

UNIVERSITE MOHAMMED V - RABAT
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT-

ANNEE: 2017

THESE N°: 24

BACILLUS SUBTILIS:
CARACTERES ET APPLICATIONS

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le :

PAR

Mlle. Soraya BOUHAIRI

Née le 01 Janvier 1992 à Oued Zem

Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie

MOTS CLES : *Bacillus subtilis* – Signalisation – Exploitation – Industrie –
Recherche.

JURY

Mr. M. ZOUHDI

Professeur de Microbiologie

PRESIDENT

Mr. Y. SEKHSOKH

Professeur de Microbiologie

RAPPORTEUR

Mme. S. TELLAL

Professeur de Biochimie

Mme. S. EL HAMZAOU

Professeur de Microbiologie

Mr. A. LAATIRIS

Professeur de Pharmacie Galénique

JUGES

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سبحانك لا علم لنا إلا ما علمتنا

إنك أنت العليم الحكيم

سورة البقرة: الآية: 31

بِسْمِ اللَّهِ
الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



**UNIVERSITE MOHAMMED V DE RABAT
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT**

DOYENS HONORAIRES :

1962 – 1969 : Professeur Abdelmalek FARAJ
1969 – 1974 : Professeur Abdellatif BERBICH
1974 – 1981 : Professeur Bachir LAZRAK
1981 – 1989 : Professeur Taieb CHKILI
1989 – 1997 : Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 – 2003 : Professeur Abdelmajid BELMAHI
2003 – 2013 : Professeur Najia HAJJAJ - HASSOUNI



ADMINISTRATION :

Doyen : Professeur Mohamed ADNAOUI
Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et estudiantines
Professeur Mohammed AHALLAT
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération
Professeur Taoufiq DAKKA
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie
Professeur Jamal TAOUFIK
Secrétaire Général : Mr. Mohamed KARRA

**1-ENSEIGNANTS-CHERCHEURS MEDECINS
ET
PHARMACIENS**

PROFESSEURS :

Décembre 1984

Pr. MAAOUNI Abdelaziz	Médecine Interne – <u>Clinique Royale</u>
Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi	Anesthésie -Réanimation
Pr. SETTAF Abdellatif	pathologie Chirurgicale

Novembre et Décembre 1985

Pr. BENSAID Younes	Pathologie Chirurgicale
--------------------	-------------------------

Janvier, Février et Décembre 1987

Pr. CHAHED OUAZZANI Houria	Gastro-Entérologie
Pr. LACHKAR Hassan	Médecine Interne
Pr. YAHYAOUY Mohamed	Neurologie

Décembre 1988

Pr. BENHAMAMOUCH Mohamed Najib	Chirurgie Pédiatrique
Pr. DAFIRI Rachida	Radiologie

Décembre 1989

Pr. ADNAOUI Mohamed
Pr. CHAD Bouziane
Pr. OUAZZANI Taïbi Mohamed Réda

Médecine Interne – Doyen de la FMPR
Pathologie Chirurgicale
Neurologie

Janvier et Novembre 1990

Pr. CHKOFF Rachid
Pr. HACHIM Mohammed*
Pr. KHARBACH Aïcha
Pr. MANSOURI Fatima
Pr. TAZI Saoud Anas

Pathologie Chirurgicale
Médecine-Interne
Gynécologie -Obstétrique
Anatomie-Pathologique
Anesthésie Réanimation

Février Avril Juillet et Décembre 1991

Pr. AL HAMANY Zaïtounia
Pr. AZZOUZI Abderrahim
Pr. BAYAHIA Rabéa
Pr. BELKOUCHI Abdelkader
Pr. BENCHEKROUN Belabbes Abdellatif
Pr. BENSOU DA Yahia
Pr. BERRAHO Amina
Pr. BEZZAD Rachid
Pr. CHABRAOUI Layachi
Pr. CHERRAH Yahia
Pr. CHOKAIRI Omar
Pr. KHATTAB Mohamed
Pr. SOULAYMANI Rachida
Pr. TAOUFIK Jamal

Anatomie-Pathologique
Anesthésie Réanimation – Doyen de la FMPO
Néphrologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pharmacie galénique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Biochimie et Chimie
Pharmacologie
Histologie Embryologie
Pédiatrie
Pharmacologie – Dir. du Centre National PV
Chimie thérapeutique V.D à la pharmacie+Dir du CEDOC

Décembre 1992

Pr. AHALLAT Mohamed
Pr. BENSOU DA Adil
Pr. BOUJIDA Mohamed Najib
Pr. CHAHED OUAZZANI Laaziza
Pr. CHRAIBI Chafiq
Pr. DEHAYNI Mohamed*
Pr. EL OUAHABI Abdessamad
Pr. FELLAT Rokaya
Pr. GHAFIR Driss*
Pr. JIDDANE Mohamed
Pr. TAGHY Ahmed
Pr. ZOUHDI Mimoun

Chirurgie Générale V.D Aff. Acad. et Estud
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Gastro-Entérologie
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Neurochirurgie
Cardiologie
Médecine Interne
Anatomie
Chirurgie Générale
Microbiologie

Mars 1994

Pr. BENJAAFAR Nouredine
Pr. BEN RAIS Nozha
Pr. CAOUI Malika
Pr. CHRAIBI Abdelmjid
Pr. EL AMRANI Sabah

Radiothérapie
Biophysique
Biophysique
Endocrinologie et Maladies Métaboliques Doyen de la FMPA
Gynécologie Obstétrique



Pr. EL BARDOUNI Ahmed
Pr. EL HASSANI My Rachid
Pr. ERROUGANI Abdelkader
Pr. ESSAKALI Malika
Pr. ETTAYEBI Fouad
Pr. HADRI Larbi*
Pr. HASSAM Badredine
Pr. IFRINE Lahssan
Pr. JELTHI Ahmed
Pr. MAHFOUD Mustapha
Pr. RHRAB Brahim
Pr. SENOUCI Karima

Mars 1994

Pr. ABBAR Mohamed*
Pr. ABDELHAK M'barek
Pr. BELAIDI Halima
Pr. BENTAHILA Abdelali
Pr. BENYAHIA Mohammed Ali
Pr. BERRADA Mohamed Saleh
Pr. CHAMI Ilham
Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae
Pr. JALIL Abdelouahed
Pr. LAKHDAR Amina
Pr. MOUANE Nezha

Mars 1995

Pr. ABOUQUAL Redouane
Pr. AMRAOUI Mohamed
Pr. BAIDADA Abdelaziz
Pr. BARGACH Samir
Pr. CHAARI Jilali*
Pr. DIMOU M'barek*
Pr. DRISSI KAMILI Med Nordine*
Pr. EL MESNAOUI Abbes
Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila
Pr. HDA Abdelhamid*
Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed
Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia
Pr. SEFIANI Abdelaziz
Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Décembre 1996

Pr. AMIL Touriya*
Pr. BELKACEM Rachid
Pr. BOULANOUAR Abdelkrim
Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan
Pr. GAOUZI Ahmed
Pr. MAHFOUDI M'barek*
Pr. OUADGHIRI Mohamed
Pr. OUZEDDOUN Naima
Pr. ZBIR EL Mehdi*

Traumato-Orthopédie
Radiologie
Chirurgie Générale- **Directeur CHIS**
Immunologie
Chirurgie Pédiatrique
Médecine Interne
Dermatologie
Chirurgie Générale
Anatomie Pathologique
Traumatologie – Orthopédie
Gynécologie –Obstétrique
Dermatologie

Urologie
Chirurgie – Pédiatrique
Neurologie
Pédiatrie
Gynécologie – Obstétrique
Traumatologie – Orthopédie
Radiologie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie

Réanimation Médicale
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Médecine Interne
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Oto-Rhino-Laryngologie
Cardiologie - **Directeur HMI Med V**
Urologie
Ophtalmologie
Génétique
Réanimation Médicale

Radiologie
Chirurgie Pédiatrie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Radiologie
Traumatologie-Orthopédie
Néphrologie
Cardiologie



Novembre 1997

Pr. ALAMI Mohamed Hassan
Pr. BEN SLIMANE Lounis
Pr. BIROUK Nazha
Pr. ERREIMI Naima
Pr. FELLAT Nadia
Pr. HAIMEUR Charki*
Pr. KADDOURI Nouredine
Pr. KOUTANI Abdellatif
Pr. LAHLOU Mohamed Khalid
Pr. MAHRAOUI CHAFIQ
Pr. TAOUFIQ Jallal
Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Gynécologie-Obstétrique
Urologie
Neurologie
Pédiatrie
Cardiologie
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Pédiatrique
Urologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Psychiatrie
Gynécologie Obstétrique

Novembre 1998

Pr. AFIFI RAJAA
Pr. BENOMAR ALI
Pr. BOUGTAB Abdesslam
Pr. ER RIHANI Hassan
Pr. BENKIRANE Majid*
Pr. KHATOURI ALI*

Gastro-Entérologie
Neurologie – *Doyen de la FMP Abulcassis*
Chirurgie Générale
Oncologie Médicale
Hématologie
Cardiologie

Janvier 2000

Pr. ABID Ahmed*
Pr. AIT OUMAR Hassan
Pr. BENJELLOUN Dakhama Badr.Sououd
Pr. BOURKADI Jamal-Eddine
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer
Pr. ECHARRAB El Mahjoub
Pr. EL FTOUH Mustapha
Pr. EL MOSTARCHID Brahim*
Pr. ISMAILI Hassane*
Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*
Pr. TACHINANTE Rajae
Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Pneumophtisiologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Pneumo-phtisiologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pneumo-phtisiologie
Neurochirurgie
Traumatologie Orthopédie- *Dir. Hop. Av. Marr.*
Anesthésie-Réanimation *Inspecteur du SSM*
Anesthésie-Réanimation
Médecine Interne



Novembre 2000

Pr. AIDI Saadia
Pr. AJANA Fatima Zohra
Pr. BENAMR Said
Pr. CHERTI Mohammed
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
Pr. EL HASSANI Amine
Pr. EL KHADER Khalid
Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*
Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
Pr. MAHASSINI Najat
Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae
Pr. ROUIMI Abdelhadi*

Neurologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Générale
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Pédiatrie *Directeur Hop. Chekikh Zaied*
Urologie
Rhumatologie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Anatomie Pathologique
Pédiatrie
Neurologie

Décembre 2000

Pr. ZOHAIR ABDELAH*

ORL

Décembre 2001

Pr. BALKHI Hicham*
Pr. BENABDELJLIL Maria
Pr. BENAMAR Loubna
Pr. BENAMOR Jouda
Pr. BENELBARHDADI Imane
Pr. BENNANI Rajae
Pr. BENOACHANE Thami
Pr. BEZZA Ahmed*
Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi
Pr. BOUMDIN El Hassane*
Pr. CHAT Latifa
Pr. DAALI Mustapha*
Pr. DRISSI Sidi Mourad*
Pr. EL HIJRI Ahmed
Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid
Pr. EL MADHI Tarik
Pr. EL OUNANI Mohamed
Pr. ETTAIR Said
Pr. GAZZAZ Miloudi*
Pr. HRORA Abdelmalek
Pr. KABBAJ Saad
Pr. KABIRI EL Hassane*
Pr. LAMRANI Moulay Omar
Pr. LEKEHAL Brahim
Pr. MAHASSIN Fattouma*
Pr. MEDARHRI Jalil
Pr. MIKDAME Mohammed*
Pr. MOHSINE Raouf
Pr. NOUINI Yassine
Pr. SABBABH Farid
Pr. SEFIANI Yasser
Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia

Anesthésie-Réanimation
Neurologie
Néphrologie
Pneumo-phtisiologie
Gastro-Entérologie
Cardiologie
Pédiatrie
Rhumatologie
Anatomie
Radiologie
Radiologie
Chirurgie Générale
Radiologie
Anesthésie-Réanimation
Neuro-Chirurgie
Chirurgie-Pédiatrique
Chirurgie Générale
Pédiatrie **Directeur. Hop.d'Enfants**
Neuro-Chirurgie
Chirurgie Générale
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Thoracique
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Médecine Interne
Chirurgie Générale
Hématologie Clinique
Chirurgie Générale
Urologie **Directeur Hôpital Ibn Sina**
Chirurgie Générale
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Pédiatrie



Décembre 2002

Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*
Pr. AMEUR Ahmed *
Pr. AMRI Rachida
Pr. AOURARH Aziz*
Pr. BAMOU Youssef *
Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*
Pr. BENZEKRI Laila
Pr. BENZZOUBEIR Nadia
Pr. BERNOUSSI Zakiya
Pr. BICHRA Mohamed Zakariya*
Pr. CHOHO Abdelkrim *

Anatomie Pathologique
Urologie
Cardiologie
Gastro-Entérologie
Biochimie-Chimie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Anatomie Pathologique
Psychiatrie
Chirurgie Générale

Pr. CHKIRATE Bouchra
Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair
Pr. EL HAOURI Mohamed *
Pr. FILALI ADIB Abdelhai
Pr. HAJJI Zakia
Pr. IKEN Ali
Pr. JAAFAR Abdeloihab*
Pr. KRIOUILE Yamina
Pr. LAGHMARI Mina
Pr. MABROUK Hfid*
Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*
Pr. OUJILAL Abdelilah
Pr. RACHID Khalid *
Pr. RAISS Mohamed
Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha*
Pr. RHOU Hakima
Pr. SIAH Samir *
Pr. THIMOU Amal
Pr. ZENTAR Aziz*

Janvier 2004

Pr. ABDELLAH El Hassan
Pr. AMRANI Mariam
Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
Pr. BENKIRANE Ahmed*
Pr. BOUGHALEM Mohamed*
Pr. BOULAADAS Malik
Pr. BOURAZZA Ahmed*
Pr. CHAGAR Belkacem*
Pr. CHERRADI Nadia
Pr. EL FENNI Jamal*
Pr. EL HANCHI ZAKI
Pr. EL KHORASSANI Mohamed
Pr. EL YOUNASSI Badreddine*
Pr. HACHI Hafid
Pr. JABOUIRIK Fatima
Pr. KHARMAZ Mohamed
Pr. MOUGHIL Said
Pr. OUBAAZ Abdelbarre*
Pr. TARIB Abdelilah*
Pr. TIJAMI Fouad
Pr. ZARZUR Jamila

Janvier 2005

Pr. ABBASSI Abdellah
Pr. AL KANDRY Sif Eddine*
Pr. ALLALI Fadoua
Pr. AMAZOUZI Abdellah
Pr. AZIZ Nouredine*
Pr. BAHIRI Rachid

Pédiatrie
Chirurgie Pédiatrique
Dermatologie
Gynécologie Obstétrique
Ophtalmologie
Urologie
Traumatologie Orthopédie
Pédiatrie
Ophtalmologie
Traumatologie Orthopédie
Gynécologie Obstétrique
Oto-Rhino-Laryngologie
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Générale
Pneumophtisiologie
Néphrologie
Anesthésie Réanimation
Pédiatrie
Chirurgie Générale

Ophtalmologie
Anatomie Pathologique
Oto-Rhino-Laryngologie
Gastro-Entérologie
Anesthésie Réanimation
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Neurologie
Traumatologie Orthopédie
Anatomie Pathologique
Radiologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie
Cardiologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Ophtalmologie
Pharmacie Clinique
Chirurgie Générale
Cardiologie

Chirurgie Réparatrice et Plastique
Chirurgie Générale
Rhumatologie
Ophtalmologie
Radiologie
Rhumatologie



Pr. BARKAT Amina
Pr. BENYASS Aatif
Pr. BERNOUSSI Abdelghani
Pr. DOUDOUH Abderrahim*
Pr. EL HAMZA OUI Sakina*
Pr. HAJJI Leila
Pr. HESSISSEN Leila
Pr. JIDAL Mohamed*
Pr. LAAROUSSI Mohamed
Pr. LYAGOUBI Mohammed
Pr. NIAMANE Radouane*
Pr. RAGALA Abdelhak
Pr. SBIHI Souad
Pr. ZERAIDI Najia

Pédiatrie
Cardiologie
Ophtalmologie
Biophysique
Microbiologie
Cardiologie (mise en disponibilité)
Pédiatrie
Radiologie
Chirurgie Cardio-vasculaire
Parasitologie
Rhumatologie
Gynécologie Obstétrique
Histo-Embryologie Cytogénétique
Gynécologie Obstétrique

Décembre 2005

Pr. CHANI Mohamed

Anesthésie Réanimation

Avril 2006

Pr. ACHEMLAL Lahsen*
Pr. AKJOUJ Saïd*
Pr. BELMEKKI Abdelkader*
Pr. BENCHEIKH Razika
Pr. BIYI Abdelhamid*
Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine
Pr. BOULAHYA Abdellatif*
Pr. CHENGUETI ANSARI Anas
Pr. DOGHMI Nawal
Pr. FELLAT Ibtissam
Pr. FAROUDY Mamoun
Pr. HARMOUCHE Hicham
Pr. HANAFI Sidi Mohamed*
Pr. IDRIS LAHLOU Amine*
Pr. JROUNDI Laila
Pr. KARMOUNI Tariq
Pr. KILI Amina
Pr. KISRA Hassan
Pr. KISRA Mounir
Pr. LAATIRIS Abdelkader*
Pr. LMIMOUNI Badreddine*
Pr. MANSOURI Hamid*
Pr. OUANASS Abderrazzak
Pr. SAFI Soumaya*
Pr. SEKKAT Fatima Zahra
Pr. SOUALHI Mouna
Pr. TELLAL Saïda*
Pr. ZAHRAOUI Rachida

Rhumatologie
Radiologie
Hématologie
O.R.L
Biophysique
Chirurgie - Pédiatrique
Chirurgie Cardio – Vasculaire
Gynécologie Obstétrique
Cardiologie
Cardiologie
Anesthésie Réanimation
Médecine Interne
Anesthésie Réanimation
Microbiologie
Radiologie
Urologie
Pédiatrie
Psychiatrie
Chirurgie – Pédiatrique
Pharmacie Galénique
Parasitologie
Radiothérapie
Psychiatrie
Endocrinologie
Psychiatrie
Pneumo – Phtisiologie
Biochimie
Pneumo – Phtisiologie

Octobre 2007

Pr. ABIDI Khalid
Pr. ACHACHI Leila

Réanimation médicale
Pneumo phtisiologie



Pr. ACHOUR Abdessamad*
Pr. AIT HOUSSA Mahdi*
Pr. AMHAJJI Larbi*
Pr. AOUI Sarra
Pr. BAITE Abdelouahed*
Pr. BALOUCH Lhousaine*
Pr. BENZIANE Hamid*
Pr. BOUTIMZINE Nourdine
Pr. CHARKAOUI Naoual*
Pr. EHIRCHIOU Abdelkader*
Pr. ELABSI Mohamed
Pr. EL MOUSSAOUI Rachid
Pr. EL OMARI Fatima
Pr. GHARIB Noureddine
Pr. HADADI Khalid*
Pr. ICHOU Mohamed*
Pr. ISMAILI Nadia
Pr. KEBDANI Tayeb
Pr. LALAOUI SALIM Jaafar*
Pr. LOUZI Lhousain*
Pr. MADANI Naoufel
Pr. MAHI Mohamed*
Pr. MARC Karima
Pr. MASRAR Azlarab
Pr. MRABET Mustapha*
Pr. MRANI Saad*
Pr. OUZZIF Ez zohra*
Pr. RABHI Monsef*
Pr. RADOUANE Bouchaib*
Pr. SEFFAR Myriame
Pr. SEKHSOKH Yessine*
Pr. SIFAT Hassan*
Pr. TABERKANET Mustafa*
Pr. TACHFOUTI Samira
Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*
Pr. TANANE Mansour*
Pr. TLIGUI Houssain
Pr. TOUATI Zakia

Décembre 2007

Pr. DOUHAL ABDERRAHMAN

Décembre 2008

Pr ZOUBIR Mohamed*
Pr TAHIRI My El Hassan*

Chirurgie générale
Chirurgie cardio vasculaire
Traumatologie orthopédie
Parasitologie
Anesthésie réanimation ***Directeur ERSM***
Biochimie-chimie
Pharmacie clinique
Ophtalmologie
Pharmacie galénique
Chirurgie générale
Chirurgie générale
Anesthésie réanimation
Psychiatrie
Chirurgie plastique et réparatrice
Radiothérapie
Oncologie médicale
Dermatologie
Radiothérapie
Anesthésie réanimation
Microbiologie
Réanimation médicale
Radiologie
Pneumo phtisiologie
Hématologique
Médecine préventive santé publique et hygiène
Virologie
Biochimie-chimie
Médecine interne
Radiologie
Microbiologie
Microbiologie
Radiothérapie
Chirurgie vasculaire périphérique
Ophtalmologie
Chirurgie générale
Traumatologie orthopédie
Parasitologie
Cardiologie

Ophtalmologie

Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale

Mars 2009

Pr. ABOUZAHIR Ali*
Pr. AGDR Aomar*
Pr. AIT ALI Abdelmounaim*
Pr. AIT BENHADDOU El hachmia
Pr. AKHADDAR Ali*
Pr. ALLALI Nazik
Pr. AMINE Bouchra
Pr. ARKHA Yassir
Pr. BELYAMANI Lahcen*
Pr. BJIJOU Younes
Pr. BOUHSAIN Sanae*
Pr. BOUI Mohammed*
Pr. BOUNAIM Ahmed*
Pr. BOUSSOUGA Mostapha*
Pr. CHAKOUR Mohammed *
Pr. CHTATA Hassan Toufik*
Pr. DOGHMI Kamal*
Pr. EL MALKI Hadj Omar
Pr. EL OUENNASS Mostapha*
Pr. ENNIBI Khalid*
Pr. FATHI Khalid
Pr. HASSIKOU Hasna *
Pr. KABBAJ Nawal
Pr. KABIRI Meryem
Pr. KARBOUBI Lamya
Pr. L'KASSIMI Hachemi*
Pr. LAMSAOURI Jamal*
Pr. MARMADE Lahcen
Pr. MESKINI Toufik
Pr. MESSAOUDI Nezha *
Pr. MSSROURI Rahal
Pr. NASSAR Ittimade
Pr. OUKERRAJ Latifa
Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *

PROFESSEURS AGREGES :

Octobre 2010

Pr. ALILOU Mustapha
Pr. AMEZIANE Taoufiq*
Pr. BELAGUID Abdelaziz
Pr. BOUAITY Brahim*
Pr. CHADLI Mariama*
Pr. CHEMSI Mohamed*
Pr. DAMI Abdellah*
Pr. DARBI Abdellatif*
Pr. DENDANE Mohammed Anouar
Pr. EL HAFIDI Naima
Pr. EL KHARRAS Abdennasser*

Médecine interne
Pédiatrie
Chirurgie Générale
Neurologie
Neuro-chirurgie
Radiologie
Rhumatologie
Neuro-chirurgie
Anesthésie Réanimation
Anatomie
Biochimie-chimie
Dermatologie
Chirurgie Générale
Traumatologie orthopédique
Hématologie biologique
Chirurgie vasculaire périphérique
Hématologie clinique
Chirurgie Générale
Microbiologie
Médecine interne
Gynécologie obstétrique
Rhumatologie
Gastro-entérologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Microbiologie *Directeur Hôpital My Ismail*
Chimie Thérapeutique
Chirurgie Cardio-vasculaire
Pédiatrie
Hématologie biologique
Chirurgie Générale
Radiologie
Cardiologie
Pneumo-phtisiologie



Anesthésie réanimation
Médecine interne
Physiologie
ORL
Microbiologie
Médecine aéronautique
Biochimie chimie
Radiologie
Chirurgie pédiatrique
Pédiatrie
Radiologie

Pr. EL MAZOUZ Samir
Pr. EL SAYEGH Hachem
Pr. ERRABIH Ikram
Pr. LAMALMI Najat
Pr. MOSADIK Ahlam
Pr. MOUJAHID Mountassir*
Pr. NAZIH Mouna*
Pr. ZOUAIDIA Fouad

Chirurgie plastique et réparatrice
Urologie
Gastro entérologie
Anatomie pathologique
Anesthésie Réanimation
Chirurgie générale
Hématologie
Anatomie pathologique

Mai 2012

Pr. AMRANI Abdelouahed
Pr. ABOUELALAA Khalil*
Pr. BELAIZI Mohamed*
Pr. BENCHEBBA Driss*
Pr. DRISSI Mohamed*
Pr. EL ALAOUI MHAMDI Mouna
Pr. EL KHATTABI Abdessadek*
Pr. EL OUAZZANI Hanane*
Pr. ER-RAJI Mounir
Pr. JAHID Ahmed
Pr. MEHSSANI Jamal*
Pr. RAISSOUNI Maha*

Chirurgie Pédiatrique
Anesthésie Réanimation
Psychiatrie
Traumatologie Orthopédique
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Médecine Interne
Pneumophtisiologie
Chirurgie Pédiatrique
Anatomie pathologique
Psychiatrie
Cardiologie

Février 2013

Pr. AHID Samir
Pr. AIT EL CADI Mina
Pr. AMRANI HANCHI Laila
Pr. AMOUR Mourad
Pr. AWAB Almahdi
Pr. BELAYACHI Jihane
Pr. BELKHADIR Zakaria Houssain
Pr. BENCHEKROUN Laila
Pr. BENKIRANE Souad
Pr. BENNANA Ahmed*
0.
Pr. BENSghir Mustapha*
Pr. BENYAHIA Mohammed*
Pr. BOUATIA Mustapha
Pr. BOUABID Ahmed Salim*
Pr. BOUTARBOUCH Mahjouba
Pr. CHAIB Ali*
Pr. DENDANE Tarek
Pr. DINI Nouzha*
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Mohamed Ali
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Najwa
Pr. ELFATEMI Nizare
Pr. EL GUERROUJ Hasnae
Pr. EL HARTI Jaouad

Pharmacologie – Chimie
Toxicologie
Gastro-Entérologie
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Réanimation Médicale
Anesthésie Réanimation
Biochimie-Chimie
Hématologie
Informatique Pharmaceutique

Anesthésie Réanimation
Néphrologie
Chimie Analytique
Traumatologie Orthopédie
Anatomie
Cardiologie
Réanimation Médicale
Pédiatrie
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Neuro-Chirurgie
Médecine Nucléaire
Chimie Thérapeutique



Pr. EL JOUDI Rachid*
 Pr. EL KABABRI Maria
 Pr. EL KHANNOUSSI Basma
 Pr. EL KHLOUFI Samir
 Pr. EL KORAICHI Alae
 Pr. EN-NOUALI Hassane*
 Pr. ERRGUIG Laila
 Pr. FIKRI Meryim
 Pr. GHFIR Imade
 Pr. IMANE Zineb
 Pr. IRAQI Hind
 Pr. KABBAJ Hakima
 Pr. KADIRI Mohamed*
 Pr. LATIB Rachida
 Pr. MAAMAR Mouna Fatima Zahra
 Pr. MEDDAH Bouchra
 Pr. MELHAOUI Adyl
 Pr. MRABTI Hind
 Pr. NEJJARI Rachid
 Pr. OUBEJJA Houda
 Pr. OUKABLI Mohamed*
 Pr. RAHALI Younes
 Pr. RATBI Ilham
 Pr. RAHMANI Mounia
 Pr. REDA Karim*
 Pr. REGRAGUI Wafa
 Pr. RKAIN Hanan
 Pr. ROSTOM Samira
 Pr. ROUAS Lamiaa
 Pr. ROUIBAA Fedoua*
 Pr. SALIHOUN Mouna
 Pr. SAYAH Rochde
 Pr. SEDDIK Hassan*
 Pr. ZERHOUNI Hicham
 Pr. ZINE Ali*

Toxicologie
 Pédiatrie
 Anatomie Pathologie
 Anatomie
 Anesthésie Réanimation
 Radiologie
 Physiologie
 Radiologie
 Médecine Nucléaire
 Pédiatrie
 Endocrinologie et maladies métaboliques
 Microbiologie
 Psychiatrie
 Radiologie
 Médecine Interne
 Pharmacologie
 Neuro-chirurgie
 Oncologie Médicale
 Pharmacognosie
 Chirurgie Pédiatrique
 Anatomie Pathologique
 Pharmacie Galénique
 Génétique
 Neurologie
 Ophtalmologie
 Neurologie
 Physiologie
 Rhumatologie
 Anatomie Pathologique
 Gastro-Entérologie
 Gastro-Entérologie
 Chirurgie Cardio-Vasculaire
 Gastro-Entérologie
 Chirurgie Pédiatrique
 Traumatologie Orthopédie

Avril 2013

Pr. EL KHATIB Mohamed Karim*
 Pr. GHOUNDALE Omar*
 Pr. ZYANI Mohammad*

Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
 Urologie
 Médecine Interne

***Enseignants Militaires**



MARS 2014

ACHIR ABDELLAH
BENCHAKROUN MOHAMMED
BOUCHIKH MOHAMMED
EL KABBAJ DRISS
EL MACHTANI IDRISSE SAMIRA
HARDIZI HOUYAM
HASSANI AMALE
HERRAK LAILA
JANANE ABDELLA TIF
JEAIDI ANASS
KOUACH JAOUAD
LEMNOUER ABDELHAY
MAKRAM SANAA
OULAHYANE RACHID
RHISSASSI MOHAMED JMFAR
SABRY MOHAMED
SEKKACH YOUSSEF
TAZL MOUKBA. :LA.KLA.

Chirurgie Thoracique
Traumatologie- Orthopédie
Chirurgie Thoracique
Néphrologie
Biochimie-Chimie
Histologie- Embryologie-Cytogénétique
Pédiatrie
Pneumologie
Urologie
Hématologie Biologique
Généologie-Obstétrique
Microbiologie
Pharmacologie
Chirurgie Pédiatrique
CCV
Cardiologie
Médecine Interne
Généologie-Obstétrique

***Enseignants Militaires**

DECEMBRE 2014

ABILKACEM RACHID'
AIT BOUGHIMA FADILA
BEKKALI HICHAM
BENAZZOU SALMA
BOUABDELLAH MOUNYA
BOUCHRIK MOURAD
DERRAJI SOUFIANE
DOBLALI TAOUFIK
EL AYOUBI EL IDRISSE ALI
EL GHADBANE ABDEDAIM HATIM
EL MARJANY MOHAMMED
FEJJAL NAWFAL
JAHIDI MOHAMED
LAKHAL ZOUHAIR
OUDGHIRI NEZHA
Rami Mohamed
SABIR MARIA
SBAI IDRISSE KARIM

Pédiatrie
Médecine Légale
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Maxillo-Faciale
Biochimie-Chimie
Parasitologie
Pharmacie Clinique
Microbiologie
Anatomie
Anesthésie-Réanimation
Radiothérapie
Chirurgie Réparatrice et Plastique
O.R.L
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Pédiatrique
Psychiatrie
Médecine préventive, santé publique et Hyg.

***Enseignants Militaires**



AOUT 2015

Meziane meryem
Tahri latifa

Dermatologie
Rhumatologie

JANVIER 2016

BENKABBOU AMINE
EL ASRI FOUAD
ERRAMI NOUREDDINE
NITASSI SOPHIA

Chirurgie Générale
Ophtalmologie
O.R.L
O.R.L

2- ENSEIGNANTS – CHERCHEURS SCIENTIFIQUES

PROFESSEURS / PRs. HABILITES

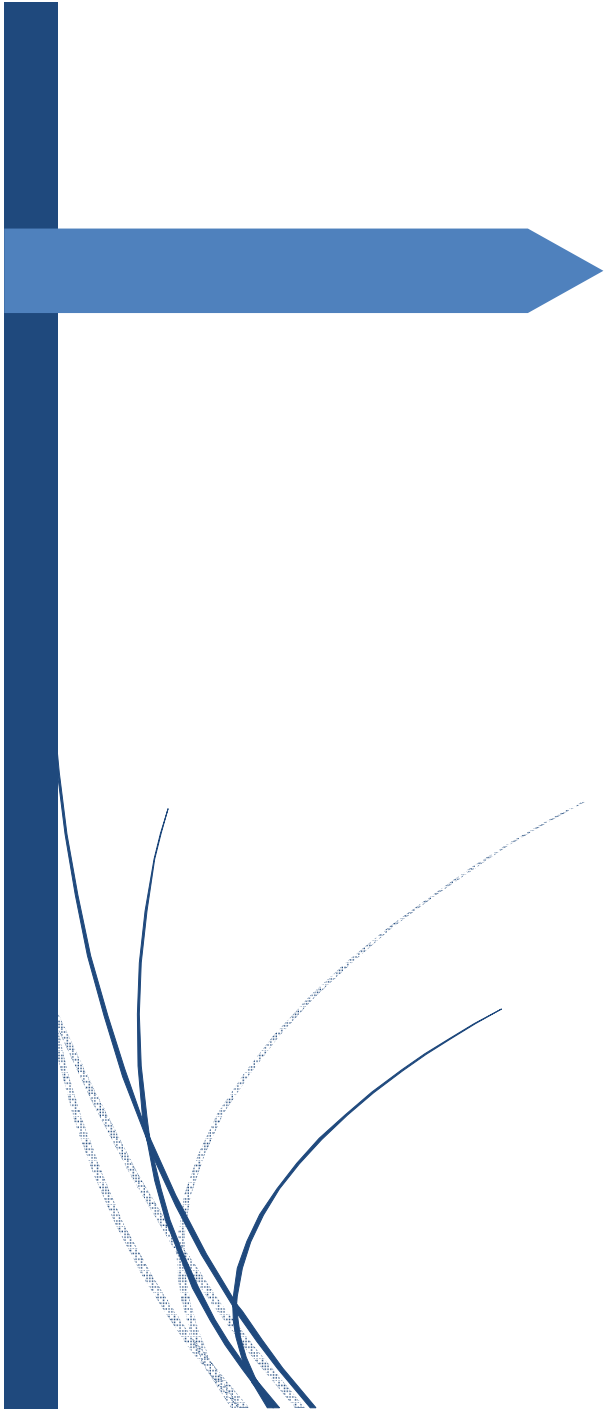
Pr. ABOUDRAR Saadia	Physiologie
Pr. ALAMI OUHABI Naima	Biochimie – chimie
Pr. ALAOUI KATIM	Pharmacologie
Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma	Histologie-Embryologie
Pr. ANSAR M'hammed	Chimie Organique et Pharmacie Chimique
Pr. BOUHOUCHE Ahmed	Génétique Humaine
Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz	Applications Pharmaceutiques
Pr. BOURJOUANE Mohamed	Microbiologie
Pr. CHAHED OUZZANI Lalla Chadia	Biochimie – chimie
Pr. DAKKA Taoufiq	Physiologie
Pr. DRAOUI Mustapha	Chimie Analytique
Pr. EL GUESSABI Lahcen	Pharmacognosie
Pr. ETTAIB Abdelkader	Zootecnie
Pr. FAOUZI Moulay El Abbas	Pharmacologie
Pr. HAMZAOUI Laila	Biophysique
Pr. HMAMOUCHE Mohamed	Chimie Organique
Pr. IBRAHIMI Azeddine	Biologie moléculaire
Pr. KHANFRI Jamal Eddine	Biologie
Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med	Chimie Organique
Pr. REDHA Ahlam	Chimie
Pr. TOUATI Driss	Pharmacognosie
Pr. ZAHIDI Ahmed	Pharmacologie
Pr. ZELLOU Amina	Chimie Organique

*Mise à jour le 14/12/2016 par le
Service des Ressources Humaines*



LISTE DES ABREVIATIONS

ADN	: Acide désoxyribonucléique
ARN	: Acide ribonucléique
ATCC	: American type culture collection
ATP	: Adénosine triphosphate
DSM	: Difco sporulation medium
FDA	: Food and Drug administration
GRAS	: Generally recognized as safe
HPV	: Human Papilloma virus
LB	: Luria Bertani
MALDI-TOF	: Matrix assisted lazer desorption ionisation- Time of flight
ONPG	: Orthonitrophényl- β -galactoside
PCR	: Polymerase chain reaction
PPM	: Partie par million
TROD	: Tests rapides d'orientation diagnostic
UFC	: Unité formant colonie
UV	: Ultraviolet
VP	: Voges-Proskauer



Dédicaces

*A ma très chère mère, A mon très cher père,
A ma très chère sœur, A mon très cher frère :*

*Vous êtes la lumière qui illumine mon chemin, tous les mots ne peuvent
exprimer l'amour que je vous porte. Je remercie dieu de vous avoir dans
ma vie et je l'implore pour qu'il puisse vous garder à mes cotés
éternellement.*

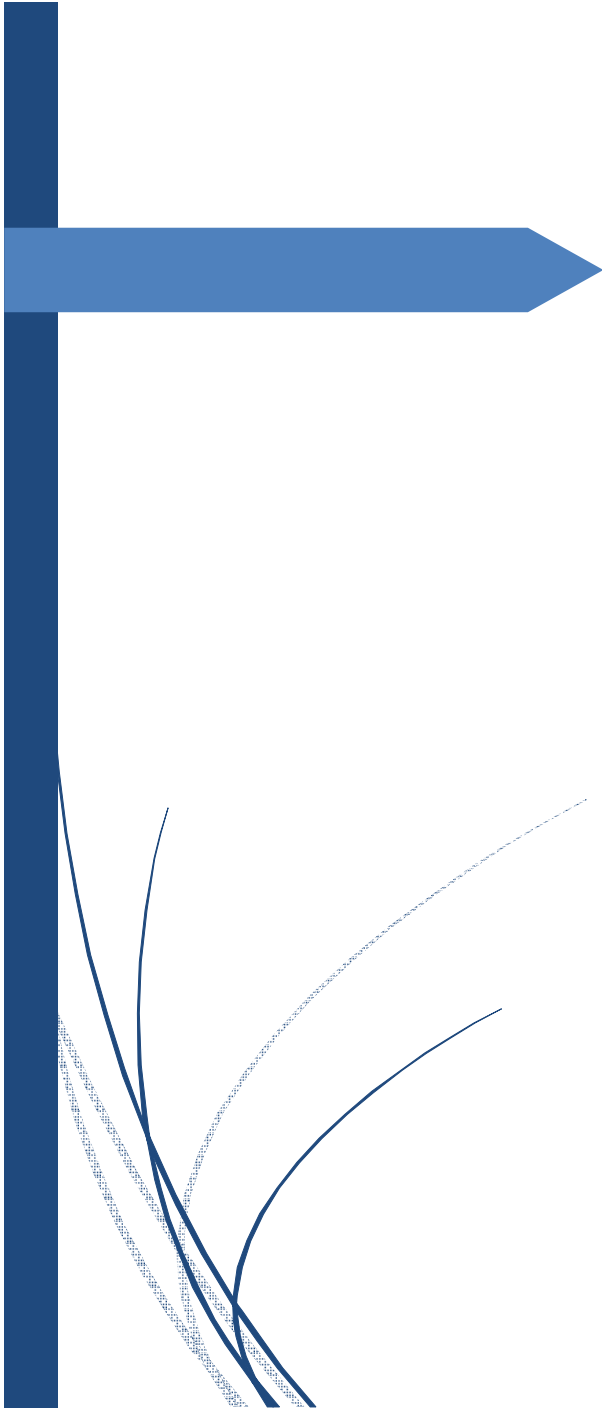
A mes très chers ami(e)s :

Mille mercis pour votre soutien et votre présence dans ma vie.

Que les liens qui nous unissent subsistent à jamais.

Une dédicace spéciale aux personnes qui m'ont accompagné pendant mes moments de crise et de joie : Kawtar, Kenza, Asmaa, Asmae, Siham. Le temps qu'on a passé ensemble restera toujours dans mon cœur, vous êtes le meilleur cadeau que j'ai reçu vers la fin de mon cursus et que je compte garder éternellement, je vous souhaite tout le bonheur du monde.

Zineb : merci pour l'amitié et la fraternité que j'espère maintenir à jamais.



Remerciements

À notre Maître et Président de Thèse

Pr Mimoun Zouhdi :

Professeur de microbiologie

*Vous me faites un grand honneur en acceptant de présider ce jury.
Votre amabilité et votre modestie m'ont vraiment marqué lorsque vous
m'avez accueilli dans votre bureau. Veuillez trouver en ces quelques
mots l'expression de mes vifs remerciements et mon respect.*

A notre Maître et Directeur de Thèse

Pr Yassine Sekhsokh :

Professeur de microbiologie

*Votre sympathie et votre dévouement sont les qualités
qui m'ont poussé à vous solliciter et vous ne m'avez pas déçu,
sachez que je vous en demeure redevable.*

*Votre rigueur, conseils et suivi permanent m'ont permis d'achever ce
travail avec fluidité. Je vous remercie pour votre soutien, votre
amabilité et pour avoir accepté d'encadrer ce travail.*

A notre Maître et Juge de thèse

Pr Abdelkader Laatiris

Professeur de pharmacie galénique

Vos cours de pharmacie galénique m'ont marqué au cours de mon cursus. Vous m'avez fait aimer la galénique par l'enthousiasme et la rigueur avec lesquels vous avez présenté chacune de vos séances.

Vous me faites un grand honneur en acceptant de juger ce travail, je vous en remercie infiniment.

A notre Maître et Juge de thèse

Pr Saida Tellal :

Professeur de biochimie

*Vous m'avez toujours marqué par votre gentillesse ;
votre dévouement et votre sympathie. Vous n'avez jamais
déçu quiconque venant vous solliciter.*

*J'apprécie énormément votre acceptation pour faire partie
de ce jury, je vous en remercie.*

*A notre Maître et Juge de thèse
Pr Sakina EL HAMZAOUI :
Professeur de microbiologie*

*Vos séances de cours ont été un vrai plaisir par la clarté et
l'enthousiasme qui y régnaient.*

*Vous me faites un grand honneur en acceptant de siéger parmi
le jury de ce modeste travail, je vous en remercie.*

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Principaux groupes de bactéries à intérêt médical	4
Figure 2 : Schémas de quelques bactéries figurant dans un dictionnaire du XXème siècle.....	5
Figure 3 : Dendrogramme représentant les membres du complexe <i>Bacillus subtilis</i>	9
Figure 4 : Coloration de Gram de <i>Bacillus subtilis</i>	11
Figure 5 : <i>B. subtilis</i> vue sous microscopie électronique.....	12
Figure 6 : Endospore de <i>B. subtilis</i> vue au microscope électronique.....	12
Figure 7 : Représentation de l'unité répétitive de base constituant le peptidoglycane	13
Figure 8 : Photographie d'une colonie de <i>Bacillus subtilis</i> sur gélose.....	14
Figure 9 : Représentation schématique des constituants des spores à gauche et à droite photographie de la spore de <i>B.subtilis</i> vue sous microscopie électronique	24
Figure 10 : Schéma des différentes phases de la sporulation et les facteurs intervenants dans chaque étape	26
Figure 11 : schéma de la répartition des cellules au sein d'un biofilm avec images réelles du biofilm (B) en milieu solide et (C) en milieu liquide.	29
Figure 12 : Cascade signalétique montrant la succession de signaux responsables des différents comportements de la bactérie	30
Figure 13 : Schéma montrant les types de prélèvements en fonction du site d'infection	40
Figure 14 : Schéma montrant la transformation de l'échantillon en particules ionisables	46

Figure 15 : Schéma montrant la migration des particule vers le détecteur.....	46
Figure 16 : Structures de quelques molécules du groupe des iturines avec A : iturine A, B : Mycosubtiline, C : Bacillomycine.....	56
Figure 17 : Structure de la fengycine A, groupe des fengycines.....	57
Figure 18 : Structure de la surfactine.....	58
Figure 19 : Structure de A : Subtiline et B : Ericine.....	60
Figure 20 : Photographie d'un plat de Natto	68
Figure 21 : Photographie du natto préparé traditionnellement	69
Figure 22 : Schéma du test de Guthrie.....	74

LISTE DES TABLEAUX

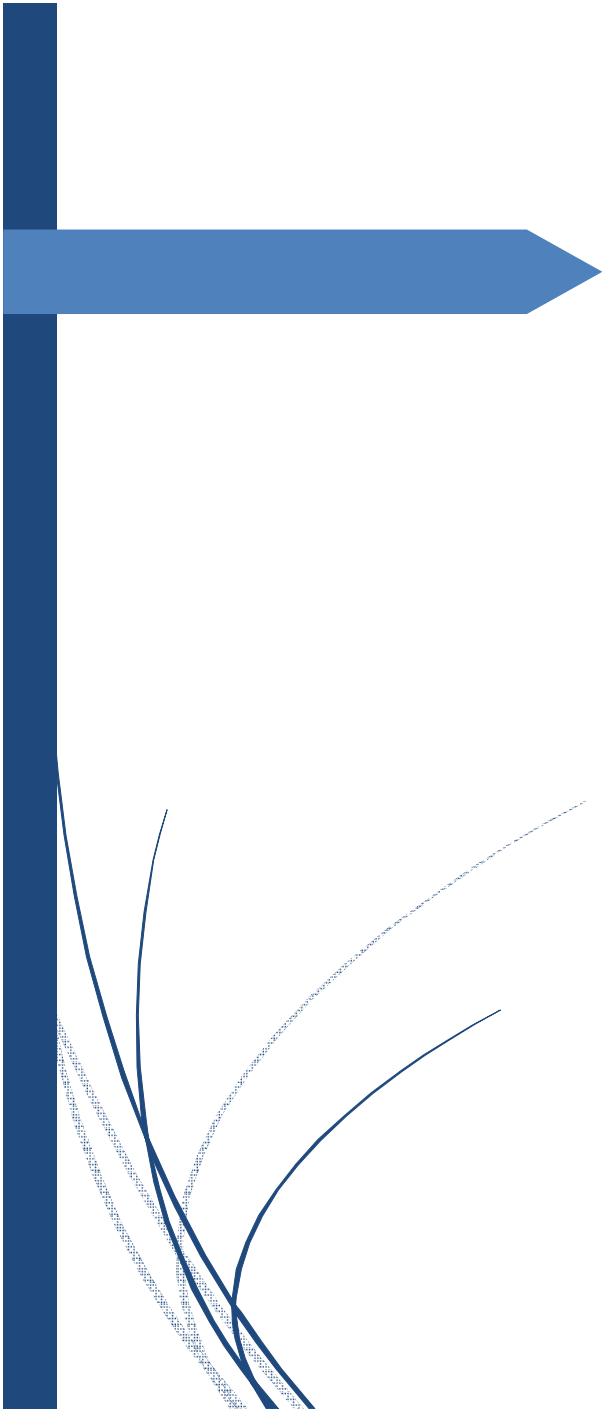
Tableau I: Caractères biochimiques de <i>Bacillus subtilis</i>	16
Tableau II : Sources de carbone utilisables par <i>Bacillus subtilis</i>	17
Tableau III : Liste des gènes indispensables à la survie de <i>Bacillus subtilis</i>	19
Tableau IV : Diagnostic différentiel de quelques <i>Bacillus</i>	31
Tableau V : Métabolites toxiques produits par <i>B. subtilis</i>	36
Tableau VI : Quelques caractères biochimiques de plusieurs espèces de <i>Bacillus</i>	43
Tableau VII : Sensibilité de <i>B. subtilis</i> à certains antibiotiques	50
Tableau VIII : Substances produites par <i>B. subtilis</i> et les activités qui y sont attribuées	62
Tableau IX: Composition nutritionnelle de natto par 100g	70
Tableau X : Etudes effectuées sur l'homme pour prouver l'innocuité de <i>B. subtilis</i> ...	84

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
I. HISTORIQUE	4
II. CARACTERES DE <i>BACILLUS SUBTILIS</i>:	8
1. Classification	8
2. Étude du germe	11
2.1. Morphologie	11
2.2. Structure	13
2.3. Caractères cultureux	14
2.4. Caractères biochimiques.....	16
2.5. Génome.....	18
2.6 <i>Bacillus subtilis</i> et la signalisation.....	21
2.7. Critères de différenciation	31
3. Aspects épidémiologiques	32
3.1. Réservoir.....	32
3.2. Modes de transmission	32
3.3. Facteurs favorisants.....	33
4. Physiopathologie de l'infection	34
5. Manifestations cliniques	36
6. Diagnostic bactériologique	39
6.1. Prélèvement.....	40

6.2. Culture	41
6.3. Identification	41
6.3.1. Méthodes phénotypiques	41
6.3.2. Tests Rapides d'orientation diagnostic (TROD)	43
6.3.3.1. Biologie moléculaire dans le diagnostic	44
6.3.3.2. Biologie moléculaire dans la recherche	45
6.4. Antibiogramme	47
6.4.1. Principe	47
6.4.2. Techniques classiques	47
6.4.3. Interprétation de l'antibiogramme	49
6.4.4. Antibiotiques à tester	50
7. Traitement	51
8. Prévention	52
III. APPLICATIONS DE <i>BACILLUS SUBTILIS</i>	55
1. Production d'antimicrobiens	55
2. Production d'acide hyaluronique	63
3. Production d'enzymes	65
4. Traitement des eaux usées	67
5. Production d'aliments traditionnels	68
6. Formation de biofilms utiles	71
7. Indicateur biologique de stérilisation	71
8. Application dans le diagnostic de certaines pathologies	73

9. Application dans la recherche en tant qu'hôte de bactériophages	75
10. Application en vaccinologie	75
11. Application comme probiotique	77
12. Détection des résidus d'antibiotiques dans le lait et les produits laitiers	79
IV. EXIGENCES RELATIVES A L'UTILISATION De <i>BACILLUS SUBTILIS</i>	
EN INDUSTRIE	81
CONCLUSION	85
RESUMES	87
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES ET WEBOGRAPHIQUES	91



Introduction

Depuis la plus haute antiquité, les micro-organismes étaient utilisés empiriquement pour produire et conserver les aliments, vin et produits laitiers étant les témoins d'une telle pratique.

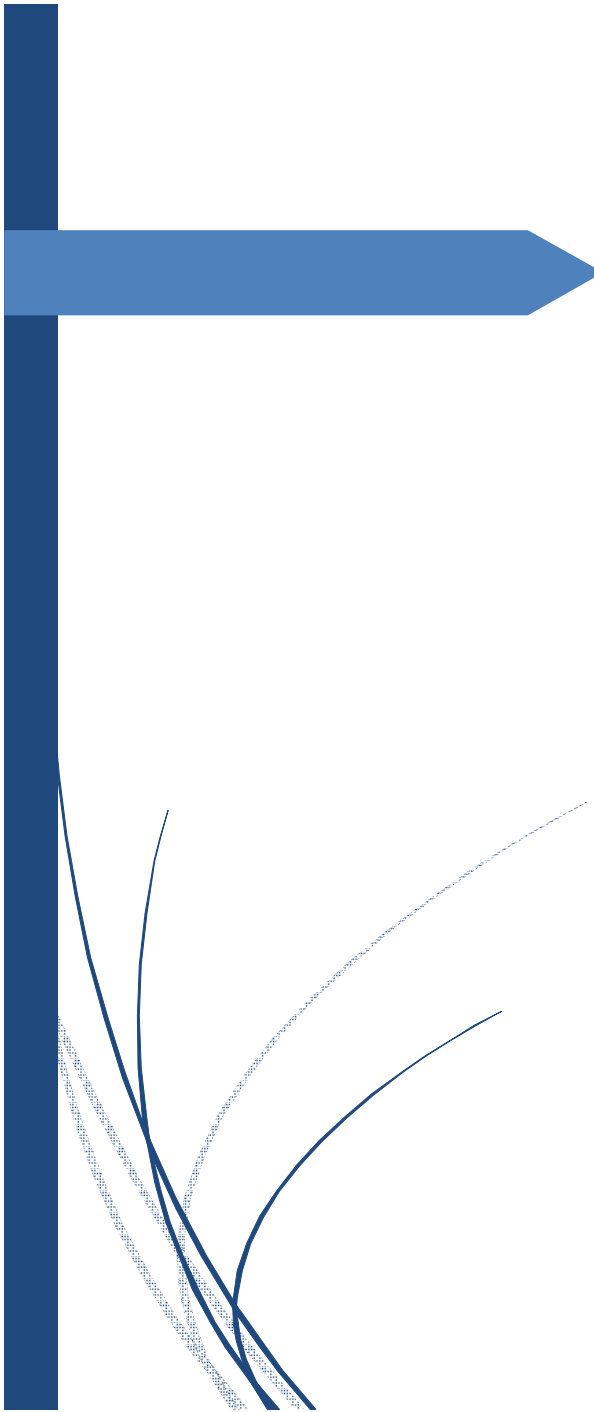
L'avancement des connaissances en matière de microbiologie, biologie moléculaire et biotechnologie a permis d'élargir le champ d'application des micro-organismes dans le cadre d'une exploitation industrielle à grande échelle.

Parmi les micro-organismes exploités, on trouve des bactéries à potentiel surprenant, opérant comme des usines, il suffit de leur offrir les bonnes conditions de culture pour qu'elles produisent, avec parfois quelques modifications génétiques pour optimiser cette production.

Le genre *Bacillus*, l'un des groupes de bactéries à grand intérêt médical, abritant des espèces redoutables causant des pathologies dangereuses comme le *Bacillus anthracis* agent de la maladie charbonneuse, abrite aussi des espèces saprophytes dont *Bacillus subtilis*, une bactérie à Gram positif fortement exploitée en microbiologie industrielle.

Bactérie ubiquitaire, en forme de bâtonnets et formant des structures particulières de résistance appelées endospores. C'est une bactérie-modèle par ses caractéristiques particulières et par l'intérêt économique qu'elle présente.

L'objectif de ce travail est de donner dans un premier temps les caractéristiques relatives à cette bactérie en matière de morphologie, génome, conditions de culture, et dans un second temps présenter les différentes applications témoignant de son importance dans le monde de l'industrie.



Historique

I. HISTORIQUE :

Le genre *Bacillus* et certaines de ses espèces portent une place importante dans l'histoire de la bactériologie. Ce genre fait partie des principaux groupes de bactéries à intérêt médical.

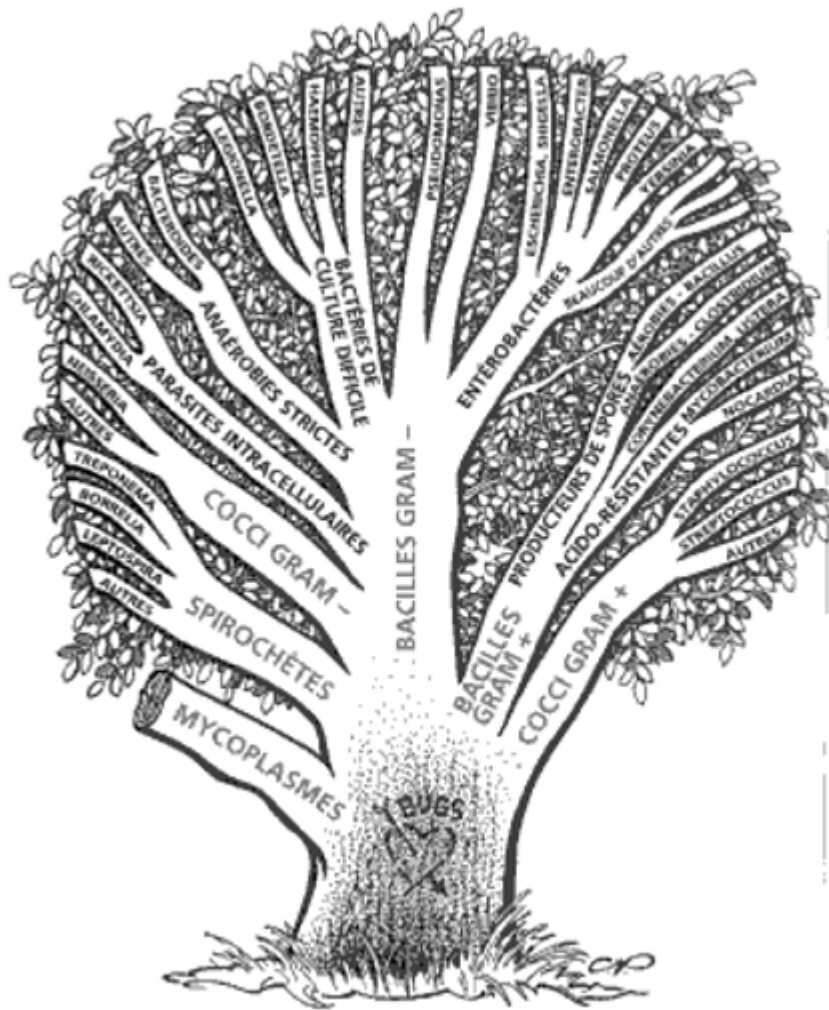


Figure 1 : Principaux groupes de bactéries à intérêt médical [1]

Christian Ehrenberg a décrit *Vibrio subtilis* en 1835, ce qui rend *subtilis* parmi les épithètes des espèces bactériennes toujours utilisé, même si *Vibrio* donne au bactériologiste une image de bacille incurvée, ce terme est dérivé du mot latin voulant dire « agiter ».

Ferdinand Cohn l'a renommé *Bacillus subtilis* en 1872 en l'incluant, a côté de deux autres espèces, dans un nouveau genre qu'il a proposé en cette même année : *Bacillus*. La proposition de ces espèces a été basée sur la forme des cellules.

Cohn avait illustré les spores de *B. subtilis* dans une publication datée de 1875 et a démontré leur importance comme forme de résistance en 1876 [2].

Historiquement considérée aérobie stricte jusqu'en 1998, prouvé capable de se développer en milieu anaérobie en présence de nitrate comme accepteur final d'électron.

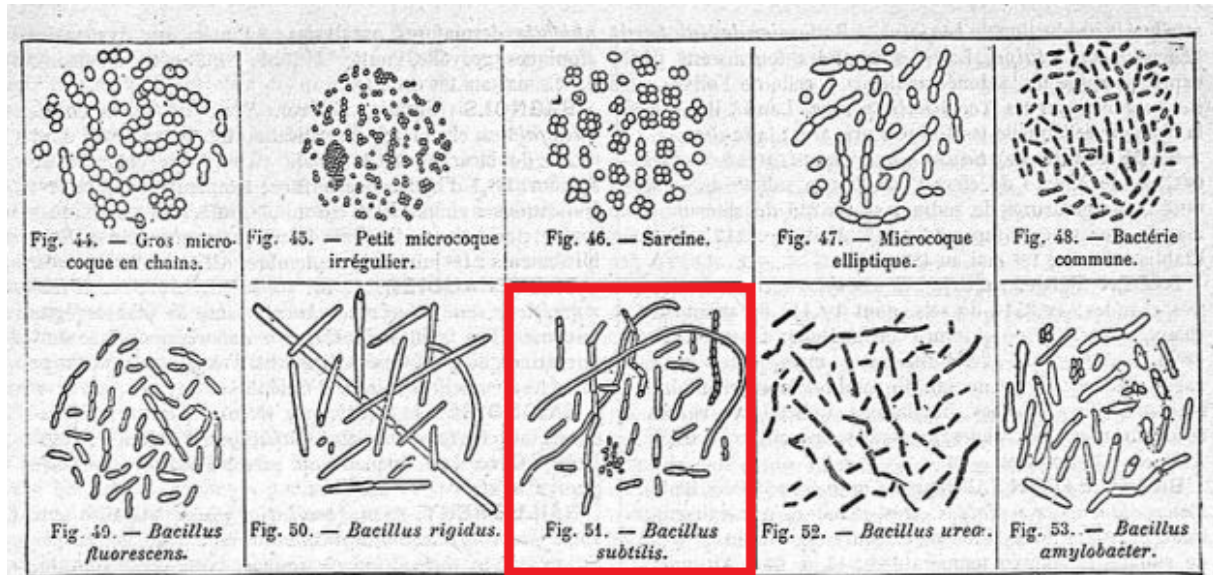
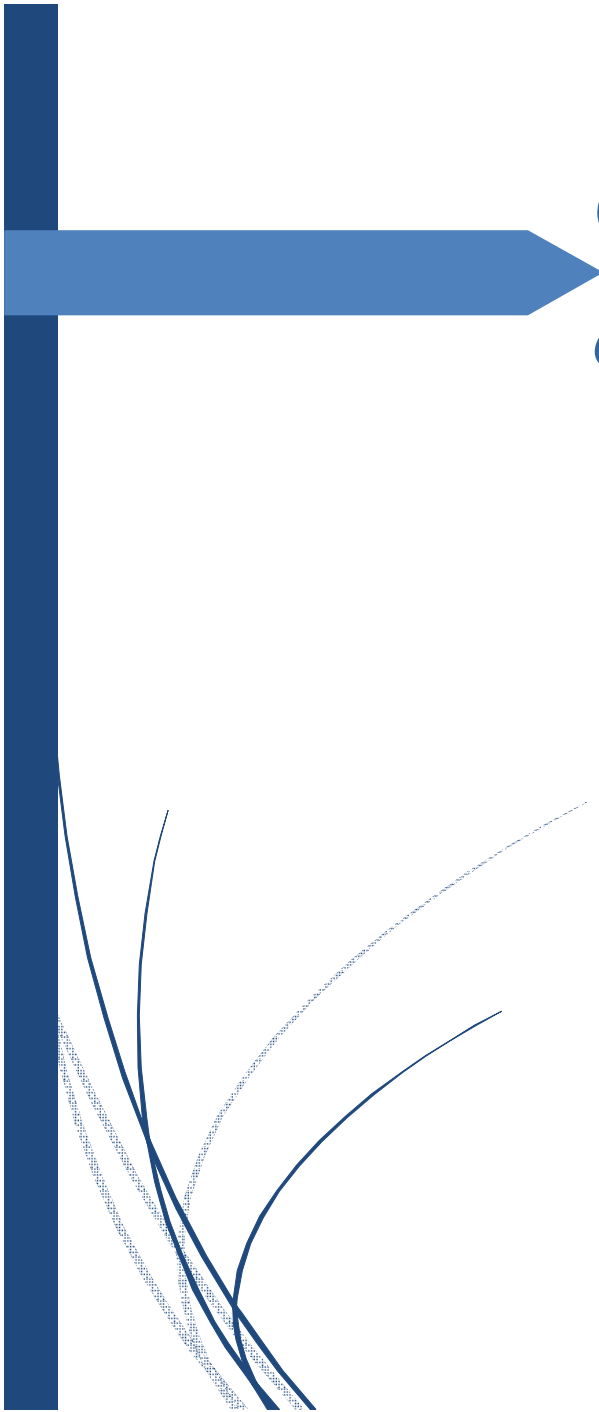


Figure 2 : Schémas de quelques bactéries figurant dans un dictionnaire du XXème siècle [3]

La figure est prise d'un dictionnaire du XXe siècle et montre l'intérêt que portaient les scientifiques de l'époque à certaines bactéries dont *Bacillus subtilis*

Son caractère non pathogène a poussé les scientifiques à l'étudier intensivement au point d'établir la séquence complète de son génome ainsi que la détermination de plusieurs sous-espèces dont la séparation ne peut être faite que par des techniques très élaborées.



*Caractères de
Bacillus subtilis*

II. CARACTERES DE *BACILLUS SUBTILIS*:

1. Classification :

Le genre *Bacillus* appartient à l'embranchement des Firmicutes, classe des Bacilli, ordre des Bacillales, Famille des Bacillaceae.

Il comprend 268 espèces réparties en 3 groupes sur la base de la morphologie de l'endospore et du corps bactérien.

Bacillus subtilis appartient au second groupe avec son endospore ellipsoïdale non déformante.

Bacillus subtilis fait partie d'un groupe taxonomique complexe dont les membres sont difficilement différenciables phénotypiquement, on a donc recours à des méthodes moléculaires comme la MALDI-TOF qui permet de distinguer les protéines produites par ces bactéries ainsi que le contenu cellulaire en acides gras permettant de les différencier.

La figure suivante montre les membres du complexe *Bacillus subtilis*.

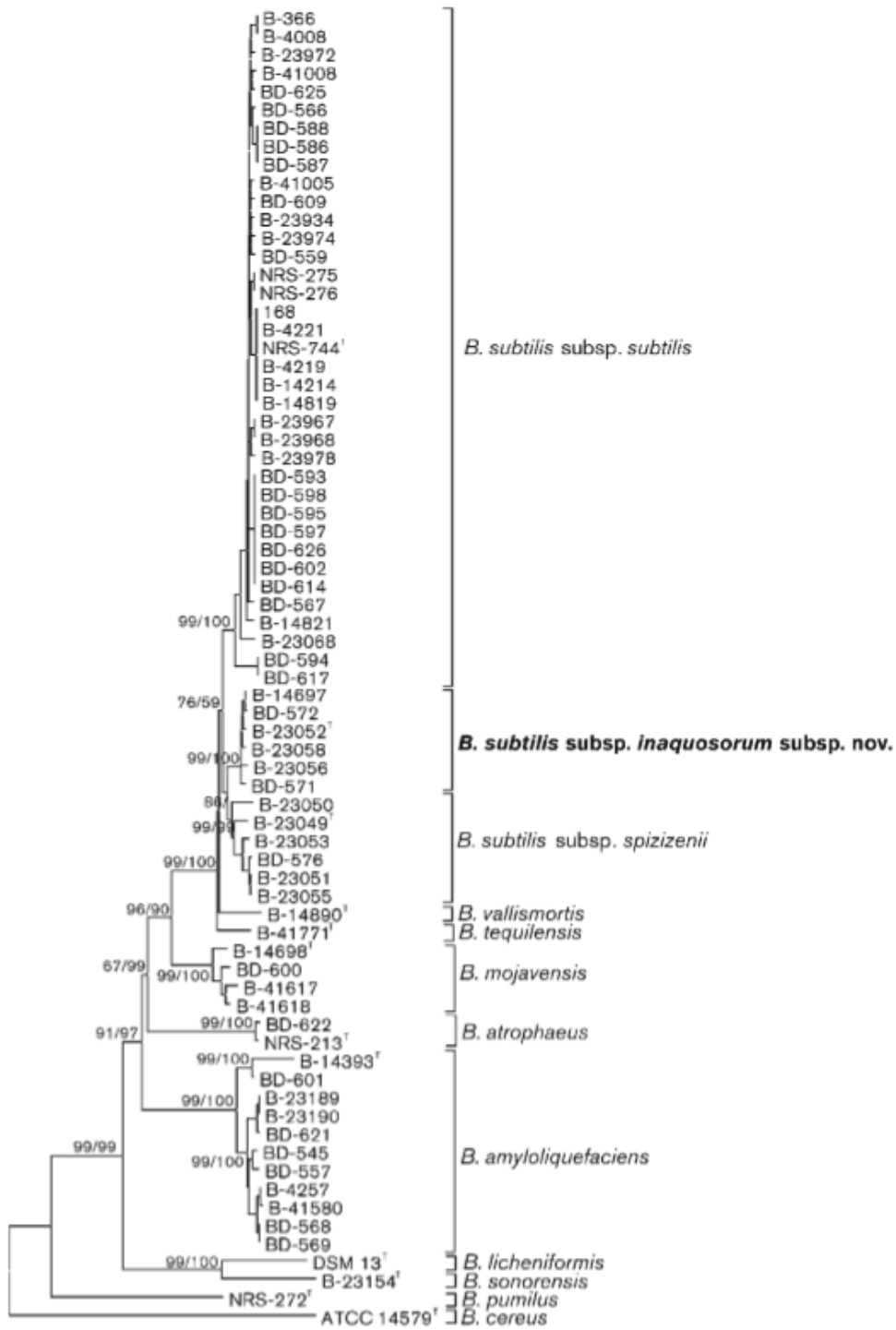


Figure 3 : Dendrogramme représentant les membres du complexe *Bacillus subtilis* [4]

Au-delà de l'espèce *B. subtilis*, on trouve des sous espèces difficilement différenciables et à un niveau supérieur de classification on trouve des souches.

L'analyse au laboratoire a démontré l'existence de plusieurs sous espèces à propriétés très rapprochées dont la différenciation ne peut être faite que par des méthodes spécifiques.

Les méthodes de classification utilisées dans la séparation et l'identification des espèces sont :

- Les méthodes phénotypiques basées sur la morphologie, ne suffisent pas pour donner des résultats concluants.
- Les méthodes génotypiques plus pointues, basées sur l'analyse des séquences de gènes permettant de trancher avec évidence entre les espèces. On y trouve des méthodes de biologie moléculaire comme la réaction en chaîne par polymérase (PCR), l'électrophorèse en champs pulsé.

Les sous espèces sont au nombre de 3 : *B.subtilis* sous espèce *subtilis*, *B.subtilis* sous espèce *spizizenii* et *B.subtilis* sous espèce *inaquosorum*. Ces 2 dernières sous espèces peuvent être classées séparément de l'espèce *Bacillus subtilis*, c'est ce qu'a conclu une étude réalisée par Hana Yi et al en étudiant les génomes des deux sous espèce et en le comparant à celui de *B.subtilis* [5].

Concernant les souches, elles sont obtenues grâce aux mutations, spontanées ou provoquées.

Une souche dérive d'une cellule issue d'une colonie parfaitement isolée avec des modification génétiques au cours des divisions contrairement au clone.

La souche la plus connue est *Bacillus subtilis* 168.

2. Étude du germe :

2.1. Morphologie :

Bacille à Gram positif, gros, droit, mobile par des cils péritriches, capsulé, en forme de bâtonnets de $2\mu\text{m}$ de diamètre et dont la longueur peut atteindre $7\mu\text{m}$, formant des spores ellipsoïdales ou cylindriques en position centrale, paracentrale ou subterminales dans le corps bactérien.

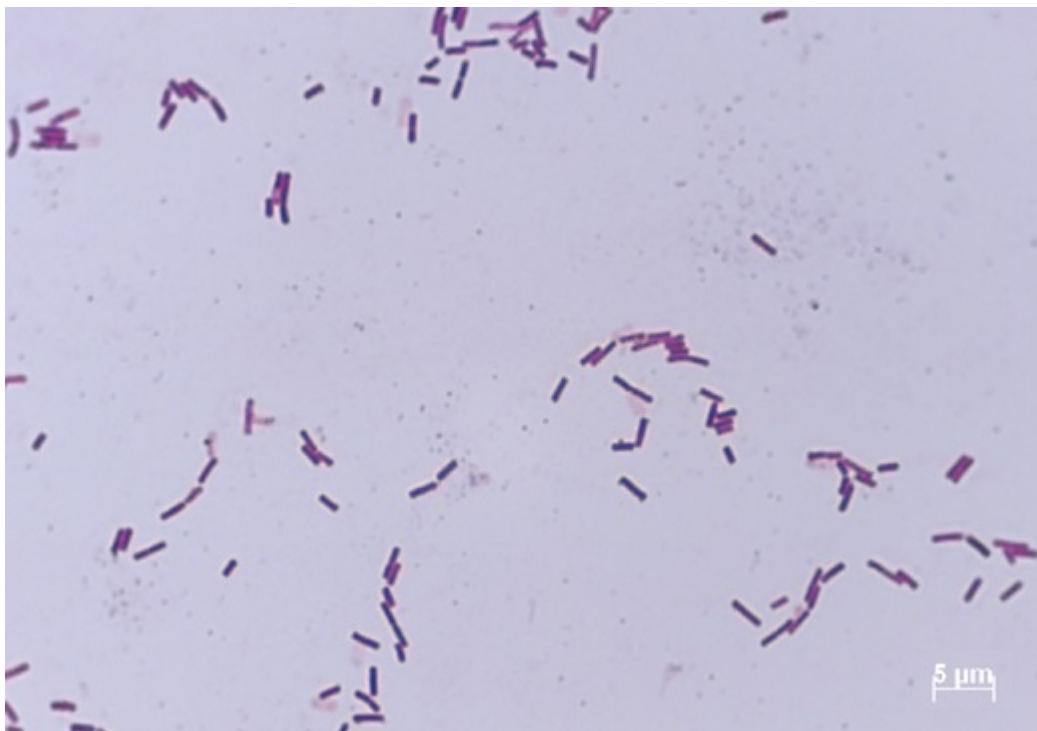


Figure 4 : Coloration de Gram de *Bacillus subtilis* [6]

Les cellules sont soit isolées soit groupées en paires ou chaînes.

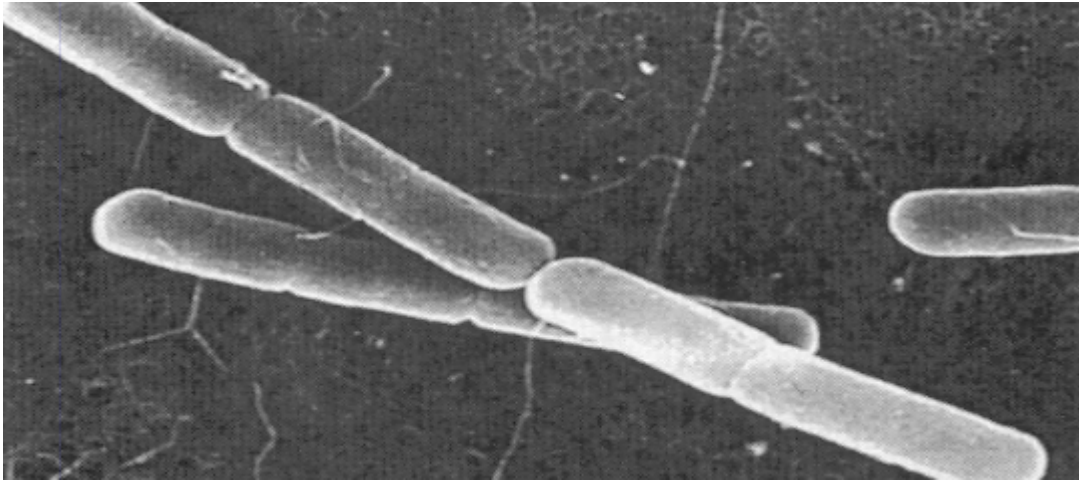


Figure 5 : *B. subtilis* vue sous microscopie électronique [7]



Figure 6 : Endospore de *B. subtilis* vue au microscope électronique [8]

2.2. Structure :

La paroi bactérienne est constituée de 10 à 20 couches de peptidoglycane, polymère du N-acétyl-glucosamine lié à l'acide N-acétyl-muramique, et de l'acide teichoïque (polymère de glycerol-phosphate ou ribitol phosphate selon l'espèce) quand le phosphore est disponible sinon on trouve l'acide teichuronique.

C'est la paroi qui confère à la bactérie sa rigidité.

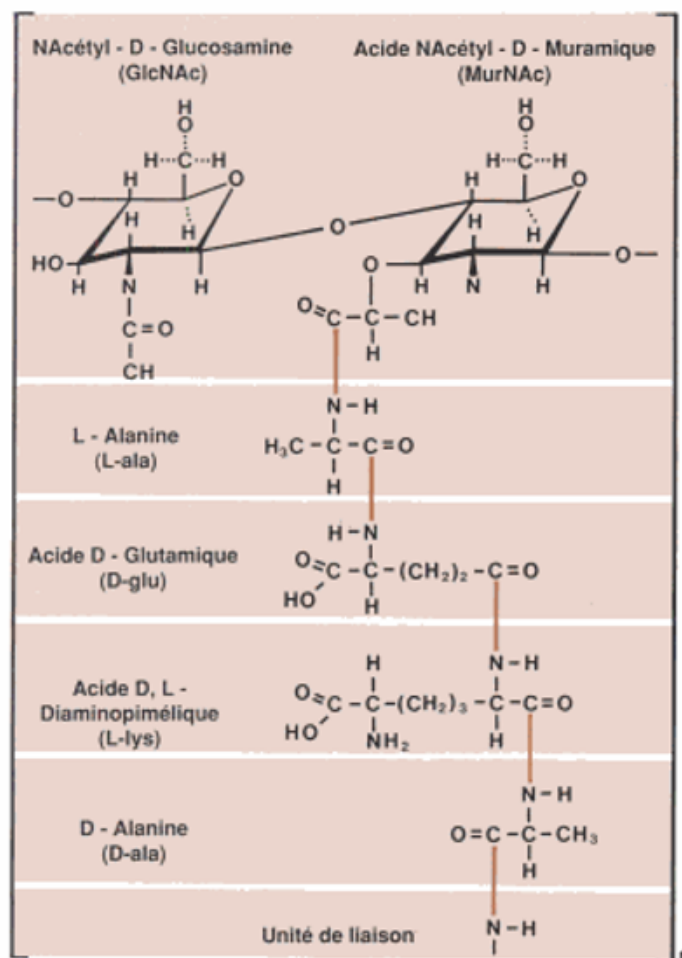


Figure 7 : Représentation de l'unité répétitive de base constituant le peptidoglycane [1]

Des éléments structuraux comme les pilis, les exo polysaccharides et les flagelles sont exposés à la surface cellulaire et contribuent à la modulation des interactions avec les surfaces et les cellules hôtes.

2.3. Caractères cultureux :

Les colonies sont larges (2 à 4 mm), leur morphologie est variable entre les différentes souches et parfois dans la même souche ce qui donne un aspect de culture mixte.

Une colonie de *Bacillus subtilis* est de forme ronde à irrégulière, les bords varient de l'aspect ondulé à fimbrié, elle peut être plate, soulevée ou légèrement convexe , de couleur blanche, blanc cassé ou crème, translucide à opaque à texture mate ou brillante, sèche ou mucoïde.



Figure 8 : Photographie d'une colonie de *Bacillus subtilis* sur gélose [8].

Capable de pousser en milieux salés simples en présence d'ammonium, urée ou acides aminés tel l'arginine, glutamine, glutamate, asparagine ou l'aspartate comme source d'azote, de glucose ou autres sucres simples comme source de carbone et de phosphate comme source de phosphore [9].

Un exemple de milieu favorable à la croissance de *B. subtilis* est le milieu minimum salé de Spizizen dont la composition pour un litre est la suivante [10] :

(NH ₄) ₂ SO ₄	02g
K ₂ HPO ₄	14g
KH ₂ PO ₄	06g
Citrate trisodique 2HO ₂	01g
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.2g

Elle peut croître entre 10 et 55°C avec un optimum entre 28 et 30°C. La croissance se fait à pH entre 5.5 et 8.5. Des valeurs de pH élevées peuvent être tolérées.

C'est une bactérie aérobie pouvant se développer en anaérobiose par fermentation en présence de nitrate comme accepteur final d'électrons [11].

Les milieux de culture usuels permettent la croissance de la plupart des espèces du genre *Bacillus*.

2.4. Caractères biochimiques :

Le tableau suivant résume les caractères biochimiques de *B.subtilis* :

Tableau I: Caractères biochimiques de *Bacillus subtilis* [12]

Catalase	+
Citrate	+
Gaz	-
Gélatinase	+
Indole	-
Rouge de méthyle	-
Réduction de nitrate en nitrite	+
Oxydase	Variable
Uréase	-
Réaction de Voges-Proskauer	+

La bactérie est capable de fermenter plusieurs carbohydrates, le tableau suivant présente certains produits fermentables et d'autres non fermentables par cette espèce :

Tableau II : Sources de carbone utilisables par *Bacillus subtilis* [12]

Arabinose	+
Amidon	+
Arabitol	-
Cellobiose	+
Fructose	+
Galactose	Variable
Glucose	+
Glycérol	+
Glycogène	+
Inositol	+
Inuline	variable
Lactose	variable
Mannose	+
Mannitol	+
Maltose	+
Raffinose	+
Rhamnose	-
Ribose	+
Sorbitol	+
Sucrose	+
Tréhalose	+
Xylose	+

2.5. Génome [13] :

Le génome et les protéines issues de son expression sont établis à l'aide des sciences suivantes :

- La génomique qui est définie comme l'étude de l'ensemble du matériel génétique d'un être vivant. Plus précisément, la génomique est l'analyse des génomes des organismes d'un point de vue anatomique (séquence et organisation) et physiologique (expression et régulation).
- La protéomique désignant la science qui étudie les protéomes, c'est-à-dire l'ensemble des protéines d'une cellule ou d'un organisme à un moment donné et sous des conditions données.

Le génome de *B.subtilis* est constitué d'un seul chromosome circulaire avec 4214630 pb et un pourcentage de 43.5% en GC.

L'origine et la terminaison de réplication sont attachés aux pôles cellulaires qui fournissent la stabilité nécessaire à la répartition des chromosomes après réplication sur les cellules filles [14].

Au total, 4100 gènes ont été identifiés dont 271 sont indispensables à la survie de la bactérie.

Certains gènes sont impliqués dans des aspects fonctionnels qui sont :

- Le traitement d'informations.
- La synthèse de l'enveloppe cellulaire.
- La détermination de la forme cellulaire.
- La réplication et la division.
- L'énergétique cellulaire.

Le tableau suivant détaille les gènes indispensables à la survie de *B. subtilis* [15]

Tableau III : Liste des gènes indispensables à la survie de *Bacillus subtilis* [15]

Métabolisme d'ADN	27
Machinerie basique de réplication	6
Packaging et ségrégation	9
Méthylation	2
Métabolisme d'ARN	14
Machinerie basique de transcription	4
Modification d'ARN	6
Régulation	4
Synthèse des protéines	95
Protéines ribosomiaux	52
Aminoacyl-ARN _t synthétase	24
Facteurs de translation	10
Modification et pliage des protéines	3
Translocation des protéines	6
Enveloppe de la cellule	44
Lipides membranaires	16
Paroi cellulaire	28
Forme cellulaire et division	10
Glycolyse	8
Voies respiratoires	22
Isoprenoides	8
Menaquinone	8
Biogenèse des cytochromes	3
Thioredoxine	3
Nucléotides	10
Cofacteurs	15
CoA	1
Folates	3
NAD	4
S-adenosylmethionine	1
Complexe Fer-Sulfure	6
Autres	15
Inconnus	11
Total	271

Les fonctions de certains gènes restent inconnues malgré les différentes études d'inactivation des gènes effectuées.

Le patrimoine génétique de *B. subtilis* lui permet de s'adapter à différentes conditions.

Une série de réponses transitionnelles sont initiées par la bactérie pour maintenir ou restaurer la croissance dans les conditions de stress [16]. Ces réponses incluent l'activation d'enzymes (protéases, polysaccharidases...), le chimiotactisme et la motilité, la compétence qui est la capacité de la bactérie à capter l'ADN de son environnement.

Si ces mesures ne permettent pas de restaurer la croissance, la sporulation se déclenche.

Parmi les stress encourus par la bactérie, on trouve le stress osmotique résultant des variations osmotiques de l'environnement, pour y faire face, la bactérie est munie de gènes contrôlant la synthèse ou le captage de substances osmo-protectrices comme la glycine bêtaïne.

On trouve également des gènes contrôlant l'adaptation aux changements de température appelés heat shock inducible genes ou gènes induits par le choc de température.

B. subtilis est connue par son aptitude à utiliser de nombreux substrats, cette aptitude est liée à son génome codant pour plus de 77 transporteurs et une multitude d'enzymes permettant la dégradation des substances utilisées (amylases, arabinases, cellulases...). L'expression de ces gènes est stimulée par les substrats présents dans son environnement ce qui lui confère un grand pouvoir d'adaptation [17].

Le patrimoine génétique de cette bactérie est susceptible à des modifications soit par mutation ou encore par apport exogène d'ADN d'autres bactéries par transformation.

Cette dernière est définie comme un transfert génétique au cours duquel un fragment bi caténaire, libre, nu et en solution est capté par une bactérie réceptrice compétente avant d'être éventuellement intégré au génome.

La transformation entraîne l'acquisition de nouveaux caractères génétiques stables et transmissibles et nécessite un état particulier de la bactérie réceptrice appelé « compétence ».

Cet état n'apparaît qu'à certains stades de la division cellulaire et seulement chez une fraction de la population bactérienne. La transformation peut être provoquée artificiellement suite à un traitement chimique ou enzymatique de la paroi bactérienne avant sa mise en contact avec l'ADN.

2.6 *Bacillus subtilis* et la signalisation

Les bactéries utilisent une machinerie cellulaire sophistiquée pour détecter les variations de l'environnement et coordonner une réponse appropriée pour faire face à ces changements.

Des récepteurs localisés à la surface cellulaire reconnaissent une variété de ligands qui déclenchent des cascades génétiques conduisant à l'activation ou la répression de certains gènes.

L'un des aspects de signalisation cellulaire est le quorum sensing :

Le quorum sensing est un mécanisme par lequel les bactéries évaluent leur densité de population. Cela leur permet d'adopter de nouveaux comportements.

Une molécule, l'auto-inducteur, est sécrétée en permanence par les bactéries. Cette molécule diffuse librement dans le milieu et peut passer à travers la paroi et la membrane bactérienne.

Lorsque la population est plus importante, la concentration en auto-inducteur augmente. A grande concentration, cet auto-inducteur forme un complexe avec un facteur de transcription présent normalement dans la bactérie.

Le complexe facteur de transcription/auto-inducteur formé active un gène. Ceci induit la production d'un signal qui confère à la population de nouvelles propriétés. Propriétés qui varient selon l'espèce de bactéries, la nature de l'auto-inducteur, le gène activé...

Parmi ces propriétés, on trouve l'activation de virulence chez les espèces pathogènes, ou encore la formation de biofilms.

Chez *B. subtilis*, l'auto-inducteur est une hormone appelée ComX, cette hormone s'accumule au fur et à mesure que la densité de la population augmente, à un certain seuil, l'accumulation de cette hormone induit une cascade complexe de réactions qui aboutit soit à l'induction de cannibalisme quand le milieu manque en nutriments, soit à la formation d'un biofilm quand le milieu est riche en nutriments.

Le quorum sensing permet donc la communication entre les bactéries d'un côté, et d'un autre côté il permet le contrôle de la population en orientant son comportement vers la sporulation, le cannibalisme ou la formation de biofilm en utilisant des signaux qui ne sont que des molécules informatrices, comme exemple de molécules on trouve les facteurs sigma.

B. subtilis utilise différents facteurs sigma sous des conditions environnementales différentes pour réguler un grand nombre de phénomènes physiologiques. Ces facteurs sont le SigA produit au cours de la croissance bactérienne, SigB dont la production est induite par les situation de stress, SigD responsable de la synthèse des flagelles et du chimiotactisme, SigH impliqué dans l'initiation de la sporulation, SigL régulateur du catabolisme de certains acides aminés et SigW, facteur extra cytoplasmique dont la production est induite par le stress causé par les produits antimicrobiens synthétisés par d'autres bacilles [18].

Les différents comportements et les molécules intervenantes sont :

1- La sporulation [19] :

De nombreux microorganismes procaryotes et eucaryotes peuvent produire des spores, que ce soit pour leur reproduction ou pour leur protection face à des conditions environnementales drastiques. Il existe quatre catégories de spores : les arthrospores ou conidies, produites par les actinomycètes ; les kystes, produits par certaines bactéries à Gram négatif ; les exospores, observées chez certaines cyanobactéries et les endospores qu'on retrouve chez *Bacillus subtilis*.

Les endospores sont des structures cellulaires dont la formation et la maturation ont lieu à l'intérieur de la cellule mère.

En réponse à des conditions défavorables, ces bactéries ont la capacité de former par enkystement des endospores métaboliquement inactives qui peuvent survivre sous cette forme plusieurs années.

Ces spores sont caractérisées par une forte résistance aux perturbations de l'environnement tels les traitements thermiques à plus de 140°C, les rayons UV et γ , le manque de nutriments.

Quand les conditions redeviennent favorables, ces spores vont germer permettant à la bactérie de retourner à l'état végétatif, se multiplier et coloniser le milieu environnant.

C'est la structure particulière des spores qui leur confère la résistance, en effet les spores sont formées de plusieurs couches superposées les unes aux autres et caractérisées par des propriétés différentes : un manteau protéique, un cortex fait de peptidoglycanes, deux membranes phospholipidiques et, enfin, le protoplaste contenant le matériel génétique et possédant une faible teneur en eau. La figure suivante montre la structure générale d'une spore.

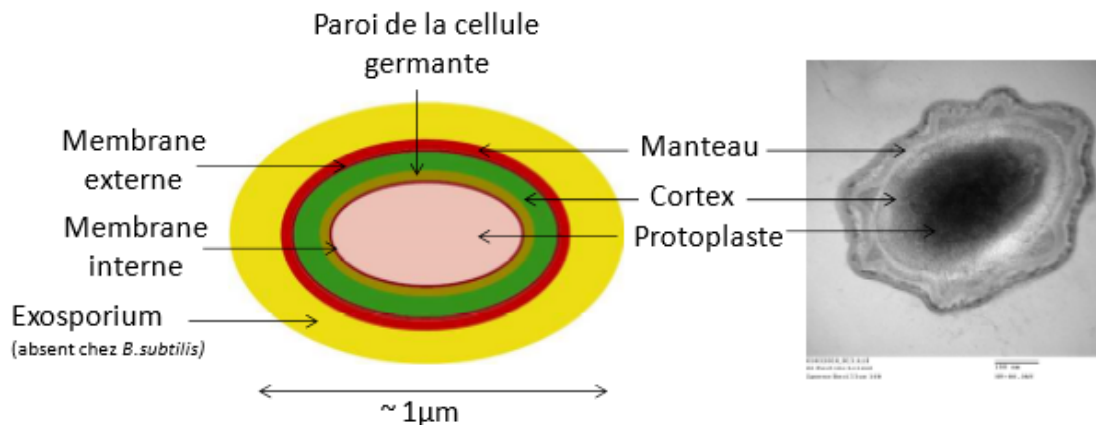


Figure 9 : Représentation schématique des constituants des spores à gauche et à droite photographie de la spore de *B.subtilis* vue sous microscopie électronique [19].

Le processus de sporulation est déclenché par plusieurs facteurs, le premier étant le manque de nutriments essentiels à la survie, il vise à minimiser la consommation de l'énergie en entrant dans un état de quiescence en attendant l'amélioration des conditions externes tout en préservant l'espèce.

Le bon déroulement des différentes étapes de la sporulation conditionne la résistance de la spore.

La sporulation prend de 7 à 10h à 37°C, elle commence par la phosphorylation du facteur Spo0A. Le facteur de transcription Spo0A et notamment son degré de phosphorylation qui gouverne la décision de l'entrée en sporulation mais également d'autres stratégies de survie.

En effet, un faible degré de phosphorylation conduira plutôt à la formation de biofilms ou à du cannibalisme alors qu'un degré élevé entraînera la sporulation. Ces phosphorylations sont sous le contrôle de kinases.

Le cannibalisme qui se manifeste par la lyse de cellules qui ne sont pas encore entrées en sporulation, via différentes enzymes, permet de libérer des nutriments. Ceci va permettre aux cellules ayant initié la sporulation de continuer à croître plutôt que de terminer la sporogénèse ou de réaliser une sporulation efficace au moment opportun. Ainsi, le cannibalisme, permettrait de retarder le recours à la sporulation ou l'optimisation de celle-ci en fonction des conditions de l'environnement des bactéries.

La sporulation est un processus long et coûteux en énergie nécessitant un autre facteur de transcription, le facteur Sigma H. Celui-ci, en partenariat avec Spo0A, serait impliqué dans la division cellulaire asymétrique qui conduirait à la sporulation.

Spo0A agit aussi en activant d'autres gènes spécifiques clés de la sporulation, notamment ceux impliqués dans l'activation de facteurs sigma spécifiques à la sporulation.

La sporulation se déroule en 7 étapes nécessitant chacune l'intervention de facteurs sigma spécifiques à côté du fameux sigma H.

La figure suivante représente les différentes phases de la sporulation tout en précisant les facteurs intervenants.

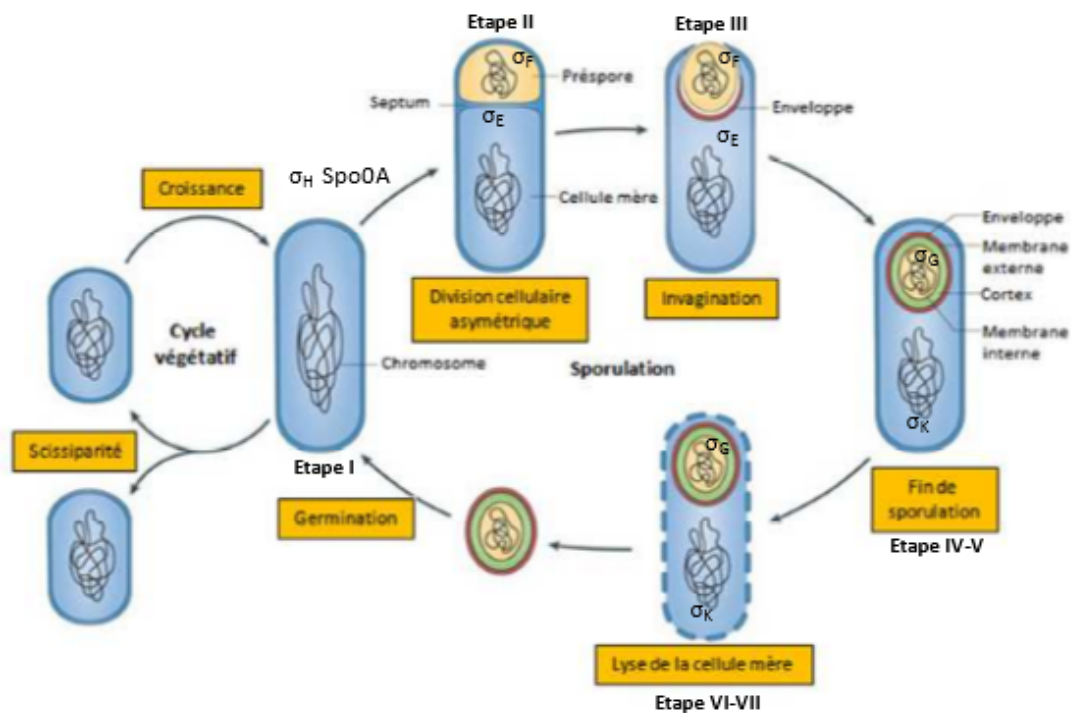


Figure 10 : Schéma des différentes phases de la sporulation et les facteurs intervenants dans chaque étape [19].

L'endospore est une structure métaboliquement dormante capable de survivre dans des environnements extrêmes. Leur longévité est estimée en centaines d'années.

De nombreux facteurs sont responsables de leur robustesse. Ces facteurs incluent la déshydratation du core de la spore et le compactage du génome.

Le processus de sporulation commence par une division asymétrique de la cellule végétative, cette division conduit à une cellule de petite taille appelée pré-spore et une cellule de plus grande taille appelée cellule mère. Suite à cette division, le septum de scission s'incurve et la pré-spore devient complètement incorporée dans la cellule mère où elle continue son développement en synthétisant le cortex et l'enveloppe puis la spore mature est libérée dans l'environnement.

La formation de la spore est accompagnée par l'induction des opérons du *sdp* ou sporulation delay protein et du *skf* ou sporulation killing factor. Ces 2 peptides toxiques sont impliqués dans le phénomène de cannibalisme [18].

Le retour à l'état végétatif correspond à un processus appelé germination. Ce processus prend place quand les conditions de l'environnement sont favorables au développement, ce qui implique la présence de nutriments en quantité suffisante.

2- Formation de biofilms [20-22] :

Parmi les réponses aux changements environnementaux, on trouve la formation de biofilms.

Les biofilms sont des communautés bactériennes dont la composition est complexe. Leur impact dans la nature est remarquable, les biofilms de bactéries bénéfiques préviennent les infections dues aux bactéries pathogènes au niveau de la plaque dentaire. Par contre, les biofilms de bactéries pathogènes se formant sur les dispositifs médicaux peuvent causer de sérieux problèmes de santé.

Ils forment un réservoir des bactéries, et leurs confèrent une résistance face aux différents traitements d'élimination.

Le cycle de vie d'un biofilm passe par plusieurs étapes :

- Initiation.
- Maturation.
- Dissolution.

Ces différentes étapes nécessitent des modulateurs spécifiques.

Les biofilms matures sont caractérisés par leur architecture hétérogène qui sépare la communauté microbienne en secteurs avec des microenvironnements spécifiques.

La formation du biofilm est due en partie majeure à l'existence de cellules capables de sécréter une matrice qui fixe les cellules ensemble et adhère l'ensemble à une surface qui peut être solide ou liquide, cette matrice extracellulaire est composée d'exopolysaccharides et d'une protéine appelée TasA, et représente 5% de la masse totale du biofilm.

B. subtilis est un modèle de différenciation cellulaire. Au sein d'un biofilm on trouve 3 catégories de cellules dont chacune assure un rôle nécessaire au maintien de l'homéostasie de la communauté. Ces catégories sont :

Les cellules spécialisées dans la synthèse et sécrétion des constituants de la matrice extracellulaire, constituant fondamental du biofilm.

- Les cellules mobiles qui perdent leur mobilité au cours de la différenciation.
- Les cellules spécialisées dans la sporulation, assurant la continuité et le maintien de l'espèce.

Au sein du biofilm, ces cellules sont réparties de façon stratégique. La figure suivante schématise un biofilm en montrant la répartition des cellule.

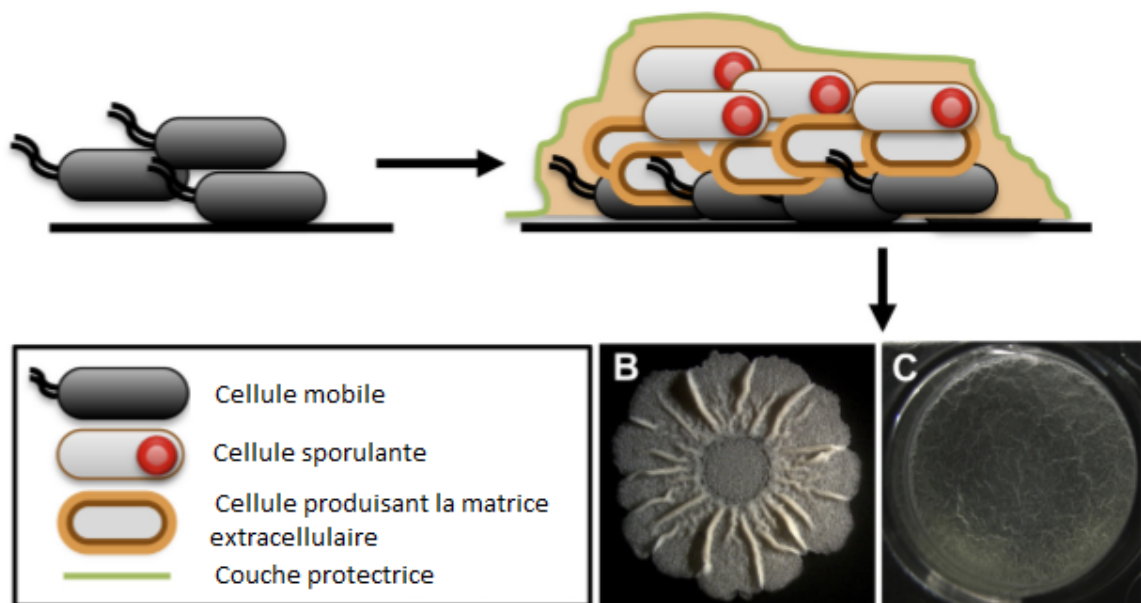


Figure 11 : schéma de la répartition des cellules au sein d'un biofilm avec images réelles du biofilm (B) en milieu solide et (C) en milieu liquide [22].

La différenciation cellulaire démarre suite à une cascade complexe de signaux. Ces signaux regroupent des systèmes autocrines et paracrines pour réussir la formation du biofilm. Ces signaux sont représentés dans la figure suivante qui montre la complexité de la cascade.

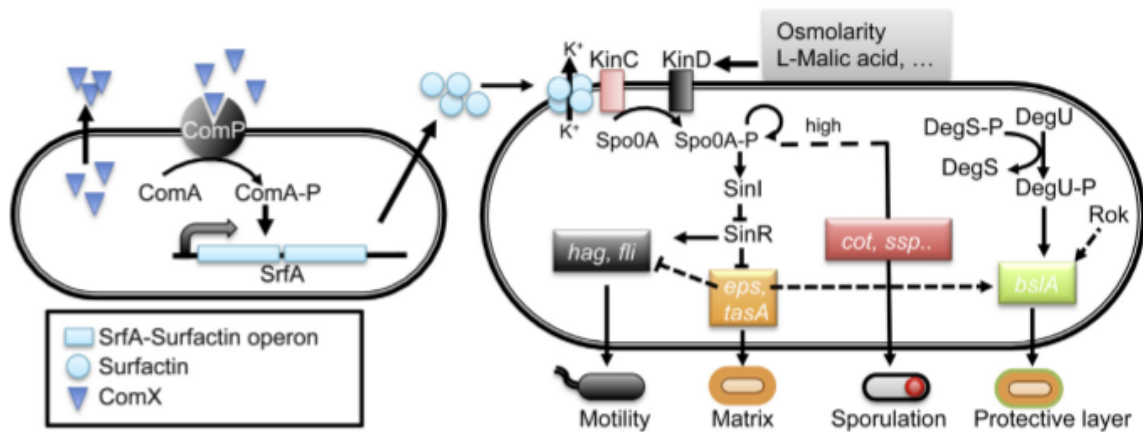


Figure 12 : Cascade signalétique montrant la succession de signaux responsables des différents comportements de la bactérie [22].

La survie du biofilm nécessite la collaboration des sous populations qui le constitue et le maintien des bonne conditions du milieu environnant. Il existe des substances qui sont capables de bloquer la formation du biofilm. Parmi ces substances, on trouve l'acide gras *cis*-2-decenoïque produit par *Pseudomonas aeruginosa*. On trouve également des substances produites par *B.subtilis* elle-même, il s'agit d'un cocktail d'acides aminés produits au cours des derniers stades du développement du biofilm. Ce cocktail provoque le détachement des fibres de protéines présents dans la matrice extracellulaire permettant la fuite des cellules hors du biofilm [23].

Le système de signalisation est marqué par une hétérogénéité dans la production et dans la réponse aux signaux de différenciation parmi les cellules constituant la population de *B.subtilis*.

On note comme exemple les cellules sécrétrices de surfactine, tensioactif. Ces cellules constituent une partie de la population. Ces mêmes cellules sont insensibles à l'action de la surfactine qu'elles produisent. Il s'agit d'un système de signalisation paracrine unidirectionnel [23].

2.7. Critères de différenciation :

Il existe des critères permettant de différencier *B. subtilis* de ses proches du même genre. Ces critères sont regroupés dans le tableau suivant.

Tableau IV : Diagnostic différentiel de quelques *Bacillus* [24] :

Caractères de différenciation	<i>B.cereus</i>	<i>B.licheniformis</i>	<i>B.subtilis</i>
Mobilité	Variable	+	+
Anaérobiose	+	+	+
Gaz en glucose	-	+	-
Hydrolyse de l'amidon	+	+	+
Voges-Proskauer	+	+	+
NO ₃ ->NO ₂	+	+	+
Culture à 50°C	-	+	+
Lécithinase	+	-	-

3. Aspects épidémiologiques :

3.1. Réservoir :

Beaucoup de bactéries n'ont pas de limites géographiques de distribution, cette possibilité est due à leurs spores résistantes qui voyagent sous forme d'aérosol permettant la dissémination des germes.

Ces spores vont germer lorsque les conditions environnementales sont favorables.

Les membres du complexe *B. subtilis* peuvent s'adapter à de nombreux environnements et y prospérer. En général, les espèces de *Bacillus* ont été isolées de divers habitats, notamment des milieux terrestres (sol et végétation) et des milieux aquatiques. Des espèces de *Bacillus* ont également été isolées d'animaux, en tant que partie transitoire de la flore intestinale humaine, en tant que contaminants d'aliments crus et transformés. La grande variété d'environnements exploités par le genre *Bacillus* reflète la grande variation physiologique observée parmi les espèces de ce genre.

3.2. Modes de transmission :

Les bactéries du genre *Bacillus* sont ubiquitaires dans l'environnement et sont par conséquent de potentiels contaminants dans le monde de microbiologie.

Elles peuvent être isolées de toutes sortes de prélèvements : nourritures, prélèvements cliniques humains.

La transmission est faite essentiellement par ingestion d'aliments contaminés.

Une autre voie de transmission serait l'infiltration de l'organisme à travers les plaies et les microtraumatismes ou encore par l'intermédiaire des dispositifs prothétiques contaminés.

Les germes infectants peuvent être d'origine endogène, c'est-à-dire que le malade s'infecte avec ses propres germes à la faveur d'un acte invasif (porte d'entrée) ou en raison d'une fragilité particulière, comme ils peuvent être d'origine exogène, apportés par l'environnement du patient (dans l'alimentation, le personnel soignant, le matériel médical...)

3.3. Facteurs favorisants :

Quand les circonstances le permettent, n'importe quel germe peut provoquer une maladie.

Les bactéries saprophytes dont fait partie *Bacillus subtilis* ne sont pas pathogènes dans les conditions normales, leur pathogénicité se manifeste sous l'action de facteurs favorisants qui sont :

- L'immunodépression : le système immunitaire joue un rôle important dans la prévention des infections, quand ce système est déprimé, la survenue d'infections est évidente.
- La taille de l'inoculum : un petit nombre de microorganismes est incapable de provoquer une infection. Il faut en général un certain nombre d'agents infectieux pour venir à bout des défenses immunitaires locales.
- L'âge.
- L'importance des procédures invasives de diagnostic ou de traitement.
- Le défaut d'application des règles d'hygiène et d'asepsie.

4. Physiopathologie de l'infection [25] :

L'infection à *B. subtilis* survient surtout en milieu hospitalier dans le cadre d'infections nosocomiales. Ces infections restent limitées à certains patients dont l'état immunitaire favorise l'installation comme ceux atteints de malignités hématologiques [26].

L'infection peut être provoquée par la bactérie donnée comme probiotique surtout chez les immunodéprimés où des cas de septicémie récurrente à *B. subtilis* ont été enregistrés [27].

Par sa nature ubiquitaire et par un manque d'hygiène ou un défaut de stérilisation, la bactérie peut être transmise du matériel médical (dispositifs médicaux) en contact avec une plaie ou inséré dans le corps humain.

Des cas d'hypersensibilité provoqués par les enzymes protéolytiques produits par cette bactérie ont été rapportés [28]. Cette hypersensibilité se manifeste par une pneumopathie et prend place dans les milieux professionnels utilisant les enzymes de cette bactérie dans leur travail comme l'industrie des détergents.

L'aspect médical le plus significatif en terme d'incidence des infections à *Bacillus* est la toxi-infection alimentaire.

Il s'agit d'une intoxication résultant de l'ingestion d'aliments contaminés. L'aliment peut alors jouer un rôle passif de simple véhicule pour le germe, ou un rôle actif en permettant la multiplication des germes ou la production de toxines par eux.

Plusieurs facteurs interviennent : un délai élevé entre la cuisson et la consommation de l'aliment, une température ambiante dépassant en général 20°C dans les lieux de préparation avec des temps de refroidissement lents.

Les bacilles ou spores ingérées peuvent germer et coloniser l'intestin.

Les études montrent que les souches de *B. subtilis* produisent des toxines instables et stables à la chaleur. Parmi les toxines produites, certaines sont semblables à la toxine émétique (céréulide) de *B. cereus*, elles comportent également une entérotoxine hémolytique BL (Hbl) et une entérotoxine non hémolytique (Nhe). Un composant cytotoxique non émétique stable à la chaleur a également été signalé chez certaines souches de *B. subtilis*.

Les gènes du complexe de toxines Hbl et des toxines diarrhéiques BceT ont été décelés dans des isolats cliniques et alimentaires de *B. subtilis*. Il semble que le milieu de croissance influe sur la production de toxines; en effet, davantage de souches produisent la toxine Hbl lorsqu'elles sont cultivées dans du lait maternisé pour nourrisson plutôt que dans du bouillon d'infusion cœur-cerveau. La production de toxines n'est pas liée à la source de l'isolat (clinique ou environnementale).

Le tableau suivant résume les métabolites toxiques produits par *B. subtilis* :

Tableau V : Métabolites toxiques produits par *B. subtilis* [25]

Substance	Activités	Références
Composante cytotoxique non émétique thermostable et substance cytotoxique instable à la chaleur	Activité cytotoxique	De Jonghe et al, 2010
Entérotoxine hémolysine BL (Hbl)	Provoque la diarrhée	Rowan et al, 2001
Substances protéolytiques et lipolytiques	Lyse des protéines et des lipides	De Jonghe et al, 2010
Toxine émétique putative	Provoque des nausées et des vomissements	From et al, 2005

5. Manifestations cliniques:

Cliniquement, les manifestations pathologiques sont en fonction du siège de l'infection qui peut être l'un des suivants :

- Cerveau et tissus adjacents.
- Tissu pulmonaire.
- Tissu oculaire.
- Derme et tissus mous.
- Le tableau clinique imputable à *B. subtilis* est le suivant :
- Méningite : Inflammation des méninges suite à une infection microbienne.

- Otite : Inflammation de l'oreille moyenne due à une infection microbienne.
- Mastoïdite : Inflammation du mastoïde suite à une infection bactérienne.
- Infection urinaire : Prolifération microbienne associée à une réaction inflammatoire touchant l'appareil urinaire.
- Septicémie : Réponse inflammatoire généralisée due à la présence de bactéries dans le sang.
- Pneumonie : Se définit comme une infection respiratoire aiguë affectant les poumons. Ceux-ci sont constitués d'alvéoles qui se remplissent d'air quand une personne en bonne santé respire. En cas de pneumonie, les alvéoles sont remplies de pus et de liquide, ce qui rend la respiration douloureuse et limite l'absorption d'oxygène.
- Endocardite : Infection d'une ou plusieurs valves cardiaques, plus rarement de l'endocarde pariétal, par un micro-organisme une bactérie le plus souvent.
- Abscess de l'orbite : Inflammation limitée à l'orbite.
- Panophtalmie ou ophtalmie purulente : Infection de l'ensemble des tissus de l'œil.
- Kératite : Inflammation de la cornée.
- Iridocyclite : Inflammation de l'iris et du corps ciliaire.

Les symptômes majeurs de la toxi-infection alimentaire sont d'ordre gastro-intestinal :

- Nausées, vomissement.
- Diarrhée.
- Fièvre.

Le délai entre l'ingestion de l'aliment contaminé et l'apparition des symptômes est de 16 à 24h.

Les symptômes de l'intoxication sont rapidement résolutifs ce qui rend difficile la documentation des intoxications alimentaires à *Bacillus*.

les symptômes d'intoxication alimentaire provoquée par *B. subtilis* peuvent apparaître dans un délai de 10 minutes à 14 heures (2,5 heures en moyenne) avec des vomissements importants. Les aliments en cause sont souvent des plats à base de viande, de fruits de mer, de pâtisserie et de riz. Des intoxications alimentaires liées à *B. subtilis* ont également été associées à la consommation de pain moisi (filant) dans lequel la concentration de *B. Subtilis* était d'environ 10^8 ufc/g.

6. Diagnostic bactériologique :

Le diagnostic bactériologique est un ensemble de moyens permettant de confirmer l'étiologie d'une infection d'origine bactérienne.

Ces moyens diagnostiques sont répartis entre diagnostic direct et diagnostic indirect.

Le diagnostic direct consiste en la mise en évidence de la bactérie elle-même après culture et isolement permettant son identification. Cependant, la culture n'est pas toujours possible dans certains cas, comme la disparition de l'agent causal de l'infection peu après l'apparition des symptômes ou sous l'effet d'une antibiothérapie hâtive ou encore la difficulté de culture de certaines bactéries (nécessité d'un milieu de culture particulier, culture lente...), dans ces cas on a recours à d'autres méthodes de diagnostic direct comme la recherche d'antigènes bactériens ou la recherche de séquences génomiques spécifiques.

Le diagnostic indirect consiste en la mise en évidence de la réponse de l'organisme à l'infection par la présence d'anticorps spécifiques. On a recours à ce type de diagnostic quand la bactérie est difficilement cultivable. Dans le cas de *B. subtilis* qui est de culture aisée, ce type de diagnostic n'a pas de place.

Les bactéries du genre *Bacillus* sont rarement impliquées dans des infections et sont surtout isolées comme contaminants des milieux de culture d'où la nécessité de bien analyser les circonstances de leur isolement afin de comprendre la signification de leur présence.

6.1. Prélèvement :

Les résultats des examens bactériologiques dépendent pour une grande part des conditions de prélèvements et de transport.

La recherche des bactéries peut être effectuée dans différents prélèvements qui varient en fonction du siège de l'infection.

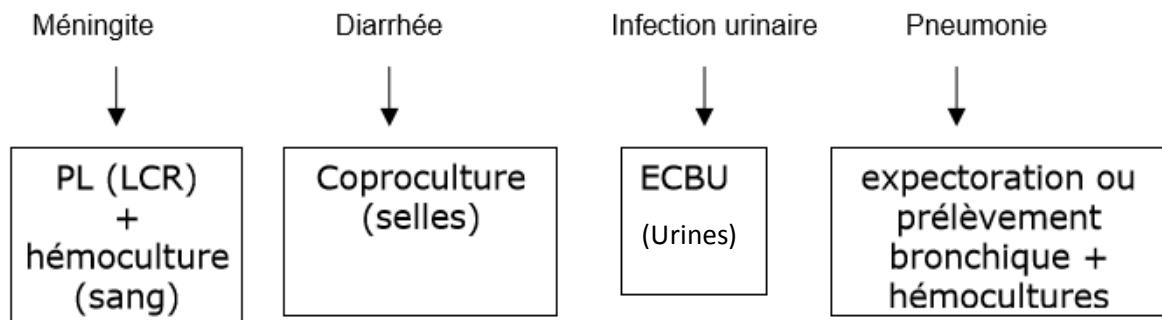


Figure 13 : Schéma montrant les types de prélèvements en fonction du site d'infection

PL : Ponction lombaire

ECBU : Examen cytbactériologique des Urines

LCR : Liquide céphalorachidien

Le prélèvement doit être effectué avec du matériel stérile à usage unique en respectant les règles d'asepsie.

Toute contamination du prélèvement peut entraîner des erreurs d'interprétations, les contaminations peuvent provenir de la flore commensale du patient ou encore de l'environnement extérieur. Il faut donc réaliser le prélèvement avec un maximum de précautions afin d'éviter ces contaminations.

Le prélèvement doit être effectué avant toute antibiothérapie pour éviter les faux négatifs. Il doit être acheminé sans délai au laboratoire de bactériologie.

6.2. Culture [29] :

Bacillus subtilis se développe bien à 37°C et a un temps de dédoublement de 30min. Il faut utiliser une boîte de culture ayant au moins 5 fois le volume du milieu de culture et toujours utiliser des opercules permettant le passage de l'air.

Les milieux de culture utilisables sont :

- Luria-Bertani (LB).
- Difco sporulation medium (DSM).
- Mueller-Hinton.
- Milieu chimiquement défini.

6.3. Identification :

L'identification d'une espèce bactérienne présente dans un prélèvement quelconque fait appel à des méthodes phénotypiques et des méthodes moléculaires.

Le traitement correcte d'une infection ou tout autre pathologie dépend de son bon diagnostic. En bactériologie, les méthodes de diagnostic sont au nombre de trois :

6.3.1. Méthodes phénotypiques :

Consistent en un recueil d'une série d'informations correspondant aux caractères de la bactérie (mobilité, coloration, caractères biochimiques), l'analyse de ces informations dans leur totalité permet d'identifier la bactérie.

Le recueil d'informations commence par un examen à l'état frais qui donne la mobilité de la bactérie, ensuite on procède à la culture qui permet de donner les caractères de la colonie (aspects et caractères culturaux). Elle est effectuée sur milieu solide afin de bien isoler les bactéries.

La coloration de Gram, basée sur la perméabilité de la paroi bactérienne à l'alcool, permet une orientation vers les caractères à rechercher. Elle facilite la visualisation des bactéries quand elles sont présentes. Elle donne la forme, le groupement et le Gram.

L'interprétation d'une culture positive se fait en fonction du site de prélèvement et du contexte clinique.

Les caractères biochimiques sont évalués en utilisant des galeries basées sur l'étude de la fermentation de sucres et la recherche de l'équipement enzymatique.

Les caractères biochimiques jouent un rôle essentiel dans cette identification car ils permettent de différencier les espèces.

Le tableau suivant regroupe les principales caractéristiques biochimiques de *B. subtilis* et d'autres *bacillus* concernant la fermentation de certains sucres.

Tableau VI : Quelques caractères biochimiques de plusieurs espèces de *Bacillus* [25]

Espèce <i>Bacillus</i>	D-xylose	Mannose	Inositol	Mannitol	ONPG
<i>B. anthracis</i>	-	-	-	-	-
<i>B. cereus</i>	-	-	-	-	-
<i>B. licheniformis</i>	+	+	+	+	+
<i>B. subtilis</i>	+	+	+	+	+

6.3.2. Tests Rapides d'orientation diagnostic (TROD) :

Basés sur la recherche d'antigènes bactériens ou anticorps le résultat est obtenu dans un temps plus rapide que la technique de référence (de quelques minutes à quelques heures).

Les antigènes recherchés sont soit des constituants de l'agent pathogène, flagelles, pili ou protéines de surface, soit des antigènes solubles ou diffusibles retrouvés au siège de l'infection ou à distance, dans les liquides biologiques en particulier, soit des toxines bactériennes.

Ces tests sont adaptés aux situations d'urgence ou dans le cas d'épidémies. Ils ne sont pas utilisés dans le diagnostic d'infections à *B. subtilis*.

6.3.3. Les méthodes de biologie moléculaire :

La biologie moléculaire présente un grand intérêt dans le diagnostic car elle permet de le confirmer.

6.3.3.1. Biologie moléculaire dans le diagnostic :

L'identification des bactéries, isolées à partir de prélèvements biologiques, pendant des années, a été basée uniquement sur des critères morphologiques et biochimiques. Le développement des techniques de biologie moléculaire à partir des années 1990 a permis d'introduire ces approches au sein des laboratoires d'analyse biologique. Leur intérêt dans l'identification des bactéries s'est accru au fil des années. Elles permettent d'obtenir un résultat en quelques heures dans les situations d'urgence (identification et typage du germe, et détection des résistances antibiotiques) ou d'identifier un micro-organisme si les systèmes utilisés en routine (approche biochimique) sont pris en défaut. De plus, dans des prélèvements biologiques, elles rendent possible la caractérisation des bactéries si la culture est restée négative, si les bactéries recherchées sont des bactéries intracellulaires strictes (pour lesquelles la culture est réservée à des laboratoires spécialisés) ou des bactéries encore incultivables à ce jour. Le gène ciblé est fonction des informations disponibles sur l'isolat bactérien et/ou sur le patient.

Le recours aux méthodes de biologie moléculaire ne se fait pas de manière systématique. On fait appel à ces méthodes quand les autres méthodes ne permettent pas d'identifier avec certitude l'espèce bactérienne à l'origine de l'infection.

A côté de leur vocation diagnostic, ces méthodes ont d'autres buts à vocation épidémiologique et qui sont aussi importants que le diagnostic :

- Détection de portage de bacilles multi résistants.
- Typage moléculaire.

L'intérêt de l'usage de ces méthodes se résume en leur haute spécificité et leur sensibilité remarquable d'une part et d'autre part par la rapidité de leur exécution.

Le principe en est simple puisqu'il consiste à amplifier un gène entier ou non avec des amorces spécifiques puis le résultat est révélé par électrophorèse sur gel, ou par hybridation ou encore séquencé et comparé avec ceux déposés dans des banques.

La méthode de biologie moléculaire utilisée est la PCR, bonne méthode d'identification bactérienne, cependant, le recours à l'ADN ribosomal 16s pour établir des amorces spécifiques aux espèces recherchées n'aboutit pas à de bons résultats dans le cas des espèces dont les séquences sont rapprochées.

6.3.3.2. Biologie moléculaire dans la recherche :

Une technique beaucoup plus spécifique est MALDI-TOF : Matrix-Assisted Laser Desorption Ionisation - Time of Flight. Cette méthode est utilisée surtout pour aider à la classification des espèces et sous espèces. Le résultat est obtenu par comparaison du profil protéique de la cellule bactérienne entière avec les spectres de référence.

La technique consiste en l'utilisation d'une matrice avec laquelle on mélange notre échantillon. La matrice absorbe la lumière ultraviolette produite par le rayonnement laser et la convertit en chaleur, suite à cela, une partie de la matrice se réchauffe rapidement et s'évapore en emportant avec elle les particules de l'échantillon.

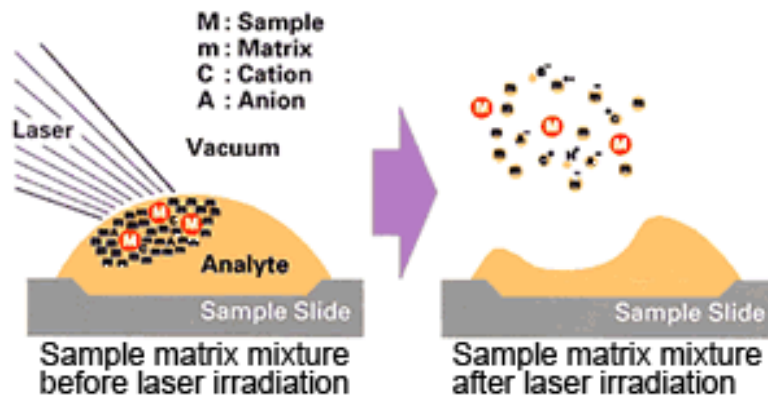


Figure 14 : Schéma montrant la transformation de l'échantillon en particules ionisables [30]

Les particules de l'échantillon sont ionisées par la suite et une différence de potentiel s'établit entre la lame portant l'échantillon ionisé et le sol ce qui attire les particules ionisées vers un détecteur placé à distance de la lame contenant l'échantillon.

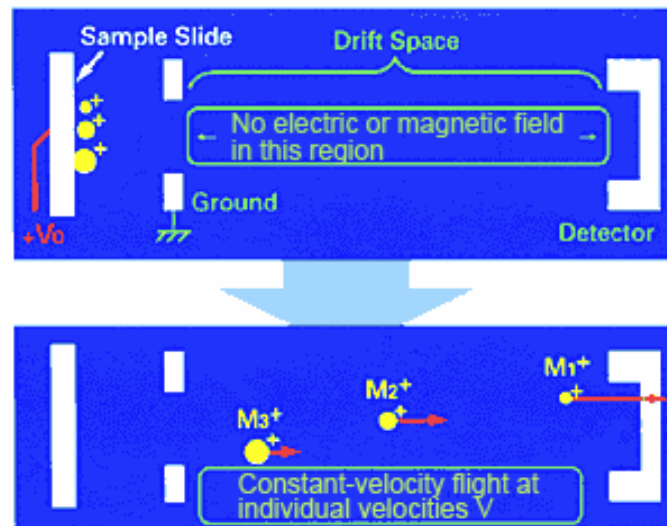


Figure 15 : Schéma montrant la migration des particule vers le détecteur [30]

La vitesse de migration des différentes particules est mesurée, elle dépend uniquement du rapport masse/charge de l'ion ce qui permet une identification précise de chaque constituant cellulaire.

6.4. Antibiogramme :

Après détermination de l'espèce bactérienne incriminée dans une infection quelconque et avant de passer au traitement, il est impératif de déterminer l'antibiotique capable de l'éliminer. Ceci est réalisé à l'aide d'un antibiogramme.

On dispose de plusieurs techniques de laboratoire pour déterminer la sensibilité des microorganismes aux agents antimicrobiens dont la méthode de diffusion sur disques de Kirby-Bauer, le test de détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) au moyen de bandelettes imprégnées d'un gradient exponentiel continu de l'antibiotique, ou les méthodes de dilution.

6.4.1. Principe :

L'antibiogramme a pour but de déterminer la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) d'une souche bactérienne vis-à-vis de divers antibiotiques.

6.4.2. Techniques classiques

❖ Méthodes de dilution

Les méthodes de dilution sont effectuées en milieu liquide ou en milieu solide. Elles consistent à mettre un inoculum bactérien standardisé au contact de concentrations croissantes d'antibiotiques. En milieu liquide, l'inoculum bactérien est distribué dans une série de tubes (méthode de macro dilution) ou de cupules (méthode de micro dilution) contenant l'antibiotique. Après incubation, la CMI est indiquée par le tube ou la cupule qui contient la plus faible concentration d'antibiotique où aucune croissance n'est visible.

En milieu solide, l'antibiotique est incorporé dans un milieu gélosé coulé en boîtes de Petri. La surface de la gélose est ensemencée avec un inoculum des souches à étudier. Après incubation, la CMI de chaque souche est déterminée par l'inhibition de la croissance sur le milieu contenant la plus faible concentration d'antibiotique. La méthode de dilution en milieu gélosé, réalisée avec une gamme de concentrations en progression géométrique de raison 2 est la méthode de référence.

❖ **Méthodes de diffusion : antibiogramme standard**

Les méthodes de diffusion ou antibiogrammes standards sont les plus utilisées par les laboratoires de diagnostic. Des disques de papier buvard, imprégnés des antibiotiques à tester, sont déposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier. Dès l'application des disques, les antibiotiques diffusent de manière uniforme si bien que leurs concentrations sont inversement proportionnelles à la distance du disque. Après incubation, les disques s'entourent de zones d'inhibition circulaires correspondant à une absence de culture. Lorsque la technique est parfaitement standardisée, les diamètres des zones d'inhibition dépendent uniquement de la sensibilité du germe. À la limite des zones d'inhibition, il existe dans la gélose des concentrations d'antibiotiques égales aux CMI.

6.4.3. Interprétation de l'antibiogramme :

Trois catégories cliniques ont été retenues pour l'interprétation des tests de sensibilité in vitro : Sensible (S), Résistant (R) et Intermédiaire (I).

- Les souches catégorisées S sont celles pour lesquelles la probabilité de succès thérapeutique est forte dans le cas d'un traitement par voie systémique avec la posologie recommandée dans le résumé des caractéristiques du produit (RCP).
- Les souches catégorisées R sont celles pour lesquelles il existe une forte probabilité d'échec thérapeutique quels que soient le type de traitement et la dose d'antibiotique utilisée.
- Les souches catégorisées I sont celles pour lesquelles le succès thérapeutique est imprévisible. Ces souches forment un ensemble hétérogène pour lequel les résultats obtenus in vitro ne sont pas prédictifs d'un succès thérapeutique.

En effet, ces souches :

- Peuvent présenter un mécanisme de résistance dont l'expression in vitro est faible, avec pour conséquence leur classement dans la catégorie S. Cependant, in vivo, une partie de ces souches apparaît résistante au traitement ;
- Peuvent présenter un mécanisme de résistance dont l'expression n'est pas suffisante pour justifier un classement dans la catégorie R, mais suffisante pour favoriser l'apparition d'une résistance in vivo en cours de traitement ;

- Peuvent présenter un mécanisme de résistance dont l'expression n'est pas suffisante pour justifier un classement dans la catégorie R, mais suffisamment faible pour espérer un effet thérapeutique dans certaines conditions (fortes concentrations locales ou posologies accrues) ; la catégorie intermédiaire est aussi une zone tampon qui tient compte des incertitudes techniques et biologiques.

6.4.4. Antibiotiques à tester :

Les antibiotiques à tester sont ceux couramment employés dans le traitement des infections notamment l'amoxicilline, l'ampicilline, l'amikacine, la doxycycline, la vancomycine, la levofloxacin, la streptomycine, l'érythromycine et la tobramycine. La liste peut s'allonger pour inclure d'autres antibiotiques car le profil de résistance de cette bactérie est imprévisible.

Une étude portant sur la sensibilité de *B. subtilis* isolée à partir de pain préparé traditionnellement à l'égard de certains antibiotiques [31]. Les résultats sont rapportés dans le tableau suivant :

Tableau VII : Sensibilité de *B. subtilis* à certains antibiotiques [31]

Antibiotique	% Résistance
Chloramphénicol	0
Clindamycine	0
Erythromycine	0
Gentamycine	0
Kanamycine	0
Streptomycine	100%
Tétracycline	0
Vancomycine	0

7. Traitement [32] :

En termes de traitement, concernant les intoxications alimentaires, il n'existe pas de traitement spécifique. On a recours au traitement symptomatique : réhydratation et antispasmodiques.

Pour les infections des tissus profonds provoquées par des prothèses contaminées, l'enlèvement de ces prothèses est essentiel pour assurer la guérison.

Le choix de l'antibiothérapie optimale doit faire suite à un antibiogramme. Il existe plusieurs antibiotiques efficaces dans les infections à *B. subtilis*.

B. subtilis est sensible à la vancomycine, clindamycine, fluoroquinolones, aminosides, carbapénèmes et présente une sensibilité variable aux céphalosporines et pénicillines.

Si la bactérie isolée est résistante aux bêtalactamines, les infections graves sont traitées alors par la clindamycine ou la vancomycine avec ou sans association aux aminosides.

En cas d'infection oculaire, le recours aux antibiotiques intra vitreux et une vitrectomie a été rapporté. Concernant les kératites, elles sont traitées topiquement en utilisant une fluoroquinolone. La vision est préservée quand les lésions ne touchent pas la partie centrale de la cornée et sont traitées tôt.

8. Prévention [32] :

L'éducation et la sensibilisation des vendeurs et des consommateurs jouent un rôle important dans la prévention des intoxications alimentaires à *B. subtilis*.

Il existe des guides de bonnes pratiques de préparation et de conservation des aliments qu'il est impératif de suivre pour éviter toute contamination possible.

La cuisson adéquate des aliments et leur consommation immédiate sont des mesures primordiales permettant d'éviter les intoxications alimentaires. Si les aliments ne sont pas consommés immédiatement il faut les réfrigérer ce qui prévient la synthèse des toxines car le froid bloque le métabolisme des Bacillus.

Le respect des règles d'hygiène, par le personnel para médical et médical ainsi que les patients, est crucial pour prévenir les infections à *B. subtilis*.

La prévention des infections nosocomiales est basée sur la désinfection efficace des surfaces et des dispositifs médicaux. Plusieurs produits de désinfections sont disponibles mais ne sont pas tous efficaces dans l'élimination des spores de *B. subtilis*.

Les spores de *B. subtilis* sont résistantes à un grand nombre de composés chimiques létaux pour des cellules végétatives. Pour certains agents chimiques, la destruction des spores se fait via des dommages à l'ADN (acide nitrique, formaldéhyde,...).

Cependant pour un grand nombre de composés chimiques elle se fait par perturbation des couches de la spore. Les agents oxydants comme l'hypochlorite de sodium (eau de Javel), le dioxyde de chlore (ClO_2), l' H_2O_2 et d'autres

décontaminants commerciaux, sont responsables de modifications irréversibles au niveau de la membrane interne de la spore. Ces modifications rendent le développement de la spore. L'ozone aqueux est un autre agent qui cause l'inactivation des spores via des perturbations similaires aux agents oxydants.

Les acides et les bases fortes (HCl et NaOH), ainsi que l'éthanol sont d'autres composés chimiques décrits comme inactivateurs des spores.

L'efficacité des désinfectants dépend de plusieurs facteurs notamment l'inoculum bactérien initial, la température, la présence de substances interférentes, le pH, la nature de la surface, la présence d'un biofilm bactérien.

Le Glutaraldéhyde à 2% en solution alcaline permet de réduire en 6 log une population de *B. subtilis* en 3 heures.

L'hypochlorite de sodium à la concentration de 100 à 200 ppm en chlore actif permet de réduire de 5 log une population de *B. subtilis* en moins de 10 minutes.

Le peroxyde d'hydrogène est sporicide à des concentrations de 10 à 20% et sa sporicidie augmente avec l'élévation de la température.

L'utilisation d'hypochlorite de sodium associé au peroxyde d'hydrogène est plus efficace dans la désinfection que leur utilisation séparée [33].

Le bon entretien et la décontamination régulière des lentilles de contact permettent de prévenir les kératites.



*Applications de
Bacillus subtilis*

III. APPLICATIONS DE *BACILLUS SUBTILIS* :

B. subtilis, bactérie modèle par ses caractéristiques remarquables incluant la transformabilité de son génome, possède diverses applications.

Ces applications se partagent entre le domaine médical et le domaine agro-alimentaire.

A travers cette partie du présent travail, on va élucider de manière synthétisée ces différentes applications.

Les utilisations de *B. subtilis* dans le domaine médical varient entre la production de certaines substances thérapeutiques et la vectorisation d'autres substances.

1. Production d'antimicrobiens [34-36] :

4 à 5% du génome de *B. subtilis* est consacré à la production d'antibiotiques. *B. subtilis* est capable de produire plus d'une vingtaine d'antibiotiques de structures variées. Ces composés antimicrobiens sont soit peptidiques soit non peptidiques avec une prédominance des substances peptidiques qui sont caractérisées par une structure rigide généralement résistante à la dégradation par les peptidases et les protéases ainsi qu'à l'oxydation.

Les antimicrobiens synthétisés se répartissent en :

1.1. Composés peptidiques non ribosomaux :

La synthèse non ribosomale de peptides antimicrobiens fait intervenir des complexes multienzymatiques catalysant toutes les étapes de synthèse y compris la sélection et la condensation des résidus d'acides aminés. Ces composés constituent plusieurs groupes :

- Le groupe de l'iturine : composé de lipopeptides cycliques, on y trouve les iturines A, C, D et E, Bacillomycine, mycosubtiline..., ces produits possèdent une activité antimicrobienne contre des bactéries à Gram positif et Gram négatif, des moisissures et des levures.

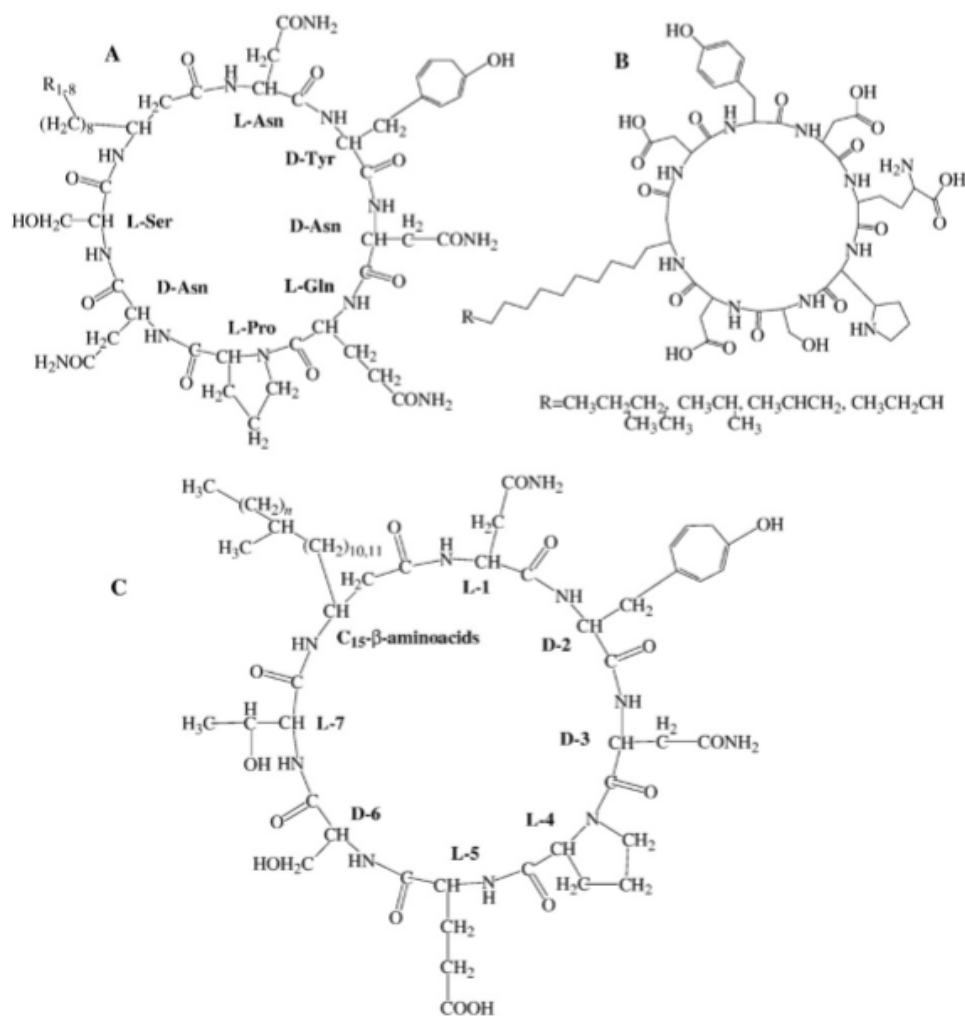


Figure 16 : Structures de quelques molécules du groupe des iturines avec A : iturine A, B : Mycosubtiline, C : Bacillomycine [36]

- Les fengycines : il s'agit de décapeptides cycliques, possédant une forte activité antifongique surtout contre les champignons filamenteux. Ils permettent la protection des plantes contre les champignons pathogènes.

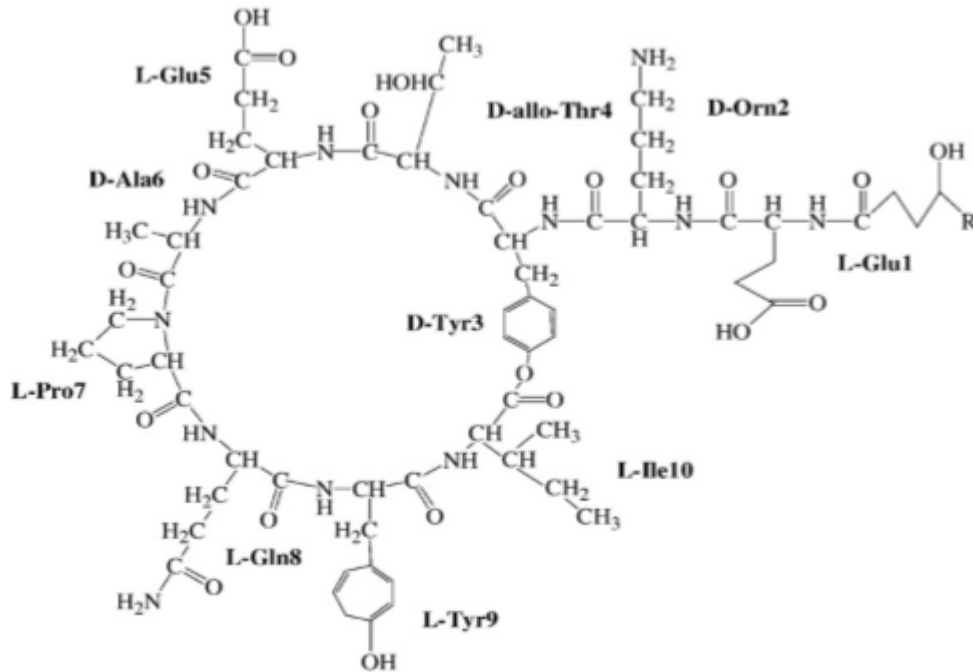


Figure 17 : Structure de la fengycine A, groupe des fengycines [36]

- Les surfactines : Famille de lipopeptides, il s'agit d'heptapeptides cycliques. Ces molécules possèdent diverses activités, formant de puissants tensioactifs, émulsifiants, moussants, antiviraux, antimycoplasmiques, larvicides et antibactériens.

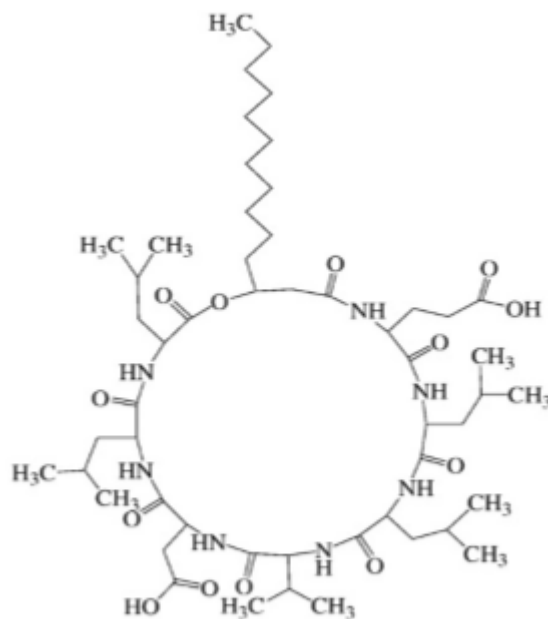


Figure 18 : Structure de la surfactine.[36]

- Autres composés peptidiques non ribosomiaux : Il existe plusieurs peptides antimicrobiens dont la structure et l'activité diffèrent de ceux listés plus haut. Ces produits incluent la bacilysine, amicoumacine, diketopiperazine...

1.2. Composés peptidiques synthétisés par la voie ribosomique :

Les peptides antimicrobiens synthétisés par la voie ribosomique sont appelés bactériocines.

La biosynthèse des bactériocines implique le plus souvent des groupes de gènes ou clusters comportant une ou plusieurs unités de transcription. Les clusters de gènes impliqués dans la biosynthèse des bactériocines sont formés de trois groupes de gènes. Un groupe renfermant un gène de structure codant le peptide précurseur et un gène d'immunité codant une protéine d'immunité impliquée dans la protection de la souche productrice contre sa propre

bactériocine. Le deuxième groupe de gènes rassemble un gène codant un transporteur impliqué dans le transport de la bactériocine vers le milieu extracellulaire ainsi que chez quelques bactériocines, un gène codant une protéine accessoire impliquée dans le transport de la bactériocine, et enfin un gène codant une protéine de fonction inconnue. Le dernier groupe de gènes est impliqué dans la régulation de la biosynthèse des bactériocines et regroupe un gène codant une protéine kinase membranaire et un gène codant un activateur transcriptionnel.

Une fois dans le milieu extracellulaire, la bactériocine interagit avec la membrane plasmique de la bactérie cible via des interactions électrostatiques. L'effet antimicrobien se traduit généralement par la formation de pores dans la membrane de la bactérie cible. Différents mécanismes d'action sont connus, le plus courant consiste en une perméabilisation de la membrane de la bactérie cible. Ce phénomène se traduit par la formation de pores transitoires ou permanents provoquant la dissipation d'ATP, d'ions K^+ , Na^+ ,... et la mort de la bactérie cible. La bactériocine peut également interagir soit directement avec la membrane plasmique ou bien via un récepteur membranaire. D'autres effets antimicrobiens moins fréquents sont également rencontrés comme l'inhibition de la synthèse d'acides nucléique et de la synthèse de la paroi bactérienne [37].

Les composés peptidiques possédant une liaison Thio éther sont appelés lantibiotiques car ils ont une molécule de lanthionine dans leur structure. La formation de lanthionine fait suite à des modifications post transcriptionnelles survenant dans la structure de la substance produite.

Il existe plusieurs types de lantibiotiques, ils sont répartis selon leur structure en type A et type B.

Le type A est formé de 21 à 38 acides aminés, à structure linéaire. Le mécanisme d'action est la formation de pores voltages dépendant au niveau de la membrane cytoplasmique des cellules cibles.

On y trouve la subtiline et l'ericine. Ils possèdent une forte activité antimicrobienne et sont utilisés comme conservateurs alimentaires.

Le type B présente une structure globulaire. Agit en inhibant la synthèse de la paroi bactérienne. On y trouve la mersacidine actifs contre les streptocoques, les bacilles et les staphylocoques.

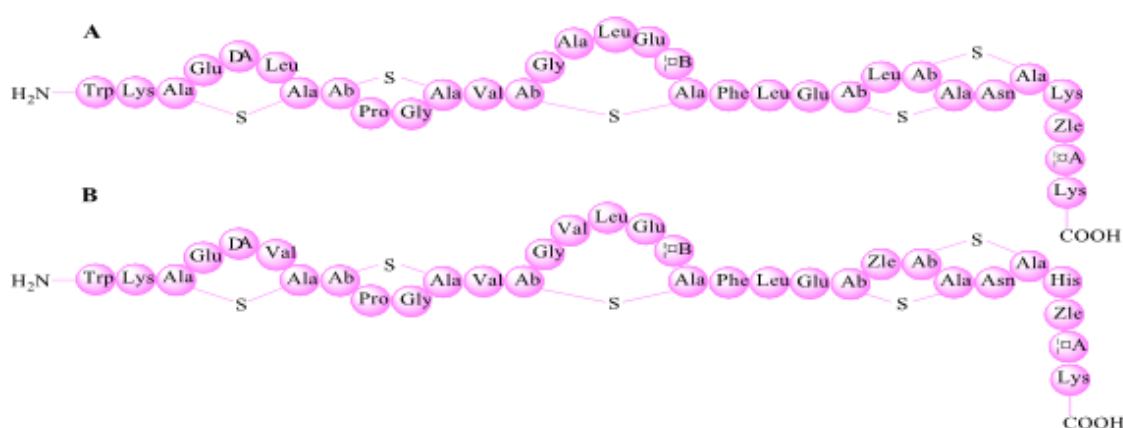


Figure 19 : Structure de A : Subtiline et B : Ericine [36]

A côté de ces deux types, on trouve des composés inhabituels qui sont la sublancine et la subtilosine A possédant une structure macrocyclique avec une molécule de lanthionine et deux disulfides au lieu de 3 molécules de lanthionine et dont l'activité est similaire au type B.

L'activité antimicrobienne dépend fortement des ponts de lanthionine qui stabilisent la conformation structurale importante pour l'activité biologique et la stabilité [38].

Ces bactéries possèdent des mesures protectrices à l'égard des substances qu'elles produisent. Ces mesures se résument en la présence de transporteurs spécifiques qui conduisent les substances de leur lieu de production directement au milieu extracellulaire, ou encore la présence de lipides membranaires qui interfèrent avec le mécanisme de formation des pores.

1.3. Autres composés antimicrobiens non peptidiques :

Plusieurs composés antimicrobiens non peptidiques ont été décrits comme des polykétides et des phospholipides.

Parmi ces composés on trouve la difficidine, bacillaene, bacilysocine et autres actifs contre les bactéries à Gram positif.

Les substances antimicrobiennes produites par *Bacillus subtilis* sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau VIII : Substances produites par *B. subtilis* et les activités qui y sont attribuées [31]

Substance	Activité	Référence
Ericine A et S, Sublancine 168, Subtiline B, Subtilisine A et A1, Mersacidine, Bétacine	Antibactériens actifs contre plusieurs pathogènes comme <i>Helicobacter pylori</i>	Abriouel et al, 2011
Mycobacilline, subtiline, bacilysine, bacillomycine, fongistatine, bulbiformine, subsporine, bacilline, bacillocine, mycosubtiline, fongocine, iturine, néocidine, eumycine	Antimicrobiens pouvant inhiber des organismes compétiteurs incluant des bactéries à Gram positif et Gram négatif, des levures et des moisissures.	Katz et Demain, 1977
Subtiline, éricine, mersacidine, sublancine 168, subtilosine, surfactine, iturine, bacillomycine, mycosubtiline, fengycine, plipastatine, corneybactine, bacilysine, bacilysocine, amicoumacine, mycobacilline, rhizocitine, difficidine	Antimicrobiens, phéromones impliqués dans la détection de la taille de la population possédant également une activité de facteur de destruction.	Stein, 2005
Subtiline	-Peptide antimicrobien -Influe sur la formation de pores dans la membrane cytoplasmique -Produite en plus grande quantité quand les nutriments manquent afin d'éliminer les espèces compétitrices et accroître les éléments nutritifs	Abriouel et al, 2011
Surfactine	Lipopeptide agissant comme surfactif et un puissant antimicrobien	Li et al, 2010
Substance thermostable antimicrobienne résistante à la protéase	Inhibe la croissance de nombreuses bactéries	Sorokulova et al, 2008

La production de peptides antimicrobiens est régulée de façon dépendante à la densité cellulaire. On peut donner l'exemple de la subtiline dont la production est autorégulée [39].

Certains composés antimicrobiens produits par *B. subtilis* ont des utilisations bien connues tandis que les perspectives d'utilisation des autres sont en cours d'étude, parmi ces perspectives, on trouve la possibilité de les utiliser comme alternatifs aux antibiotiques actuels posant des problèmes de résistance [35].

L'évolution de l'utilisation de ces substances nécessite l'amélioration du rendement et une bonne extraction/purification ce qui exige une maîtrise des cultures.

2. Production d'acide hyaluronique [40] :

L'acide hyaluronique est un polymère d'acide glucuronique lié par des liaisons osidiques avec du glucosamine possédant un groupement N acétylé. Ce polymère a été découvert en 1934 dans l'humeur vitré des bovins et tire son nom du grec « hyalos » qui signifie verre ou vitreux.

Ce polymère existe naturellement dans le derme et l'épiderme humain et est responsable de la rétention d'eau.

Industriellement, ce polymère a été extrait dans un premier temps des crêtes de coq. Il est à présent produit par fermentation bactérienne.

Plusieurs bactéries sont capables de produire ce polymère soit naturellement (*Streptococcus spp*) ou suite à des modifications génétiques. Parmi ces bactéries, on trouve *B. subtilis*.

Chez *B. subtilis*, la production d'acide hyaluronique n'est possible qu'après une modification génétique qui consiste en l'insertion du gène *hasA* présent chez *Streptococcus equisimilis* et qui code pour l'enzyme hyaluronane synthétase nécessaire à la production de l'acide hyaluronique [41].

Le recours à la recombinaison génétique pour assurer la production de l'acide hyaluronique par d'autres bactéries comme *B. subtilis* permet d'éviter la présence d'endotoxines produites par *Streptococcus spp* dans le produit ce qui limite ses utilisations médicales.

L'acide hyaluronique produit possède divers applications qui dépendent essentiellement du poids moléculaire du produit qui est un paramètre déterminant de la qualité. La fermentation bactérienne produit un mélange d'acides hyaluroniques de poids moléculaires variés. La production d'acide hyaluronique d'un même poids moléculaire constitue un challenge pour les industriels [42].

Parmi les applications de l'acide hyaluronique, on trouve :

- En rhumatologie [43, 44] : l'acide hyaluronique est utilisé pour traiter des pathologies ostéo-articulaires. Dans le cas de l'arthrose, la dégradation de l'acide hyaluronique du liquide synoviale, la diminution de sa concentration et de son poids moléculaire fait qu'il ne joue plus son rôle de lubrifiant et d'amortisseur des chocs articulaires ce qui a pour conséquence une inflammation et détérioration du cartilage. L'injection d'acide hyaluronique dans une articulation arthrosique permet de restaurer les fonctions lubrifiantes et absorbantes de chocs du liquide synovial.

- En ophtalmologie, l'acide hyaluronique est utilisé sous forme de gel, en tant qu'agent protecteur. Ses propriétés viscoélastiques permettent son utilisation après les interventions chirurgicales de l'œil pour aider à la cicatrisation et à la régénération.

- En odontologie, l'acide hyaluronique est également employé par les dentistes pour accélérer la cicatrisation des gencives.

- En médecine esthétique, il est utilisé dans la cicatrisation des plaies et surtout comme produit de comblement des rides en remplacement du collagène, car les risques d'allergies sont moindres et l'effet dure plus longtemps.

- En cosmétique, l'acide hyaluronique entre dans la composition de crèmes, gels, masques, laits, sérums, principalement en raison de ses propriétés hydratantes.

3. Production d'enzymes :

B. subtilis est connue pour la production de deux enzymes importantes industriellement : l'amylase et la protéase. Il s'agit de métabolites dont la production est associée à la croissance.

La production de ces deux enzymes est affectée par plusieurs facteurs physicochimiques dont le type et la composition du substrat, le temps et la température d'incubation, le pH, la concentration et le type des sources de carbone et nitrate. La présence d'amidon dans le milieu induit la production d'amylase permettant de dégrader l'amidon présent afin de produire des sucres facilement assimilables. La production de protéase survient quand la cellule entre dans la phase post-exponentielle de son cycle de vie. Cette production est

attribuée au besoin d'obtention de nutriments afin d'assurer la survie de la population ou bien au besoin de renouvellement des protéines cellulaires.

Une étude récente réalisée par Blanco et al a prouvé la possibilité de production simultanée des deux enzymes en cultivant la bactérie dans les déchets de brasseries de manière efficiente [45].

Les enzymes produits possèdent divers applications industrielles :

L'amylase est utilisée dans les détergents pour sa capacité à dégrader l'amidon, cette même propriété permet son utilisation dans l'industrie alimentaire pour produire les sucres, éliminer le trouble dû à la présence d'amidon dans les jus de fruits et de légumes ainsi que dans l'industrie des textiles en particulier dans le désencollage des tissus visant à éliminer l'amidon utilisé pour renforcer les fibres et éviter leur dégradation lors du tissage. Il intervient également dans l'industrie du papier en permettant de moduler les caractéristiques du papier en ce qui concerne la viscosité [46].

Les protéases sont utilisées dans les détergents, elles sont aussi utilisées comme additifs dans les aliments pour animaux pour améliorer la digestion des protéines ainsi que pour attendrir les viandes en boucherie [47].

4. Traitement des eaux usées :

Dans le traitement des eaux, les bactéries sont utilisées dans les bassins de décantation pour activer le processus de purification de l'eau par la méthode des boues activées. Le procédé de boues activées utilise des bactéries aérobies qui se nourrissent de la matière organique dans les boues des eaux usées. Parmi les bactéries utilisées, on trouve *B. subtilis* [48].

Le principe du procédé à boues activées repose sur le constat suivant : un effluent, dans lequel on insuffle de l'air, est le lieu du développement progressif d'une flore bactérienne et cela au détriment des matières organiques polluantes appelées substrat.

L'azote ammoniacal et les phosphates sont utilisés en tant que nutriments car ils entrent dans la composition des composés cellulaires (protéines, membrane cellulaire, ADN). L'oxygène dissous est également indispensable au développement des bactéries aérobies. Suivant la composition de l'effluent à traiter, il sera nécessaire de rajouter l'un ou plusieurs de ces composants afin de favoriser le métabolisme des bactéries.

Le procédé de traitement est dit « à boues activées » car l'ensemble des conditions favorables à une activité maximale des bactéries est mis en œuvre : un apport en oxygène suffisant, un apport en nutriment si l'effluent ne contient pas tous les composés nécessaires au développement des bactéries, une agitation permanente afin de favoriser le contact entre bactéries et pollution, une concentration élevée en bactérie pour augmenter l'efficacité du traitement [49].

Une autre méthode de traitement utilisant des bactéries est celle des lits bactériens qui utilise des supports où sont fixées les bactéries qui forment un biofilm. Les eaux usées arrivent par un système de distribution dans le lit bactérien qui dégrade les substrats présents dans l'eau [50].

5. Production d'aliments traditionnels [51] :

Historiquement, la première utilisation de *B. subtilis* est la préparation d'un aliment traditionnel japonais : le Natto. C'est un plat à base d'haricots cuits à la vapeur et fermentés pendant une journée en présence d'une bactérie : *B. subtilis* variété *natto*.



Figure 20 : Photographie d'un plat de Natto [52].

L'implication de *B. subtilis* dans la production du natto a été découverte en 1906. La bactérie a été nommée *Bacillus natto* dans ce temps.

Le natto est préparé traditionnellement en laissant fermenter des haricots de soja soigneusement déposés dans des pailles de riz. Ces pailles sont les fournisseurs des bactéries responsables de la fermentation notamment *B. subtilis*.



Figure 21 : Photographie du natto préparé traditionnellement [53]

L'utilisation d'un inoculum de culture cellulaire pure fournit un résultat meilleur, c'est ce que font les producteurs contemporains.

Le natto possède une valeur nutritionnel élevée avec sa composition en protéines, minéraux et vitamines ainsi qu'avec sa bonne digestibilité.

Il a une action favorable sur plusieurs pathologies, comme l'intolérance aux protéines lactières où il constitue une bonne alternative en apportant les protéines et le calcium nécessaires à l'organisme. son effet sur la prévention du cancer a été le sujet de plusieurs études.

Il possède également une action sur l'hypercholestérolémie et l'hypertension artérielle qu'il tend à réduire par la présence d'enzymes notamment la nattokinase.

Le tableau suivant rapporte la composition nutritionnelle par 100g de natto :

Tableau IX: Composition nutritionnelle de natto par 100g [54]

Energie (Kcal)	166
Eau (g)	58.1
Protéines (g)	18.8
Lipides (g)	1.1 (peut atteindre 11g)
Acides gras saturés (g)	0.16
Acides gras mono-insaturés (g)	0.24
Acides gras polyinsaturés (g)	0.61
Cholestérol (mg)	0
Glucides (g)	20.2
Fibres (g)	5.4
Minéraux	
Calcium (mg)	217
Fer (mg)	8.6
Magnésium (mg)	115
Potassium (mg)	729
Sodium (mg)	7
Vitamines	
B1 (mg)	1.16
B2 (mg)	1.19
B6 (mg)	0.13

6. Formation de biofilms utiles [55] :

B. subtilis est connue pour la complexité des biofilms qu'elle forme quand les conditions du milieu environnant sont favorables.

Ces biofilms, par leur propriétés, ont plusieurs utilités :

Ils sont utilisés comme agent de bio-contrôle en évitant l'installation de bactéries pathogènes pour les plantes ainsi que les insectes. Cette activité est due essentiellement aux composés antimicrobiens produits par la bactérie.

Ils sont également utilisés pour prévenir la corrosion d'acier en évitant le développement des bactéries à l'origine de la corrosion notamment les bactéries réductrices de sulfates.

7. Indicateur biologique de stérilisation [56] :

Les spores très résistantes de *B. subtilis* sont utilisées comme indicateur biologique pour valider les procédures de stérilisation.

Les indicateurs biologiques sont des préparations de microorganismes spécifiques ayant une résistance stable et définie à un procédé de stérilisation. Les microorganismes valables pour cette utilisation sont les bactéries sporogènes car ils sont plus résistants par rapport aux autres microorganismes.

Ces indicateurs peuvent assister dans la qualification de la performance d'un équipement de stérilisation ainsi qu'à l'établissement d'un procédé de stérilisation valide pour un article donné.

Les indicateurs biologiques sont utilisés également dans le monitoring des cycles de stérilisation et dans la revalidation périodique des procédés de stérilisation.

Les indicateurs biologiques sont toujours d'actualité pour la stérilisation à l'oxyde d'éthylène et pour les procédés au plasma.

L'objectif de ces indicateurs est de montrer que l'effet létal attendu est atteint, vis à vis d'une population connue de micro-organismes référents.

Les procédures communes de décontamination et de stérilisation utilisent des températures élevées, des produits chimiques ou des radiations ionisantes.

Afin d'assurer l'efficacité et la validité de ces procédures, des standards biologiques de contrôle sont nécessaires.

Les spores bactériennes sont fréquemment utilisées comme indicateurs biologiques de stérilité à cause de leur résistance élevée aux procédures de stérilisation, par conséquent, un procédé qui neutralise ces spores assure une élimination complète des autres microorganismes.

La distribution spatiale des spores sur la surface du système est un facteur important qui affecte le résultat final, car les spores constituant la couche la plus interne dans les distributions multicouches ne seront pas atteints par effet bouclier ce qui diminue considérablement l'efficacité du traitement [57].

8. Application dans le diagnostic de certaines pathologies :

Le dépistage systématique à la naissance permet le traitement précoce et la prise en charge de pathologies dont le pronostic n'est pas forcément favorable en cas de retard de diagnostic.

Parmi ces pathologies, on trouve la phénylcétonurie qui est une maladie due à l'accumulation de phénylalanine dans l'organisme par défaut de son hydroxylation en tyrosine. Ce défaut résulte de la mutation du gène codant pour l'enzyme hydroxylase.

En l'absence de diagnostic néonatal, les symptômes de cette maladie se développent en quelques mois et peuvent être de très légers à sévères. Ils incluent un retard de développement graduel, un retard de croissance, microcéphalie, convulsions, tremblements, eczéma, vomissements et odeur de moisi. Les patients non traités développent un déficit intellectuel, des troubles du comportement et de la motricité (hyperactivité). Les patients ont souvent la peau et les cheveux clairs, résultat d'un déficit en tyrosine [58].

Le diagnostic de cette maladie est fait à l'aide du test de Guthrie. Il s'agit d'une méthode d'inhibition bactériologique développée en 1963 par Guthrie et Susi [59].

Le principe de ce test repose sur l'utilisation d'une culture bactérienne dont le développement dépend de la présence de phénylalanine.

Les bactéries sontensemencées sur gélose en présence d'un inhibiteur de croissance bactérienne notamment la β -2-thienylalanine.

Le sang est recueilli sur des disques de papier buvard par ponction du talon. Les disques sont ensuite transférés sur le milieu préparé précédemment.

La présence d'un excès de phénylalanine neutralise l'action de l'inhibiteur ce qui permet la croissance bactérienne.

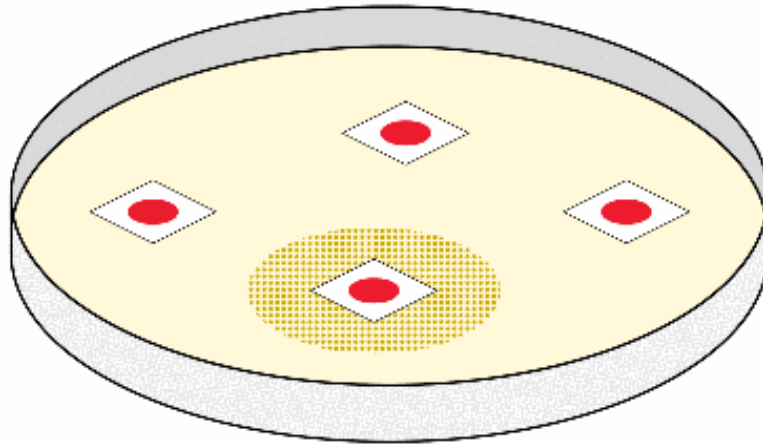


Figure 22 : Schéma du test de Guthrie [60]

C'est un test semi-quantitatif dont les tests positifs (présentant une hyperphénylalaninémie) sont marqués par la taille de la zone de croissance bactérienne sur l'agar autour du disque.

Cette méthode permet un screening de masse pour la phénylcétonurie.

La bactérie utilisée pour effectuer ce test est *Bacillus subtilis*.

9. Application dans la recherche en tant qu'hôte de bactériophages :

L'étude scientifique des bactériophages est l'enjeu majeur permettant leur application dans le domaine médical et industriel.

L'utilisation de *Bacillus subtilis* comme hôte pour ces bactériophages favorise l'étude de ces phages et de leur interaction avec la bactérie.

De nombreuses études portant sur les bactériophages ont utilisé *B. subtilis* comme hôte. On cite l'exemple d'une étude faite par Fernandes et al qui a permis de déterminer les éléments clés régissant l'entrée du phage dans la bactérie [61] ou encore une étude réalisée par Farley et al qui a caractérisé le processus entier de l'infection de la bactérie par le phage $\Phi 29$ en visualisant les modifications structurelles atteignant le phage lors de l'adsorption et lors du transfert du génome à la bactérie [62].

10. Application en vaccinologie :

Des souches recombinées de *B. subtilis* peuvent être utilisées sous forme végétative ou sporulée comme véhicule sure et de faible coût pour certains vaccins.

La transformabilité facile de *Bacillus subtilis* fait qu'elle soit utilisée comme véhicule pour certains vaccins.

L'emploi de spores de *B. subtilis* renforce l'immunogénéicité des vaccins protéiques adsorbés à leur surface ou simplement mélangés avec eux.

L'efficacité de la bactérie est prouvée également dans le cas de vaccin ADN.

Le principe de ces vaccins consiste en l'insertion d'un gène codant pour un antigène à intérêt vaccinal dans un plasmide bactérien, le plasmide est ensuite produit par les bactéries, puis il est extrait et purifié pour pouvoir être injecté par voie intramusculaire ou intradermique.

Les vaccins à ADN sont le résultat d'une découverte fortuite. En 1988, une équipe de chercheurs de l'Université du Wisconsin en collaboration avec la société Vical travaillait sur la pénétration de l'ADN de plasmide dans les cellules, dans un but de thérapie génique. À leur grande surprise, de l'ADN " nu " (qui n'est inclus dans aucun organisme) simplement injecté en solution saline dans les cellules musculaires, s'est montré capable de s'exprimer, produisant les protéines correspondantes, mais sans s'intégrer au génome humain. C'est sur cette capacité que repose le principe de la vaccination à ADN.

L'antigène viral provoque une double réponse immunitaire. D'une part, la production d'anticorps capables, lors d'une infection, de reconnaître spécifiquement cet antigène sur le virus ; d'autre part, l'apparition de lymphocyte T cytotoxiques dont le rôle est de détruire les cellules infectées par le virus [63].

L'antigène produit est souvent sous sa forme originelle et donc semblable à celui synthétisé lors d'une infection. De plus il est produit durablement par la cellule évitant le recours aux rappels pour certains vaccins [64].

Les spores de *B. subtilis* jouent le rôle d'adjuvant dans la formulation de vaccins à ADN. Leur Co-administration avec ces derniers permet l'amélioration de la réponse immunitaire au vaccin en participant à l'activation des cellules dendritiques et en induisant la migration des cellules pro-inflammatoires vers le site d'injection. De même, l'utilisation de cette approche pour l'HPV a induit l'activation d'antigène spécifique T CD8 [65].

Les spores de *B. subtilis* peuvent remplacer les microparticules en or dans l'administration de l'ADN vaccinal chez la souris [66].

Cependant, la voie injectable n'est pas la seule voie d'administration de vaccin pour laquelle *B. subtilis* a prouvé son intérêt.

Il existe également la voie intranasale, étudiée chez la souris en utilisant les spores de *B. subtilis* exprimant par recombinaison génétique un antigène tétanique et qui a prouvé son efficacité, sa sécurité et sa stabilité [67].

B. subtilis représente une alternative simple, efficace et low cost dans la formulation des vaccins.

11. Application comme probiotique :

On trouve dans le tube digestif des milliards de bactéries appartenant à plusieurs espèces. La présence de ces bactéries favorise le développement du système immunitaire.

L'équilibre de la flore bactérienne est fondamental car s'il est rompu, plusieurs troubles vont affecter l'organisme.

L'apport exogène de ces bactéries permet de restaurer l'équilibre. Cet apport fait recours aux probiotiques qui veut dire étymologiquement « pour la vie ».

Les probiotiques sont définis par l'OMS comme Microorganisme s vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantité adéquate , confèrent un bénéfice pour la santé de l' hôte au-delà de l'effet nutritionnel premier.

Une bactérie «probiotique» doit :

- Appartenir à la flore commensale
- Avoir un métabolisme actif
- Ne pas être pathogène ou carcinogène
- Survivre dans l'aliment et le tractus intestinal

Tous ces prérequis sont disponibles chez *B. subtilis*. De plus, cette bactérie produit une substance métabiotique : L'amicoumacin A, un antibiotique qui inhibe la prolifération d'*Helicobacter pylori*.

Les préparations probiotiques contenant les bactéries du genre *Bacillus* notamment *B. subtilis* et *B. clausii* préviennent les déséquilibres intestinaux comme la diarrhée quand elles sont utilisées en prophylaxie.

Une diminution de la durée des infections respiratoires chez les enfants ainsi qu'une diminution des symptômes du côlon irritable chez les adultes ont été rapportées.

La sécurité de consommation d'aliments fermentés par *B. subtilis* et les bénéfices apportés par ces aliments ont motivé l'utilisation de *B. subtilis* comme probiotique.

L'usage de *B. subtilis* a également prouvé son efficacité chez les animaux. Elle est utilisée comme complément alimentaire dans les aliments pour poissons, pour poulets et beaucoup d'autres.

12. Détection des résidus d'antibiotiques dans le lait et les produits laitiers [68] :

La sensibilité de *B. subtilis* à plusieurs familles d'antibiotiques notamment les aminosides, les quinolones et les macrolides fait qu'elle soit utilisée comme indicateur de la présence de résidus de ces antibiotiques dans le lait et les produits laitiers.

Les échantillons de lait et produits laitiers sont chauffés à 80°C de 5 à 10 min pour éliminer les lysozymes et les germes présents. Ensuite, ces échantillons sont recueillis dans des disques stériles qu'on dépose dans des boîtes contenant une culture de *B. subtilis* et qu'on incube pendant 24h à 30°C.

La présence des résidus d'antibiotiques est mise en évidence par l'inhibition de la croissance des bactéries qui se manifeste par une zone claire autour des disques contenant des traces d'antibiotiques.

Il est fondamental d'utiliser une culture pure de la bactérie pour assurer la validité des résultats.



*Exigences relatives à
l'utilisation de *Bacillus subtilis*
en industrie*

IV. EXIGENCES RELATIVES A L'UTILISATION DE *BACILLUS SUBTILIS* EN INDUSTRIE :

Il est impératif de connaître les caractéristiques phénotypiques, génotypiques et biologiques d'un micro-organisme afin de le différencier des organismes pathogènes et/ou toxigènes apparentés ou des autres organismes nuisibles pour la santé végétale, animale, humaine et pour l'environnement. Par conséquent, l'identification précise du ou des micro-organismes actifs constitue une composante fondamentale de toutes les évaluations d'innocuité des suppléments microbiens réglementés. De plus, les conclusions relatives à l'innocuité du produit ou à ses répercussions sur la santé humaine ou sur l'environnement sont valides seulement si le ou les micro-organismes actifs sont identifiés correctement.

La ou les méthodes choisies doivent être bien décrites dans la littérature scientifique et conformes à celles qui sont actuellement utilisées dans le domaine de l'identification et de la classification taxonomique microbienne. Ces méthodes doivent aussi permettre l'identification des organismes aux niveaux du genre, des espèces et, si possible, de la souche. La robustesse, la précision et la validité des méthodes utilisées pour identifier le micro-organisme constituent des caractéristiques essentielles dans l'évaluation de l'innocuité du produit.

Les forces et les faiblesses des diverses méthodes d'identification doivent être prises en considération, de sorte que les méthodes choisies se complètent les unes les autres, ayant pour résultat une identification concluante et définitive du micro-organisme et permettant une différenciation nette de l'organisme par rapport aux autres espèces et souches pathogènes et/ou toxigènes étroitement apparentées. Les méthodes couramment utilisées pour l'identification et la confirmation de la classification taxonomique des micro-organismes sont :

❖ **Analyse phénotypique :**

- Caractères morphologiques :
 - La forme,
 - La taille,
 - Les caractéristiques superficielles et la pigmentation,
 - Les caractéristiques des parois cellulaires (coloration de Gram),
 - Les caractéristiques de sporulation,
 - Les mécanismes de motilité et
 - Les autres inclusions cellulaires et caractéristiques ultra structurales.
- Caractéristiques biochimiques, physiologiques et métaboliques
- Composition des esters d'acides gras méthylique : On peut identifier

les micro-organismes en analysant les profils des acides gras de cellules entières ou des membranes cellulaires à l'aide de la chromatographie en phase gazeuse ou de la spectrométrie de masse. Les données sur le type, le contenu, la proportion et la variation du profil des acides gras servent à identifier et à caractériser le genre et l'espèce en les comparant aux profils d'acides gras d'organismes connus.

❖ **Analyse moléculaire :** L'identification à l'aide de méthodes moléculaires repose sur la comparaison de séquences d'acides nucléiques (ADN, ARN) ou de profils protéiques d'un micro-organisme avec les données documentés d'organismes connus. Les méthodes moléculaires sont considérées comme suffisamment sensibles pour permettre une détection à des concentrations faibles de micro-organismes viables ou non viables à la fois dans les cultures pures et dans les échantillons complexes.

Dans le cas de l'utilisation de *B. subtilis* comme engrais ou comme supplément alimentaire pour animaux, l'industriel est exempté de l'exigence de fournir des données complètes d'innocuité. Cependant, il est tenu d'effectuer une identification allant jusqu'à la souche.

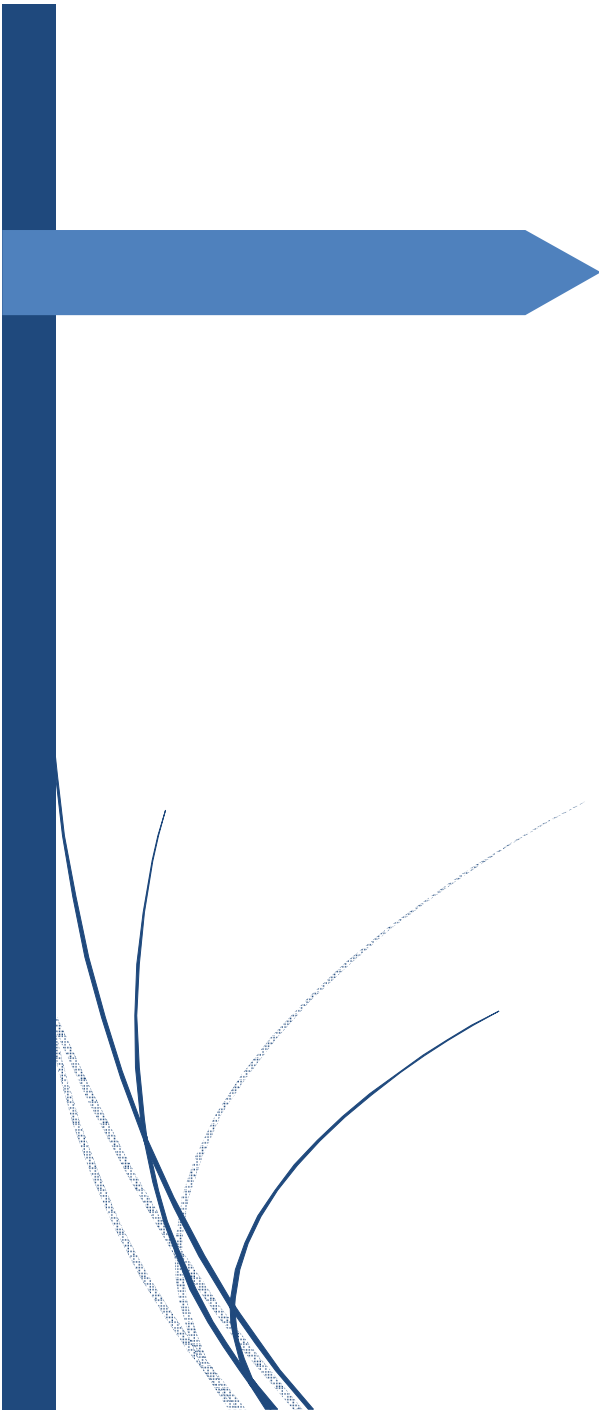
Le ministère de la santé et celui de l'environnement canadien a réalisé une évaluation de la toxicité de plusieurs souches de *B. subtilis* (ATCC 6051A, ATCC 55405, ATCC 6051T, ATCC 55406) et a prouvé l'innocuité de ces organismes en montrant qu'ils n'ont aucun risque sur l'environnement ou sur l'homme [25].

Aux états unis, La FDA (Food and drugs administration) a inscrit *B. subtilis* dans la liste GRAS (Generally recognized as safe). Cette liste regroupe toutes les substances ayant été longtemps utilisées dans l'alimentation et cette utilisation n'a causé aucun problème.

A côté de ça, plusieurs études démontrant son innocuité ont été réalisées, le tableau suivant les résume :

Tableau X : Etudes effectuées sur l'homme pour prouver l'innocuité de *B. subtilis* [69]

Etude (référence)	Patients	Groupes de traitements	Effets indésirables (EI)
Li et al., 2012	Sujets âgés présentant une constipation fonctionnelle (n=97)	1- Lactulose 2- <i>B. subtilis</i> 3- Lactulose+ <i>B. subtilis</i>	Pas de différence statistique entre les E.I de ces différents groupes
Li et al, 2012	Patients présentant une constipation fonctionnelle (n=216)	1- Lactulose+ placebo 2- Lactulose+ <i>B. subtilis</i> + <i>Enterococcus faecium</i>	Non rapportés dans le résumé (article en chinois)
Sohn et al, 2012	Sujets présentant syndrome du côlon irritable (n= 228)	1- Tianeptine+ <i>B. subtilis</i> + <i>Streptococcus faecium</i> 2- Amitriptyline+ <i>B. subtilis</i> + <i>S. faecium</i>	Aucun effet indésirable grave dans les deux groupes. Des E.I comme la sécheresse buccale et la constipation ont été significativement réduits dans le groupe 1 par rapport au groupe 2
Lee et al, 2010	Sujets avec constipation qui subissent la coloscopie (n= 211)	1- Placebo+ Sodium phosphate 2- <i>B. subtilis</i> et <i>S. faecium</i> + Sodium phosphate	Les EI liés à la préparation à la coloscopie et les symptômes post endoscopiques sont plus fréquents chez les patients sous le groupe 1 de traitement que chez le second groupe.
Park et al , 2007	Patients infectés par <i>Helicobacter pylori</i> (n=352)	1- Inhibiteur de la pompe à proton et trithérapie antibiotique 2- Inhibiteur de la pompe à proton et trithérapie antibiotique+ <i>B. subtilis</i> et <i>S. faecium</i>	Diarrhée et autres EI ont été plus communs dans le groupe 1 par rapport au 2.
Kim et al , 2006	Patients présentant le syndrome du côlon irritable (n=40)	1- Placebo 2- <i>B. subtilis</i> et <i>S. faecium</i>	Groupe 2 bien toléré et sans effets indésirables.
Pushkarev, 2005	Patients présentant une infection urinaire (n=36)	1- Thérapie conventionnelle 2- <i>B. subtilis</i>	Aucun EI rapporté dans le résumé (article en russe)
Zhao et al, 2004	Patients cirrhotiques (n=50)	1- <i>Bifidobacterium</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> et <i>Enterococcus</i> 2- <i>B. subtilis</i> et <i>Enterococcus faecium</i>	Aucun EI rapporté.
Vukovic, 2001	Patients présentant une entérite à <i>Salmonella</i> (n=63)	1- Placebo 2- <i>B. subtilis</i>	Aucun EI rapporté.
Gracheva et al, 1996	Patients à infections entériques aiguës	<i>B. subtilis</i> et <i>B. licheniformis</i>	Bien tolérée par les patients, aucun EI observé.



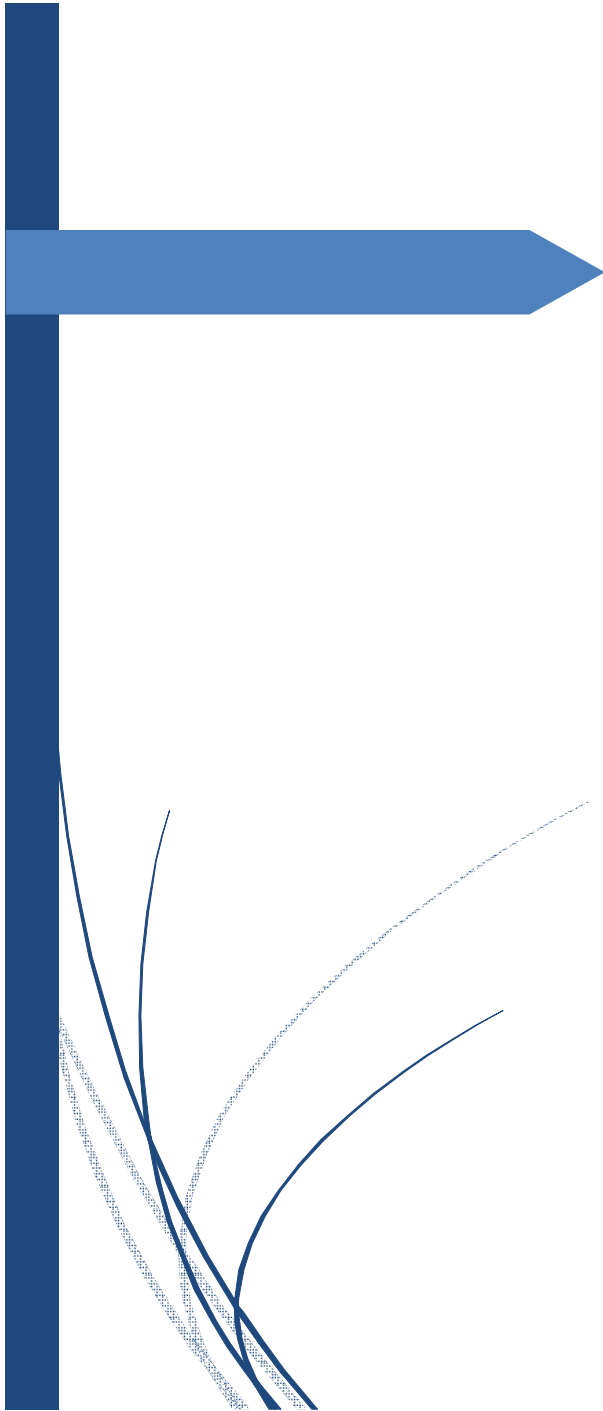
Conclusion

Les applications diverses et variées de *Bacillus subtilis* possèdent une importance indéniable sur le point scientifique et économique d'où la nécessité de continuer les études sur cette bactérie tout en la préservant des détournements d'usage car des études approfondies peuvent ouvrir la porte à de nouvelles exploitations ou du moins à une meilleure maîtrise des applications actuelles.

L'étude des substances produites par *B. subtilis* et de leurs activités peut aboutir à la mise sur le marché de nouveaux médicaments antibiotiques et/ ou antifongiques qui vont renforcer l'éventail des produits actuellement disponibles et faire face au problème de résistance qui a pris une grande ampleur ces dernières années, ou encore à l'amélioration du rendement en maîtrisant les étapes de la production.

La maîtrise des souches utilisées dans ces différentes applications est cruciale du fait que certaines applications nécessitent l'utilisation de souches pures possédant des caractéristiques particulières comme un profil particulier de sensibilité aux antibiotiques en cas d'utilisation dans la détection de résidus d'antibiotiques.

Le recours aux modifications génétiques visant à éliminer ou inactiver les gènes responsables de la production des toxines et autres produits non souhaités est indispensable quand la bactérie est utilisée dans la production de substances particulières afin d'assurer d'une part la sécurité et l'innocuité des produits obtenus et d'autre part leur pureté. Ces modifications nécessitent une connaissance préalable du génome de la bactérie pour assurer l'efficacité de l'opération.



Résumés

RESUME

Titre : *Bacillus subtilis* : Caractères et applications

Auteur : Soraya Bouhairi

Rapporteur : Pr Yassine Sekhsokh

Mots clés : *Bacillus subtilis*, signalisation, exploitation, industrie, recherche

Bacillus subtilis, bactérie ubiquitaire à Gram positif, catalase positive, aérobie pouvant se développer en anaérobiose, mobile par des flagelles peritriches, formant des spores très résistantes dont l'élimination efficace nécessite des conditions particulières.

Malgré le fait qu'il s'agisse d'une bactérie à faible potentiel pathogène, elle peut donner lieu à de redoutables infections dans certains cas ou encore être à l'origine d'une intoxication alimentaire d'où l'importance de l'application des recommandations en matière d'hygiène et stérilisation afin d'éviter ces risques.

C'est une bactérie modèle très étudiée dont le génome, entièrement séquencé, est facilement transformable au laboratoire.

Sa culture aisée et sa maniabilité ont permis son exploitation dans divers domaines ce qui lui confère une valeur économique et scientifique très importante.

Les applications de *B. subtilis* concernent plusieurs domaines notamment le domaine médical, agro-alimentaire, écologique. Elle occupe également une place importante dans l'industrie des détergents et du tannage.

Ce travail met l'accent sur les caractéristiques de *B. subtilis* et présente de manière concise les différentes applications marquant l'exploitation de cette bactérie tout en spécifiant les exigences réglementaires relatives à certaines de ces exploitations.

ABSTRACT

Title : *Bacillus subtilis* : Characteristics and applications

Author : Soraya Bouhairi

Supervisor : Pr Yassine Sekhsokh

Key words : *Bacillus subtilis*, signaling, exploitation, industry, research

Bacillus subtilis, ubiquitous Gram positive bacterium, catalase-positif, aerobic that can also grow in anaerobiosis, moves using peritrichous flagella, formes extremely resistant spores requiring special conditions in order to be eliminated.

Despite the fact that it is a bacterium with a low pathogenous potential, it can lead to some serious infections in certain cases or be the origin of food poisoning wich shows the importance of applying the recommandations concerning hygiene and sterilization to avoid those risks.

It is a model bacterium studied extensively whose entirely sequenced genome is easily transformed in the laboratory.

Its easy culture and handling has allowed its exploitation in various sectors wich gives it a very important economic and scientific value.

The applications of *B. subtilis* concerne many sectors specially the medical sector, the agro-food industry and the environmental sector. It also holds an importante place in the detergents and tanning industries.

This work emphasizes the characteristics of *B. subtilis* and concisly presents the different applications marking the exploitation of this bacterium while specifying the regulatory requirements of some of these exploitations.

الملخص

العنوان : *باسيلوس سوبتيليس* : الخصائص والاستعمالات

الكاتبة : سوريا بوحيري

المشرف : الأستاذ ياسين سخسوخ

الكلمات الأساسية : *باسيلوس سوبتيليس*, تشوير, استغلال, صناعة, بحث علمي

باسيلوس سوبتيليس, بكتيريا تتواجد في كل مكان, ذات غرام إيجابي, كاتلاز إيجابية, تنمو بوجود الهواء كما يمكنها النمو عند عدم توفره, تنتقل بواسطة سيات تغطي جل سطح البكتيريا, تقوم بتشكيل أبواغ جد مقاومة يتطلب القضاء عليها توفير شروط خاصة.

بالرغم من ضعف إمكانية تسببها في الأمراض, إلا أنها قد تتسبب في تعفنات رهيبه في بعض الحالات أو تكون مصدرا للتسمم الغذائي مما يبين أهمية تطبيق التوصيات المتعلقة بالنظافة و التعقيم من أجل تجنب هذه المخاطر.

إنها بكتيريا نموذجية جد مدروسة حيث أن خبرها الوراثي الذي تمت معرفة تسلسل قواعده قابل للتحويل بسهولة في المختبر.

سهولة نموها والتحكم فيها مكنت من استغلالها في مختلف المجالات مما أعطاه قيمة اقتصادية وعلمية جد مهمة.

استعمالات *باسيلوس سوبتيليس* تهم عدة مجالات خاصة المجال الطبي, الهندسة الزراعية و الغذائية و المجال البيئي, كما تحتل مكانة مهمة في صناعة مواد التنظيف و الدباغة.

يقوم هذا العمل باظهار خصائص *باسيلوس سوبتيليس* كما يقدم بإيجاز الاستعمالات المختلفة المميزة لاستغلال هذه البكتيريا مع تحديد المتطلبات القانونية المتعلقة ببعض هذه الاستعمالات.



*Références
bibliographiques
et webographiques :*

1. Schaechter M, Medoff G, Eisenstein BI. Microbiologie et pathologie infectieuse. Boeck D, editor 1999.
2. Logan NA, De Vos P. Endospore-forming soil bacteria 2011.
3. Histoire de la santé [18/11/16]. Available from: <http://www.biusante.parisdescartes.fr/histmed/image?med27898x0147>.
4. Rooney AP, Price NPJ, Ehrhardt C, Swezey JL, Bannan JD. Phylogeny and molecular taxonomy of the *Bacillus subtilis* species complex and description of *Bacillus subtilis* subsp. *inaquosorum* subsp. *nov.* . International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2009;59:2429–36.
5. Yi H, Chun J, Cha CJ. Genomic insights into the taxonomic status of the three subspecies of *Bacillus subtilis*. Systematic and Applied Microbiology. 2014;37(2):95-9.
6. Bioutils: La coloration de Gram [08/02/2017]. Available from: http://bioutils.unige.ch/experiences/images_exp_gram/BS.jpg.
7. Berraho EB. Cours de microbiologie générale. 2009.
8. *Bacillus subtilis* [30/11/16]. Available from: www.gettyimage.com.
9. Piggot PJ. Bacillus Subtilis A2 - Schaechter, Moselio. Encyclopedia of Microbiology (Third Edition). Oxford: Academic Press; 2009. p. 45-56.

10. Ghayour K. Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli* , *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*
Fès: Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Faculté des Sciences Dhar Mehraz; 2002.
11. Nakano MM, Dailly YP, Zuber P, Clark DP. Characterization of Anaerobic Fermentative Growth of *Bacillus subtilis*: Identification of Fermentation End Products and Genes Required for Growth. *Journal of bacteriology*. 1997;179(21):7.
12. Aryal S. Biochemical tests and identification of *Bacillus subtilis* 2016 [25/12/16]. Available from:
<http://www.microbiologyinfo.com/biochemical-test-andidentification-of-bacillus-subtilis/>
13. Wipat A, Harwood CR. The *Bacillus subtilis* genome sequence: the molecular blueprint of a soil bacterium. *FEMS Microbiology Ecology*. 1999;28:1-9.
14. Sonnenfeld EM, Koch AL, Doyle RJ. Cellular Location of Origin and Terminus of Replication in *Bacillus subtilis*. *Journal of bacteriology*. 1985;163(3):895-9.
15. Kobayashi K, Ehrlich SD, Albertini A, Amati G, Andersen KK, Arnaud M. Essential *Bacillus subtilis* genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2003;100.

16. Hecker M, Reder A, Fuchs S, Pagels M, Engelmann S. Physiological proteomics and stress/starvation responses *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus*. *Research in microbiology*. 2009;160:245-58.
17. Doan T. Etude fonctionnelle du génome de *Bacillus subtilis* : de nouvelles régulations transcriptionnelles du métabolisme central du carbon: Institut National Agronomique Paris-Grignon 2003.
18. Blom E-J, Ridder ANJA, Lulko AT, Roerdink JBTM, Kuipers OP. Time-Resolved Transcriptomics and Bioinformatic Analyses Reveal Intrinsic Stress Responses during Batch Culture of *Bacillus subtilis*. *PLoS One*. 2011;6(11).
19. Loison P. Etude de la spore de *Bacillus subtilis* : caractérisation des structures impliquées dans sa résistance: Université de Bourgogne; 2013.
20. Fang Y, Yiyang Y, Luyao W, Yuming L, Jian-hua G, Yunrong C. The comER Gene Plays an Important Role in Biofilm Formation and Sporulation in both *Bacillus subtilis* and *Bacillus cereus*. *Frontiers in Microbiology*. 2016;7:1025.
21. Dervaux J, Maniez JC, Libchaber A. On growth and form of *Bacillus subtilis* biofilms. *Interface focus*. 2014.
22. Romero D. Bacterial determinants of the social behavior of *Bacillus subtilis*. *Research in Microbiology*. 2013;164(7):788-98.
23. Shank EA, Kolter R. Extracellular signaling and multicellularity in *Bacillus subtilis*. *Current Opinion in Microbiology*. 2011;14(6):741-7.
24. Avril JL, Dabernat H, Denis F, Monteil H. *Bactériologie clinique*1992.

25. Évaluation préalable finale des souches de *Bacillus* inscrites à la liste intérieure. 2015.
26. Ozkocaman V, Ozcelik T, Ali R, Ozkalemkas F, Ozkan A, Ozakin C, et al. *Bacillus spp.* among hospitalized patients with haematological malignancies: clinical features, epidemics and outcomes. *Journal of Hospital Infection*. 2006;64(2):169-76.
27. Oggioni MR, Pozzi G, Valensin PE, Galieni P, Bigazzi C. Recurrent Septicemia in an Immunocompromised Patient Due to Probiotic Strains of *Bacillus subtilis*. *Journal of clinical microbiology*. 1998;36(1):325-6.
28. Benzarti Mezni A, Mhiri N, Beji M, Ben Jemaa A. Pneumopathie d'hypersensibilité aux enzymes protéolytiques du *Bacillus subtilis* dans l'industrie de délavage des Jean. Présentation d'un cas. *Revue Française d'Allergologie*. 2010;50(2):77-81.
29. Mascher T. 2014 [19/11/16]. Available from: www.syntheticmicrobe.bio.lmu.de.
30. Principles of MALDI-TOF Mass Spectrometry. Available from: <http://www.shimadzu.com/an/lifescience/maldi/princpl1.html>Principles
31. Adimpong DB, Sørensen KI, Thorsen L, Stuer-Lauridsen B, Abdelgadir WS, Nielsen DS, et al. Antimicrobial Susceptibility of *Bacillus* Strains Isolated from Primary Starters for African Traditional Bread Production and Characterization of the Bacitracin Operon and Bacitracin Biosynthesis. *Applied and Environmental Microbiology*. 2012;78(22):7903-14.

32. Fekete T. *Bacillus* species (not *anthracis*). Clinical Microbiology Newsletter. 2009;31(12):87-92.
33. DeQueiroz G, Day D. Disinfection of *Bacillus subtilis* spore-contaminated surface materials with a sodium hypochlorite and a hydrogen peroxide-based sanitizer. Letters in applied microbiology. 2008;46(2):176-80.
34. Stein T. *Bacillus subtilis* antibiotics: structures, syntheses and specific functions. Molecular Microbiology. 2005;56(4):845-57.
35. Nagao Ji. Properties and Applications of Lantibiotics, a Class of Bacteriocins Produced by Gram-positive Bacteria. Journal of Oral Biosciences. 2009;51(3):158-64.
36. Wang T, Liang Y, Wu M, Chen Z, Lin J, Yang L. Natural products from *Bacillus subtilis* with antimicrobial properties. Chinese Journal of Chemical Engineering. 2015;23(4):744-54.
37. Makhloufi KM. Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique *Leuconostoc pseudomesenteroides* isolée du boza: Université Pierre et Marie Curie-Paris VI; 2011.
38. Nagao Ji, Asaduzzaman SM, Aso Y, Okuda Ki, Nakayama J, Sonomoto K. Lantibiotics: Insight and foresight for new paradigm. Journal of Bioscience and Bioengineering. 2006;102(3):139-49.
39. Kleerebezem M. Quorum sensing control of lantibiotic production; nisin and subtilin autoregulate their own biosynthesis. Peptides. 2004;25(9):1405-14.

40. Guezennec J. Bactéries marines et biotechnologies: Editions Quae; 2014.
41. Widner B, Behr R, Von Dollen S, Tang M, Heu T, Sloma A, et al. Hyaluronic Acid Production in *Bacillus subtilis*. Applied and Environmental Microbiology. 2005;71(7):3747-52.
42. Liu L, Liu Y, Li J, Du G, Chen J. Microbial production of hyaluronic acid: current state, challenges, and perspectives. Microbial cell factories. 2011;10(1):1.
43. Démarchez M. L'acide hyaluronique/hyaluronane 2012 [08/01/2017]. Available from: http://biologiedelapeau.fr/spip.php?article62#outil_sommaire_4.
44. Marconnet J. L'acide hyaluronique en cosmétique: Application à la prévention du vieillissement de la peau: Université Rennes 2015.
45. Blanco AS, Durive OP, Perez SB. Simultaneous production of amylases and proteases by *Bacillus subtilis* in brewery wastes. Brazilian Journal of Microbiology. 2016;47:665-74.
46. de Souza PM, de Oliveira Magalhães P. Application of microbial α -amylase in industry – A review. Brazilian Journal of Microbiology. 2010;41(4):850-61.
47. Mienda B, Yahya A, Galadima I, Shamsir M. An overview of microbial proteases for industrial applications. Res J Pharm Biol Chem Sci. 2014;5:388-96.
48. Ardré M. Dynamique de formation des biofilms de *Bacillus subtilis* à l'interface eau-air: expériences et modélisation: Paris 11; 2014.

49. Bassompierre C. Procédé à boues activées pour le traitement d'effluents papetiers: de la conception d'un pilote à la validation de modèles: Institut National Polytechnique de Grenoble-INPG; 2007.
50. Hamon water solutions: Traitement des eaux usées. Available from: <http://www.hamon-watersolutions.com/introduction-63.php>.
51. Kubo Y, Rooney AP, Tsukakoshi Y, Nakagawa R, Hasegawa H, Kimura K. Phylogenetic Analysis of *Bacillus subtilis* Strains Applicable to Natto (Fermented Soybean) Production. Applied and Environmental Microbiology. 2011;77(18):6463-9.
52. Shurtleff W, Aoyagi A. History of natto and its relatives 2012.
53. Higgins D. History and nutritional benefits of natto 2015 [11/01/17]. Available from: <http://www.japanupdate.com/2015/07/history-and-nutritional-benefits-of-natto/>.
54. Lecerf JM, Bal S, Borgies B. Le Natto, un condiment santé. Institut Pasteur de Lille, 2001.
55. Morikawa M. Beneficial biofilm formation by industrial bacteria *Bacillus subtilis* and related species. Journal of Bioscience and Bioengineering. 2006;101(1):1-8.
56. US Pharmacopeia: Biological indicators for sterilization [13/01/17]. Available from: http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_c1035.html

57. Raguse M, Fiebrandt M, Stapelmann K, Madela K, Laue M, Lackmann JW, et al. Improvement of biological indicators by using standardized *Bacillus subtilis* spore monolayers for the evaluation of study of enhanced spore decontamination technologies. *Applied and Environmental Microbiology*. 2016.
58. Blau N. Phénylcétonurie 2012 [14/01/17]. Available from: http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=FR&Expert=716.
59. Scriver CR. A Simple Phenylalanine Method for Detecting Phenylketonuria in Large Populations of Newborn Infants, by Robert Guthrie and Ada Susi, *Pediatrics*, 1963;32:318–343. *Pediatrics*. 1998;102:236-7.
60. Defecte enzimatice ereditare in metabolismul aminoacizilor 2014. Available from: <http://www.studyinukraine.eu/ro/hereditary-enzyme-defects-in-amino-acid-metabolism/>.
61. Fernandes S, Labarde A, Baptista C, Jakutyte L, Tavares P, São-José C. A non-invasive method for studying viral DNA delivery to bacteria reveals key requirements for phage SPP1 DNA entry in *Bacillus subtilis* cells. *Virology*. 2016;495:79-91.
62. Farley M, Tu J, Kearns DB, Molineux IJ, Liu J. Ultrastructural analysis of bacteriophage Φ 29 during infection of *Bacillus subtilis*. *Journal of Structural Biology*. 2016.

63. Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques. Génomique et informatique : L'impact sur les thérapies et sur l'industrie pharmaceutique 1999-2000 [14/01/17]. Available from: <https://www.senat.fr/rap/o99-020/o99-020.html>.
64. Les vaccins génétiques ADN/ARN nu. Available from: http://biosol.free.fr/liens/vaccins2004/les_vaccins_adn-arn_nu.htm.
65. Aps LRMM, Diniz MO, Porchia BFMM, Sales NS, Moreno ACR, Ferreira LCS. *Bacillus subtilis* spores as adjuvants for DNA vaccines. *Vaccine*. 2015;33(20):2328-34.
66. Aps LRMM, Tavares MB, Rozenfeld JHK, Lamy MT, Ferreira LCS, Diniz MO. Bacterial spores as particulate carriers for gene gun delivery of plasmid DNA. *Journal of Biotechnology*. 2016;228:58-66.
67. Lee S, Belitsky BR, Brown DW, Brinker JP, Kerstein KO, Herrmann JE, et al. Efficacy, heat stability and safety of intranasally administered *Bacillus subtilis* spore or vegetative cell vaccines expressing tetanus toxin fragment C. *Vaccine*. 2010;28(41):6658-65.
68. Bagre T, Samandoulougou S, Traoré M, Illy D, Bsadjio-Tchamba G, Bawa-Ibrahim H, et al. Détection biologique des résidus d'antibiotiques dans le lait et produits laitiers de vache consommés à Ouagadougou, Burkina Faso. *Journal of Applied Biosciences*. 2015;87(1):8105-12.
69. FDA. Generally Recognized as Safe notice for *Bacillus subtilis*. 2014.



Serment de Galien

Je jure en présence des maîtres de cette faculté :

- *D'honorer ceux qui m'ont instruite dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
- *D'exercer ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé publique, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.*
- *D'être fidèle dans l'exercice de la pharmacie à la législation en vigueur, aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- *De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession, de ne jamais consentir à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.*
- *Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, que je sois méprisée de mes confrères si je manquais à mes engagements.*



قسم الصيدلي

بسم الله الرحمن الرحيم

أقسم بالله العظيم

- ◀ أن أراقب الله في مهنتي
- ◀ أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بالجميل وأبقى دوما وفيا لتعاليمهم.
- ◀ أن أزاول مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأن لا أقصر أبدا في مسؤوليتي وواجباتي تجاه المريض وكرامته الإنسانية.
- ◀ أن ألتزم أثناء ممارستي للصيدلة بالقوانين المعمول بها وبأدب السلوك والشرف، وكذا بالاستقامة والترفع.
- ◀ أن لا أفشي الأسرار التي قد تعهد إلى أو التي قد أطلع عليها أثناء القيام بمهامي، وأن لا أوافق على استعمال معلوماتي لإفساد الأخلاق أو تشجيع الأعمال الإجرامية.
- ◀ لأحضى بتقدير الناس إن أنا تقيدت بعهودي، أو احتقر من طرف زملائي إن أنا لم أف بالتزاماتي.

والله على ما أقول شهيد

جامعة محمد الخامس - الرباط
كلية الطب والصيدلة بالرباط

أطروحة رقم: 24

سنة : 2017

باسيلوس سوبنتيليس: الخصائص والاستعمالات

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم :

من طرفه

الآنسة: سوريا بوحيري

المزودة في: 01 يناير 1992 بوادي زم

لنيل شهادة الدكتوراه في الصيدلة

الكلمات الأساسية: باسيلوس سوبنتيليس - تشوير - استعمال - صناعة -
بحث علمي.

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيس

مشرف

أعضاء

السيد: ميمون زوهدي
أستاذ في علم الأحياء الدقيقة
السيد: ياسين سخسوخ
أستاذ في علم الأحياء الدقيقة
السيدة: سعيدة طلال
أستاذة في الكيمياء الحيوية
السيدة: سكينه الحمزاوي
أستاذة في علم الأحياء الدقيقة
السيد: عبد القادر لعثيريس
أستاذ في الصيدلة الغالبية