

**République algérienne Démocratique et populaire**  
**Ministère de l'enseignement Supérieur et de la recherche Scientifique**  
**Université de Blida -1-**  
**Faculté de science de la nature et de la vie**  
**Département de Biotechnologie**



**Mémoire de fin d'étude**  
**En vue de l'obtention du Diplôme de Master 2 en Biotechnologie**  
**Option : Biotechnologie Microbienne**

**Analyse *in silico* de la virulence et du Quorum  
Sensing chez *Pseudomonas aeruginosa***

**Réalisé par:**

**LARBAOUI Chaouki**

**Soutenu le: 12/07/2021**

**Devant le jury composé de:**

---

<b>Présidente :</b>	<b>Dr BOUCHENAK F.</b>	<b>MCA</b>	<b>USBD1</b>
<b>Examinatrice :</b>	<b>Mme BENKORTEBY H.</b>	<b>MAA</b>	<b>USBD1</b>
<b>Promoteur :</b>	<b>Mr BENCHABANE M.</b>	<b>Professeur</b>	<b>USBD1</b>
<b>Co-promotrice :</b>	<b>Dr MEKHALDI D.</b>	<b>MAB</b>	<b>USBD1</b>

---

**Année universitaire 2020/2021**

## Remerciements

En premier lieu, je voudrais remercier **ALLAH**, le tout puissant, qui m'a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Je tiens à remercier mon promoteur **professeur BENCHABANE Messaoud**, pour l'aide qu'il a fournie et les connaissances qu'il a su me transmettre. Je le remercie également pour sa grande disponibilité et la qualité de ses conseils.

Je suis particulièrement reconnaissant envers ma Co-promotrice **Docteur MEKHALDI D**, pour son aide dans la réalisation de ce travail.

Je voudrais remercier également les membres du Jury,

**Docteur BOUCHENAK F**, pour l'honneur qu'elle m'a fait pour présider ce jury.

**Madame BENKORTEBY H**, d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

Je désire aussi remercier les responsables de l'administration et l'ensemble du corps enseignant de la Faculté des Sciences de la nature et de vie de l'Université de Blida 1, Je tiens à remercier spécialement tous enseignants de la spécialité Biotechnologie Microbienne pour leurs efforts à nous garantir la continuité et l'aboutissement de ce programme de Master.

Ces remerciements ne seraient pas complets sans associer toutes les personnes ayant contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail,*

*À l'âme de mon oncle **Salim**, que dieu vous garde dans son vaste paradis.*

*À la personne la plus chère à mon cœur **ma mère** la source de mes efforts,  
qui m'a supporté vaillamment pas à pas tout au long de ma vie, je te dois  
ma réussite, mon éducation, ma fierté.*

*À la personne qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, mon soutien  
moral, **mon père** qui je porte son nom avec fierté et dignité.*

*À mon oncle **Mourad**, et mes tantes **Cherifa, Nawal, Souad**.*

*À mon cousin **Charaf** et mes adorables cousines **Hayet et Nihal et Samah  
et Souhila**.*

*À mon ami **abdou**.*

*À mes collègues **Fatima et Yasmine**.*

*À ma famille de grands jusqu' aux petits.*

*Un grand merci à vous.....*



**Chaouki**

## Résumé

*Pseudomonas aeruginosa* est l'un des agents pathogènes les plus courants, associés aux infections nosocomiales, est également doté d'un arsenal de facteurs de virulence dont la majorité est régulée par un système de signalisation intercellulaire appelé « Quorum-Sensing ». Avec le développement des techniques de microbiologie moléculaire, de génomique et de protéomique, il y a une grande avancée dans les connaissances relatives aux mécanismes et modes d'action de la virulence et sa régulation. Ainsi les banques de données, notamment NCBI (National Center for Biotechnology Information) présente dans ses bases des milliers de données et d'informations sur les aspects génétiques impliqués dans ces mécanismes, ainsi que sur les structures protéiques associées à ce pathogène. Devant ces ressources, il devient indispensable de faire appel aux études *in silico* pour analyser et tirer profit de ce réservoir d'information qui s'enrichit de jour en jour. L'objectif de la présente étude est de mettre en évidence l'importance de l'étude bioinformatique (*in silico*) dans ce genre d'étude. Nous avons tenté, par notre travail, de comprendre l'avantage et les aspects moléculaires liés aux gènes et protéines impliqués dans les processus de quorum sensing et de virulence chez *Pseudomonas aeruginosa*, à travers les possibilités d'analyse offertes et les outils disponibles et appliqués sur la plateforme NCBI, en ligne.

Notre investigation, *in silico* sur les protéines régulatrices LasR et RhIR du Quorum Sensing et les gènes *toxA* et *LasB* de la virulence chez *Pseudomonas aeruginosa* consiste à réaliser une prédiction des structures des protéines, plus une recherche de similarités de séquences, en utilisant les logiciels BLASTp et BLASTn, afin de déterminer la phylogénie des protéines LasR et RhIR et les gènes *toxA* et *LasB* en utilisant les méthodes de calcul des distances, selon NJ (Neighbor Joining) et EM (évolution minimale). Les principaux résultats acquis confirment que les facteurs de virulence ainsi que leurs mécanismes moléculaires de régulation du QS offrent une opportunité pour développer de nouvelles stratégies thérapeutiques, d'une meilleure stabilité. L'analyse *in silico* constitue un moyen indispensable pour élucider les aspects génomiques des communautés bactériennes, que ce soit dans leurs fonctionnalités et de leurs exploitations biotechnologiques.

**Mots Clés:** *Pseudomonas aeruginosa*, *in silico*, Virulence, Quorum Sensing, phylogénie.

## Abstract

*Pseudomonas aeruginosa* is one of the most common pathogens associated with nosocomial infections, also has an arsenal of virulence factors, the majority of which are regulated by an intercellular signaling system called 'Quorum-Sensing'. With the development of molecular microbiology, genomics and proteomics techniques, there is a great advance in knowledge relating to the mechanisms and modes of action of virulence and its regulation. Thus, databases, in particular NCBI (National Center for Biotechnology Information) present in its databases thousands of data and information on the genetic aspects involved in these mechanisms, as well as on the protein structures associated with this pathogen. Faced with these resources, it becomes essential to call on *in silico* studies for analyze and to take advantage of this reservoir of information which is enriched day by day. The objective of this study is to highlight the importance of the bioinformatics study (*in silico*) in this kind of study. We have tried, through our work, to understand the advantage and the molecular aspects linked to the genes and proteins involved in the quorum sensing and virulence processes in *Pseudomonas aeruginosa*, through the analysis possibilities offered and the tools available and applied on the NCBI platform, online.

Our investigation, *in silico* on the regulatory proteins LasR and RhlR of Quorum Sensing and the *toxA* and *LasB* genes of virulence in *Pseudomonas aeruginosa* consists in carrying out a prediction of the structures of the proteins, plus a search for sequence similarities, using software BLASTp and BLASTn, in order to determine the phylogeny of the LasR and RhlR proteins and the *toxA* and *LasB* genes using the distance calculation methods, according to NJ (Neighbor Joining) and EM (minimal evolution). The main results obtained confirm that virulence factors as well as their molecular mechanisms regulating QS offer an opportunity to develop new therapeutic strategies with better stability. *in silico* analysis is an essential means of elucidating the genomic aspects of bacterial communities, both in their functionalities and in their biotechnological operations.

**Keywords:** *Pseudomonas aeruginosa*, *in silico*, Virulence, Quorum Sensing, phylogeny.

## ملخص

*Pseudomonas aeruginosa* هي واحدة من أكثر مسببات الأمراض شيوعًا المرتبطة بعدوى المستشفيات ، وهي مزودة أيضًا بترسانة من عوامل الفوعة ، والتي يتم تنظيم معظمها بواسطة نظام إشارات بين الخلايا يسمى Quorum-Sensing".

مع تطور علم الأحياء الدقيقة الجزيئي وعلم الجينوم وتقنيات البروتينات، هناك تقدم كبير في المعرفة المتعلقة بآليات وأنماط عمل الفوعة وتنظيمها. وهكذا، فإن قواعد البيانات، ولا سيما NCBI (المركز الوطني لمعلومات التكنولوجيا الحيوية) تقدم في قواعد بياناتها آلاف البيانات والمعلومات حول الجوانب الجينية المشاركة في هذه الآليات ، وكذلك عن هياكل البروتين المرتبطة بهذا العامل الممرض. في مواجهة هذه الموارد، يصبح من الضروري الاستعانة بالدراسات *in silico* لإجراء تحليلات والاستفادة من مخزون المعلومات هذا الذي يتم إثرائه يوميًا بعد يوم. الهدف من هذه الدراسة هو إبراز أهمية دراسة المعلوماتية الحيوية *in silico* في هذا النوع من الدراسة. لقد حاولنا، من خلال عملنا، فهم المزايا والجوانب الجزيئية المرتبطة بالجينات والبروتينات المشاركة في استشعار النصاب وعمليات الفوعة في *Pseudomonas aeruginosa* من خلال إمكانيات التحليل المتاحة والأدوات المتاحة والمطبقة. على منصة NCBI عبر الإنترنت.

تألف تحقيقنا *in silico* ، للبروتينات التنظيمية LasR و RhIR لاستشعار النصاب وجينات *tox A* و *LasB* من الفوعة في *Pseudomonas aeruginosa* في إجراء تنبؤ بهيكل البروتينات ، بالإضافة إلى البحث عن أوجه التشابه في التسلسل ، باستخدام برنامج BLASTp و BLASTn ، من أجل تحديد سلالة بروتينات LasR و RhIR وجينات *tox A* و *LasB* باستخدام طرق حساب المسافة ، وفقًا لـ NJ (انضمام الجار) و EM (الحد الأدنى من التطور). تؤكد النتائج الرئيسية التي تم الحصول عليها أن عوامل الفوعة وكذلك آلياتها الجزيئية التي تنظم QS توفر فرصة لتطوير استراتيجيات علاجية جديدة مع استقرار أفضل. يعتبر تحليل السيليكو وسيلة أساسية لتوضيح الجوانب الجينومية للمجتمعات البكتيرية، سواء في وظائفها أو في عمليات التكنولوجيا الحيوية الخاصة بها.

**الكلمات المفتاحية:** *Pseudomonas aeruginosa*، *in silico*، استشعار النصاب، الفوعة، تطور السلالات.

## Liste d'abréviation

**AHL:** Homoserine Lactone Acylée

**API:** Application Programming Interface

**ADN:** Acide désoxyribonucléique

**ARN:** Acide ribonucléique

**BNL:** Brookhaven National Laboratoires

**C4HSL:** N-butanoyl-L-homoserine lactone

**Mb:** millions de paires de bases

**K :** kilo paire de bases

**QS:** Quorum Sensing

**RMN :** Résonance magnétique nucléaire

**PDB:** Protein Data Bank

**NJ:** Neighbor Joining

**ME:** Evolution Minimale

**USA :** États-Unis d'Amérique

**%:** pourcentage

**3D:** tridimensionnelle

**µm:** micromètre

**°C:** degré Celsius

## Liste de figures

Figure 1:Professeur Margaret Oakley Dayhof.....	4
Figure 2: Premier logiciel de bioinformatique .....	4
Figure 3:Exemple de clustering de données .....	6
Figure 4:Certaines applications de la bioinformatiques . .....	12
Figure 5:Carle Gessard (1850-1925) pharmacien et bactériologiste français .....	13
Figure 6:Bactérie ( <i>P. aeruginosa</i> ) isolée, et son flagelle unique (microscope électronique à transmission) .....	15
Figure 7: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> sur gélose nutritive.....	15
Figure 8:Représentation circulaire du génome de la souche <i>PAO1</i> . .....	16
Figure 9:Facteurs de virulence chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . .....	20
Figure 10:Interactions des ligands naturels, 3-oxo C12HSL et C4HSL avec LasR et RhIR respectivement .....	24
Figure 11:Mécanisme moléculaire du Quorum sensing chez <i>P. aeruginosa</i> .....	24
Figure 12: Cycle de vie du biofilm de <i>P. aeruginosa PAO1</i> .....	26
Figure 13: Format FASTA de la séquence qui code pour la protéine LasR chez <i>Pseudomonas aeruginosa PAO1</i> .....	30
Figure 14: Format FASTA de la séquence qui code pour la protéine RhIR chez <i>Pseudomonas aeruginosa PAO1</i> .....	30
Figure 15: Format FASTA du gène <i>toxA</i> chez <i>Pseudomonas aeruginosa PAO1</i> .....	31
Figure 16: Format FASTA du gène <i>LasB</i> chez <i>Pseudomonas aeruginosa PAO1</i> .....	31
Figure 17: Rechercher la structure de la protéine LasR .....	32
Figure 18: Rechercher la structure de la protéine RhIR .....	33
Figure 19: Représentation graphique du gène <i>LasR</i> .....	36
Figure 20: Représentation graphique du gène <i>RhIR</i> .....	36
Figure 21: Représentation graphique du gène <i>toxA</i> .....	37



Figure 22: Représentation graphique du gène <i>LasB</i> .....	37
Figure 23: Partie codante pour la protéine LasR. ....	38
Figure 24: Partie codante pour la protéine RhlR .....	38
Figure 25: la Structure 3D de la protéine régulatrice LasR lié à son auto-inducteur chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i> prise à partir du PDB ( <a href="https://www.rcsb.org">https://www.rcsb.org</a> ). ....	39
Figure 26: la structure tridimensionnelle de la protéine régulatrice RhlR de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> prise à partir de l'Uniprot ( <a href="https://www.uniprot.org">https://www.uniprot.org</a> ).....	39
Figure 27: Séquences produisant des alignements significatifs <i>LasR</i> .....	40
Figure 28: Séquences produisant des alignements significatifs <i>RhlR</i> .....	41
Figure 29: Séquences produisant des alignements significatifs <i>toxA</i> .....	42
Figure 30: Séquences produisant des alignements significatifs <i>LasB</i> .....	43
Figure 31: Arbre phylogénétique de la protéine LasR .....	44
Figure 32: Arbre phylogénétique de la protéine RhlR .....	45
Figure 33: Arbre phylogénétique du gène <i>toxA</i> .....	46
Figure 34: Arbre phylogénétique du gène <i>LasB</i> .....	47

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Quelques outils bio-informatique.....	8
<b>Tableau 2:</b> Quelques catégories de bases de données biologiques .	9
<b>Tableau 3:</b> quelques exemples sur les bases de données .....	9
<b>Tableau 4:</b> Sources de données utilisées en bioinformatique, la quantité de chaque type de données disponibles dans les années 2000, et les domaines de bioinformatique qui utilisent ces données .	10
<b>Tableau 5:</b> quelques domaines et applications de la bio-informatique..	11
<b>Tableau 6:</b> Taxonomie de <i>P. aeruginosa</i> .....	14
<b>Tableau 7:</b> Classification fonctionnelle des gènes de la souche <i>PAO1</i> .....	17
<b>Tableau 8 :</b> Principaux facteurs de virulence de <i>P. aeruginosa</i> : leurs modes d'action et leurs conséquences cliniques .....	18

# Table des matières

## *Introduction*

### *Partie I : Synthèse bibliographique*

#### *Chapitre I : Bioinformatique (Analyse in silico)*

<b>1- Généralités sur la bio-informatique</b> .....	<u>3</u>
1.1- C'est quoi la bio-informatique ? .....	<u>3</u>
1.2- Historique .....	<u>3</u>
1.3- Objectifs .....	<u>5</u>
<b>2 Méthodes et outils de la bio-informatique</b> .....	<u>6</u>
2.1- les principales méthodes communes .....	<u>6</u>
2.2- Les outils de la bio-informatique.....	<u>7</u>
<b>3. Bases de données biologiques</b> .....	<u>8</u>
3.1- types et rôles des bases de données biologiques .....	<u>8</u>
3.2- types de données analysées en bio-informatiques .....	<u>10</u>
<b>4. Applications de la bio-informatique</b> .....	<u>11</u>

#### *Chapitre II : Pseudomonas aeruginosa : Caractéristiques, virulence et quorum sensing.*

<b>1. Généralités sur Pseudomonas aeruginosa :</b> .....	<u>13</u>
1.1 Historique .....	<u>13</u>
1.2 Etymologie et Taxonomie.....	<u>13</u>
1.3 Écologie et mode de transmission .....	<u>14</u>
1.4- Caractéristiques morphologiques et culturels .....	<u>15</u>
<b>2. Génome de Pseudomonas aeruginosa</b> .....	<u>16</u>
<b>3. Virulence chez Pseudomonas aeruginosa</b> .....	<u>17</u>
3.1. Facteurs de virulence .....	<u>18</u>
3.2. Infections .....	<u>20</u>
<b>4. Notion de Quorum Sensing (QS)</b> .....	<u>21</u>
4.1. Quorum Sensing chez Pseudomonas aeruginosa .....	<u>22</u>
4.2- Formation de biofilms chez Pseudomonas aeruginosa.....	<u>25</u>
4.3- Relation QS et formation de biofilms.....	<u>26</u>
4.5- Voies d'inhibitions du QS .....	<u>27</u>

### *Partie II : Partie expérimentale*

#### *Chapitre I: Analyse in silico*

<b>1. Matériels et méthodes</b> .....	<u>28</u>
---------------------------------------	-----------

<b>1.1- National Center for Biotechnology Information (NCBI)</b> .....	<b>28</b>
1.2- Protein Data Bank (PDB) .....	29
1.3- Universal Protein Resource (UniProt).....	29
1.4- Séquences génétiques et protéiques.....	30
1.5- Prédiction des structures.....	32
1.6 -Recherche de similarités.....	33
1.7-Etude phylogénétique .....	34
<b>2. Résultats</b> .....	<b>36</b>
2.1- Localisation et cartographie génétique .....	36
2.2- Structures.....	39
2.3- Bilan BLAST.....	40
2.4- Arbres phylogénétique.....	44
<b>3. Discussion</b> .....	<b>48</b>
<i>Conclusion</i> .....	<i>51</i>
<b>Les références bibliographiques</b>	

# *Introduction*

*Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie opportuniste responsable de diverses infections nosocomiales, à des occurrence environs de 10 % (Ruimy & Andremont, 2004), (Roux & Ricard, 2013). Cette bactérie, bâtonnet Gram négatif, possède des capacités d'adaptation remarquables, lui permettant de survivre dans pratiquement n'importe quel environnement (eau, sol, végétaux) (Thilo & Christian, 2009). Elle se caractérise par de multiples facteurs de virulence et pose de nombreux problèmes de résistance aux antibiotiques (Le Berre et al., 2006). La pathogénie de *P. aeruginosa* est attribuée à la production d'un vaste arsenal de facteurs de virulence (membranaires et extracellulaires) agissant à différents niveaux au cours de l'infection, lui permettant de parasiter et de cohabiter différents hôtes. Ces facteurs de virulence sont impliqués dans les différentes étapes du processus d'infection et permettent ainsi à *P. aeruginosa* de coloniser son hôte (Khalifa et al., 2011).

La transcription de nombreux gènes de virulence chez *P. aeruginosa* est sous le contrôle d'un mécanisme de régulation dépendant de la densité bactérienne, appelé Quorum-Sensing (QS) (Ruimy & Andremont, 2004). Le QS est un mécanisme de communication cellule-cellule qui régule la formation de biofilms et les facteurs de virulence qui confèrent une pathogénèse chez diverses bactéries, y compris *P. aeruginosa* (Zhong et al., 2020).

Au cours de l'évolution sans précédent qui a été observée scientifiquement avec les progrès technologiques récents, qui ont fourni une grande quantité de données (Diniz & Canduri, 2017), sur ce pathogène et sur ses mécanismes et sa virulence. Même avec toutes ses connaissances les mécanismes ne sont pas connus de façon très détaillés vu qu'il y a une masse de donnée très importante, d'où la nécessité d'accompagner toutes les expérimentations *in vitro* et *in vivo* par des analyses *in silico*. Cette dernière est devenue une méthode d'investigation et un outil indispensable aux biologistes, car en bio-informatique, le développement d'outils (statistiques et informatiques) est nécessaire pour aider à comprendre les mécanismes sous-jacents aux questions biologiques (Diniz & Canduri, 2017). En biologie, le principal défi est de donner un sens à l'énorme quantité de données, c'est donc L'ère d'une « nouvelle biologie » émergente accompagnée par la naissance/le développement d'autres sciences, telles que la bio-informatique (Diniz & Canduri, 2017).

L'objectif de notre travail est de mettre en évidence l'importance de la bioinformatique dans les études biologiques. Notre investigation *in silico* vise les protéines régulatrices LasR et RhIR du Quorum Sensing, ainsi que les gènes *toxA* et *LasB* de la virulence chez *Pseudomonas aeruginosa*. Enfin nous tentons de Déterminer les arbres phylogéniques moléculaires de ces deux protéines régulatrices LasR et RhIR du Quorum Sensing et des gènes *toxA* et *LasB*.

## *Partie I : Synthèse bibliographique*



***Chapitre I : Bioinformatique***  
***(Analyse in silico)***

## 1- Généralités sur la bioinformatique

### 1.1- C'est quoi la bio-informatique ?

La bio-informatique est définie de plusieurs manières et il n'y a pas de définition consensuelle. L'une des définitions les plus appropriées est peut-être celle proposée par "**National Institute of Health USA**" qui stipule que la bio-informatique fait référence à « la recherche, le développement ou l'application d'outils et d'approches informatiques pour étendre l'utilisation de données biologiques, médicales, comportementales ou pour acquérir, stocker, organiser, archiver, analyser et/ou visualiser ces données ». (Eric et *al.*, 2014).

La bio-informatique est un champ de recherche multidisciplinaire où travaillent biologistes, médecins, informaticiens, mathématiciens, physiciens et bio-informaticiens, dans le but de résoudre des problématiques scientifiques (Diniz & Canduri, 2017).

### 1.2- Historique

La bio-informatique est une discipline relativement récente, le terme ayant été créé dans les années 80 (Gérard Ramstein, 2012). Le terme bioinformatique a été inventé par Paulien Hogeweg de l'Université d'Utrecht (Pays-Bas) en 1979 pour l'étude des processus informatiques dans les systèmes biotiques, mais le domaine de la bioinformatique n'a été reconnu que dans les années 1990 (Eric et *al.*, 2014). Cette notion englobe l'ensemble des applications de l'informatique aux sciences de la vie, domaine très vaste qui recouvre tous les axes de recherche, allant des applications en robotique aux techniques les plus avancées en intelligence artificielle. Pour la plupart des membres de la communauté scientifique, cette notion semble dans la pratique s'adapter plus particulièrement aux outils informatiques qui permettent de stocker, d'analyser et de visualiser les informations contenues dans les séquences des gènes et des protéines des êtres vivants. L'histoire de la bio-informatique est donc étroitement liée à celle de la biologie moléculaire, l'étude des molécules du vivant. (Gérard Ramstein, 2012).

Margaret Oakley Dayhoff (1925-1983), (figure1), physicochimiste américaine était la pionnière de l'application des méthodes informatiques en biochimie en 1960. La contribution de Dayhoff dans ce domaine est aussi considérée avec la même importance que les fonctions exercées par David J Lipman, directeur du National Center for Biotechnology Information (NCBI).(Gauthier et *al.*, 2019).



**Figure 1:** Professeur Margaret Oakley Dayhoff

**De 1958 à 1962 :** la création du premier logiciel de bio-informatique (figure 2), par Margaret Dayhoff et Robert S. Ledley (physicien), (Gauthier et *al.*, 2019).



**Figure 2:** Premier logiciel de bioinformatique (Gauthier et *al.*, 2019)

**Les années 1980** sont des périodes où la bio-informatique est devenue présente dans la science moderne. En **1985** c'était la création de la revue spécialisée en bio-informatique, Applications informatiques dans les biosciences (Gauthier et *al.*, 2019).

**En 1990–2000:** le développement de l'Internet et de réseaux et la naissance des projets de séquençage de génomes complets (l'ère de la génomique) (Gauthier et *al.*, 2019), l'apparition des logiciels d'alignement (FASTA et BLAST) (Gauthier et *al.*, 2019).

**En 2000–2010:** la naissance de bio-informatique à haut débit (séquençage de deuxième génération). (Gauthier et *al.*, 2019).

**De 2010 - 2019 :** la bioinformatique est confrontée à de multiples défis, comme la gestion du Big Data, la garantie de la reproductibilité des résultats et une bonne intégration dans les cursus académiques (Gauthier et *al.*, 2019).

### 1.3- Objectifs

La bio-informatique organise les données de manière à permettre aux chercheurs d'accéder aux informations existantes et également de soumettre de nouvelles entrées à des bases de données telles que Protein Data Bank, et aussi cherche à développer des outils d'analyse des données dans le but d'utiliser ces outils pour analyser et interpréter les résultats des données (Eric et *al.*, 2014), donc les principaux objectifs sont :

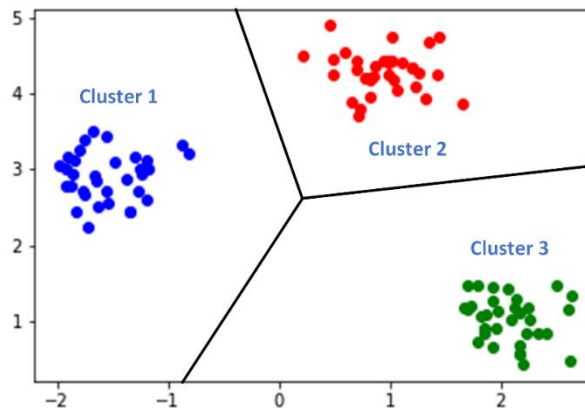
- Collecter et filtrer, stocker et accéder des informations (données biologiques) dans des bases de données (Zucker, 2010).
- Analyser, structurer, comparer, traiter les informations biologiques (par exemple fournir des outils de comparaison de séquences (protéiques ou nucléotidiques) (Zucker, 2010).
- Formaliser des problèmes de biologie moléculaire (Zucker, 2010).
- Modéliser des processus biologiques (Zucker, 2010).
- Prédire des résultats biologiques (par exemple fournir des outils pour prévoir la structure 3D d'une protéine). (Zucker, 2010).

## 2. Méthodes et outils de la bio-informatique

### 2.1- les principales méthodes communes

Pour répondre aux objectifs suscités, les pratiques en bioinformatique s'organisent autour de méthodes de regroupement, de partitionnement, d'association et de prédiction...

- **Clustering (Le partitionnement de données)** : Le clustering est une technique d'exploration de données qui crée automatiquement des groupes d'objets appropriés qui ont des caractéristiques similaires. Le clustering définit les classes et place les objets dans chaque classe en fonction de propriétés similaires (figure 3), (Muhammad Ali Masood, 2015).



**Figure 3:** Exemple de clustering de données (Muhammad Ali Masood, 2015).

- **Modèles séquentiels** : La technique d'analyse des modèles séquentiels cherche à explorer ou à identifier des modèles similaires, des événements cohérents ou des tendances dans les données de transaction sur une certaine période (Muhammad Ali Masood, 2015).
- **Prédiction** : La prédiction est une technique d'exploration de données qui découvre les relations et les dépendances de différents attributs. Dans cette technique, des relations de variables indépendantes et des relations de variables dépendantes sont découvertes. Sur la base des données historiques, une courbe de régression ajustée peut être dessinée pour la prévision future (Muhammad Ali Masood, 2015).

- **Association** : L'association est également connue sous le nom de technique de relation car elle est basée sur une relation entre des éléments dans la même opération qu'un modèle est découvert. L'exemple le plus courant de cette technique est l'analyse du panier de consommation pour reconnaître les tendances d'achat des consommateurs associés à différents produits (Muhammad Ali Masood, 2015).
- **Arbres de décision** : L'arbre de décision est l'une des techniques d'exploration de données les plus utilisées en raison de sa facilité de compréhension et d'utilisation. La racine de l'arbre de décision est une condition qui a des réponses différentes et chaque réponse conduit à un ensemble de conditions pour aider à traiter les données afin que la décision finale puisse être prise (Muhammad Ali Masood, 2015).
- **Classification** : La classification est une technique d'exploration de données typique utilisée pour classer un ensemble prédéfini de classes en fonction de chaque élément d'un ensemble de données. Des techniques mathématiques telles que le réseau neuronal, les statistiques, les arbres de décision et la programmation linéaire sont utilisées pour effectuer la classification (Muhammad Ali Masood, 2015).

## 2.2- Les outils de la bio-informatique

Généralement on trouve la majorité des outils de la bio-informatique dans les plateformes dédiées à cette nouvelle discipline, plus particulièrement sur le site NCBI <https://www.ncbi.nlm.nih.gov> (National Center for Biotechnology Information) et Ensembl (<http://www.ensembl.org/index.html>) (Biegert et al., 2006).

Il s'agit de logiciel informatique qui gère l'alignement, le clustering, la comparaison (Tableau 1), tels que **ClustalW** qui est un outil pour aligner plusieurs séquences de protéines ou de nucléotides (Li, 2003), **CLANS** (CLuster ANalysis of Sequences), qui utilise une version d'algorithme pour visualiser les similitudes de séquences par paires en deux dimensions. ou espace tridimensionnel. (Frickey & Lupas, 2004), et **MUSCLE**, qui est un programme pour créer plusieurs alignements de séquences de protéines qui offre une gamme d'options qui offrent une vitesse et/ou une précision d'alignement améliorées par rapport aux autres programmes (Edgar, 2004), **BLAST** qui est un algorithme utilisé pour comparer les séquences d'acides aminés de différentes protéines ou les séquences de nucléotides d'acide nucléique (Eric et al., 2014).

Plus FASTA qui essaie d'identifier les régions partagées par les deux séquences qui ont la plus forte densité d'identités de résidus uniques (Eric et *al.*, 2014).

**Tableau 1:** Quelques outils bio-informatique. (Biegert et *al.*, 2006).

Outils	Description
Logiciel FASTA	Un programme d'alignement de séquences d'ADN et de protéine
ClustalW	Multiple alignment program for protein and DNA sequences
MUSCLE	Multiple alignment program for protein sequences
CLANS	Clustering tool based on all-against-all BLAST comparisons
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool

### 3. Bases de données biologiques

Les bases de données biologiques sont des bibliothèques répertoriant des informations sur les sciences de la vie collectées grâce à des expériences scientifiques, à la littérature publiée, aux technologies expérimentales à haut débit, et aux analyses informatiques. Elles contiennent des informations venant de divers champs de recherche tels que la génomique, la protéomique, la métabolomique, la phylogénétique.... (Zou et *al.*, 2015).

Les principaux objectifs des bases de données biologiques ne sont pas seulement de stocker, d'organiser et de partager des données de manière structurée et consultable, mais aussi faciliter la récupération et la visualisation des données fournir des interfaces de programmation d'applications Web (API) pour les ordinateurs pour échanger et intégrer des données à partir de diverses ressources de bases de données de manière automatisée. (Zou et *al.*, 2015).

#### 3.1- types et rôles des bases de données biologiques

Les bases de données biologiques sont développées à des fins diverses, englobent divers types de données à couverture hétérogène et sont organisées à différents niveaux avec différentes méthodes, de sorte qu'il existe en conséquence plusieurs critères différents applicables à la classification des bases de données. Selon les types de données gérées dans différentes bases de données, les bases de données biologiques peuvent à peu près appartenir aux catégories suivantes (tableau 2), (Zou et *al.*, 2015). Plus quelques exemples sur les bases de données et leurs liens URL (tableau 3).

**Tableau 2:** Quelques catégories de bases de données biologiques (Zou et al., 2015).

La base de données	Une brève description
Bases de données ADN	Une base de données ADN se concentre sur la gestion des données ADN de nombreuses espèces ou d'une espèce spécifique.
Bases de données ARN	Les bases de données d'ARN ont été construites pour déchiffrer les ARN et caractériser leurs fonctions et interactions.
Bases de données des protéines	Le but de la construction de bases de données de protéines comprend la collecte de protéines universelles est l'identification des familles et des domaines de protéines, la reconstruction d'arbres phylogénétiques, le profilage des structures protéiques.
Bases de données d'expression	Les bases de données d'expression peuvent être utilisées à diverses fins, y compris l'archivage des données d'expression
Bases de données des maladies	l'obtention de génomes cancéreux complets et l'identification des mutations moléculaires et des gènes anormaux peuvent fournir de nouvelles perspectives pour la prévention, la détection et le traitement.
Bases de données de voies	les bases de données de voies contiennent des voies biologiques pour l'analyse des voies métaboliques, de signalisation et de régulation.

**Tableau 3:** quelques exemples sur les bases de données (Zou et al., 2015).

Nom	Le lien (URL)	la description
PubMed	<a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed</a>	Base de données de la littérature biomédicale de MEDLINE
PDB	<a href="http://www.rcsb.org/pdb">http://www.rcsb.org/pdb</a>	Banque de données sur les protéines pour les structures 3D de macromolécules biologiques
NCBI RefSeq	<a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseqNCBI">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseqNCBI</a>	Base de données de séquences de référence
RDB	<a href="http://ndbserver.rutgers.edu">http://ndbserver.rutgers.edu</a>	La base de données des acides nucléiques
DEG	<a href="http://www.essentialgene.org">http://www.essentialgene.org</a>	Base de données des gènes essentiels



### 3.2- types de données analysées en bio-informatiques

Les types de données qui sont analysées en bioinformatique et l'éventail des sujets que nous considérons comme relevant des domaines de la génomique et la protéomique sont variés (tableau 4) (Luscombe et *al.*, 2001).

**Tableau 4:** Sources de données utilisées en bioinformatique, la quantité de chaque type de données disponibles dans les années 2000, et les domaines de bioinformatique qui utilisent ces données (Luscombe et *al.*, 2001).

La source de données	Sujets de bioinformatique
Séquence d'ADN brut	Séparation des régions codantes et non codantes Identification des introns et des exons Prédiction du produit génique
Séquence de protéines	Algorithmes de comparaison de séquences Algorithmes d'alignements de séquences multiples Identification des motifs de séquence conservés
Macromoléculaire structure	Prédiction de structure secondaire et tertiaire Algorithmes d'alignement structurel 3D Mesures de la géométrie des protéines Calculs de forme de surface et de volume. Interactions intermoléculaires Simulations moléculaires (calculs de champ de force, mouvements moléculaires, prédictions d'amarrage)
Génomomes	Caractérisation des répétitions Affectations structurelles aux gènes Analyse phylogénétique Recensements à l'échelle génomique (caractérisation de la teneur en protéines, métabolisme voies) Analyse de liaison reliant des gènes spécifiques aux maladies
L'expression du gène	Corréler les modèles d'expression Mappage des données d'expression à la séquence, structurelle et données biochimiques
Autre informations Littérature Voies métaboliques	Bibliothèques numériques pour bibliographie automatisée recherches Bases de connaissances de données issues de la littérature Simulations de parcours

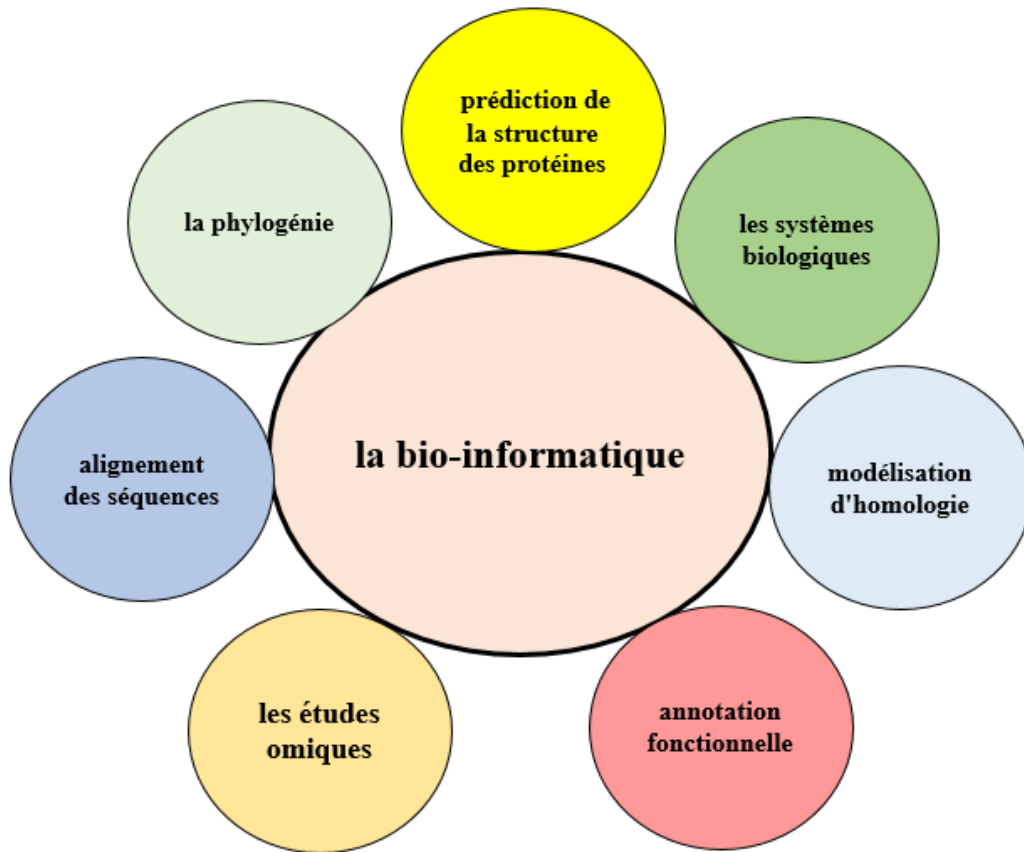
## 4. Applications de la bio-informatique

La bio-informatique, dans son ensemble, est donc une activité transverse qui peut être appliquée à de nombreux secteurs des sciences de la vie et des biotechnologies confrontés à l'étude et à l'utilisation du vivant. Elle joue de ce fait un rôle important et croissant dans de nombreuses industries, allant de la recherche biomédicale jusqu'à l'agroalimentaire, en passant par l'énergie et l'environnement.(Vert, 2013).

En général les applications de la bioinformatique sont en biologie, en l'agroalimentaire et en biomédicale (tableau 5), (figure 5).

**Tableau 5:** quelques domaines et applications de la bio-informatique. (Vert, 2013).

domaine	applications
La biologie	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Alignement d'une séquence inconnue pour identification</li> <li>✓ Analyse d'une séquence à la recherche de zones fonctionnelles</li> <li>✓ Etude des propriétés physico-chimiques d'une protéine</li> <li>✓ Etude des systèmes biologiques</li> <li>✓ permettre d'étudier la phylogénie</li> <li>✓ Modéliser les interactions moléculaires en 3D entre différentes molécules afin d'identifier la meilleure molécule à synthétiser pour inhiber une cible donnée.</li> </ul>
biomédicale	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Identifier les combinaisons de marqueurs moléculaires permettant de diagnostiquer avec précision une pathologie et de prédire l'efficacité-toxicité d'un traitement sur un individu donné.</li> <li>✓ Modéliser mathématiquement le fonctionnement d'une cellule dans un environnement donné pour identifier de nouvelles cibles thérapeutiques.</li> <li>✓ Développer des modèles in silico permettant de prédire la toxicité et les effets secondaires d'une molécule avant de la synthétiser et de la tester sur des patients lors d'essais cliniques.</li> </ul>
agroalimentaire	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Optimiser les Microorganismes (bactéries ou levures) qui sont utilisés pour produire des aliments dans le but d'améliorer leur goût, leur odeur, leur texture ou leur valeur nutritionnelle.</li> </ul>



**Figure 4:** Certaines applications de la bioinformatiques (Diniz & Canduri, 2017).

***Chapitre II : Pseudomonas aeruginosa :***  
Caractéristiques, virulence et quorum sensing.

## 1. Généralités sur *Pseudomonas aeruginosa*

### 1.1 Historique

*Pseudomonas aeruginosa* n'a été isolée avec succès en culture qu'en 1882 par Carle Gessard (figure 5) , sous le nom de « bacille pyocyannique » (Salacha, 2010).

Il s'agit d'une bactérie opportuniste, connu sous le nom de *Pseudomonas aeruginosa* qui a reçu plusieurs noms tout au long de son histoire (*Bacillus pyocyaneus*, *Pseudomonas polycolor*, *Bakterien aeruginosa* et *Pseudomonas pyocyanea*.) (Botzenhart et Döring, 1993).



**Figure 5:** Carle Gessard (1850-1925) pharmacien et bactériologiste français (Salacha, 2010).

### 1.2 Etymologie et Taxonomie

L'espèce bactérienne *Pseudomonas aeruginosa* est composée des mots grec *Pseudo* (imitation), *monas* (unité) et *aeruginosus* signifie vert-de-gris en latin autrefois appelée « bacille pyocyannique». (Salacha, 2010). Sa taxonomie est présentée dans le tableau 6.

**Tableau 6:** Taxonomie de *P. aeruginosa* (Hafiane & Ravaoarinoro, 2008)

<b>Domaine</b>	<i>Bacteria</i>
<b>Phylum</b>	<i>Proteobacteria</i>
<b>Classe</b>	<i>Gammaproteobacteria</i>
<b>Ordre</b>	<i>Pseudomonales</i>
<b>Famille</b>	<i>Pseudomonaceae</i>
<b>Genre</b>	<i>Pseudomonas</i>
<b>Espèce</b>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

### 1.3 Écologie et mode de transmission

*P. aeruginosa* est un bacille Gram négatif omniprésent couramment associé au sol et à l'eau. Il a des besoins nutritionnels minimaux, ce qui lui permet de survivre dans de nombreux environnements différents. (Hilborn et al., 2015).

En plus de la capacité des *Pseudomonades* à se développer sur une grande variété de composés organiques, *P. aeruginosa* résiste au chlore et aux autres désinfectants utilisés dans le traitement de l'eau, cette bactérie est largement détectée dans une variété d'environnements aquatiques, y compris l'eau du robinet. (Hilborn et al., 2015).

Les modes de transmission comprennent le contact direct avec l'eau et les aérosols, l'aspiration, le transfert indirect à partir de surfaces environnementales humides et via les mains du personnel soignant ou le matériel contaminé. (Hilborn et al., 2015).

#### 1.4- Caractéristiques morphologiques et culturaux

*P. aeruginosa*, est un bacille Gram-négatif en forme de bâtonnet, de 0,5 à 0,8  $\mu\text{m}$  de diamètre sur 1 à 3  $\mu\text{m}$  de long, mobile grâce à une flagelle polaire généralement unique (figure 6), dépourvu de spores et de capsules et possède une oxydase positive. Comme la majorité des espèces appartenant au genre *Pseudomonas*, *P. aeruginosa* n'exige aucun facteur de croissance. C'est un germe hautement versatile doté d'une grande adaptabilité nutritionnelle et métabolique. *P. aeruginosa* peut être isolé en culture sur des milieux ordinaires ou sur des milieux rendus sélectifs par l'addition d'inhibiteur, tel que le cétrimide. La température optimale de croissance est comprise entre 30 et 37 °C strictement aérobie. Aucune culture n'est obtenue à 4 °C ou à 46 °C. Les cultures dégagent une odeur caractéristique (Hafiane & Ravaoarino, 2008) , produisant le plus souvent de grandes, colonies irrégulières et opaques à pigment bleu-vert (Figure 7), (Rath & Padhy, 2015).



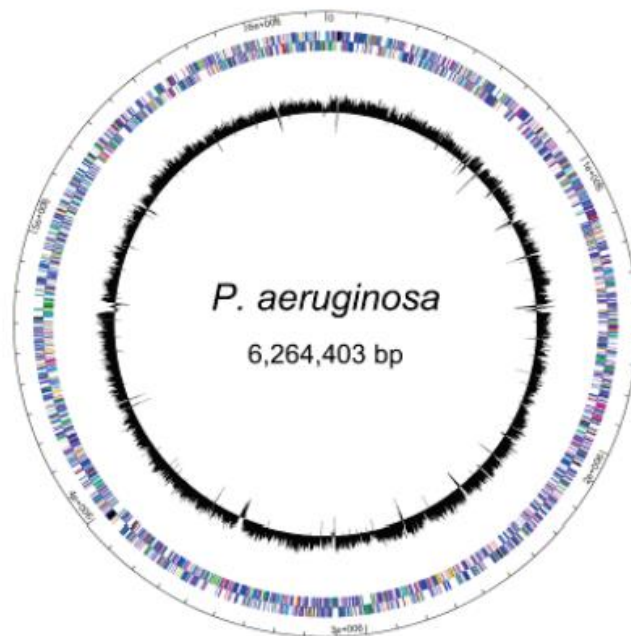
**Figure 6:** Bactérie (*P. aeruginosa*) isolée, et son flagelle unique (microscope électronique à transmission) (Salacha, 2010).



**Figure 7:** *Pseudomonas aeruginosa* sur gélose nutritive. (Rath & Padhy, 2015)

## 2. Génome de *Pseudomonas aeruginosa*

En 2000, le séquençage complet du génome de *P. aeruginosa* a été réalisé pour la première fois. La première souche séquencée était *PAO1* (Refseq: NC\_002516.2) qui reste la principale référence pour les études génomiques et fonctionnelles sur *P. aeruginosa*. Les génomes des souches de *P. aeruginosa* sont plus grands que la plupart des autres génomes bactériens. Par exemple, le génome *PAO1* présente un chromosome circulaire de 6,26 Mb (figure 8), avec une teneur en G + C de 66,6% qui code pour 76 molécules d'ARN et 5572 séquences codant pour des protéines. (Nain & Karim, 2021). La Classification fonctionnelle des gènes de la souche *P. aeruginosa PAO1* est présentée dans le tableau 7.



**Figure 8:** Représentation circulaire du génome de la souche *PAO1* (Salacha, 2010).



**Tableau 7:** Classification fonctionnelle des gènes de la souche *PAOI* (Salacha, 2010).

Fonction	nombre de gènes	Pourcentage
Adaptation, protection	60	1,1
Métabolisme et biosynthèse des AA	150	2,7
Résistance et susceptibilité aux antibiotiques	19	0,3
Biosynthèse de cofacteurs	119	2,1
Métabolisme des composés carbonés	130	2,3
Division cellulaire	26	0,5
Membrane/LPS/capsule	83	1,5
Métabolisme central	64	1,1
Chaperonnes & protéines du heat shock	52	0,9
Chimiotactisme	43	0,8
Réplication, recombinaison, réparation de l'ADN	81	1,5
Métabolisme énergétique	166	3
Métabolisme des acides gras et des phospholipides	56	1
Mobilité et adhérence	65	1,2
Métabolisme et biosynthèse des nucléotides	60	1,1
Appareils de sécrétion/export	83	1,5
Enzymes putatives	409	7,3
Phage, transposon, ou plasmide	38	0,7
Facteurs sécrétés (toxines, enzymes, alginate)	58	1
Transcription, dégradation de l'ARN	45	0,8
Régulateurs transcriptionnels	403	7,2
Modification post-transcriptionnelle, dégradation Tr	149	2,7
Transport de petites molécules	555	10
Systèmes à deux composants	118	2,1
Fonction hypothétique	1774	31,8
Fonction inconnue conservée mais dans d'autres organismes	757	13,6
<b>Total</b>	<b>5570</b>	<b>100</b>

### 3. Virulence chez *Pseudomonas aeruginosa*

*Pseudomonas aeruginosa* est un pathogène opportuniste qui provoque fréquemment des infections systémiques sévères. (Ji et al., 2002).

La virulence chez *P. aeruginosa* repose sur sa capacité à évoluer génétiquement (par mutations ou par acquisition/délétion d'îlots de pathogénicité), et sur son adaptabilité à l'environnement. (Salacha, 2010). La capacité de *P. aeruginosa* à interagir avec son environnement constitue un élément-clé de sa virulence (De Bentzmann & Plésiat, 2011).

Cette bactérie possède souvent des facteurs de virulence et de stratégies visant à développer sa pathogénicité. (Salacha, 2010).

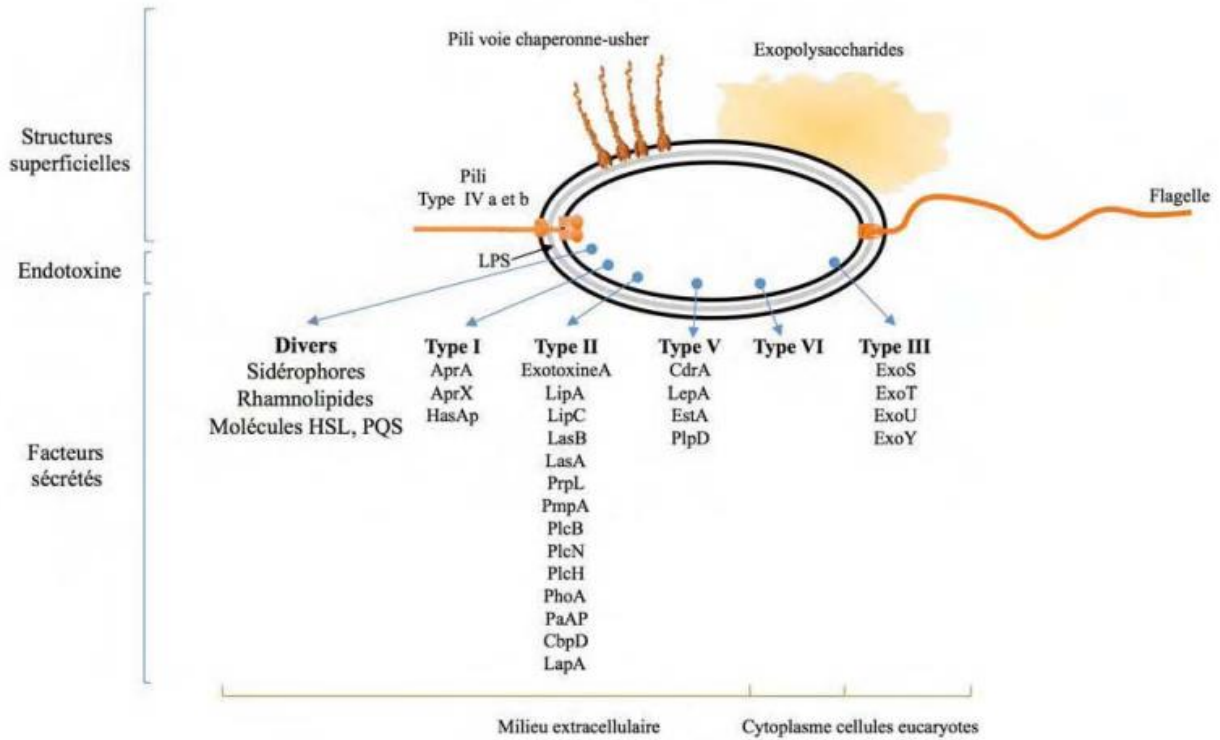
### 3.1. Facteurs de virulence

La virulence de la bactérie dépend d'un grand nombre de facteurs associés aux cellules et extracellulaires (figure 9). Les facteurs de virulence jouent un rôle important dans la colonisation, la survie de la bactérie et l'invasion des tissus. Il existe deux types de facteurs de virulence :

- les facteurs impliqués dans l'infection aiguë : ces facteurs sont soit à la surface de *P. aeruginosa*, soit sécrétés. Les pili permettent l'adhésion aux épithéliums. L'exoenzyme S ainsi que d'autres adhésines non pilées renforcent cette adhésion. L'exotoxine a agi d'une manière comparable à la toxine diphtérique, cytotoxine responsable d'une inflammation sévère et d'une nécrose tissulaire. La phospholipase C'est une hémolysine thermolabile. Le rôle pathogène de l'exoenzyme S'est attribuable à la perturbation de l'organisation du cytosquelette normal, la destruction de l'immunoglobuline G et A, conduit à la dépolymérisation des filaments d'actine et contribue à la résistance aux macrophages. *P. aeruginosa* produit au moins quatre protéases (LasA, LasB...) provoquant des hémorragies et des nécroses tissulaires (tableau 8)(Khalifa et al., 2011).
- Les facteurs impliqués dans l'infection chronique : sidérophores (pyoverdine et pyochéline) (tableau 8), permettent aux bactéries de se multiplier en l'absence de fer libre. Les souches isolées chez les patients souffrant de mucoviscidose possèdent une pseudocapsule d'alginate qui protège la bactérie de la phagocytose, la déshydratation et des antibiotiques. De plus, elle améliore l'adhérence aux cellules épithéliales en formant un biofilm. (Khalifa et al., 2011).

**Tableau 8 :** Principaux facteurs de virulence de *P. aeruginosa* : leurs modes d'action et leurs conséquences cliniques (Khalifa et al., 2011).

<b>Facteurs de virulence</b>	<b>Mécanisme de virulence</b>	<b>Effet pathogène induit</b>
Lipopolysaccharide (LPS)	Stimulation de la production de cytokines	Choc
Pili	Adhésion aux cellules épithéliales respiratoires	Pathogénicité respiratoire
Flagelle	Adhésion aux mucines Mobilité : rôle dans l'internalisation	Diffusion bactérienne
Alginate	Provoque le phénotype muqueux Adhésion aux cellules trachéales Inhibition de la phagocytose, de l'action des antibiotiques et de la réponse immunitaire	Pathogénicité respiratoire Résistance aux défenses de l'hôte (phagocytose) et aux antibiotiques Responsable du caractère mucoïde des souches
Exotoxine A	Inhibition des synthèses protéiques des cellules cibles	Mort cellulaire : nécrose tissulaire Rôle important dans la virulence
Exoenzyme S	Effet cytotoxique Prolifération des LT	Nécrose tissulaire Entraîne des lésions du glycopeptide, de la vimentine et des IgG et IgA
Exoenzyme U	Rôle antiphagocytaire	Lésions des cellules épithéliales Responsable de bactériémie voire de choc septique
Rhamnolipide	Effet détergent	Hydrolyse du surfactant
Elastases (LasA+LasB)	Dégradation de l'élastine, de la fibrine, de l'interféron, du complément et du collagène	Destruction des tissus contenant de l'élastine Rôle important dans la virulence
Protéase alcaline	Protéolyse	Rôle dans les infections cornéennes
Pyocyanine + Pyoverdine	Action bactéricide sur les autres bactéries Augmentation de la libération d'élastase Inhibition des battements des cils Captage du fer Induisent la synthèse de radicaux libres	Favorise l'émergence du bacille pyocyanique Diminution de la clairance des bacilles Rôle dans la survenue de vascularite d'artères pulmonaires
Lectines solubles	Inhibition des battements ciliaires des cellules pulmonaires	Pathogénicité respiratoire Rôle dans l'infection chronique
Phospholipase C	Effet cytolytique local	Lyse des cellules cibles (atélectasie pulmonaire) Rôle dans l'infection aiguë et chronique.



**Figure 9:**Facteurs de virulence chez *Pseudomonas aeruginosa*.

(De Bentzmann & Plésiat, 2011)

### 3.2. Infections

En raison de sa forte polyvalence, *P. aeruginosa* est capable de proliférer dans des environnements très divers et donc d'infecter une large gamme d'organismes, (Haller, 2014) veut dire un large spectre d'hôtes : hommes, animaux, plantes. (Le Berre et *al.*, 2006).

*Pseudomonas aeruginosa* est un pathogène opportuniste responsable d'infections nosocomiales graves, et qui provoque un large éventail d'infections aiguës et chroniques potentiellement mortelles, en particulier chez les patients présentant un dysfonctionnement immunitaire Cet agent pathogène est la principale cause de fibrose kystique et également responsable de la pneumonie, des infections des voies urinaires et des plaies. (Nain & Karim, 2021).

Les patients atteints d'une infection des voies urinaires (IVU) à *P. aeruginosa* sont plus susceptibles de souffrir d'une maladie chronique sous-jacente (p. Ex. Hypertension, troubles cognitifs, diabète) (Bassetti et al., 2018).

*P. aeruginosa* provoque une variété d'infections de la peau et des tissus mous allant de bénignes (par exemple cellulite, infections post-chirurgicales) à des infections immédiatement mortelles. *P. aeruginosa* est l'un des agents pathogènes les plus couramment isolés de la cellulite chez les patients neutropéniques (Bassetti et al., 2018).

#### 4. Notion de Quorum Sensing (QS)

La communauté microbienne est une partie importante de l'écosystème naturel, et le système quorum sensing constitue un outil de communication mobile permettant à la communauté microbienne de se connecter avec l'environnement.(Yi et al., 2021). De nombreuses bactéries utilisent ce système de communication pour coordonner les changements de comportement dépendant de la densité de population (Abisado et al., 2018).

Dans les années 1970, le quorum sensing a été décrit pour la première fois chez une bactérie marine bioluminescente *Vibrio fischeri*. Celle-ci peut se trouver soit à l'état libre dans la mer, soit en symbiose dans un organe particulier du calamar, *Euprymna scolopes*.

À l'état libre, correspondant à une concentration bactérienne faible, *V. fischeri* n'émet pas de lumière. En revanche, lorsque la concentration de cette bactérie est élevée dans l'organe spécialisé du calamar, *V. fischeri* émet de la lumière. Afin d'expliquer cette capacité à émettre la lumière uniquement dans le second cas, en 1981 ils ont identifié la structure d'un auto-inducteur, une acylhomosérine lactone chez cette bactérie. Les gènes impliqués dans ce mécanisme ont ensuite été caractérisés. Le gène *luxI* code pour une enzyme qui intervient dans la synthèse d'un auto-inducteur de la famille des AHL. Ces molécules diffusent librement au travers des membranes bactériennes et permettent la communication entre les bactéries. Lorsque leur concentration atteint un seuil critique, elles se fixent sur les protéines LuxR codées par le gène *luxR*. Le complexe LuxR–AHL devient activateur transcriptionnel de gènes impliqués dans la synthèse de molécules luminescentes et de *luxI* qui synthétise alors plus d'auto-inducteur.

Ce n'est que dans les années 1990 que ce système a été mis en évidence chez des bactéries aussi bien Gram positives que Gram négatives. (Le Berre et *al.*, 2006). Ce Quorum sensing est un processus chimique de communication de cellule à cellule qui permet aux bactéries de partager des informations sur la densité cellulaire et d'ajuster leur expression génique en fonction (Yi et *al.*, 2021), et qui implique la production et la réponse à des signaux diffusibles ou sécrétés, qui peuvent varier considérablement selon les différents types de bactéries (Abisado et *al.*, 2018).

#### 4.1- Quorum Sensing chez *Pseudomonas aeruginosa*

*Pseudomonas aeruginosa* synthétise de nombreux facteurs de virulence qui vont induire des dégradations et des nécroses tissulaires favorisant ainsi sa prolifération et sa dissémination. L'expression de ces différents facteurs de virulence ne se fait pas au hasard. Elle est coordonnée par plusieurs systèmes de régulation génique dont le plus important correspond à un mécanisme appelé **Quorum Sensing**. (Pierre et *al.*, 2008).

Deux systèmes de QS, nommés las et rhl, ont été identifiés chez *P. aeruginosa*. Chaque système se définit par un couple composé d'une protéine régulatrice et d'une enzyme autoinductrice : LasR/LasI pour le système las et RhIR/RhII pour rhl. L'enzyme autoinductrice contribue à la synthèse de petites molécules, les acylhomosérine lactone (AHL) qui diffusent facilement de bactéries à bactéries. (Ruimy & Andremont, 2004).

Le système las, le premier à avoir été décrit, comprend le gène *LasR* codant pour la protéine régulatrice LasR et le gène *lasI* codant pour une enzyme, auto-inducteur synthase, LasI, nécessaire à la synthèse d'un type d'AHL : N-(3- oxododecanoyl)-L-homosérine lactone (3 oxo-C12-HSL). (Ruimy & Andremont, 2004). Les 3-oxo-C12-HSL possèdent la propriété de traverser facilement les membranes bactériennes et constituent ainsi un véritable moyen de communication entre les bactéries. Lorsque la concentration en 3-oxo-C12- HSL atteint un seuil critique, témoin d'une concentration bactérienne élevée, une molécule d'AHL se lie à deux protéines LasR pour constituer un complexe activateur (figure 10) de la transcription de plusieurs gènes. Cette activation est déclenchée de manière synchrone dans toute la population bactérienne à la jonction entre la phase de croissance exponentielle et le début de la phase stationnaire (Ruimy & Andremont, 2004).

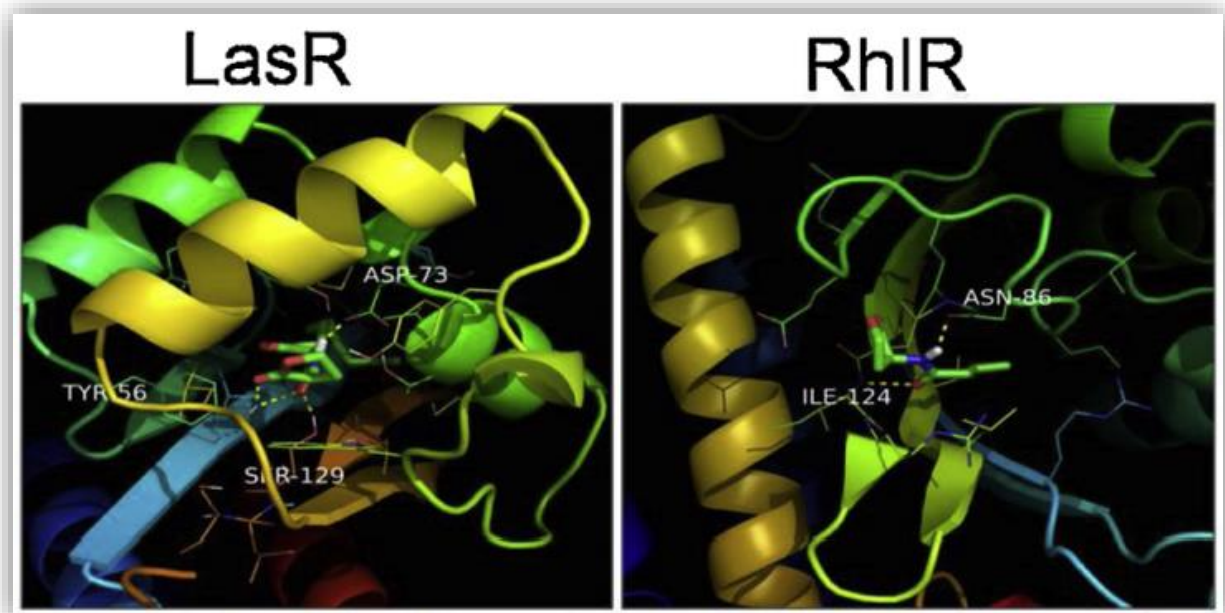
Les gènes activés par ce système comprennent (figure 11) :

- ✓ *LasB*, *lasA*, *aprA* codant respectivement pour deux élastases, et pour une protéase alcaline contribuant chacune à la destruction des tissus pulmonaires. (Ruimy & Andremont, 2004).
- ✓ *toxA*, codant pour une exotoxine ADP-ribosylante. (Ruimy & Andremont, 2004).
- ✓ *xcpR* et *xcpP*, codant pour des protéines de la machinerie de sécrétion de type II nécessaires à l'exportation de ces facteurs hors de la bactérie. (Ruimy & Andremont, 2004).
- ✓ *lasI*, permettant une augmentation rapide de la synthèse de 3-oxo C12-HSL et donc une amplification du signal par auto-induction. (Ruimy & Andremont, 2004).

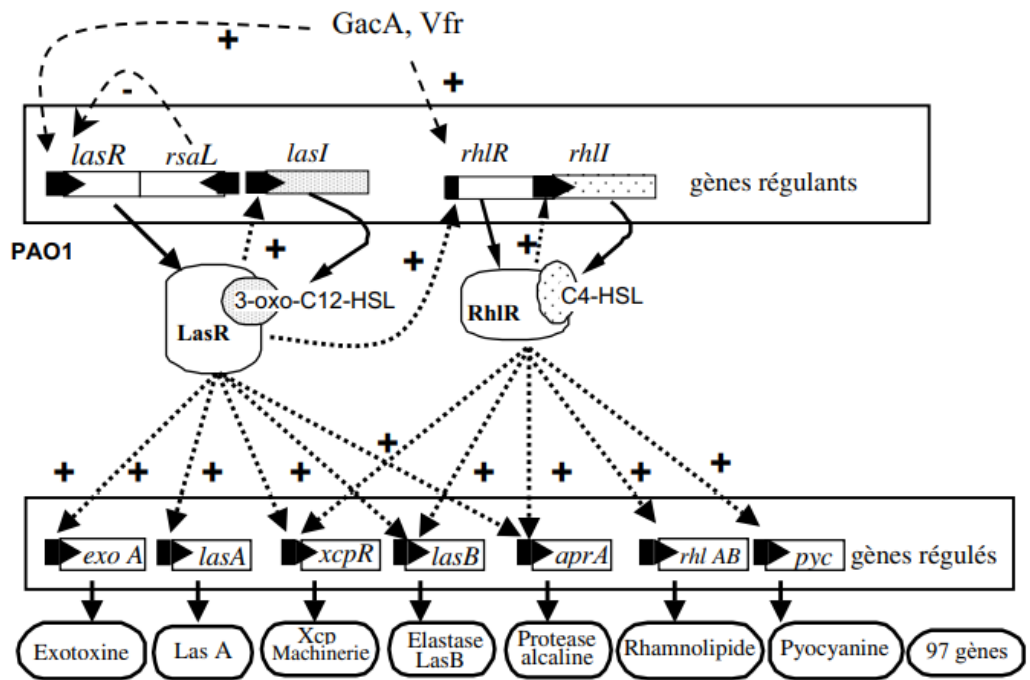
Le deuxième système *rhl* fonctionne selon le même schéma et comprend le gène *RhlR*, codant pour la protéine régulatrice *RhlR* et le gène *rhlI*, codant pour une enzyme auto-inducteur synthase, *RhlI* nécessaire à la synthèse d'un second type d'AHL : N-butyryl-L-homosérine lactone (C4- HSL). Le complexe *RhlR*-C4-HSL (figure 10) contrôle l'expression de l'opéron *rhlAB* nécessaire à la production de rhamnolipide et l'expression d'une série de gènes dont *LasB*, *lasA*, *aprA*, et *rhlI* (Ruimy & Andremont, 2004).

Malgré la similitude structurale entre couples activateurs/inducteurs (*LasR/LasI* et *RhlR/RhlI*) des deux systèmes, aucun des composants d'un système ne peut remplacer ceux de l'autre. Cependant, il existe des interactions entre ces deux systèmes. Le complexe *LasR*-3-oxo-C12-HSL active la transcription de *RhlR* et *rhlI*. De plus, les 3-oxo C12-HSL peuvent entrer en compétition avec les C4-HSL pour le site de liaison à *RhlI* et pourraient ainsi agir comme un antagonisme du système *rhl*.

Il existe donc une hiérarchie entre ces deux systèmes avec le système *las* qui régule positivement le système *rhl*. (Ruimy & Andremont, 2004).



**Figure 10 :** Interactions des ligands naturels, 3-oxo C12HSL et C4HSL avec LasR et RhlR (Rajkumari et al., 2019).



**Figure 11 :** Mécanisme moléculaire du Quorum sensing chez *P. aeruginosa* (Ruimy & Andremont, 2004).



#### 4.2- Formation de biofilms chez *Pseudomonas aeruginosa*

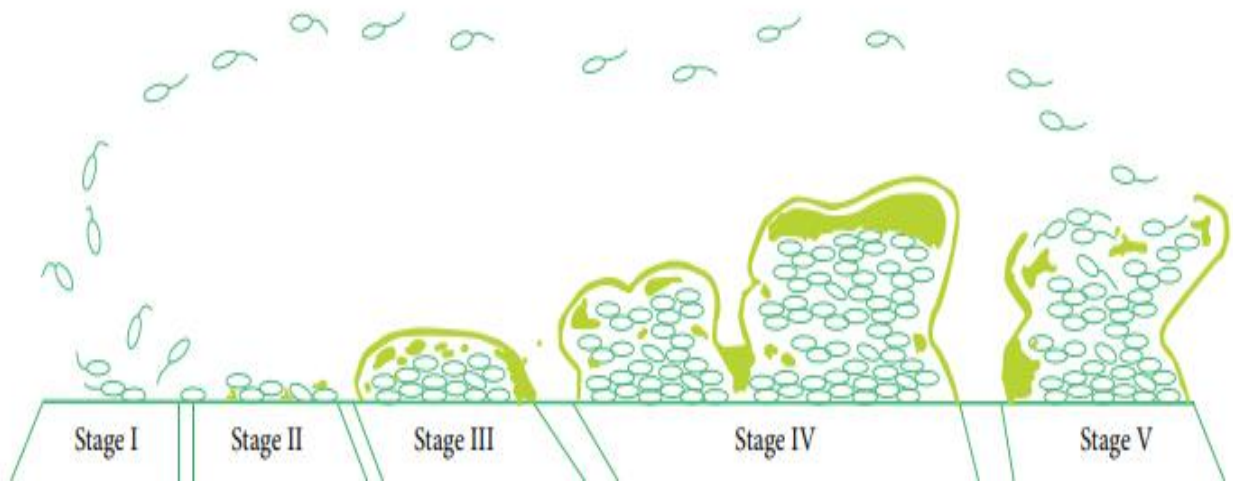
Le **biofilm** est constitué d'une communauté de micro-organismes fixés à une surface et généralement inclus dans une matrice extracellulaire. Plus généralement, est considérée comme biofilm toute association de micro-organismes adhérant entre eux ou à une surface. (Khalilzadeh, 2009).

La formation de biofilm est l'un des mécanismes utilisés par les bactéries pour développer une résistance par signalisation chimique pour construire des structures protectrices contre les agents antimicrobiens conventionnels.(Rashiya et al., 2021).

*Pseudomonas aeruginosa* possède La capacité de coloniser les dispositifs médicaux et les tissus humains tout en se développant dans des communautés résistantes (biofilm) (Cendra & Torrents, 2021).

La Matrice extracellulaire de *Pseudomonas aeruginosa* est le corps du biofilm. Elle maintient l'intégrité du biofilm en maintenant la communauté bactérienne ensemble et confère une protection du biofilm contre les antimicrobiens et la réponse immunitaire de l'hôte. Cette matrice se compose principalement d'un mélange d'exopolysaccharides (EPS) et ADN extracellulaire (eDNA) et protéines (Cendra & Torrents, 2021).

Par exemple le cycle de vie du biofilm de *P. aeruginosa PAO1* peut être subdivisé en cinq étapes phénotypiques majeures (figure 12) (Rasamiravaka et al., 2015).



**Figure 12 :** Cycle de vie du biofilm de *P. aeruginosa* PAO1 cultivé dans un milieu de glucose minimal. Au stade I, les bactéries planctoniques initient une fixation sur une surface abiotique, qui devient irréversible au stade II. Le stade III correspond à la formation de microcolonie. Le stade IV correspond à la maturation du biofilm et à la croissance de la communauté tridimensionnelle. La dispersion se produit au stade V et les bactéries planctoniques qui sont libérées du biofilm pour coloniser d'autres sites. (Rasamiravaka et al., 2015).

#### 4.3- Relation QS et formation de biofilms

On estime que 6 à 10 % du génome est régulé par le QS. La majorité des transcrits régulés par le QS traduirait des protéines dont les fonctions sont hypothétiques. De nombreux gènes affectés par le QS sont impliqués dans des processus fondamentaux cellulaires (réplication de l'ADN, transcription de l'ARN, division cellulaire, synthèse des acides aminés) ; d'autres sont impliqués dans la virulence. (Le Berre et al., 2006).

Dans l'étape de la structuration du biofilm. Il a été montré que le QS joue un rôle dans cette étape; ce qui n'est pas surprenant puisque le QS est dépendant d'une forte densité bactérienne. (Ruimy & Andremont, 2004).

Un lien indirect entre la formation de biofilm et QS a été rapporté, à travers le contrôle des motilités d'essaimage et de contraction, ainsi que la production de rhamnolipides et de lectines. La motilité d'essaimage, une forme de translocation de surface organisée, dépend d'une flagellation étendue et d'un contact de cellule à cellule régulée par le système rhl, la motilité de l'essaimage est impliquée dans les premiers stades de l'établissement du biofilm de *P. aeruginosa*. (Rasamiravaka et al., 2015). Les systèmes QS connus chez *P. aeruginosa* jouent un rôle dans le cycle de vie des biofilms (Rasamiravaka et al., 2015).

#### 4.5- Voies d'inhibitions du QS

*P. aeruginosa* responsable de l'infection exerce une virulence principalement contrôlée par le QS. (Ruimy & Andremont, 2004).

Différentes cibles sont théoriquement possibles pour inhiber le QS :

- inhibition des régulateurs positifs du QS ou inhibition de l'expression de *lasR-lasI* ou de *rhlR-rhII*. (Le Berre et al., 2006).
- dégradation ou inhibition de la synthèse des AHL (Le Berre et al., 2006).
- inhibition de l'AHL au niveau de son récepteur. (Le Berre et al., 2006).
- des extraits d'ail ont montré des propriétés inhibitrices du QS. (Roux & Ricard, 2013).
- le triphényle est une molécule structurellement proche de l'homosérine lactone capable d'inhiber le QS (Roux & Ricard, 2013).
- certains antibiotiques tels que l'azithromycine, la ceftazidime et la ciprofloxacine ont aussi la capacité d'inhiber le QS (Roux & Ricard, 2013).
- De plus, l'activité des macrolides chez les patients mucoviscidosiques ou atteints de panbronchiolite diffuse pourrait être expliquée par une inhibition du QS (Ruimy & Andremont, 2004).

## *Partie II: Partie expérimentale*

# ***Chapitre I: Analyse in silico***

## 1. Matériels et méthodes

Notre travail consiste à réaliser une étude bio-informatique *in silico* sur les protéines régulatrices LasR et RhIR du quorum sensing et les gènes *toxA* et *LasB* de virulence chez *Pseudomonas aeruginosa*. Notre étude est réalisée intégralement, en ligne, sur la plateforme NCBI (Centre national de biotechnologie et information bio-informatique), à l'exception les structures des protéines régulatrices LasR et RhIR ont été obtenues à partir du site des banque de données PDB (Protein Data Bank) et Uniprot (Universal Protein Resource).

### 1.1- National Center for Biotechnology Information (NCBI)

NCBI a été créé en 1988 pour développer des systèmes d'informations pour la biologie moléculaire. En plus de maintenir la base de données de séquences d'acides nucléiques (GenBank), qui reçoit des données grâce à la collaboration internationale avec DNA Data Bank of Japan et Laboratoire européen de biologie moléculaire ainsi que de la communauté scientifique, NCBI fournit des systèmes de récupération de données et des ressources informatiques pour l'analyse des données GenBank et de nombreux autres types de données biologiques (Sayers *et al.*, 2011). À la fin de 2009, NCBI a lancé un projet à long terme de reconcevoir et de normaliser le site Web du NCBI, contenant plus de 4000 pages.(Sayers *et al.*, 2011). Toutes les données de la plate-forme NCBI sont disponibles sur le Web à l'adresse : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>.



## 1.2- Protein Data Bank (PDB)

La banque de données sur les protéines (PDB) a été créée au Brookhaven National Laboratoires (BNL) en 1971, en tant qu'archives des structures cristallines macromoléculaires biologiques, PDB possède une expertise variée dans les techniques de détermination de la structure cristalline aux rayons X, de RMN, de microscopie cryoélectronique et de modélisation théorique. En octobre 1998, la direction du PDB est devenue la responsabilité du Research Collaboratory for Structural Bioinformatics (RCSB). En termes généraux, la vision du RCSB est de créer une ressource basée sur la technologie la plus moderne qui facilite l'utilisation et l'analyse des données structurales et crée ainsi une ressource habilitante pour la recherche biologique (**Berman et al., 2000**). Toutes les données PDB sont disponibles sur le Web à l'adresse : <https://www.rcsb.org/>.



## 1.3- Universal Protein Resource (UniProt)

UniProt fournit une ressource centrale stable, complète et librement accessible sur les séquences protéiques et l'annotation fonctionnelle, le Consortium UniProt est une collaboration entre l'Institut Européen de Bioinformatique (EBI), le Protein Information Resource (PIR) et le Swiss Institute of Bioinformatics (SIB) (**Apweiler, 2008**). Toutes les données UniProt sont fournies gratuitement et sont disponibles sur le Web à l'adresse : <http://www.uniprot.org/>.



## 1.4- Séquences génétiques et protéiques

- Les gènes *LasR* et *RhlR* du quorum sensing et *toxA* et *LasB* de la virulence chez *Pseudomonas aeruginosa*

Nous avons téléchargé les séquences protéiques des gènes *LasR* et *RhlR* ainsi que les séquences génétiques du *toxA* et *LasB* avec leurs numérotations de concession (NC), en date de 3 juin 2021 sur le site : (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term>), et grâce à la plate-forme NCBI nous avons pu obtenir le format **FASTA** de chaque séquence. Il faut savoir que le format FASTA (ou format Pearson) est un format de fichier texte utilisé pour stocker des séquences biologiques de nature nucléique ou protéique. Ces séquences sont représentées par une suite de lettres codant pour des acides nucléiques ou des acides aminés selon la nomenclature de l'Union internationale de chimie pure et appliquée (Cock et al., 2009).

- *LasR* (NP\_250121.1) (figure13),
- *RhlR* (NP\_252167.1) (figure14),
- *ToxA* (NC\_002516.2:c1242500-1240584) (figure15),
- *LasB* (NC\_002516.2:c4170483-4168987) (figure16).

```
>NP_250121.1 transcriptional regulator LasR [Pseudomonas aeruginosa PAO1]
MALVDGFLELERSSGKLEWSAILQKMASDLGFSKILFGLLPKDSQDYENAFIVGNYPAAWREHYDRAGYA
RVDPTVSHCTQSVLPFIWEPSIYQTRKQHEFFEEASAAGLVYGLTMPLHGARGELGALSLSVEAENRAEA
NRFMESVLPITLWMLKDYALQSGAGLAFEHPVSKPVVLTREKEVLQWCAIGKTSWEISVICNCSEANVNF
HMGNIRRKFGVTSRRVAAIMAVNLGLITL
```

**Figure 13** : Format **FASTA** de la séquence qui code pour la protéine *LasR* chez *Pseudomonas aeruginosa PAO1*

```
>NP_252167.1 transcriptional regulator RhlR [Pseudomonas aeruginosa PAO1]
MRNDGGFLLWWDGLRSEMQPIHDSQGVFAVLEKEVRRLGFDYYAYGVRHTIPFTRPKTEVHGTYPKAWLE
RYQMQNYGAVDPAILNGLRSSEMVVWSDSLFDQSRMLWNEARDWGLCVGATLPIRAPNNLLSVLSVARDQ
QNISSFEREEIRLRLRCMIELLTQKLTDLLEHPMLMSNPVCLSHREREILQWTADGKSSGEIAIILSISES
TVNFHHKNIQKKFDAPNKTLAAAYAAALGLI
```

**Figure 14** : Format **FASTA** de la séquence qui code pour la protéine *RhlR* chez *Pseudomonas aeruginosa PAO1*



```
>NC_002516.2:c1242500-1240584 Pseudomonas aeruginosa PAO1, complete genome
ATGCACCTGACACCCCATTTGGATCCCCCTGGTCGCCAGCCTCGGCCTGCTCGCCGGCGGCTCGTTCGCGT
CCGCCCGGAGGAAGCCTTCGACCTCTGGAACGAATGCGCCAAGGCCTGCGTGCCTCGACCTCAAGGACGG
CGTGGGTTCCAGCCGCATGAGCGTCGACCCGGCCATCGCCGACACCAACGGCCAGGGCGTGTGCACCTAC
TCCATGGTCTCGAGGGCGGCAACGACGCGCTCAAGCTGGCCATCGACAACGCCCTCAGCATACCAGCG
ACGGCCTGACCATCCGCCTCGAAGTGGCGTCGAGCCGAACAAGCCGGTGCCTACAGTACACGCGCCA
GGCGCGCGCAGTTGGTCTGAACTGGCTGGTGGCCATCGGCCACGAGAAGCCTTCGAACATCAAGGTG
TTCATCCAGAACTGAACGCCGGTAACCAGCTCAGCCACATGTGCGCGATCTACACCATCGAGATGGGCG
ACGAGTTGCTGGCGAAGCTGGCGCGCATGCCACCTTCTTCGTGAGGGCGCACGAGAGCAACGAGATGCA
GCCGACGCTCGCCATCAGCCATGCCGGGGTTCAGCGTGGTTCATGGCCAGGCCAGCCGCGCGGAAAAG
CGCTGGAGCGAATGGGCCAGCGCAAGGTGTTGTGCCTGCTCGACCCGCTGGAGGGGTCTACAACCTACC
TCGCCAGCAGCGCTGCAACCTCGACGATACCTGGGAAGGCAAGATCTACCGGGTGTCTCGCCGGCAACCC
GGCGAAGCATGACCTGGACATCAAGCCACGGTTCATCAGTTCATCGCTGCATTTCCCGAGGGCGCGCAGC
CTGGCCGCGTGAACCGCGCACAGGCCCTGCCACCTGCCGCTGGAGACCTTCACCCGTCATCGCCAGCCGC
GCGGTGGGAACAACTGGAGCAGTGGGGTATCCGGTGCAGCGGCTGGTGCCTCTACCTGGCGGCGCG
GCTGTGTTGGAACAGGTGACCCAGGTGATCCGCAACGCCCTGGCCAGCCCGCGAGCGCGCGCACCTG
GGCGAAGCGATCCGCGAGCAGCCGGAGCAGGCCCTGTGGCCCTGACCTGGCCCGCGCGAGAGCGGAGC
GCTTCGTCCGGCAGGGCACAGGCAACGACGAGGCCGGCGCGGCCAGCGCCGACGTGGTGGAGCTGACCTG
CCCCTGCGCCGCGTGAATGCGCGGGCCCGCGGACAGCGCGCACGCCCTGCTGGAGCGCAACTATCCC
ACTGGCGCGGAGTTCCTCGGCGACGGCGGCGACATCAGCTTCAGCACCCCGCGCGCAGCAACTGGAGCG
TGGAGCGGCTGCTCCAGGCGCACCGCCAACTGGAGGAGCGCGGCTATGTGTTCCGTCGGTACCACGGCAC
CTTCTCGAAGCGGCGCAAGCATCGTCTTCGGCGGGGTGCGCGCGCGCAGCCAGGACCTCGACCGCATC
TGGCCGCGTTTCTATATCGCCGCGCATCCGGCGCTGGCCTACGGCTACGCCAGGACCAAGAAACCCGACG
CGCGCGCGCGGATCCGCAACGGTGCCTGCTGCGGGTCTATGTGCCGCGCTCGAGTCTGCCGGGCTTCTA
CCGCACCGGCTGACCTGGCCGCGCGGAGGCGGGGCGAGGTGCAACGGCTGATCGCCATCCGCTG
CCGCTGCGCTGGAGCCATACCGGCCCGGAGGAGGAAGCGGGCGCCTGGAGACCTTCTCGGCTGGC
CGCTGGCGAGCGCACCGTGGTATTCCCTCGGCGATCCCACCGACCCGCGCAACGTGGCGCGGACCT
CGACCCGTCAGCATCCCAGCAAGGAACAGCGCATCAGCGCCCTGCCGACTACGCCAGCCAGCCCGGC
AAACCCCGCGCGGAGACCTGAAGTAA
```

**Figure 15 :** Format FASTA du gène *toxA* chez *Pseudomonas aeruginosa PAO1*

```
>NC_002516.2:c4170483-4168987 Pseudomonas aeruginosa PAO1, complete genome
ATGAAGAAGGTTTCTACGCTTGACCTGTTGTTGTTGCGATCATGGGTGTTTCGCCGGCCGCTTTTGCCG
CCGACCTGATCGACGTGTCCAAACTCCCCAGCAAGGCTGCCAGGGGCGCCCGGCCCGGTCACCTTGCA
AGCCGCGGTGCGCGCTGGCGGTGCCGACGAACTGAAAGCGATCCCGACGACGACCCCTGCCCAACGGCAAG
CAGGTCACCCGCTACGAGCAATTCCACAACGGCGTACGGGTGGTTCGGCGAAGCCATCACCGAAGTCAAGG
GTCGCCGCAAGAGCGTGGCGGCGCAGCGCAGCGGCCATTTGTCGCCAACATCGCTGCCGACCTGCCGGG
GACGACCAACCGCGCGGTATCCGCCGAGCAGGTGCTGGCCAGGCCAAGAGCCTGAAGGCCACAGGCCGCG
AAGACCGAGAATGACAAAGTGAAGTGGTATCCGCTGGGCGAGAACAACATCGCCCAACTGGTCTACA
ACGCTCTCTACCTGATTCGCCGCGAGGGACTGTGCGGGCCGATTTGTCATCGACGCCAAGACCGGCGA
AGTGTCTGATCAGTGGGAAGGCTGGCCACGCGGAGGCGGGCGCCCGGCCGCAACCGAAGATCGGC
AAGTACACCTACGGTAGCGACTACGGTCCGCTGATCGTCAACGACCGCTGCGAGATGGACGACGGCAACG
TCATCACCTGACATGAACAGCAGCACCGACGACAGCAAGACCACGCCGTTCCGCTTCGCTGCCCGAC
CAACACCTACAAGCAGGTCAACGGCGCCTATTCCCGCTGAACGACGCGCATTTCTTCGGCGCGTGGTG
TTCAAACCTGTACCGGACTGGTTCCGGACCCAGCCCGCTGACCCACAAGCTGTACATGAAGGTGCACTACG
GGCGCAGCGTGGAGAACGCCCTACTGGGACGGCACGGCGATGCTCTTCGGCGACGGCGCCACCATGTTCTA
TCCGCTGGTGTGCTGGACGTGGCGGCCCCACGAGGTGAGCCAGGCTTACCAGGACGAACTCCGGGCTG
ATCTACCGCGGCAATCAGGCGGAATGAACGAAGCCTTCTCCGACATGGCCGCGAGGCTGCCGAGTCT
ATATGCGCGCAAGAACGACTTCTGATCGGCTACGACATCAAGAAGGGCAGCGGTGCGCTGCGCTACAT
GGACCAGCCAGCGCGACGGGCGATCCATCGACAACCGCTGCGAGTACTACAACGGCATCGACGTGCAC
CACTCCAGGGCGTGTACAACCGTGGCTTACTGTTGGCCAATTCCCGGGCTGGGATACCCGCAAGG
CCTTCGAGGTGTTGCTCGACGCCAACCGCTACTACTGGACCCACCAGCAACTACAACAGCGCGCCTG
CGGGGTGATTCGCTCGGCGCAGAACCCTACTCGGCGGCTGACGTACCCGGGCGTTCAGCACCGCTC
GGCGTACCTGCCCGAGCGGCTTGTAA
```

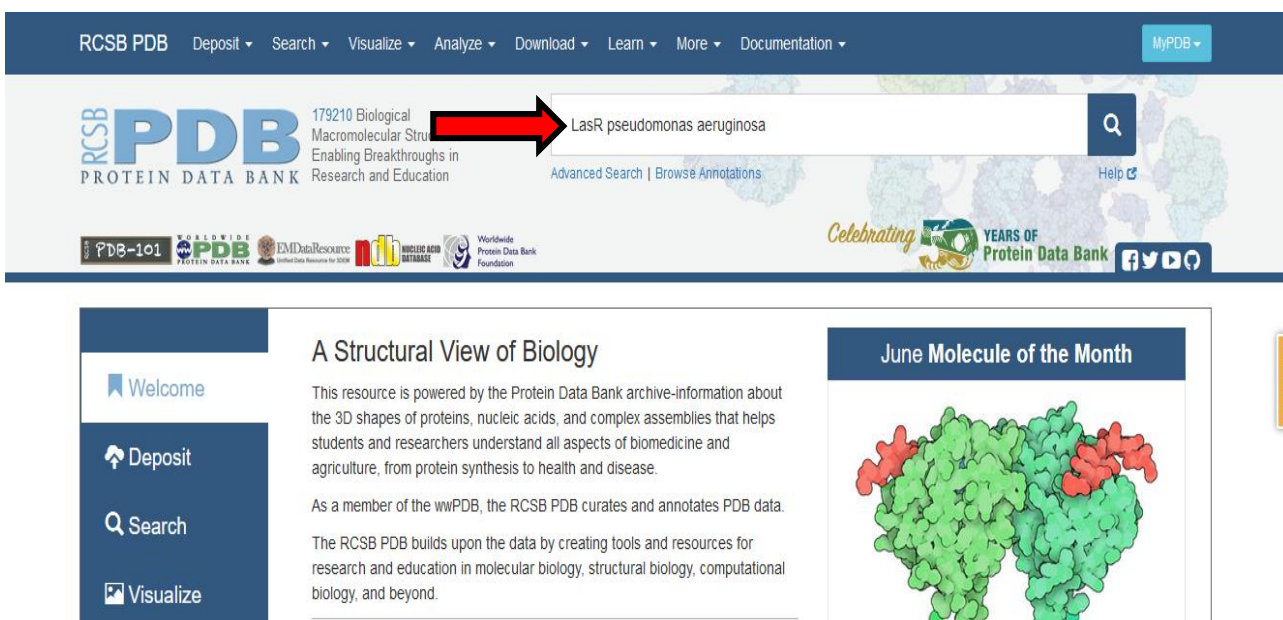
**Figure 16 :** Format FASTA du gène *LasB* chez *Pseudomonas aeruginosa PAO1*

## 1.5- Prédiction des structures

Les plateformes des banques de données des protéines comme Protein Data Bank et Uniprot constituent une approche importante pour la prédiction des structures des protéines, car Il est important d'étudier la structure des protéines pour comprendre et déterminer leurs fonctions.

Il nécessaire juste de mettre le nom de la protéine et l'organisme producteur de cette protéine dans la case de recherche dans les plateformes citées pour avoir les structures.

Dans notre travail, nous avons utilisé ces deux banques de protéines PDB (figure 17), et Uniprot (figure 18), pour avoir les structures des protéines régulatrices LasR et RhIR chez *pseudomonas aeruginosa*.



The image shows a screenshot of the RCSB Protein Data Bank (PDB) website. At the top, there is a navigation bar with links for Deposit, Search, Visualize, Analyze, Download, Learn, More, and Documentation. A search bar is prominently displayed in the center, containing the text "LasR pseudomonas aeruginosa". A red arrow points to the search bar. Below the search bar, there are several logos and banners, including "PDB-101", "EM Data Resource", and "Worldwide Protein Data Bank Foundation". On the right side, there is a "MyPDB" button and a "Help" link. Below the search bar, there is a section titled "A Structural View of Biology" with a description of the PDB archive and its role in providing 3D structures of proteins and nucleic acids. To the right of this section is a "June Molecule of the Month" banner featuring a 3D molecular model of a protein structure.

**Figure 17 : Rechercher la structure de la protéine LasR**

The mission of UniProt is to provide the scientific community with a comprehensive, high-quality and freely accessible resource of protein sequence and functional information.

UniProtKB  
UniProt Knowledgebase  
Swiss-Prot (565,254)  
Manually annotated and reviewed.  
Records with information extracted from literature and curator-evaluated computational analysis.

UniRef  
Sequence clusters

UniParc  
Sequence archive

Proteomes  
Proteome sets

Supporting data

New UniProt portal for the latest SARS-CoV-2 coronavirus protein entries and receptors, updated independent of the general UniProt release cycle.  
[View SARS-CoV-2 Proteins and Receptors](#)

News  
Forthcoming changes  
There are currently no changes planned

**Figure 18 : Rechercher la structure de la protéine RhIR**

## 1.6 -Recherche de similarités

Pour le calcul des taux de similarité entre nos séquences c'est-à-dire le degré de parenté et les régions similaires entre les séquences et celles stockées dans la banque de données (NCBI), nous avons utilisé logiciel **BLAST** comme outil principal pour réaliser cette étude *in silico*.

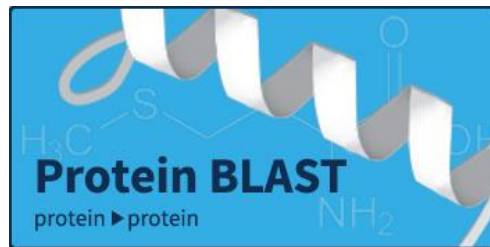
- **BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) :** Il existe de nombreuses façons d'effectuer une recherche de similarité de séquence, mais la méthode la plus populaire est probablement "Basic Local Alignment Search Tool" (BLAST) c'est-à-dire "Outil de recherche d'alignement local de base" (**Madden, 2013**). **NCBI** a produit la première version de BLAST vers 1990. BLAST utilise l'heuristique pour produire des résultats rapidement. Il calcule également une «valeur attendue» qui estime le nombre de correspondances qui se seraient produites à un score donné par hasard, ce qui peut aider un utilisateur à juger le degré de confiance à avoir dans un alignement (**Madden, 2013**).

Il existe de nombreux types de recherches BLAST, dans notre travail nous avons utilisé le **BLASTp** pour les protéines régulatrices LasR et RhIR et pour les gènes *ToxA* et *LasB* de la virulence nous avons utilisé le **BLASTn** :

- La recherche de nucléotides-nucléotides **BLASTN** recherche des séquences plus éloignées. (Madden, 2013).



- **BLASTP** effectue une comparaison de séquence protéine-protéine (Madden, 2013).



## 1.7-Etude phylogénétique

Un **arbre phylogénétique** est un diagramme qui représente les relations évolutives (l'histoire évolutive) entre les organismes. Les arbres phylogénétiques sont accompagnés aux études évolutives pour illustrer les relations et résumer les affinités entre les taxons. Les arbres phylogénétiques ne résument pas seulement les informations évolutives, mais ils servent aussi d'approches pour des études plus détaillées sur les mêmes groupes et Ils fournissent une incitation visuelle à tester des hypothèses d'expression de relations (Stuessy, 1983).

Parmi les anciennes méthodes de construction des arbres phylogénétiques, la méthode UPGMA (Unweighted Paired Group Mean Arithmetic). Cette méthode permet de construire des arbres ultramétriques. Dans ces arbres, toutes les feuilles sont à équidistance de leur ancêtre commun. Cette propriété répond parfaitement au principe de l'horloge moléculaire qui suppose que les substitutions s'accumulent à une vitesse constante dans le temps et que les distances évolutives sont le reflet (strict) des temps géologiques qui sépare deux OTU de leur ancêtre commun (Sneath & Sokal, 1973).

Par la suite ils se sont inspirés de cette méthode pour développer de nouvelles méthodologies de construction d'arbres phylogénétiques, qui tentent d'améliorer la méthode UPGMA comme la méthode NJ et ME que nous avons utilisées dans notre étude, et grâce à logiciel BLAST qui nous offre la possibilité de construire les arbres phylogénétiques selon ses deux méthodes.

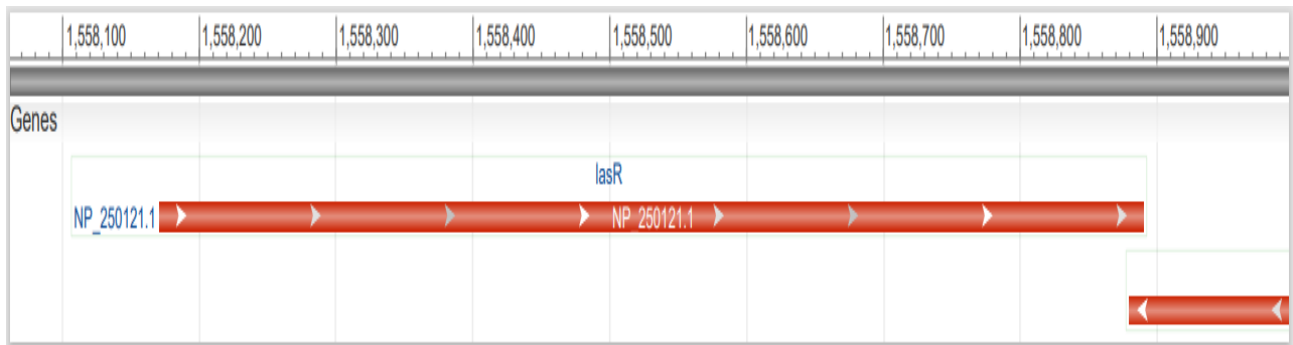
- **La méthode de Neighbor-joining:** La méthode NJ a été initialement proposée par Saitou et Nei (1987) puis modifiée par Studier et Kepler (1988) (Pearson et *al.*, 1999). La méthode NJ est un pilier de la reconstruction de la phylogénie chez les biologistes (St. John et *al.*, 2003). Il s'agit un algorithme basé sur la distance en temps cubique qui commence par créer un nœud pour chaque taxon de l'ensemble d'entrée et en dressant une liste de ces nœuds. Il procède en appariant à plusieurs reprises les deux nœuds «les plus proches» de la liste, en ajoutant un nouveau nœud («le parent») avec des arêtes à la paire sélectionnée, et en remplaçant cette paire par un nouveau nœud. Au fur et à mesure que ce processus progresse, la liste des nœuds disponibles pour la paire diminue et un graphique acyclique est formé par les arêtes ajoutées avec les nouveaux nœuds (St. John et *al.*, 2003), autrement dit NJ cherche à construire un arbre qui minimise la somme de toutes les longueurs d'arêtes (Pearson et *al.*, 1999).
- **La méthode d'évolution minimale :** la méthode à évolution minimale (ME) est basée sur l'hypothèse que l'arbre avec la plus petite somme d'estimations de longueur de branche est le plus susceptible d'être le vrai (Rzhetsky & Nei, 1993).

## 2. Résultats

### 2.1- Localisation et cartographie génétique

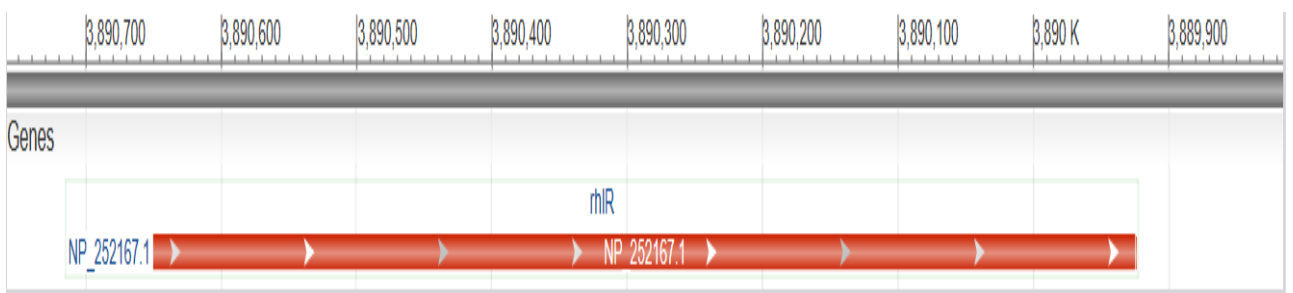
L'analyse *in silico* exprime la cartographie génétique des 4 gènes et leurs positions (localisation) par rapport aux autres gènes (figure 19, 20, 21, 22), et même la cartographie génétique des parties codantes pour les protéines régulatrices LasR et RhlR (figure 23, 24).

- D'après les résultats obtenus à partir de la base de données NCBI, le gène *LasR* qui code pour la protéine régulatrice LasR est localisé de 1558171 jusqu'à 1558890k (figure 19)



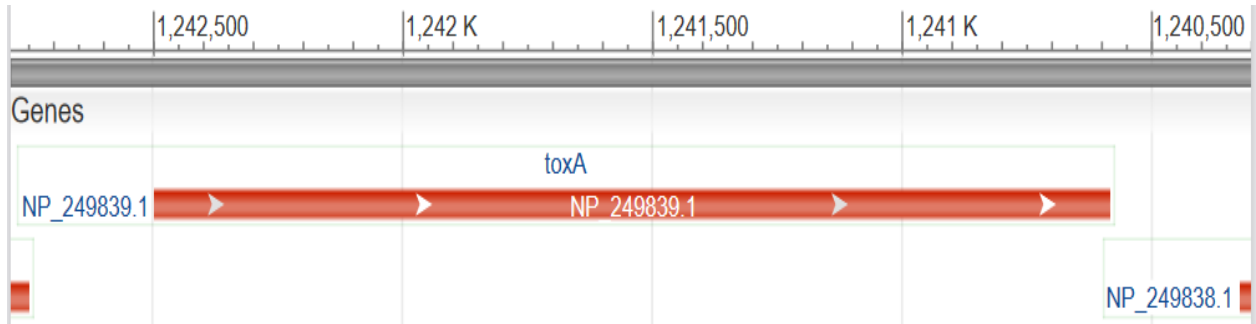
**Figure 19** : Représentation graphique du gène *LasR*

- D'après la cartographie génétique le gène *RhlR* qui code pour la protéine régulatrice RhlR est localisé de 3889925 jusqu'à 3890650k (figure 20).



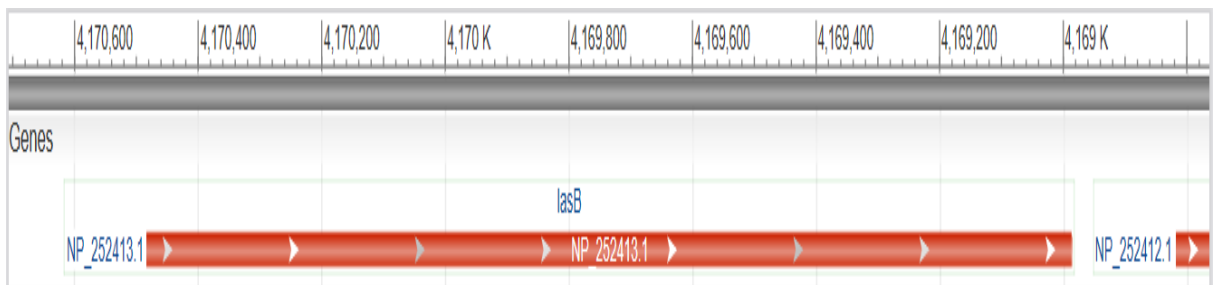
**Figure 20** : Représentation graphique du gène *RhlR*

- Pour le gène de virulence *ToxA* qui code pour une exotoxine ADP-ribosylante est localisé de 1240584 jusqu'à 1242500k (figure 21).



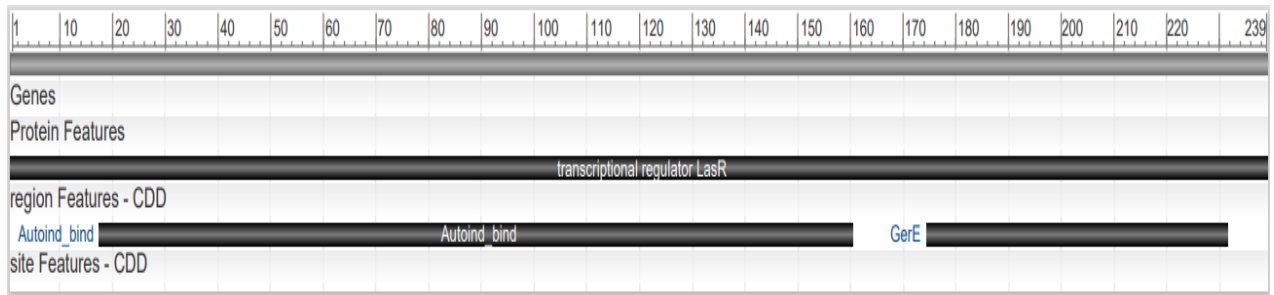
**Figure 21** : Représentation graphique du gène *toxA*

- Le gène *LasB* de virulence qui code pour une élastase LasB est localisé de 4168987 jusqu'à 4170483k (figure 22).



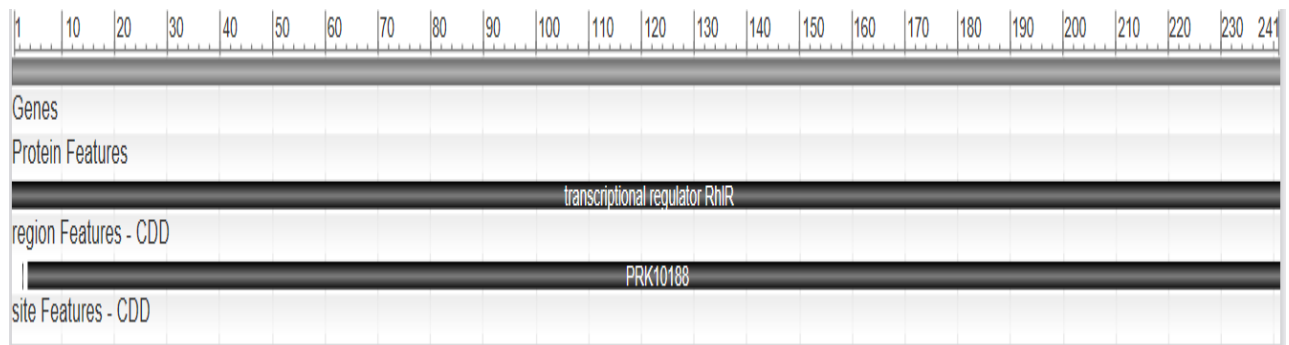
**Figure 22** : Représentation graphique du gène *LasB*

- La représentation graphique de la partie codante pour la protéine lasR chez *Pseudomonas aeruginosa PAO1* (figure 23).



**Figure 23 :** Partie codante pour la protéine LasR.

- La représentation graphique de la partie codante pour la protéine RhlR chez *Pseudomonas aeruginosa PAO1* (figure 24).

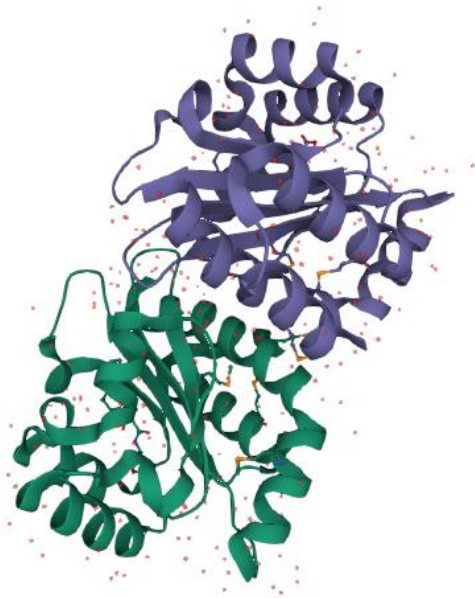


**Figure 24:** Partie codante pour la protéine RhlR



## 2.2- Structures

Grâce aux plates-formes PDB et Uniprot nous avons pu prédire la structure 3D de la protéine régulatrice LasR (figure 25), et un modèle 3D aussi pour la protéine régulatrice RhlR (figure 26).



**Couleur bleu:** la protéine LasR

Annotations:

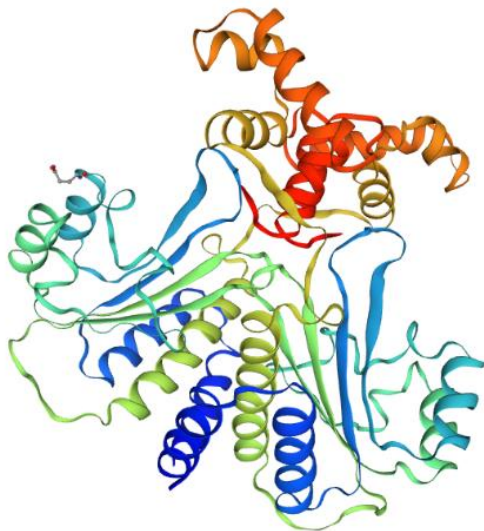
2UV0\_E\_H1 2UV0\_E\_H2  
2UV0\_E\_H3 2UV0\_E\_H4  
2UV0\_E\_H5 2UV0\_E\_H6

**Couleur verte :** auto inducteur

Annotations:

2UV0\_G\_H1 2UV0\_G\_H2  
2UV0\_G\_H3 2UV0\_G\_H4  
2UV0\_G\_H5 2UV0\_G\_H6  
2UV0\_G\_H7

**Figure 25 :** la Structure 3D de la protéine régulatrice LasR lié à son auto-inducteur chez *Pseudomonas aeruginosa* prise à partir du PDB (<https://www.rcsb.org>).



**Annotations de la protéine RhlR:**

4LGW\_A\_H1 4LGW\_A\_H2  
4LGW\_A\_H3 4LGW\_A\_H4  
4LGW\_A\_H5 4LGW\_A\_H6  
4LGW\_A\_H7 4LGW\_A\_H8  
4LGW\_A\_H9

**Figure 26:** la structure tridimensionnelle de la protéine régulatrice RhlR de *Pseudomonas aeruginosa* prise à partir de l'Uniprot (<https://www.uniprot.org>)

## 2.3- Bilan BLAST

Après avoir exécuté BLASTp pour les deux protéines régulatrices et BLASTn pour les deux gènes de virulence nous avons obtenu des listes d'un ensemble de séquences similaires à notre requête, avec leurs pourcentages d'identité et numéros d'accèsion (figure 27, 28, 29, 30).

D'après les résultats obtenus à partir du BLASTp et BLASTn :

- Pour la protéine régulatrice LasR, toutes les séquences obtenus présentent un pourcentage d'identité plus ou égal 99,58% (figure 27).

	Description	Scientific Name	Per. Ident	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	MULTISPECIES: transcriptional regulator LasR [Pseudomonas]	Pseudomonas	100.00%	WP_003082999.1
<input checked="" type="checkbox"/>	PA1430 [synthetic construct]	synthetic construct	100.00%	AAT50467.1
<input checked="" type="checkbox"/>	transcriptional regulator LasR [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.58%	WP_023125112.1
<input checked="" type="checkbox"/>	transcriptional regulator LasR [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	100.00%	WP_143958498.1
<input checked="" type="checkbox"/>	transcriptional regulator LasR [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	100.00%	WP_104879002.1
<input checked="" type="checkbox"/>	LuxR family transcriptional regulator [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.58%	MBG7406601.1
<input checked="" type="checkbox"/>	transcriptional regulator LasR [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.58%	WP_128665231.1
<input checked="" type="checkbox"/>	transcriptional regulator LasR [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	100.00%	WP_126524612.1
<input checked="" type="checkbox"/>	transcriptional regulator LasR [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.58%	WP_181263503.1
<input checked="" type="checkbox"/>	transcriptional regulator LasR [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.58%	WP_181261792.1
<input checked="" type="checkbox"/>	transcriptional regulator LasR [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.58%	WP_116680168.1
<input checked="" type="checkbox"/>	LuxR family transcriptional regulator [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.58%	MBG6597784.1
<input checked="" type="checkbox"/>	transcriptional regulator LasR [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	100.00%	WP_121242484.1
<input checked="" type="checkbox"/>	transcriptional regulator LasR [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.58%	WP_128681950.1
<input checked="" type="checkbox"/>	LuxR family transcriptional regulator [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.58%	MBG4616012.1
<input checked="" type="checkbox"/>	LuxR family transcriptional regulator [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	100.00%	MBH4446367.1
<input checked="" type="checkbox"/>	transcriptional regulator LasR [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.58%	WP_114230559.1
<input checked="" type="checkbox"/>	transcriptional regulator LasR [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.58%	WP_023089956.1
<input checked="" type="checkbox"/>	transcriptional regulator LasR [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.58%	WP_124119439.1
<input checked="" type="checkbox"/>	transcriptional regulator LasR [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.58%	WP_124105805.1
<input checked="" type="checkbox"/>	transcriptional regulator LasR [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.58%	WP_124173862.1
<input checked="" type="checkbox"/>	transcriptional regulator LasR [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.58%	WP_128672402.1
<input checked="" type="checkbox"/>	transcriptional regulator LasR [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.58%	WP_124173457.1
<input checked="" type="checkbox"/>	LuxR family transcriptional regulator [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.58%	MBG4333891.1
<input checked="" type="checkbox"/>	transcriptional regulator LasR [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.58%	WP_134286785.1
<input checked="" type="checkbox"/>	transcriptional regulator LasR [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.58%	WP_049262573.1
<input checked="" type="checkbox"/>	transcriptional regulator LasR [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.58%	WP_044261874.1
<input checked="" type="checkbox"/>	transcriptional regulator LasR [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.58%	WP_058010807.1

**Figure 27:** Séquences produisant des alignements significatifs *LasR*

- Pour la protéine régulatrice RhIR, toutes les séquences obtenus présentent un pourcentage d'identité plus ou égal 99,59% (figure 28).

	Description	Scientific Name	Per. Ident	Accession
✓	MULTISPECIES: transcriptional regulator SdiA [Pseudomonas]	Pseudomonas	100.00%	WP_003119559.1
✓	transcriptional regulator RhIR [Pseudomonas aeruginosa 2192]	Pseudomonas aeruginosa 2192	100.00%	EAZ59603.1
✓	transcriptional regulator SdiA [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.59%	WP_070344908.1
✓	transcriptional regulator SdiA [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.59%	MBG4996113.1
✓	transcriptional regulator SdiA [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.59%	MBH4047209.1
✓	transcriptional regulator SdiA [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.59%	WP_058143197.1
✓	transcriptional regulator SdiA [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.59%	WP_116814648.1
✓	transcriptional regulator SdiA [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.59%	MBI8646839.1
✓	transcriptional regulator SdiA [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.59%	WP_124185517.1
✓	transcriptional regulator SdiA [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.59%	MBH4157592.1
✓	transcriptional regulator SdiA [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.59%	WP_046720470.1
✓	transcriptional regulator SdiA [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.59%	WP_171941987.1
✓	transcriptional regulator SdiA [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.59%	WP_116825421.1
✓	transcriptional regulator SdiA [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.59%	WP_134267780.1
✓	transcriptional regulator SdiA [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.59%	WP_134281078.1
✓	transcriptional regulator SdiA [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.59%	WP_124183806.1
✓	transcriptional regulator SdiA [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.59%	WP_110590899.1
✓	transcriptional regulator SdiA [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.59%	WP_058182491.1
✓	transcriptional regulator SdiA [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.59%	WP_058875619.1
✓	transcriptional regulator SdiA [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.59%	WP_038403611.1
✓	transcriptional regulator SdiA [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	100.00%	MBI7016101.1
✓	regulatory protein RhIR [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	100.00%	QBA88856.1
✓	transcriptional regulator SdiA [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.59%	WP_161395731.1
✓	transcriptional regulator SdiA [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.59%	MBG5860426.1
✓	transcriptional regulator SdiA [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.59%	WP_124141836.1
✓	transcriptional regulator SdiA [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.59%	WP_049247505.1
✓	transcriptional regulator SdiA [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.59%	WP_124128830.1
✓	transcriptional regulator SdiA [Pseudomonas aeruginosa]	Pseudomonas aeruginosa	99.59%	WP_096078738.1

**Figure 28:** Séquences produisant des alignements significatifs *RhIR*

- Pour le gène *toxA*, le pourcentage d'identité le plus faible égal 99,48% mais la majorité de séquences présentent un pourcentage d'identité de 100% (figure 29).

Description	Scientific Name	Per. Ident	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain PA0750 chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	100.00%	<a href="#">CP034908.2</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain LIUYANG-E chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	100.00%	<a href="#">CP050052.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain LIUYANG-A chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	100.00%	<a href="#">CP050054.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain LIUYANG-C chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	100.00%	<a href="#">CP050053.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pseudomonas aeruginosa PAO1 chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Pseudomonas aerugino...</a>	100.00%	<a href="#">CP053028.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain delta6_4 chromosome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	100.00%	<a href="#">CP047063.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain delta6_5 chromosome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	100.00%	<a href="#">CP047064.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain delta6_2 chromosome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	100.00%	<a href="#">CP047061.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain delta6_3 chromosome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	100.00%	<a href="#">CP047062.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain Cas9_1 chromosome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	100.00%	<a href="#">CP047067.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain delta10 chromosome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	100.00%	<a href="#">CP047066.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain Cas9_2 chromosome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	100.00%	<a href="#">CP047068.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain delta6_6 chromosome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	100.00%	<a href="#">CP047065.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain FDAARGOS_767 chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	100.00%	<a href="#">CP041008.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain NCTC12903 genome assembly, chromosome: 1</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	99.48%	<a href="#">LR134309.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain Y31 chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	99.48%	<a href="#">CP030910.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain AR439 chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	99.48%	<a href="#">CP029097.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain Pa1207, complete genome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	99.48%	<a href="#">CP022001.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain T38079, complete genome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	99.48%	<a href="#">CP008866.2</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain S86968, complete genome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	99.48%	<a href="#">CP008865.2</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain H5708, complete genome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	99.48%	<a href="#">CP008859.2</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain PA_154197, complete genome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	99.48%	<a href="#">CP014866.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain ATCC 27853, complete genome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	99.48%	<a href="#">CP011857.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain FDAARGOS_1041 chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	99.48%	<a href="#">CP065966.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain SE5369 chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	99.48%	<a href="#">CP046403.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain PABCH01 chromosome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	99.48%	<a href="#">CP056100.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain PABCH42 chromosome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	99.48%	<a href="#">CP056090.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain PABCH14 chromosome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	99.48%	<a href="#">CP056092.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain PABCH05 chromosome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	99.48%	<a href="#">CP056098.1</a>

**Figure 29** : Séquences produisant des alignements significatifs *toxA*

- Pour le gène *LasB*, la majorité de séquences présentent un pourcentage d'identité de 100%, et le pourcentage d'identité le plus faible égal 99,87% (figure 30).

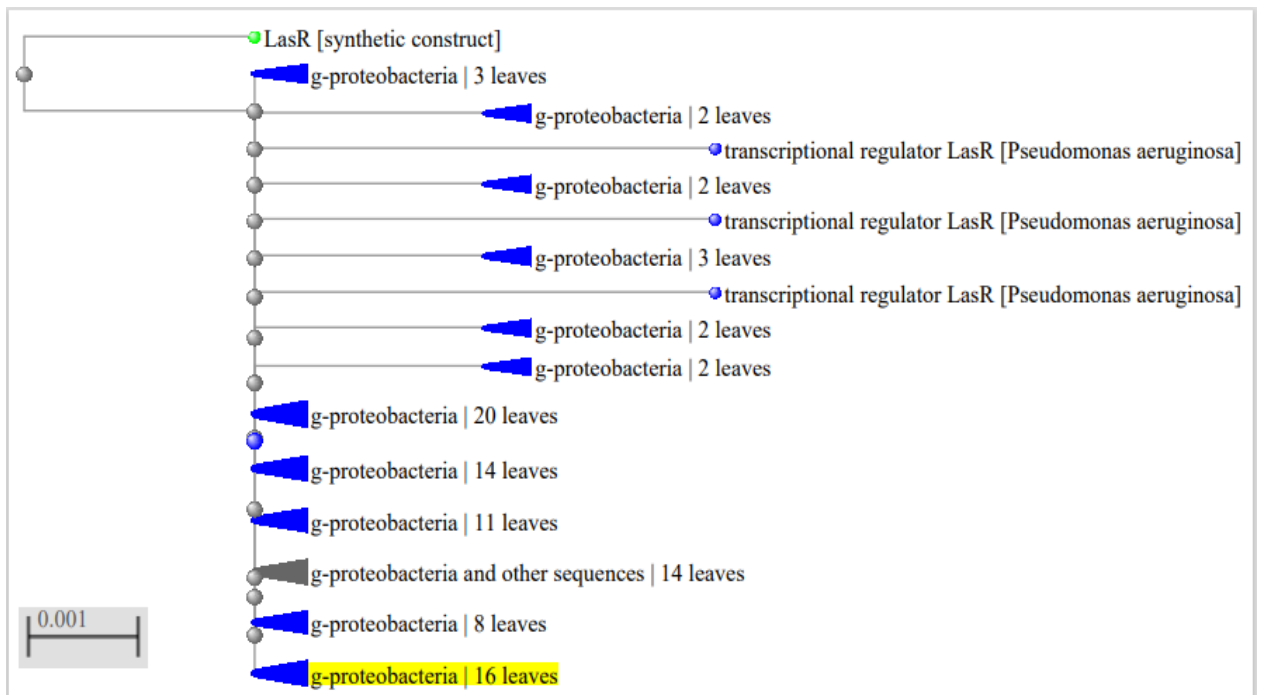
	Description	Scientific Name	Per. Ident	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain PA0750 chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	100.00%	<a href="#">CP034908.2</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain CDN118 chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	100.00%	<a href="#">CP054591.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain DVT419 chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	100.00%	<a href="#">CP050328.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain PAAK095 chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	100.00%	<a href="#">CP054473.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain LIUYANG-E chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	100.00%	<a href="#">CP050052.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain LIUYANG-A chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	100.00%	<a href="#">CP050054.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain LIUYANG-C chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	100.00%	<a href="#">CP050053.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain YD001 chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	100.00%	<a href="#">CP053922.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain SCAID PHRX1-2019 chromosome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	100.00%	<a href="#">CP053686.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa PAO1 chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa PAO1</a>	100.00%	<a href="#">CP053028.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain delta6_4 chromosome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	100.00%	<a href="#">CP047063.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain delta6_5 chromosome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	100.00%	<a href="#">CP047064.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain delta6_2 chromosome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	100.00%	<a href="#">CP047061.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain delta6_3 chromosome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	100.00%	<a href="#">CP047062.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa PAK chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa PAK</a>	99.93%	<a href="#">CP020659.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain W16407, complete genome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	99.93%	<a href="#">CP008869.2</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain PSE305, genome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	99.93%	<a href="#">HG974234.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain PAM68 chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	99.93%	<a href="#">CP065948.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain PAS6 chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	99.93%	<a href="#">CP065947.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain PAG7 chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	99.93%	<a href="#">CP065374.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain MCCB 123 elastase LasB precursor (lasB) gene, complete cds</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	100.00%	<a href="#">JN118955.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain DVT410 chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	99.87%	<a href="#">CP050334.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain HOU1 chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	99.87%	<a href="#">CP042269.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain AES1M chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	99.87%	<a href="#">CP037925.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain AES1R chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	99.87%	<a href="#">CP037926.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain NDTH9845 chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	99.87%	<a href="#">CP073080.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa isolate P23 chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	99.87%	<a href="#">CP065417.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa isolate P33 chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	99.87%	<a href="#">CP065412.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa strain R31 chromosome, complete genome</a>	<a href="#">Pseudomonas aeruginosa</a>	99.87%	<a href="#">CP061850.1</a>

**Figure 30:** Séquences produisant des alignements significatifs *LasB*

## 2.4- Arbres phylogénétique

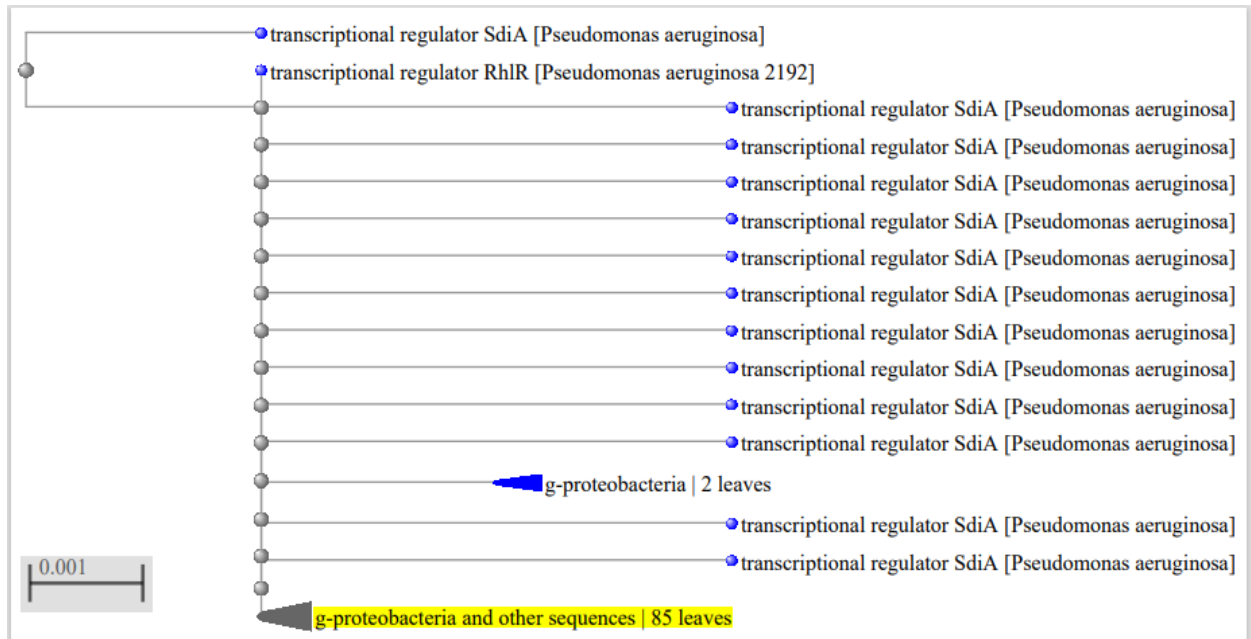
Après les résultats obtenus grâce aux logiciels BLASTp et BLASTn des protéines régulatrices LasR et RhlR et les gènes *toxA* et *LasB*, des dendrogrammes ont été générés (figure 31, 32, 33, 34).

- l'arbre phylogénétique de la protéine régulatrice LasR du quorum sensing chez *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 a été construit à l'aide de la plate-forme NCBI et logiciel BLASTp en utilisant la méthode fast minimum evolution (figure 31).



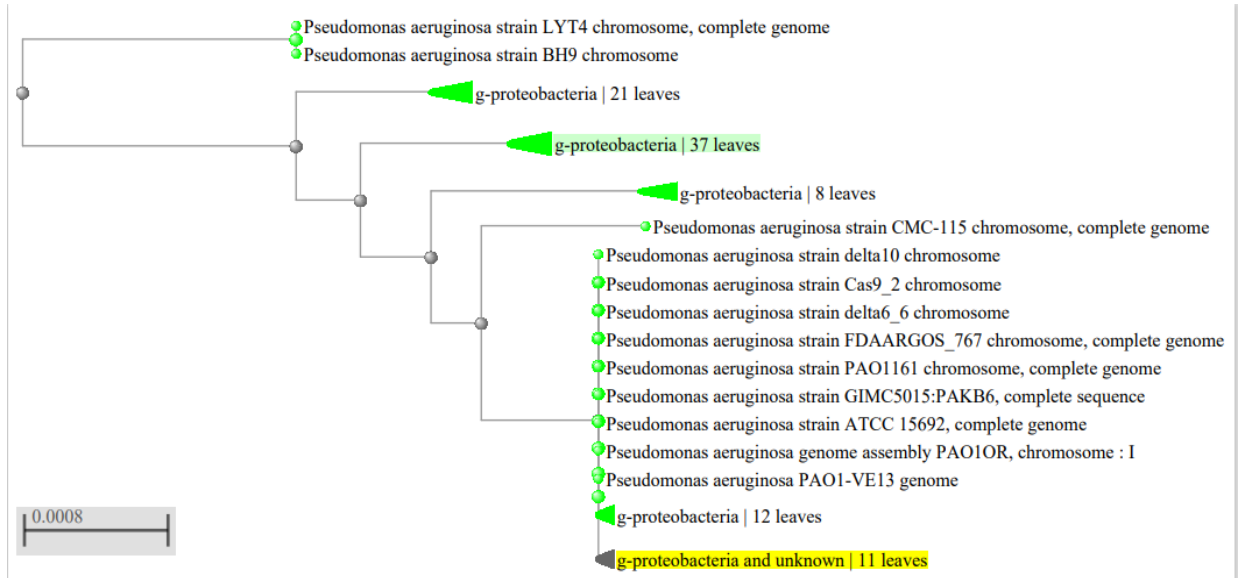
**Figure 31 : Arbre phylogénétique de la protéine LasR**

- L'arbre phylogénétique de la protéine régulatrice RhIR du quorum sensing chez *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 a été construit à l'aide de la plate-forme NCBI et logiciel BLASTp en utilisant la méthode fast minimum evolution (figure 32).



**Figure 32** : Arbre phylogénétique de la protéine **RhIR**

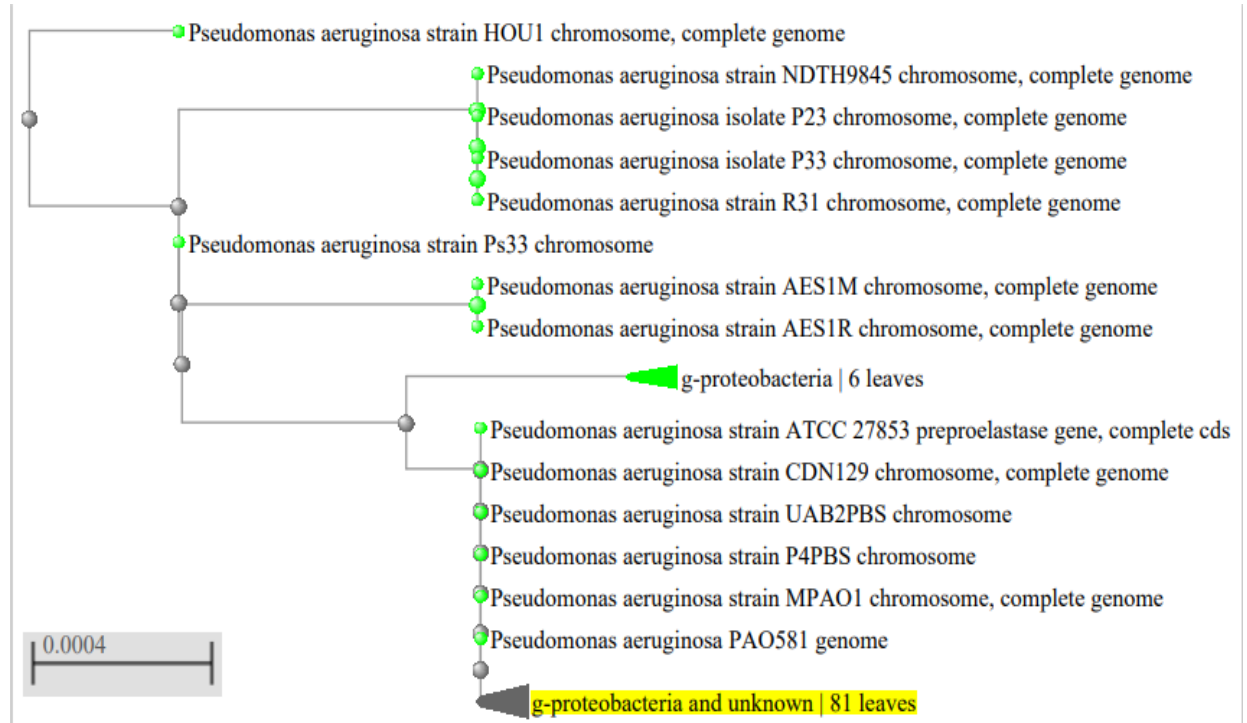
- l'arbre phylogénétique du gène *toxA* de la virulence chez *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 a été construit à l'aide de la plate-forme NCBI et logiciel BLASTn en utilisant la méthode neighbor joining (figure 33).



**Figure 33 : Arbre phylogénétique du gène *toxA***



- l'arbre phylogénétique du gène *LasB* de la virulence chez *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 a été construit à l'aide de la plate-forme NCBI et logiciel BLASTn en utilisant la méthode neighbor joining (figure 34).



**Figure 34** : Arbre phylogénétique du gène *LasB*

### 3. Discussion

Les protéines régulatrices LasR et RhlR du quorum sensing chez *Pseudomonas aeruginosa* font partie de la famille LuxR de protéines qui se composent de plus de 15 protéines qui fonctionnent comme facteurs de transcription activés par des ligands dans les systèmes QS de plusieurs espèces bactériennes (Williams et al., 2004). Selon (Bottomley et al., 2007), la Structure 3D de la protéine régulatrice LasR lié à son auto-inducteur chez *Pseudomonas aeruginosa* (figure 28) est un dimère symétrique, chaque monomère présentant un pli alpha-bêta-alpha similaire aux protéines de quorum sensing TraR et SdiA d'*Agrobacterium tumefaciens* et d'*Escherichia coli*, suggérant une nature plus polyvalente de LasR. La structure fournit également une plate-forme pour l'optimisation des inhibiteurs du quorum sensing (Bottomley et al., 2007). Pour la protéine régulatrice RhlR des études précédentes indiquent que RhlR forme à la fois des homodimères et des hétérodimères (Williams et al., 2004).

Les résultats obtenus montrent que la protéine LasR présente une analogie qui exprime une similarité qui ne provient pas d'un ancêtre commun alors c'est une évolution convergente (figure 30). La protéine RhlR présente une analogie donc cette protéine a été en évolution convergente aussi (figure 31). D'après des études précédentes l'évolution de ces protéines était différente pour s'adapter à ses hôtes, alors il semble donc avoir évolué de manière complémentaire pour répondre aux divers besoins bactériens (Bottomley et al., 2007).

Pour le gène *toxA*, on peut dire qu'il présente une homologie d'une similarité provenant d'un ancêtre commun. Donc on peut suggérer que c'est une évolution divergente (figure 32). Selon une étude précédente une procédure PCR a été développée pour détecter *P. aeruginosa* en amplifiant le gène *toxA*. Ils ont rapporté que sur 130 isolats de *P. aeruginosa* testés, 125 (96 %) contenaient le gène *toxA* (sensibilité = 96 %), tandis que d'autres espèces de bactéries n'ont donné aucun résultat positif (spécificité = 100 %). Les résultats d'une autre étude en 2018 montrent que 29 (77 %) des 50 isolats portaient le gène *toxA*. Le gène activateur d'expression du gène *toxA*, n'a été détecté que dans les isolats de *P. aeruginosa* ; alors que d'autres espèces de *Pseudomonas* n'ont donné aucun résultat positif. La faible sensibilité du dépistage par PCR *toxA* est due au fait que certains isolats de *P. aeruginosa* ne portent pas naturellement ce gène. La pathogénicité de *P. aeruginosa* est clairement multifactorielle (Shaebth, 2018).

Pour le gène *LasB* on ne peut pas dire la même chose car il présente une analogie, exprimant une similarité qui ne provient pas d'un ancêtre commun. Donc c'est une évolution convergente (figure 33). Dans une étude qui vise à caractériser le potentiel de virulence chez *P. aeruginosa* isolé de divers produits animaux. Plusieurs gènes de virulence de *P. aeruginosa* notamment *LasB* ont été détectés par PCR sur 204 souches de *P. aeruginosa*. Le gène *LasB* (89,2 %) était le plus fréquemment détecté le gène *LasB* a été détecté chez presque toutes les souches. Les résultats ont également montré que la forte prévalence du gène *LasB* (89,2 %) peut être importante pour la pathogenèse de *P. aeruginosa* (Benie et al., 2017).

Des études cliniques ont montré que *P. aeruginosa* peut améliorer l'expression de certains gènes de virulence et réduire l'expression d'autres dans le cadre de sa stratégie de survie.(Wang et al., 2018). Bien que LasR soit connu comme un régulateur de virulence positif principal chez *P. aeruginosa*, une régulation croisée entre les systèmes las et rhl a été observée dans les isolats cliniques de *P. aeruginosa*. Par exemple, la production de C4HSL faible mais détectable en l'absence de LasR ; en tant que telle, la détection de C4HSL seule n'est pas un indicateur fiable de l'activité de RhlR (Wang et al., 2018).

Le contrôle de RhlR aux niveaux transcriptionnel et post traductionnel fournit à *P. aeruginosa* un mécanisme élégant par lequel elle peut utiliser le système de détection de quorum las pour contrôler le système de détection de quorum rhl. L'importance de cette découverte devient évidente lorsque l'on considère à la fois les multiples facteurs de virulence contrôlés par ces deux systèmes donc il pourrait être possible de développer un seul analogue auto inducteur thérapeutique, plutôt que deux analogues différents, qui inhiberont l'expression des gènes de virulence contrôlés à la fois par LasR et RhlR.(Everett et al., 1997).

En 2019 une étude a montré que des concentrations subinhibitrices d'imipénème (subMIC de l'imipénème) peuvent réduire l'expression du gène *toxA* chez *P. aeruginosa* .(Haghi et al., 2019), d'autres études sont nécessaires pour évaluer si la subMIC de l'imipénème peut améliorer les résultats d'infections graves causées par *P. aeruginosa* (Haghi et al., 2019).

La prévalence élevée d'isolats de *P. aeruginosa* produisant un biofilm chez les patients brûlés à l'hôpital Taleghani à Ahvaz montre que la plupart de ces isolats produisent de l'élastase (lasB). Bien qu'aucune relation statistiquement significative n'ait été trouvée entre le gène *LasB* de l'élastase et la formation de biofilm chez *P. aeruginosa*, les souches isolées des patients brûlés sans élastase montrent plus de sensibilité à l'imipénème et à la pipéracilline tazobactam que les isolats avec l'élastase (Roshani-Asl et *al.*, 2018).

Selon (Ruimy & Andremont, 2004), *in vitro*, la délétion des gènes qui contrôlent la transcription de *LasR* et de *RhlR* comme *gacA* et *vfr* réduirait la production des protéines LasR et RhlR et donc la production de facteurs de virulence.

## *Conclusion*

*Pseudomonas aeruginosa* reste un pathogène opportuniste, responsable d'un grand nombre d'infections. La diversité des mécanismes pathogènes de *P. aeruginosa* combinée avec l'extrême adaptabilité conférée par son très grand génome fait de lui un germe redoutable. Sa pathogénicité est multifactorielle, elle est notamment liée à la synthèse de multiples facteurs de virulence.

La transcription de nombreux gènes de virulence comme le *toxA* et *LasB* de *P. aeruginosa* est sous le contrôle d'un mécanisme de régulation dépendant de la densité bactérienne, appelé quorum-sensing (QS). Le quorum sensing (QS) est un système de communication entre les bactéries reposant sur la diffusion de petites molécules au travers des membranes bactériennes. Ce langage leur permet de coordonner leur comportement vis-à-vis l'environnement. Ainsi, lorsque la densité bactérienne augmente, la quantité de ces molécules croît jusqu'à atteindre un seuil déclenchant l'activation ou la répression de certains gènes chez l'ensemble des bactéries. Deux systèmes de QS, nommés *las* et *rhl*, ont été identifiés chez *P. aeruginosa*. Chaque système se définit par sa propre protéine régulatrice : LasR pour le système *las* et RhlR pour *rhl*.

Les résultats ont montrés que les protéines régulatrices LasR et RhlR présentent des structures bien définies qui permettent la liaison avec l'auto-inducteur pour assurer une régulation et un contrôle à l'expression des gènes de virulence tels que *toxA* et *LasB*, tandis que d'autres recherches ont découvert que les protéines régulatrices LasR et RhlR présentent une ressemblance aux protéines du quorum sensing chez d'autres bactéries comme *Agrobacterium tumefaciens* et *Escherichia coli*, et leurs évolution a dépendu de l'adaptation aux différents besoins bactériens.

Des expérimentations ont trouvé que le gène *LasB* présente une forte prévalence dans les souches de *Pseudomonas aeruginosa* par contre certains isolats de *P.aeruginosa* ne portent pas naturellement le gène *toxA* donc la pathogénicité de cette bactérie est clairement multifactorielle peut être en raison des innovations évolutives qui sont souvent arrivées graduellement au cours du temps sur de longues périodes par des mécanismes évolutifs complexes et variés.

L'inhibition visant soit les facteurs de virulence eux-mêmes, soit leurs mécanismes de régulation dans un objectif thérapeutique peuvent représenter une alternative face à des souches de *P. aeruginosa* multi résistantes aux antibiotiques, Il est urgent d'améliorer le diagnostic précoce et le traitement empirique des infections graves à *P. aeruginosa*.

Les premières techniques moléculaires doivent être systématiquement mises en œuvre pour rapporter rapidement les résultats d'identification et de sensibilité à *Pseudomonas* dans les échantillons biologiques. Cependant, des essais contrôlés seront nécessaires pour déterminer si de telles techniques de diagnostic ont un impact réel sur pathogénicité et virulence.

L'étude *in silico* avec ses outils d'analyse et de prédiction peut constituer une approche pour offrir de meilleures stratégies de diagnostic pour des alternatives thérapeutiques avec de meilleures performances. Par exemple la connaissance des mécanismes moléculaires du QS offre l'opportunité de développer de nouvelles cibles thérapeutiques dont l'objectif consistera à atténuer la virulence des souches au cours de l'infection.

Les progrès dans les capacités de génération et d'analyse des données, ainsi que dans l'interprétation des résultats, laissent présager un avenir prometteur. Cependant, de larges progrès dans tous les domaines de la science mettent en évidence l'émergence de nouvelles stratégies analytiques. Tout en élargissant notre compréhension, l'utilisation de l'information au niveau moléculaire devrait évoluer vers des approches systémiques, promettant de transformer notre compréhension de la régulation des systèmes biologiques complexes. D'un autre côté, l'intégration des données n'est pas la fin. C'est le début de nouvelles découvertes et hypothèses, générant un système de rétroaction. De plus, des avancées majeures en biologie moléculaire et en génomique seront obtenues, telles que l'utilisation des technologies génomiques en thérapie génique. Cette perspective souligne le besoin de scientifiques maîtrisant de multiples domaines de connaissances, ainsi que la performance de groupes de recherche multidisciplinaires, dans lesquels la complémentarité des différentes capacités permettra d'obtenir un avancement remarquables en science.

# **Les références bibliographiques**



- ❖ Abisado, R. G., Benomar, S., Klaus, J. R., Dandekar, A. A., & Chandler, J. R. (2018). Bacterial quorum sensing and microbial community interactions. *MBio*, 9(3), 1–14. <https://doi.org/10.1128/mBio.02331-17>
- ❖ Apweiler, R. (2008). The Universal Protein resource (UniProt). *Nucleic Acids Research*, 36(SUPPL. 1), 190–195. <https://doi.org/10.1093/nar/gkm895>
- ❖ Bassetti, M., Vena, A., Croxatto, A., Righi, E., & Guery, B. (2018). How to manage *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Drugs in Context*, 7, 1–18. <https://doi.org/10.7573/dic.212527>
- ❖ Benie, C. K. D., Dadié, A., Guessennd, N., N'gbesso-Kouadio, N. A., Kouame, N. D., N'golo, D. C., Aka, S., Dako, E., Dje, K. M., & Dosso, M. (2017). Characterization of virulence potential of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from bovine meat, fresh fish, and smoked fish. *European Journal of Microbiology and Immunology*, 7(1), 55–64. <https://doi.org/10.1556/1886.2016.00039>
- ❖ Berman, H. M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T. N., Weissig, H., Shindyalov, I. N., & Bourne, P. E. (2000). The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Research*, 28(1), 235–242. <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.235>
- ❖ Biegert, A., Mayer, C., Remmert, M., Söding, J., & Lupas, A. N. (2006). The MPI Bioinformatics Toolkit for protein sequence analysis. *Nucleic Acids Research*, 34(WEB. SERV. ISS.), 335–339. <https://doi.org/10.1093/nar/gkl217>
- ❖ Bottomley, M. J., Muraglia, E., Bazzo, R., & Carfi, A. (2007). Molecular insights into quorum sensing in the human pathogen *Pseudomonas aeruginosa* from the structure of the virulence regulator LasR bound to its autoinducer. *Journal of Biological Chemistry*, 282(18), 13592–13600. <https://doi.org/10.1074/jbc.M700556200>
- ❖ Botzenhart, K., & Döring, G. (1993). *Ecology and Epidemiology of Pseudomonas aeruginosa*. 1–18. [https://doi.org/10.1007/978-1-4615-3036-7\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-3036-7_1)
- ❖ Cendra, M. del M., & Torrents, E. (2021). *Pseudomonas aeruginosa* biofilms and their partners in crime. *Biotechnology Advances*, 49(March), 107734. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2021.107734>
- ❖ Cock, P. J. A., Fields, C. J., Goto, N., Heuer, M. L., & Rice, P. M. (2009). The Sanger FASTQ file format for sequences with quality scores, and the Solexa/Illumina FASTQ variants. *Nucleic Acids Research*, 38(6), 1767–1771. <https://doi.org/10.1093/nar/gkp1137>

- ❖ De Bentzmann, S., & Plésiat, P. (2011). *Pseudomonas aeruginosa*: Une virulence complexe. *Revue Francophone Des Laboratoires*, 2011(435), 73–81. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(11\)71104-2](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(11)71104-2)
- ❖ Diniz, W. J. S., & Canduri, F. (2017). Bioinformatics: An overview and its applications. *Genetics and Molecular Research*, 16(1), 1–21. <https://doi.org/10.4238/gmr16019645>
- ❖ Edgar, R. C. (2004). MUSCLE: A multiple sequence alignment method with reduced time and space complexity. *BMC Bioinformatics*, 5, 1–19. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-5-113>
- ❖ Eric, S. D., Nicholas, T. K. D. D., & Theophilus, K. A. (2014). Bioinformatics with basic local alignment search tool (BLAST) and fast alignment (FASTA). *Journal of Bioinformatics and Sequence Analysis*, 6(1), 1–6. <https://doi.org/10.5897/ijbc2013.0086>
- ❖ Everett C. Pesci, James P. Pearson, Patrick C. Seed, A. B. H. I. (1997). Regulation of las and rhl Quorum Sensing in *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Bacteriology*, 179(2), 3127–3132. <https://doi.org/10.1007/s00284-020-02338-z>
- ❖ Frickey, T., & Lupas, A. (2004). CLANS: A Java application for visualizing protein families based on pairwise similarity. *Bioinformatics*, 20(18), 3702–3704. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bth444>
- ❖ Gérard R., 2012 - Application de techniques de fouille de données en Bio-informatique, informatique, l'Ecole polytechnique de l'université de Nantes, 136p.
- ❖ Gauthier, J., Vincent, A. T., Charette, S. J., & Derome, N. (2019). A brief history of bioinformatics. *Briefings in Bioinformatics*, 20(6), 1981–1996. <https://doi.org/10.1093/bib/bby063>
- ❖ Hafiane, A., & Ravaoarinoro, M. (2008). Différentes méthodes de typage des souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées des patients atteints de mucoviscidose. *Medecine et Maladies Infectieuses*, 38(5), 238–247. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2008.02.005>
- ❖ Haghi, F., Nezhad, B. B., & Zeighami, H. (2019). Effect of subinhibitory concentrations of imipenem and piperacillin on *Pseudomonas aeruginosa* toxA and exoS transcriptional expression. *New Microbes and New Infections*, 32, 100608. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2019.100608>
- ❖ Haller, S. (2014). *Etude des interactions hôte-pathogène entre Pseudomonas aeruginosa et Drosophila melanogaster dans un modèle d'infection intestinale*. 315.

- ❖ Hilborn, E. D., Arduino, M. J., Pruden, A., & Edwards, M. A. (2015). Review Epidemiology and Ecology of Opportunistic Premise Plumbing Pathogens: *Environmental Health Perspectives*, 123(8), 749–758.
- ❖ Ji, Y. C., Sifri, C. D., Goumnerov, B. C., Rahme, L. G., Ausubel, F. M., & Calderwood, S. B. (2002). Identification of virulence genes in a pathogenic strain of *Pseudomonas aeruginosa* by representational difference analysis. *Journal of Bacteriology*, 184(4), 952–961. <https://doi.org/10.1128/jb.184.4.952-961.2002>
- ❖ Khalifa, A. B. H., Moissenet, D., Thien, H. V., & Khedher, M. (2011). Les facteurs de virulence de *pseudomonas aeruginosa*: Mécanismes et modes de régulations. *Annales de Biologie Clinique*, 69(4), 393–403. <https://doi.org/10.1684/abc.2011.0589>
- ❖ Khalilzadeh, P. (2009). *Formation de Biofilm à Pseudomonas aeruginosa: évaluation d'inhibiteurs potentiels du Quorum Sensing. Toulouse III*, 1–329.
- ❖ Le Berre, R., Faure, K., Nguyen, S., Pierre, M., Ader, F., & Guery, B. (2006). Quorum sensing : une nouvelle cible thérapeutique pour *Pseudomonas aeruginosa*. *Medecine et Maladies Infectieuses*, 36(7), 349–357. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2006.01.008>
- ❖ Li, K. Bin. (2003). ClustalW-MPI: ClustalW analysis using distributed and parallel computing. *Bioinformatics*, 19(12), 1585–1586. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg192>
- ❖ Luscombe, N. M., Greenbaum, D., & Gerstein, M. (2001). What is bioinformatics? An introduction and overview. *Yearbook of Medical Informatics*, 10(01), 83–100. <https://doi.org/10.1055/s-0038-1638103>
- ❖ Madden, T. (2013). The BLAST sequence analysis tool. *The BLAST Sequence Analysis Tool, Md*, 1–17. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK153387/>
- ❖ Muhammad Ali Masood, M. N. A. K. (2015). Clustering Techniques in Bioinformatics. *Modern Education and Computer Science*, 1(January), 181–218. <https://doi.org/10.1201/b13091-10>
- ❖ Nain, Z., & Karim, M. M. (2021). Whole-genome sequence, functional annotation, and comparative genomics of the high biofilm-producing multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* MZ4A isolated from clinical waste. *Gene Reports*, 22(July 2020), 100999. <https://doi.org/10.1016/j.genrep.2020.100999>
- ❖ Pearson, W. R., Robins, G., & Zhang, T. (1999). Generalized neighbor-joining: More reliable

- phylogenetic tree reconstruction. *Molecular Biology and Evolution*, 16(6), 806–816. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026165>
- ❖ Pierre, M., Le Berre, R., Tiesset, H., Faure, K., Guery, B., Desseyn, J. L., Galabert, C., Béghin, L., Beermann, C., Gottrand, F., & Husson, M. O. (2008). Cinétique d'expression des gènes de virulence de *Pseudomonas aeruginosa* au cours d'une infection pulmonaire chronique dans le modèle murin. *Medecine et Maladies Infectieuses*, 38(6), 318–323. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2008.03.001>
  - ❖ Rajkumari, J., Borkotoky, S., Reddy, D., Mohanty, S. K., Kumavath, R., Murali, A., Suchiang, K., & Busi, S. (2019). Anti-quorum sensing and anti-biofilm activity of 5-hydroxymethylfurfural against *Pseudomonas aeruginosa* PAO1: Insights from in vitro, in vivo and in silico studies. *Microbiological Research*, 226(May), 19–26. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.05.001>
  - ❖ Rasamiravaka, T., Labtani, Q., Duez, P., & Jaziri, and Mondher El. (2015). The Formation of Biofilms by *Pseudomonas aeruginosa*: A Review of the Natural and Synthetic Compounds Interfering with Control Mechanisms. *BioMed Research International*, 2015, 1–17.
  - ❖ Rashiya, N., Padmini, N., Ajilda, A. A. K., Prabakaran, P., Durgadevi, R., Veera Ravi, A., Ghosh, S., Sivakumar, N., & Selvakumar, G. (2021). Inhibition of biofilm formation and quorum sensing mediated virulence in *Pseudomonas aeruginosa* by marine sponge symbiont *Brevibacterium casei* strain Alu 1. *Microbial Pathogenesis*, 150(April 2020), 104693. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104693>
  - ❖ Rath, S., & Padhy, R. N. (2015). Surveillance of acute community acquired urinary tract bacterial infections. *Journal of Acute Disease*, 4(3), 186–195. <https://doi.org/10.1016/j.joad.2015.06.001>
  - ❖ Roshani-Asl, P., Rashidi, N., Shokoohizadeh, L., & Zarei, J. (2018). Relationship among antibiotic resistance, biofilm formation and lasB gene in *pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients. *Clinical Laboratory*, 64(9), 1477–1484. <https://doi.org/10.7754/Clin.Lab.2018.180331>
  - ❖ Roux, D., & Ricard, J. D. (2013). Nouveautés et perspectives thérapeutiques des pneumonies acquises sous ventilation mécanique à *Pseudomonas aeruginosa*. *Reanimation*, 22(3), 281–289. <https://doi.org/10.1007/s13546-013-0679-6>
  - ❖ Ruimy, R., & Andremont, A. (2004). Quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*: Molecular

- mechanism, clinical impact, and inhibition. *Resuscitation*, 13(3), 176–184. <https://doi.org/10.1016/j.resusc.2004.02.003>
- ❖ Rzhetsky, A., & Nei, M. (1993). Theoretical foundation of the minimum-evolution method of phylogenetic inference. *Molecular Biology and Evolution*, 10(5), 1073–1095. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040056>
  - ❖ Salacha, R. (2010). *Les Patatines de Pseudomonas aeruginosa : Sécrétées ou non Sécrétées ? Telle est la questi on ....*
  - ❖ Sneath, P.H.A.; et Sokal, R.R. (1973) Numerical Taxonomy: The Principles and Practice of Numerical Classification, W.H. Freeman and Company, San Francisco, 576 pp.
  - ❖ Sayers, E. W., Barrett, T., Benson, D. A., Bolton, E., Bryant, S. H., Canese, K., Chetvernin, V., Church, D. M., DiCuccio, M., Federhen, S., Feolo, M., Fingerman, I. M., Geer, L. Y., Helmberg, W., Kapustin, Y., Landsman, D., Lipman, D. J., Lu, Z., Madden, T. L., ... Ye, J. (2011). Database resources of the national center for biotechnology information. *Nucleic Acids Research*, 39(SUPPL. 1), 38–51. <https://doi.org/10.1093/nar/gkq1172>
  - ❖ Shaebth, L. J. (2018). Molecular identification and sequencing of pseudomonas aeruginosa virulence genes among different isolates in al-diwaneyah hospital. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 32(2), 183–188. <https://doi.org/10.33899/ijvs.2019.153847>
  - ❖ St. John, K., Warnow, T., Moret, B. M. E., & Vawter, L. (2003). Performance study of phylogenetic methods: (Unweighted) quartet methods and neighbor-joining. *Journal of Algorithms*, 48(1), 173–193. [https://doi.org/10.1016/S0196-6774\(03\)00049-X](https://doi.org/10.1016/S0196-6774(03)00049-X)
  - ❖ Stuessy, T. F. (1983). PHYLOGENETIC TREES IN PLANT SYSTEMATICS. *SIDA ,Contributions to Botany*, 10(1), 1–13.
  - ❖ Vert, J.-P. (2013). Les applications industrielles de la bioinformatique. *Annales Des Mines - Réalités Industrielles, Février* 20(1), 17. <https://doi.org/10.3917/rindu.131.0017>
  - ❖ Wang, Y., Gao, L., Rao, X., Wang, J., Yu, H., Jiang, J., Zhou, W., Wang, J., Xiao, Y., Li, M., Zhang, Y., Zhang, K., Shen, L., & Hua, Z. (2018). Characterization of lasR-deficient clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa. *Scientific Reports*, 8(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30813-y>
  - ❖ Williams, S. C., Patterson, E. K., Carty, N. L., Griswold, J. A., Hamood, A. N., & Rumbaugh, K. P. (2004). Pseudomonas aeruginosa Autoinducer Enters and Functions in Mammalian Cells. *Journal of Bacteriology*, 186(8), 2281–2287. <https://doi.org/10.1128/JB.186.8.2281->

2287.2004

- ❖ Yi, L., Dong, X., Grenier, D., Wang, K., & Wang, Y. (2021). Research progress of bacterial quorum sensing receptors: Classification, structure, function and characteristics. *Science of the Total Environment*, 763. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143031>
- ❖ Zhong, L., Ravichandran, V., Zhang, N., Wang, H., Bian, X., Zhang, Y., & Li, A. (2020). Attenuation of pseudomonas aeruginosa quorum sensing by natural products: Virtual screening, evaluation and biomolecular interactions. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(6). <https://doi.org/10.3390/ijms21062190>
- ❖ Zou, D., Ma, L., Yu, J., & Zhang, Z. (2015). Biological databases for human research. *Genomics, Proteomics and Bioinformatics*, 13(1), 55–63. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2015.01.006>
- ❖ Zucker, J. (2010). *Module BioInfo M2 IBM : didactique Administratif : Module NT-BIO Master IBM Systems Biology*.