel SXT/R391 integrative and conjugative elements with multidrug resistance in *Proteus mirabilis* isolated from China, 2018–2020. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1335.
- **Harm, W.** (1980). *Biological effects of ultraviolet radiation*. Cambridge University Press.
- **Hofemeister, J.** (1977). DNA repair in *Proteus mirabilis*. *Molecular & General Genetics*, 152(1), 79–84.
- **Hofemeister, J., Köhler, H., & Filippov, V. D.** (1979). DNA repair in *Proteus mirabilis*. VI. Plasmid (R46-) mediated recovery and UV mutagenesis. *Molecular & General Genetics*, 171(1), 43–48.
- **Hutter, B., Schaab, C., Albrecht, S., Borgmann, M., Brunner, N. A., Cernaianu, G., ... & Raddatz, S.** (2004). Prediction of mechanisms of action of antibacterial compounds by gene expression profiling. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48(8), 2838–2844.

Liste des références :

J

- **Jones, B., Young, R., Mahenthiralingam, E., & Stickler, D. (2004).** Ultrastructure of *Proteus mirabilis* swarmer cell rafts and role of swarming in catheter-associated urinary tract infection. *Infection and Immunity*, 72(7), 3941–3950.

K

- **Kaye, K. S., & Pogue, J. M. (2015).** Infections caused by resistant Gram-negative bacteria: Epidemiology and management. *Pharmacotherapy*, 35(10), 949–962.
- **Kim, C., Alrefaei, R., Bushlaibi, M., Ndegwa, E., Kaseloo, P., & Wynn, C. (2019).** Influence of growth temperature on thermal tolerance of leading foodborne pathogens. *Journal of Food Protection*, 82(12), 2161–2168.
- **Kripke, M., Cox, P., Alas, L., & Yarosh, D. (1992).** Pyrimidine dimers in DNA initiate systemic immunosuppression in UV-irradiated mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89(15), 7516–7520.
- **Kwon, D. H., & Lu, C. D. (2007).** Polyamines induce resistance to cationic peptide, aminoglycoside, and quinolone antibiotics in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51(3), 972–974.

L

- **Labadie, M., Marchal, F., Merbahi, N., Girbal-Neuhauser, E., Fontagné-Faucher, C., & Marcato-Romain, C. (2024).** Cell density and extracellular matrix composition mitigate bacterial biofilm sensitivity to UV-C LED irradiation. *Biofilm*, 6, 100119.
- **Li, Y., Yin, M., Fang, C., Fu, Y., Dai, X., Zeng, W., & Zhang, L. (2023).** Genetic analysis of resistance and virulence characteristics of clinical multidrug-resistant *Proteus mirabilis* isolates. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1223884.

M

- **Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. H., Sattley, W. M., & Stahl, D. A. (2018).** *Brock Biology of Microorganisms* (15e éd.). Pearson.
- **Mirzaei, A., Esfahani, B. N., Raz, A., Ghanadian, M., & Moghim, S. (2021).** From the urinary catheter to the prevalence of three classes of integrons, β -lactamase genes, and differences in antimicrobial susceptibility of *Proteus mirabilis* and clonal relatedness with Rep-PCR. *Infection and Drug Resistance*, 14, 2429–2441.

N

- **Nakano, R., Nakano, A., Abe, M., Nagano, N., Asahara, M., Furukawa, T., Ono, Y., Yano, H., & Okamoto, R. (2019).** Prevalence and mechanism of fluoroquinolone resistance in clinical isolates of *Proteus mirabilis* in Japan. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 17, 92–97.
- **Nordmann, P., Naas, T., & Poirel, L. (2011).** Global spread of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Emerging Infectious Diseases*, 17(10), 1791–1798.

Liste des références :

-
- **Norsworthy, A. N., & Pearson, M. M. (2017).** From catheter to kidney stone: The uropathogenic lifestyle of *Proteus mirabilis*. *Trends in Microbiology*, 25(4), 304–315.

O

- **OECD. (2004).** *Guidance Document on the Validation and International Acceptance of New or Updated Test Methods for Hazard Assessment* (No. 34). Organisation for Economic Co-operation and Development.
- **Oguadinma, I., Mishra, A., & Dev Kumar, G. (2022).** Sunlight parameters influence the survival and decline of *Salmonella* and *Escherichia coli* in water. *Frontiers in Environmental Science*, 10, 974562.

R

- **Raven, P. H., Johnson, G. B., Mason, K. A., Losos, J. B., & Singer, S. R. (2023).** *Biologie*. De Boeck Supérieur.
- **Rocha, S., Pelayo, J., & Elias, W. P. (2007).** Fimbriae of uropathogenic *Proteus mirabilis*. *FEMS Microbiology Letters*, 270(2), 175–182.

S

- **Sato, J. L., Fonseca, D. L. H., & Galhardo, R. (2022).** *rumAB* genes from SXT/R391 ICEs confer UV-induced mutability to *Proteus mirabilis* hosts and improve conjugation after UV irradiation. *Frontiers in Microbiology*, 13, 827173.
- Schaffer, J. N., & Pearson, M. M. (2015). *Proteus mirabilis* and urinary tract infections. *Microbiology Spectrum*, 3(5).
- **Schaffer, J. N., Norsworthy, A. N., Sun, T. T., & Pearson, M. M. (2016).** *Proteus mirabilis* fimbriae- and urease-dependent clusters assemble in an extracellular niche to initiate bladder stone formation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(16), 4494–4499.
- **Seo, J., & Schmidt, J. J. (2020).** Development of a high-throughput assay for bacterial viability using a resazurin-based reagent. *Journal of Microbiological Methods*, 171, 105853.
- **Setlow, R., & Carrier, W. (1966).** Pyrimidine dimers in ultraviolet-irradiated DNA's. *Journal of Molecular Biology*, 17(1), 237–254. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(66\)80205-5](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(66)80205-5)
- **Shaaban, M. I., Elshaer, S., & Abd El-Rahman, O. A. (2022).** Prevalence of extended-spectrum β -lactamases, AmpC, and carbapenemases in *Proteus mirabilis* clinical isolates. *Infection and Drug Resistance*, 15, 4701–4713.
- **Singla, P., Sangwan, J., Garg, S., & Chaudhary, U. (2015).** Prevalence and antibiogram of multidrug-resistant uropathogenic isolates of *Proteus mirabilis* in a teaching tertiary care hospital. *Journal of Laboratory Physicians*, 7(2), 103–107.
- **Slotarek, P., Bernat, P., & Różalski, A. (2023).** Adjustment in the composition and organization of *Proteus mirabilis* lipids during the swarming process. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(21).

Liste des références :

W

- **Wasfi**, R., Hamed, S., Amer, M., & Fahmy, L. I. (2020). *Proteus mirabilis* biofilm: Development and therapeutic strategies. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *10*, 414.

Y

- **Yang**, C., Sun, W., & Ao, X. (2019). Bacterial inactivation, DNA damage, and faster ATP degradation induced by ultraviolet disinfection. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, *13*, 61

Z

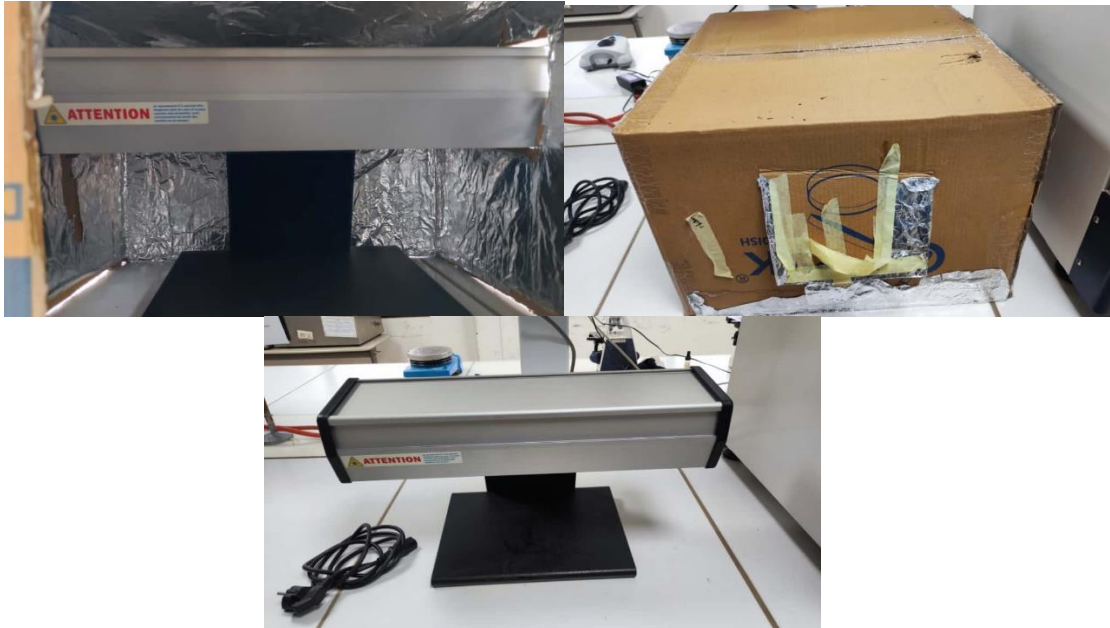
- **Zhang**, S., Li, Q., Wang, M., Jia, R., Chen, S., Liu, M., Zhu, D., Zhao, X., Wu, Y., Yang, Q., Huang, J., Ou, X., Sun, D., Tian, B., He, Y., Wu, Z., & Cheng, A. (2025). Genomic analysis of *Proteus mirabilis*: Unraveling global epidemiology and antimicrobial resistance dissemination—Emerging challenges for public health and biosecurity. *Frontiers in Microbiology*, *16*, 1432567.

Annexes

annexes

Annexe 1 : l'appareil d'UV

Longueur d'onde de UV : 254



Annexe 2 : milieu LB



Annexe 3 : incubateur agitateur



Annexe 4 :

1- Composition de milieux minimum:

Ingrédients Pour 1000ml

Glucose 10 g

Sulfate d'ammonium 1

Phosphate dipotassique 5 g

Phosphate monopotassique 2 g

Citrate de sodium 0,5 g

Sulfate de magnésium 0,1 g

Agar 15 g

Eau distillée Jusqu'à 1000 ml

Le pH du milieu minimal est d'environ $7,0 \pm 0,2$ à 25°C

2 - Composition des milieux Lb :

Milieu Luria-Bertani (LB)

Peptone 10g

Extrait de levure 5g

NaCl 10g

Agar 20g

Eau distillée 1l

PH =7,0 ;Stérilisation à 120°C pendant 25 min.

