

**UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP  
DE DAKAR**



**FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES**

**Département de chimie**

**OPTION : chimie et biochimie des produits  
naturels**

**Mémoire de spécialité en vue d'obtenir le diplôme de Master II de  
chimie et biochimie des produits naturels**

**Sujet :**

**Infections nosocomiales, antibiorésistance :  
Cas de *Pseudomonas aeruginosa*  
Etats des lieux et perspectives de recherches**

Présenté par : Cheikh Ahmet Tidiane MBAYE le 26 Mars 2019

Devant le jury composé de :

Président : M Mouhamadou FOFANA maître de conférences titulaire FST-UCAD

Examineur : M Bédié MBOW maître de conférences assimilé FST-UCAD

Directrice : Mme Fatou Dieng FAYE maître conférences titulaire FST-UCAD

**Année académique : 2017-2018**

Infections nosocomiales, antibiorésistance :  
Cas de *Pseudomonas aeruginosa*  
Etats des lieux et perspectives de recherches

## **Dédicace :**

Je rends grâce à Dieu le tout puissant qui nous a donné la santé et le courage de mener à bien cette formation ;

Je dédie ce mémoire :

- A mes parents pour tous les sacrifices consentis à mon égard et l'amour que vous me portez. Ce travail est le vôtre ;
- A mes frères et sœurs, Awa Kane, Fatou Sow, Fatou Diaw, Ngane et Talla Mbaye. Que l'amour et la solidarité qui nous lient demeurent à jamais ;
- A mon oncle Cheikh Tidiane Kane. Je suis très reconnaissant pour tout ce que vous avez fait pour moi ;
- A mon cousin et tuteur Alioune Badara Mbaye pour son soutien qu'il me porte ainsi qu'à tous les membres de ma famille;
- A mes amis de toujours Ndiamé Faye, Dakhirou Sy, Alassane Dembalé, Ibou thiaw, Elimane Ndiaye, Awa Diané, Baye Niass Kébé...pour toutes les années de complicité.

## **REMERCIEMENTS :**

### **A ma directrice de mémoire Mme Fatou Dieng FAYE**

Vous m'avez fait le grand honneur d'accepter de me guider dans ce travail avec bienveillance et rigueur. Votre attachement au travail bien fait est l'objet de ma considération. Je garde un excellent souvenir de la qualité de l'enseignement que vous nous avez prodigué.

Veillez trouver dans ce travail, madame, le témoignage de ma profonde gratitude et l'expression de mes sentiments les plus respectueux.

### **Au président du jury M. Mouhamadou FOFANA**

Vous nous avez fait un grand honneur en acceptant de présider ce jury.

Votre disponibilité et la spontanéité avec laquelle vous avez répondu favorablement à notre demande, nous ont profondément touchés. Votre courtoisie force l'admiration de tous ceux qui vous côtoient.

Permettez-nous monsieur le président, de vous exprimer notre respectueuse considération et nos remerciements les plus sincères.

### **A l'examineur de ce mémoire M. Bédié MBOW**

Nous sommes très sensibles par l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger notre travail. Je vous suis très reconnaissant de la spontanéité et de l'amabilité avec laquelle vous avez accepté de juger ce travail.

Veillez trouver, chère monsieur, à travers ce modeste travail la manifestation de notre plus haute estime et de nos sentiments les plus respectueux.

## Table des matières

<b>Introduction</b> .....	1
<b>I. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dans les infections nosocomiales :</b> .....	2
<b>I.1. Caractères morphologiques de la bactérie</b> .....	2
<b>I.2. Caractères cultureux :</b> .....	3
<b>I.3. Caractères biochimiques</b> .....	3
<b>I.3.1. Métabolisme :</b> .....	3
<b>I.3.2. Production de pigments :</b> .....	4
<b>II. Les antibiotiques actifs sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i></b> .....	5
<b>II.1. Les bêta-lactamines</b> .....	5
<b>II.1.1. Structure chimique</b> .....	5
<b>II.1.2. Mode d'action des bêta-lactamines</b> .....	6
<b>II.2. Les fluoroquinolones</b> .....	6
<b>II.2.1. Structure chimique</b> .....	6
<b>II.2.2. Mécanisme d'action</b> .....	7
<b>II.2.2.1. Transport membranaire</b> .....	7
<b>II.2.2.1.1. Lipopolysaccharide : (LPS)</b> .....	7
<b>II.2.2.1.2. Les porines</b> .....	7
<b>II.2.2.2. La membrane cytoplasmique</b> .....	8
<b>II.3. La colistine</b> .....	8
<b>II.3.1. Structures des colistines</b> .....	8
<b>II.3.2. Mode d'action des colistines</b> .....	8
<b>III. La résistance des <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aux antibiotiques</b> .....	10
<b>III.1. La résistance naturelle</b> .....	10
<b>III.2. La résistance acquise</b> .....	10
<b>III.2.1. Système d'efflux actif</b> .....	11
<b>III.2.2. Imperméabilité de la membrane</b> .....	11
<b>III.2.3. Modification de la cible</b> .....	11
<b>III.2.4. Inactivation de l'antibiotique par des enzymes</b> .....	13
<b>IV. Synthèse des molécules concernées</b> .....	14
<b>IV.1. Les molécules de bêta-lactamine</b> .....	14
<b>IV.1.1. L'obtention des molécules de céphalosporines</b> .....	15
<b>IV.1.2. La biosynthèse des pénicillines</b> .....	17
<b>IV.2. Synthèse des fluoroquinolones : la ciprofloxacine</b> .....	18

<b>V.Cibles actuelles dans la recherche</b> .....	19
<b>V.1.Les inhibiteurs des bêta-lactamases</b> .....	19
<b>V.2.Les contournements des efflux actifs</b> .....	20
<b>V.3.Les inhibiteurs de l'efflux actif</b> .....	20
<b>V.3.1.Agents perméabilisant la membrane</b> .....	20
<b>V.3.2.Agents ciblant l'énergie de la pompe</b> .....	20
<b>V.4.Les inhibiteurs de la pompe d'efflux</b> .....	21
<b>V.4.1.Les Peptidomimétiques</b> .....	21
<b>V.4.2. Dérivés des quinolines</b> .....	21
<b>V.4.3.Dérivés des pyridopyrimidines et des arylpipérazines</b> .....	21
<b>V.5.Utilisation des peptides antimicrobiens</b> .....	22
<b>Conclusion :</b> .....	23

## Liste des figures :

<b>Figure 1 :</b> Paroi de la bactérie de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> [9].....	3
<b>Figure 2 :</b> Principales familles de bêta-lactamines [14].....	5
<b>Figure 3 :</b> Analogie entre le noyau bêta-lactame et le peptide R-D-alanyl-D-alanine [16] .....	6
<b>Figure 4 :</b> Structure de la fluoroquinolone [17].....	7
<b>Figure 5 :</b> Structure de la colistine [19].....	8
<b>Figure 6 :</b> Mécanisme d'action de la colistine [21].....	9
<b>Figure 7 :</b> Résistances aux antibiotiques [22].....	10
<b>Figure 8 :</b> Schéma d'inactivation des cibles [29] .....	12
<b>Figure 9 :</b> Schémas de la modification des LPS [31] .....	12
<b>Figure 10 :</b> Mécanisme d'inactivation des antibiotiques par des enzymes [22].....	13
<b>Figure 11 :</b> Différentes molécules de bêta-lactamines utilisées en thérapie [20].....	14
<b>Figure 12 :</b> Structure des céphalosporines [22].....	15
<b>Figure 13 :</b> Semi-synthèse de l'acide 7-aminocéphalosporanique[22] .....	16
<b>Figure 14 :</b> Schéma d'acylation de l'acide 7-amino céphalosporanique[22] .....	16
<b>Figure 15 :</b> Biosynthèse des pénicillines [34] .....	17
<b>Figure 16 :</b> Synthèse des Ciprofloxacines [35] .....	18
<b>Figure 17 :</b> Différentes stratégies envisageables pour inhiber l'efflux actif [20] .....	20
<b>Figure 18 :</b> Quelques exemples d'inhibiteurs de l'efflux actif [40] .....	22

## Liste des tableaux :

<b>Tableau 1 :</b> Différentes molécules actives sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> [20] .....	15
<b>Tableau 2 :</b> Différents inhibiteurs de bêta-lactamines [36].....	19

## **Liste des abréviations :**

**7-AC** : 7-amino cephalosporanique

**ACV** :Aminoadipyl-L-cystéinyl-D-valine

**ADN** : acide désoxyribonucléique

**BMR** : bactérie multi-résistante

**CCCP** : cyanideméta-chlorophenylhydrazone

**CHU** : centre hospitalier universitaire

**IN** : infections nosocomiales

**IPE** : inhibiteur de pompe d'efflux

**LP** : phospholipides

**LPS** : lipopolysaccharide

**MEVAG** : milieu pour l'étude de la voie d'attaque des glucides

**Mex** : multiple efflux

**MRSA** : *Staphulacoccus aureus* résistants aux methicilines

**OMP** : protéines de la membrane externe

**Opr** : porine

**PAM** : peptides antimicrobiens

**PABN** : phénylalanine arginyl  $\beta$ -naphthylamide

**PAVM** : pneumonies acquises sous ventilation mécanique

**PBP** : Penicillin-Binding-Proteins

**PLP** : protéines liants les pénicillines

**RND** : (resistance / nodulation /cell division)

**VIH** : virus de l'immunodéficience humaine

## **Introduction**

Les infections nosocomiales ou infections hospitalières sont des infections acquises dans un établissement de soins public ou privé et qui n'étaient pas présentes en incubation ni à l'admission. Selon les données de la littérature, 5 à 10 % des malades hospitalisés contractent une infection nosocomiale dans le monde lors de leur séjour hospitalier (Brun-Buisson C., Girou E. Med Sci, 2000, 16(89) :892–899).

Ces infections nosocomiales constituent aujourd'hui un véritable problème de santé publique du fait de leur fréquence croissante et de leur gravité due à la multirésistance des germes en cause sans compter l'aspect médico-légal qu'elles soulèvent (Bocquet J.P. Bull Acad Natl Med 1993;177(5):739–749.).

Les infections nosocomiales peuvent concerner tous les types d'agents infectieux mais elles sont plus fréquemment bactériennes et plus occasionnellement virales, fongiques ou parasitaires. Les trois micro-organismes responsables de la majorité des infections nosocomiales sont *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* (Beaucaire G. Rev du Prat, 1997, 47(2) : 201–209).

Dans l'enquête d'incidence des bactéries multirésistantes responsables d'infections nosocomiales réalisée en 2007 au centre hospitalier universitaire(CHU) de Fann, *Pseudomonas aeruginosa* représentait le 2<sup>e</sup> germe après les Entérobactéries sécrétrices de bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE) avec un taux de 13% (Dia N.M, Ka R., Dieng C et al. Med Mal infect; 2008; 38: 270-274) et le premier agent infectieux nosocomial en terme de mortalité.

*Pseudomonas aeruginosa* autrement appelé bacille pyocyanique (bacille du pus bleu) est un bacille à Gram négatif non fermentaire ubiquitaire retrouvé dans l'environnement, le sol, l'eau et les autres endroits humides.

Si la sévérité des infections nosocomiales à *P. aeruginosa* est conditionnée par la virulence propre à l'espèce et par les comorbidités des patients concernés, elle dépend également de la capacité du pathogène à accumuler des mécanismes de résistance aux antibiotiques. Ce qui entraîne des difficultés thérapeutiques.

Après avoir répertoriés les différentes résistances observées sur *Pseudomonas aeruginosa*, nous ferons d'abord l'état des lieux des molécules utilisées contre cette bactérie : modes d'actions et méthodes d'obtentions, ensuite nous ferons une revue des perspectives de recherche.

## **I. *Pseudomonas aeruginosa* dans les infections nosocomiales :**

Dans les études françaises [1] et allemands [2] *E. coli* était le bacille à Gram négatif le plus fréquent avec respectivement un pourcentage de 59,7% et 56,5% des souches productrices de BLSE. *Pseudomonas aeruginosa* venait en deuxième position avec un taux de 13,4%. Néanmoins Kesah au Nigéria [3] et Atif en Algérie [4] ont rapporté respectivement des taux de 16,8% et 21,4%.

Au Sénégal, *Pseudomonas aeruginosa* représentait le premier germe isolé chez les patients admis en réanimation à l'hôpital Le Dantec de Dakar [5].

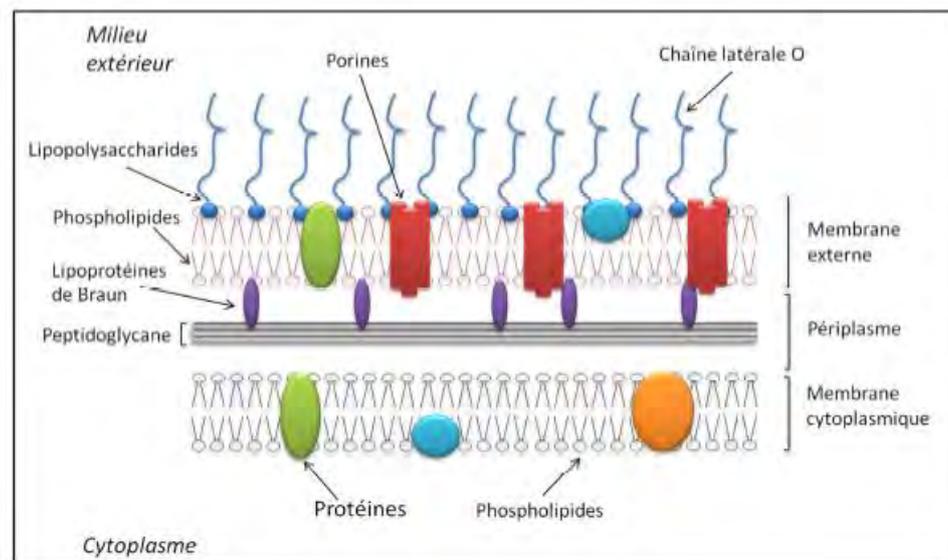
Les personnes les plus exposées dans les hôpitaux sont les patients : ayant subi une opération de chirurgie ; les malades exposés à un dispositif invasif tel qu'une sonde urinaire, un cathéter ou une intubation ; les immunodéprimés par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) ou par une chimiothérapie. Notons que les personnes jeunes et âgées sont plus exposées. Les grands brûlés sont très exposés au risque souvent mortel d'infections cutanées. *Pseudomonas aeruginosa* cause environ 40 % des décès liés à la pneumonie sous ventilation assistée [6].

### **I.1. Caractères morphologiques de la bactérie**

*Pseudomonas aeruginosa* est un bacille à Gram négatif en forme de bâtonnet de 0,5 à 0,8  $\mu\text{m}$  de diamètre sur 1 à 3  $\mu\text{m}$  de long mobile grâce à un flagelle polaire dépourvu de spores et de capsules [5]. Sa paroi est constituée d'une membrane externe, d'un espace périplasmique et du peptidoglycane. La membrane externe est une bicouche asymétrique constituée du lipopolysaccharide (LPS) et de phospholipides (PL) où se trouvent de nombreuses protéines telles que les porines [7].

Chez *Pseudomonas aeruginosa*, on distingue plusieurs types de porines qui sont des protéines membranaires formant des canaux permettant la diffusion de petites molécules hydrophiles à travers la membrane des cellules. Parmi ces porines on peut en citer Opr D (D1 et D2), Opr E (E1 et E2), Opr H (H1 et H2), Opr G et Opr F (qui représentent la majorité des porines dans cet organisme) [8].

La membrane de *Pseudomonas aeruginosa* est aussi caractérisée par l'existence de nombreuses pompes d'efflux (transporteurs membranaires) qui jouent un rôle important dans l'injection des agents antimicrobiens.



**Figure 1 :** Paroi de la bactérie de *Pseudomonas aeruginosa* [9]

## I.2.Caractères cultureux :

*Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie aux besoins très limités. Croissant sur des milieux synthétiques simples, elle pousse facilement en 24 heures à 37°C. Elle peut croître entre 5 et 42°C avec un optimum à 30°C. Cependant, elle supporte de moindre variation de pH (6,5 à 7,5) avec un pH optimal à 7,2[10].

*Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie aérobie possédant un métabolisme oxydatif mais en absence d'oxygène elle peut utiliser les nitrates comme accepteur d'électrons. Elle est caractérisée par une odeur florale. Un milieu sélectif à base cétrimide (ammonium quaternaire) permet la recherche et l'isolement de *Pseudomonas aeruginosa* à partir des produits biologiques (selles, urines, pus, liquide céphalo-rachidien...) en bactériologie médicale [11].

## I.3.Caractères biochimiques

### I.3.1.Métabolisme :

*Pseudomonas aeruginosa* n'est pas capable de fermenter les sucres mais peut les attaquer (le glucose en particulier) par voie oxydative entraînant une acidification du milieu. Les milieux MEVAG (milieu pour l'étude de la voie d'attaque des glucides) ou de Hugh et Leifson sont spécialement destinés à mettre cette propriété en évidence.

Comme pour la plupart des *Pseudomonas*, *P. aeruginosa* possède des enzymes comme l'oxydase, le nitrate-réductase et l'argine-dihydrolase[12].

### **I.3.2. Production de pigments :**

*Pseudomonas aeruginosa* produit deux types de pigments (fluorescent ou non) qui servent à son identification. Ils peuvent être mis en évidence dans deux milieux de culture différents. Le milieu King A pour mettre en évidence la pyocyanine et le milieu King B pour la pyoverdine.

- Pyoverdine : pigment jaune-vert fluorescent, soluble dans l'eau, insoluble dans le chloroforme.
- Pyocyanine (phénazinique) : pigment bleu-vert non fluorescent soluble dans l'eau et le chloroforme. Cette espèce est la seule à le produire [12].

## II. Les antibiotiques actifs sur *Pseudomonas aeruginosa*

Le mot antibiotique vient du grec «anti» (contre) et «bios» (vie) et signifie «contre les organismes vivants». Les antibiotiques se définissent comme des molécules capables d'inhiber la croissance ou même de tuer des bactéries sans affecter l'hôte (cellules eucaryotes) [13]. Il peut être, une substance naturelle d'origine biologique élaborée par un organisme vivant, une substance chimique produite par synthèse ou substance semi synthétique obtenue par modification chimique d'une molécule de base naturelle ayant une activité antibactérienne. Parmi eux, les bêta-lactamines, la fluoroquinolone et la colistine sont les plus actifs contre cette bactérie.

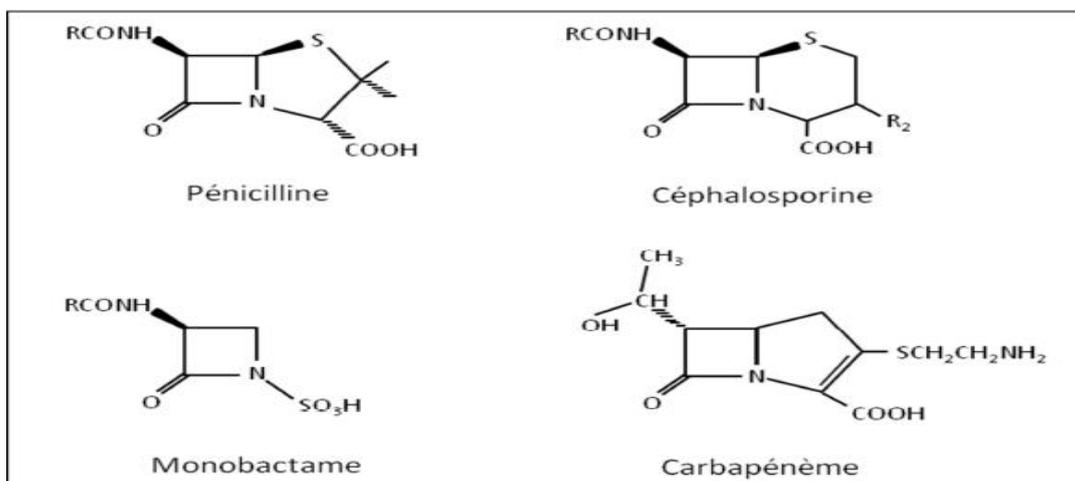
### II.1. Les bêta-lactamines

#### II.1.1. Structure chimique

Les bêta-lactamines sont des antibiotiques ayant en commun la présence d'un cycle bêta-lactame à quatre pièces contenant une liaison amide tendue qui est plus réactive qu'une fonction amide classique. En fonction de l'hétérocycle associé au noyau bêta-lactame, on distingue quatre familles de bêta-lactamines (**Figure 2**) : les pénicillines, les céphalosporines, les carbapénèmes et les monobactames.

Dans le cas des pénicillines et des céphalosporines, le noyau est fusionné respectivement à un cycle thiazolidine et un cycle dihydrothiazine. Les monobactames ne possèdent que le seul cycle bêta-lactame et portent un groupement sulfonate au lieu du COOH présent chez les pénicillines et les céphalosporines. Pour les carbapénèmes leur cycle de base diffère de celui des pénicillines par la présence d'une double liaison et l'absence de soufre endocyclique.

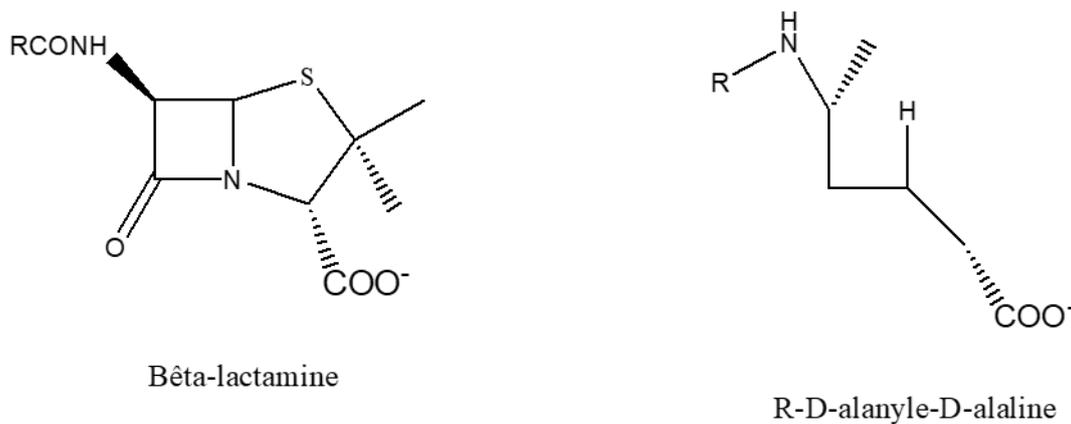
Chez les bêta-lactamines, la modification d'une ou de plusieurs chaînes latérales permet de varier le spectre d'action de ces antibiotiques.



**Figure 2** : Principales familles de bêta-lactamines [14]

### II.1.2. Mode d'action des bêta-lactamines

Les bêta-lactamines agissent au niveau de la paroi bactérienne. La membrane externe est constituée d'une barrière hydrophobe à cause de sa nature lipidique. Les bêta-lactamines qui sont des molécules hydrophiles doivent traverser la membrane externe à travers les porines. Les bêta-lactamines sont des analogues structuraux du dipeptide D-Alanyl-D-Alanine (D-Ala-D-Ala), présent à l'extrémité C-terminale du substrat naturel des DD-peptidases (**Figure 3**). Ces enzymes, aussi appelées (*Penicillin-Binding-Proteins*) PBP plus connues sous le nom de protéine liant les pénicillines (PLP) sont impliquées dans la formation du peptidoglycane qui est le composant majeur de la paroi bactérienne. Ainsi, en se liant de manière covalente au site actif de ces enzymes, les bêta-lactamines inhibent la synthèse du peptidoglycane [16]. Ce qui conduit à une lyse bactérienne.

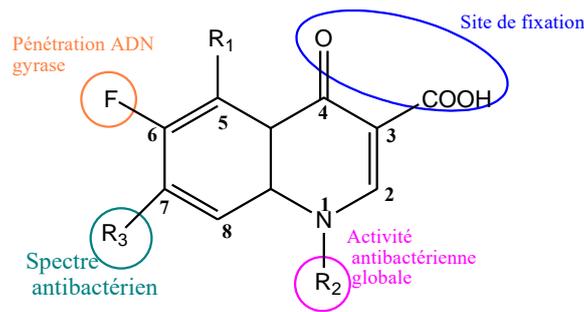


**Figure 3 :** Analogie entre un bêta-lactamine et le peptide R-D-alanyl-D-alanine [16]

## II.2. Les fluoroquinolones

### II.2.1. Structure chimique

Elles sont des quinolones substituées en position 6 par un atome de fluor (**figure 4**). Elles sont des antibiotiques de synthèse à pouvoir bactéricide rapide comme la Ciprofloxacine. Ces antibiotiques ont pour cible les topoisomérases bactériennes de type 2 : l'acide désoxyribonucléique (ADN) gyrase et la topoisomérase 4. Ces deux enzymes assurent des fonctions distinctes mais cruciales pour le maintien de la topologie de l'ADN.



**Figure 4 :** Structure de la fluoroquinolone [17]

## II.2.2. Mécanisme d'action

Le mode d'action des fluoroquinolones repose sur la capacité des molécules à traverser la membrane bactérienne et à inhiber la synthèse de l'ADN entraînant ainsi la mort cellulaire.

### II.2.2.1. Transport membranaire

La pénétration membranaire est très complexe pour *Pseudomonas aeruginosa*. Toutefois, il existe deux voies de pénétration des agents bactériens : les porines et la voie auto-induite.

La paroi bactérienne des *Pseudomonas aeruginosa* comprend deux éléments importants : le lipopolysaccharide (LPS) et les protéines porinaires. Avant d'atteindre le cytoplasme, la fluoroquinolone traverse le LPS, les protéines de la paroi bactérienne et la membrane cytoplasmique.

#### II.2.2.1.1. Lipopolysaccharide : (LPS)

Les LPS également appelés lipoglycane ou endotoxines sont des grosses molécules constituées d'un lipide, d'un polysaccharide composé d'un antigène O, d'un noyau externe et d'un noyau interne relié par une liaison covalente. L'ensemble est maintenu par la présence d'ions métalliques bivalents comme l'ion magnésium qui permet la formation de pont entre les différentes chaînes du LPS. Ce dernier se fixe de façon covalente au peptidoglycane. Les fluoroquinolones sont capables de traverser le LPS en chélatant les ions magnésium ( $Mg^{2+}$ ), désorganisant cette structure et faisant apparaître des zones hydrophobes (voie auto-induite)[17].

#### II.2.2.1.2. Les porines

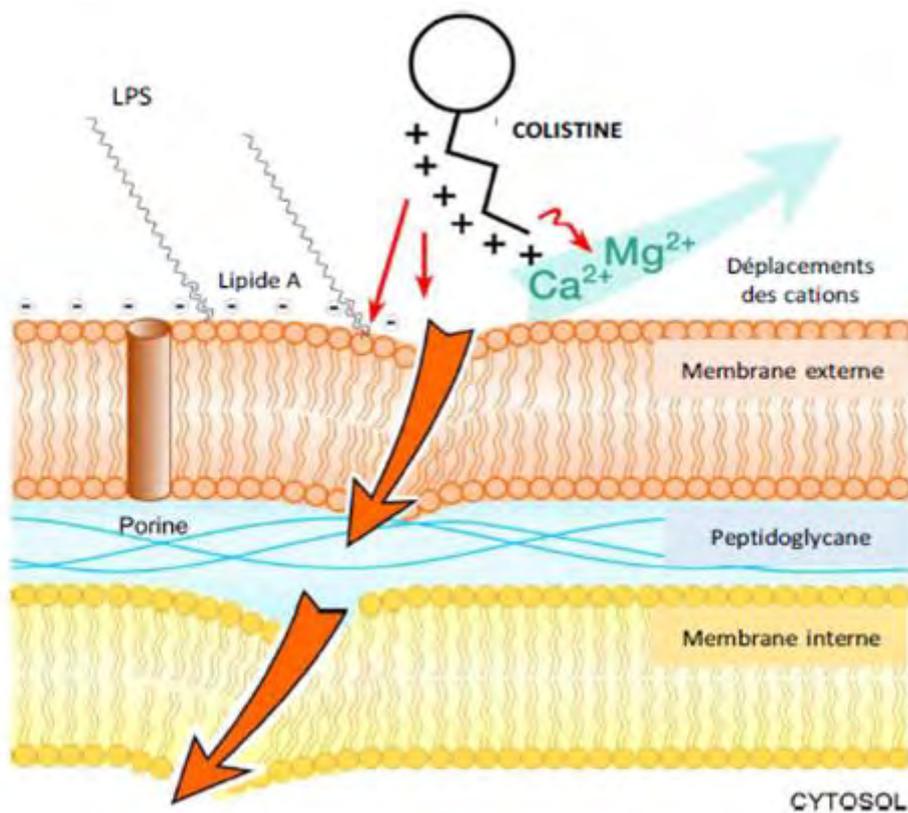
Les porines se trouvant au niveau de la paroi bactérienne chez *Pseudomonas aeruginosa* permettent le passage des molécules hydrophiles. Les fluoroquinolones étant majoritairement hydrophiles, elles utilisent la voie des porines. Elles utilisent principalement la porine OmpF et occasionnellement les porines OmpC et PhoE[18]. Mais ce mécanisme ne leur est pas



Cette liaison entraîne un déplacement des cations par interaction électrostatique ce qui provoque une désorganisation de la structure membranaire avec la libération du LPS [20].

Grâce à sa chaîne d'acide gras, elle s'insère dans la membrane externe. Ceux-ci entraînent une altération de la perméabilité de cette membrane externe pour permettre à la colistine d'atteindre la membrane interne. La désorganisation de cette membrane interne se produit par une rupture de l'intégrité de la bicouche de phospholipides [9] (figure 6).

La lyse de cette membrane entraîne le relargage du contenu intracellulaire et la mort de la bactérie [21].



**Figure 6 :** Mécanisme d'action de la colistine [21]

Ces trois familles d'antibiotiques représentent les principales molécules anti-*Pseudomonas* et sont souvent utilisées pour lutter contre cette infection. Par contre, la consommation abusive de ces antibiotiques permet à la bactérie de développer des résistances contre ces molécules.

### III. La résistance des *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques

*Pseudomonas aeruginosa* est caractérisé par son aptitude particulière à acquérir et cumuler de nombreux et variés mécanismes de résistance. Ces résistances peuvent être naturelles comme elles peuvent être acquises.

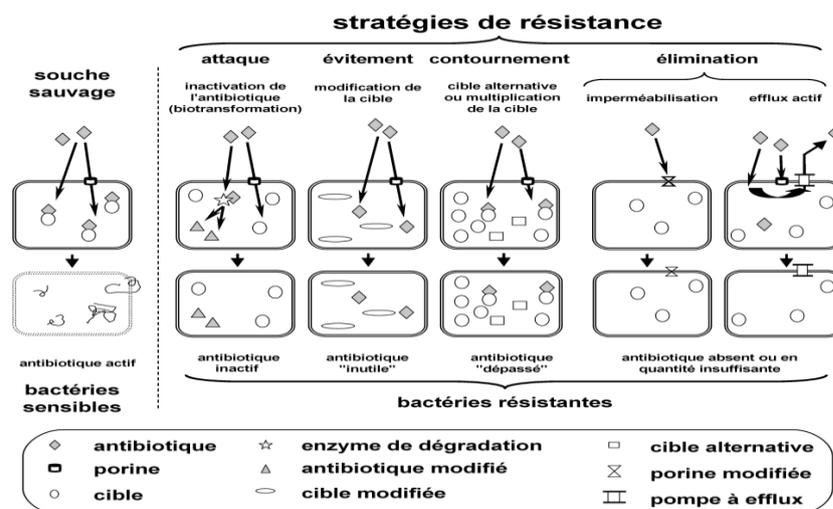
#### III.1. La résistance naturelle

La résistance naturelle ou intrinsèque est un caractère d'espèce qui touche toutes les souches de l'espèce considérée (phénotype sauvage) [22]. Elle se traduit par une faible perméabilité de la membrane externe aux différents antibiotiques. Les LPS et les protéines de la membrane externe seraient responsables de cette obstruction envers les bêta-lactamines, les quinolones et les colistines [23].

#### III.2. La résistance acquise

Outre les résistances naturelles des bactéries, il existe un nombre important de mécanismes de résistances développées par les bactéries appelé la résistance acquise. La résistance acquise relève d'un mécanisme biochimique dont le support est génétique et elle peut être transmissible à d'autres bactéries. Les modes de résistances les plus connues sont au nombre de quatre (**figure 7**) :

- ✓ inactivation ou la modification du composé par un enzyme ;
- ✓ diminution de la perméabilité membranaire ;
- ✓ efflux actif ;
- ✓ modification de la cible visée [24].



**Figure 7** : Résistances aux antibiotiques [22]

### III.2.1. Système d'efflux actif

L'efflux actif est un mécanisme par lequel les cellules rejettent à l'extérieur des composés qui peuvent être toxiques comme les antibiotiques. Ce système est efficace grâce aux protéines transmembranaires ancrées dans la membrane plasmique mais également dans la membrane externe de la bactérie appelée pompe d'efflux. Pour fonctionner les pompes à efflux utilisent de l'énergie. Les systèmes les plus fréquemment rencontrés chez *Pseudomonas aeruginosa* sont de type (*Resistance / Nodulation / cell division*) RND [25].

### III.2.2. Imperméabilité de la membrane

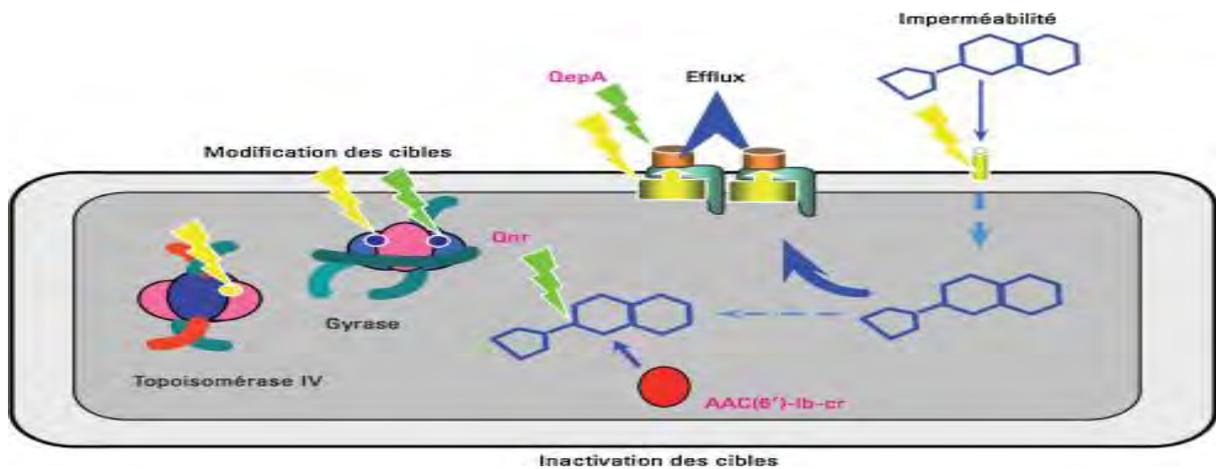
Chez *Pseudomonas aeruginosa* il existe deux types de porines qui ont une fonction importante pour permettre le passage des bêta-lactamines : les porines Opr F et Opr D. Cependant Opr F existe sous deux conformations : une conformation fermée monomérique et une conformation ouverte trimérique. Seule une faible proportion d'Opr F (5 %) est exprimée en conformation ouverte ce qui réduit la perméabilité membranaire [26].

L'OprD quant à elle, une porine spécifique qui contribue à l'entrée d'acides aminés basiques et de bêta-lactamines de faible poids moléculaire notamment les carbapénèmes (imipénème). Opr D est un élément majeur de la résistance aux antibiotiques de *P. aeruginosa* car en présence de carbapénèmes son expression est réprimée (inactivation du promoteur, synthèse de protéines tronquées, etc.) [27].

### III.2.3. Modification de la cible

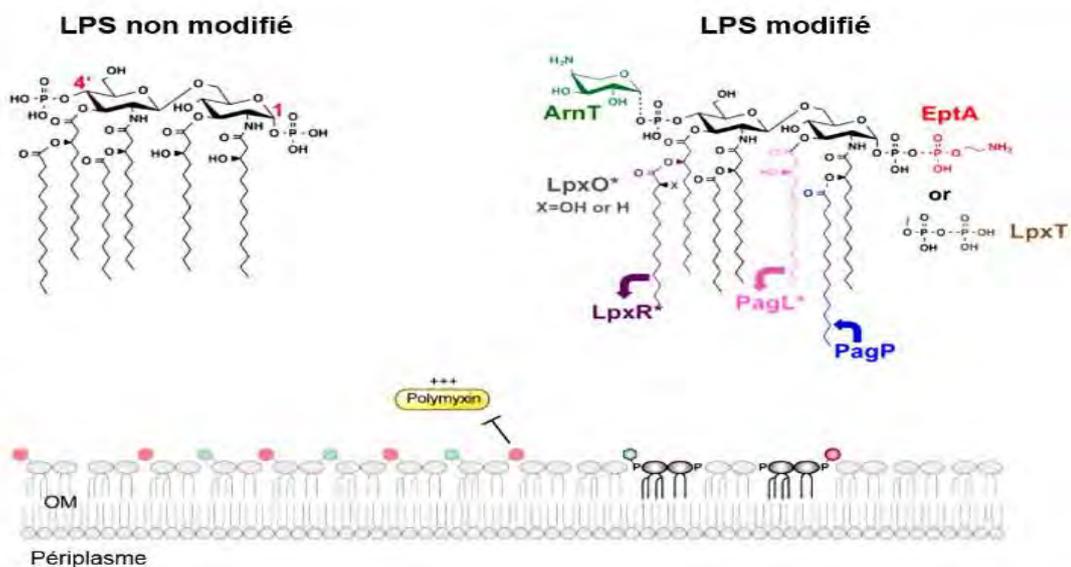
En effet, pour être efficace, un antibiotique doit pouvoir interagir avec sa cible. Les bactéries sont capables de développer des résistances en incorporant des mutations au sein de gènes codant pour des protéines cibles, empêchant ainsi l'interaction avec l'antibiotique.

C'est le cas de la résistance au fluoroquinolone. Cette dernière est liée à la mutation des enzymes cibles (les topoisomérases). La résistance liée à la mutation de la gyrase GyrA est due à la substitution de certains résidus tels que la glycine 83 qui est remplacée par une alanine ou encore de l'aspartate 94 qui est remplacé par une asparagine, une alanine ou une glycine [28]. Ces modifications semblent minimales mais elles sont suffisantes pour modifier la conformation de l'enzyme en empêchant ainsi la fixation de l'antibiotique tout en conservant une protéine fonctionnelle (**figure 8**).



**Figure 8 :** Schéma d'inactivation des cibles [29]

La résistance par modification de la cible passe également par la surexpression de certains gènes régulateurs qui contribuent à protéger les cibles de l'action des antibiotiques. Chez *P. aeruginosa* la protéine de signalisation PmrD est surexprimée en réponse à des signaux environnementaux, inhibant ainsi la déphosphorylation de la protéine régulatrice PmrA par la protéine senseur PmrB. Les gènes régulés par PmrA et PmrB, codant pour des enzymes de modification du lipide A (LPS) notamment ArnT et EptA, sont par conséquent exprimés de façon continue et constitutive, conduisant à une modification du LPS par addition de groupements tels que le 4-amino-4-desoxy-L-arabinose (L-Ara4N) ou le phosphoethanolamine (pEtN) (**figure 9**). Ces groupements réduisent la charge négative du LPS et minimisent la fixation des antibiotiques cationiques, rendant ainsi la bactérie résistante aux colistines [30].

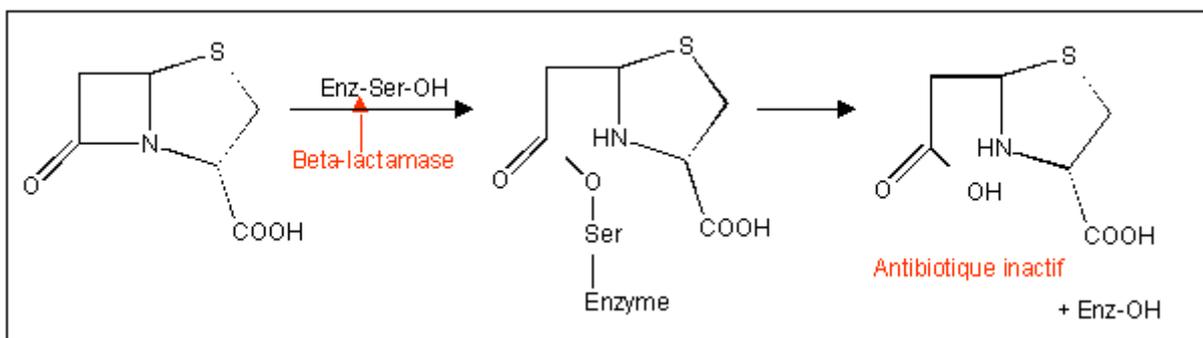


**Figure 9 :** Schémas de la modification des LPS [31]

### III.2.4. Inactivation de l'antibiotique par des enzymes

Le mécanisme le plus courant de résistance aux bêta-lactamines consiste dans la production par les bactéries d'enzymes hydrolysant l'antibiotique appelées bêta-lactamases. Ces dernières sont des enzymes bactériennes qui hydrolysent la liaison amide du cycle bêta-lactame des bêta-lactamines pour donner un acyl-enzyme qui sera ensuite dégradé en acide inactif. L'hydrolyse irréversible du noyau bêta-lactame entraîne alors l'inactivation de l'antibiotique et la perte totale de son activité antibactérienne (**figure10**) [32].

L'enzyme secrétée peut s'agir de protéase à sérine active (Enz-Ser-OH) qui se lie aux bêta-lactamines avec plus d'affinité que les PLP. Comme les PLP, ils hydrolysent la liaison amide du cycle bêta-lactame pour former un acyl-enzyme mais la différence majeure entre les 2 types d'enzymes consiste dans la vitesse avec laquelle l'acyl-enzyme est hydrolysé. En effet, si les PLP ne sont capables d'hydrolyser qu'un bêta-lactame par heure, les bêta-lactamases les plus efficaces en hydrolysent 1000 par seconde, rendant l'antibiotique totalement inactif et régénère l'enzyme pour une nouvelle réaction d'hydrolyse.



**Figure 10 :** Mécanisme d'inactivation des antibiotiques par des enzymes [22]

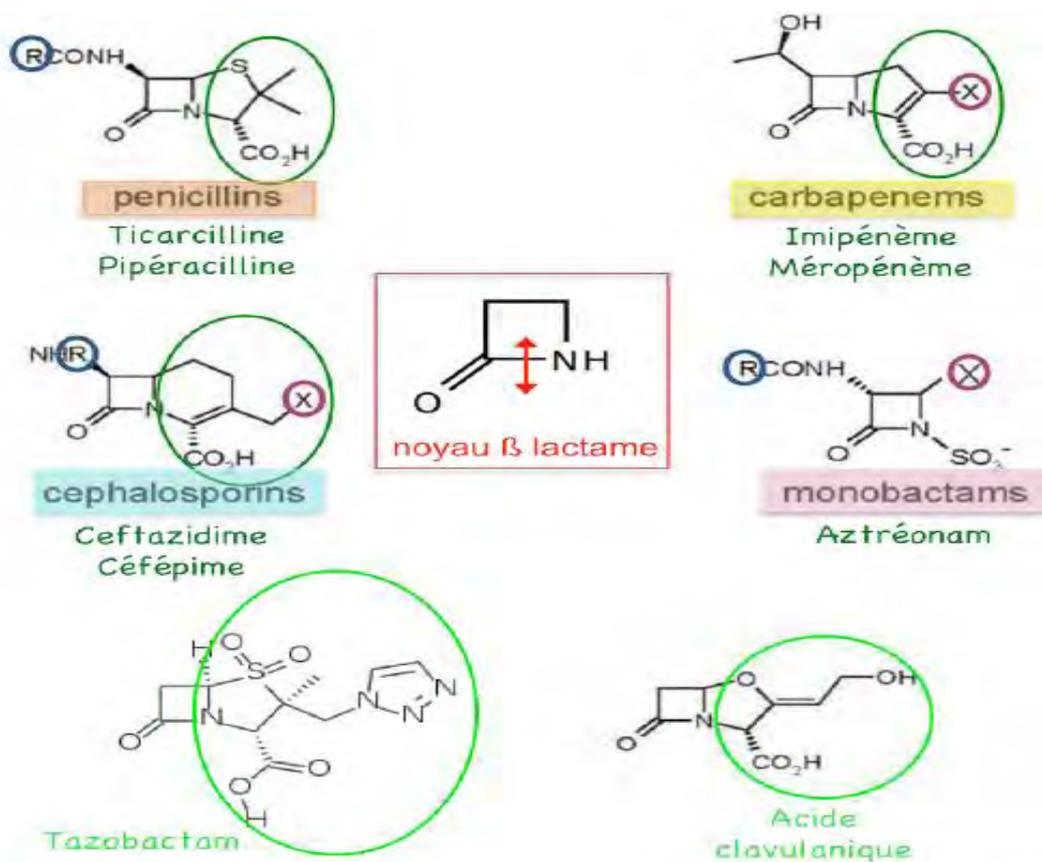
#### IV.Synthèse des molécules concernées

On peut obtenir des molécules d'antibiotiques par des méthodes de synthèse ou par une méthode de semi synthèse.

##### IV.1.Les molécules de bêta-lactamine

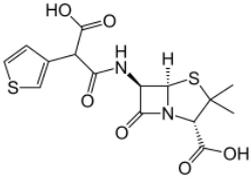
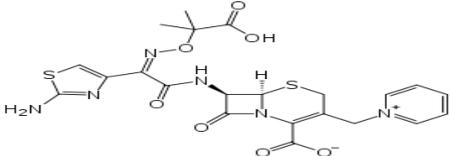
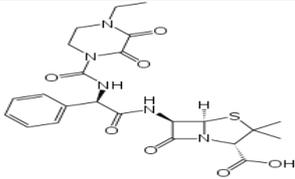
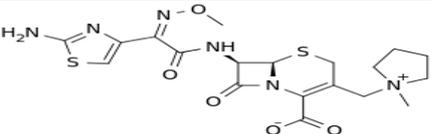
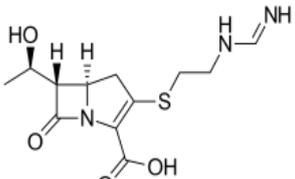
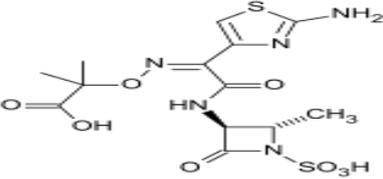
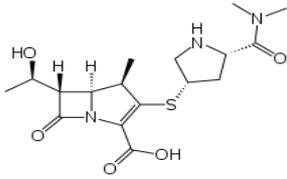
Ces molécules sont obtenues par fermentation. On utilise la technique classique de fermentation en cascade. On réactive d'abord la souche conservée par culture en flacon qui servira d'inoculum pour un fermenteur de petite contenance, lui-même étant ensuite utilisé pour ensemencher une fermentation de plus grande capacité et ainsi de suite jusqu'à l'ensemencement d'un biofermenteur industriel pour la production.

Les molécules les plus utilisées (**figure 11**) de la famille des bêta-lactamines sont : pénicillines (Ticarcilline et Pipéracilline), céphalosporines (Ceftazime et Céfépime), carbapénème (Imipénème et Méropénème) et monobactame (Aztréonam).



**Figure 11 :** Différentes molécules de bêta-lactamines utilisées en thérapie [20]

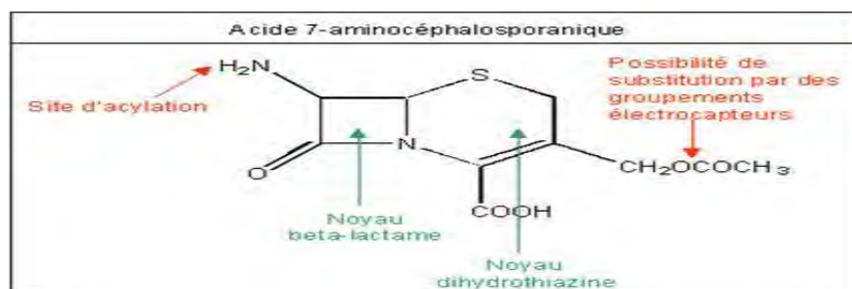
Le (**tableau2**) donne la structure chimique des molécules concernées.

Antibiotique	Molécules	Antibiotique	Molécules
Ticarcilline		Ceftazidime	
Pipéracilline		Céfépime	
Imipenème		Aztréonam	
Méropénème			

**Tableau 1 :** Différentes molécules actives sur *Pseudomonas aeruginosa* [20]

#### IV.1.1.L'obtention des molécules de céphalosporines

Les céphalosporines ont pour noyau commun l'acide 7-amino céphalosporanique (**figure 12**). La substitution du carbone 3 par des groupements électrocapteurs permet une meilleure délocalisation des électrons au niveau du cycle bêta-lactame rendant en principe les céphalosporines plus actives vis-à-vis des transpeptidases en comparaison avec les pénicillines.



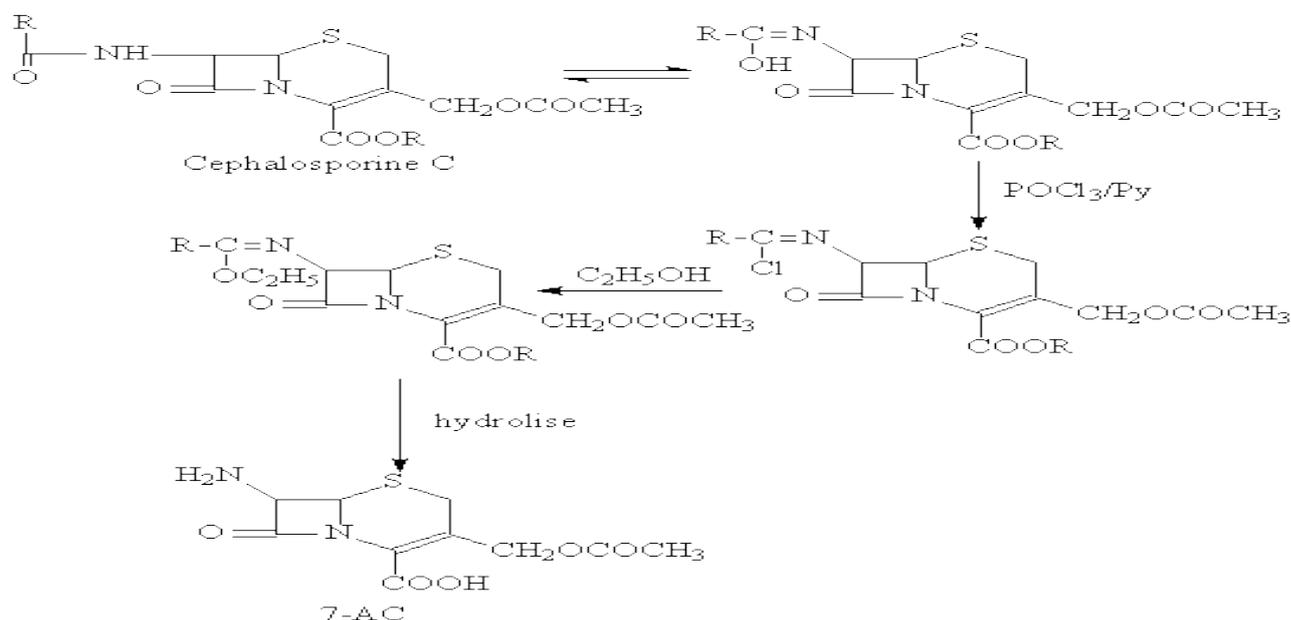
**Figure 12 :** Structure des céphalosporines [22]

Pour obtenir des céphalosporines, on procède par deux étapes:

1<sup>er</sup> étape : la semi-synthèse de l'acide 7-aminocéphalosporanique (7-AC)

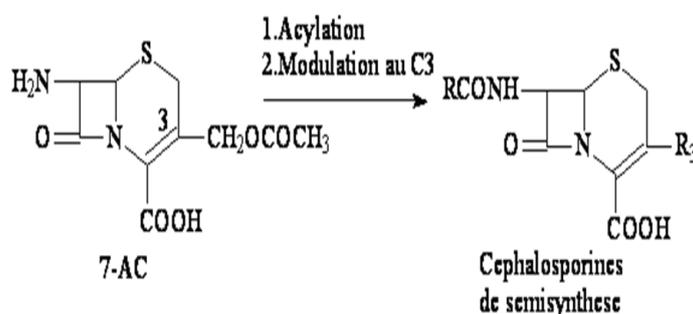
2<sup>e</sup> étape : l'acylation du 7-AC et modulation du C<sub>3</sub>.

La semi-synthèse se fait en trois procédures. Après la tautomérisation des céphalosporines C qui sont des antibiotiques naturels issus de la bactérie *Cephalosporium acremonium* on passe par une réaction de substitution du groupement alcool par un atome de chlore par l'intermédiaire d'un trichlorure phosphoryle en présence de la pyridine ensuite on ajoute de l'éthanol enfin on hydrolyse le produit (**figure13**).



**Figure 13 :** Semi-synthèse de l'acide 7-aminocéphalosporanique[22]

La deuxième étape consiste à l'acylation du 7AC. Pour effectuer cette acylation on peut passer par la réaction Schotten-Baumann en utilisant un chlorure d'acyle. La dernière étape consiste à mettre un ammonium quaternaire pour qu'il substitue l'éthoxyde (**figure14**).



**Figure 14 :** Schéma d'acylation de l'acide 7-amino céphalosporanique[22]

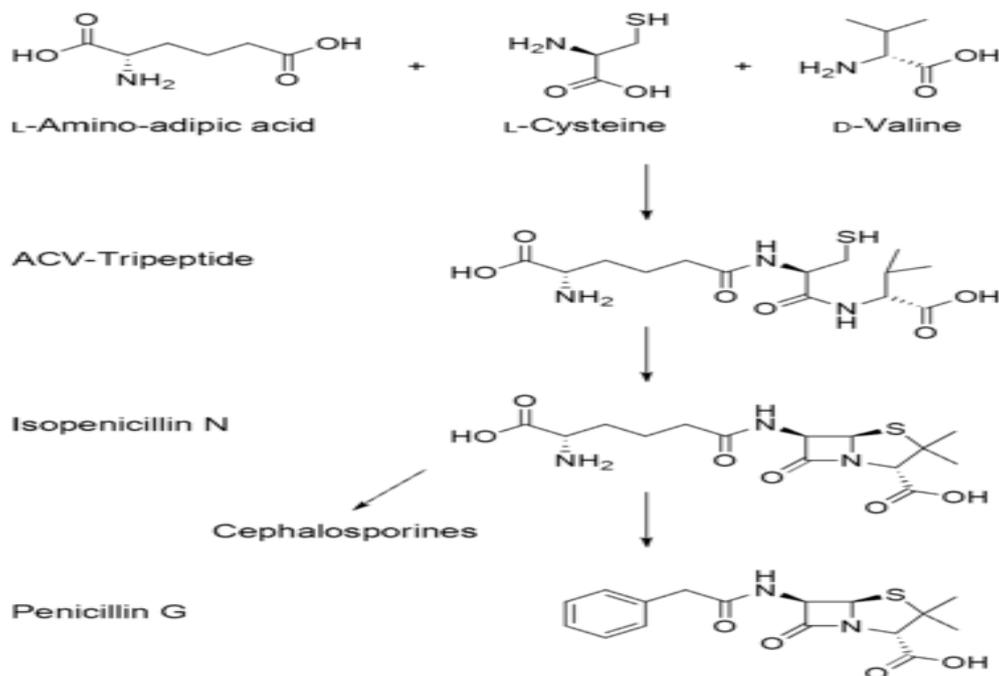
#### IV.1.2. La biosynthèse des pénicillines

Les pénicillines sont la molécule primaire pour les traitements d'appoint contre les bactéries. Leur biosynthèse est souvent divisée en trois étapes importantes. La première étape de leur biosynthèse est la formation d'un tripeptide dit Aminoadipyl-L-Cystéinyl-D-valine ACV obtenu par condensation de ces 3 acides aminés. Elle est catalysée par une enzyme nommée ACV synthétase.

A partir du tripeptide ACV, un composé bicyclique est ensuite formé : il s'agit de l'isopénicilline N. Cette cyclisation est assez complexe et fait intervenir une enzyme nommée isopénicilline synthétase. Cette molécule est la molécule précurseur des pénicillines et des céphalosporines. Mais les voies de biogenèse divergent à ce niveau.

Les pénicillines sont obtenues par une réaction de transamidification réalisée grâce à des acyltransférases. L'acide aminoadipique est alors remplacé par un acide organique propre à chaque pénicilline, via l'obtention de l'acide 6-aminopénicillanique.

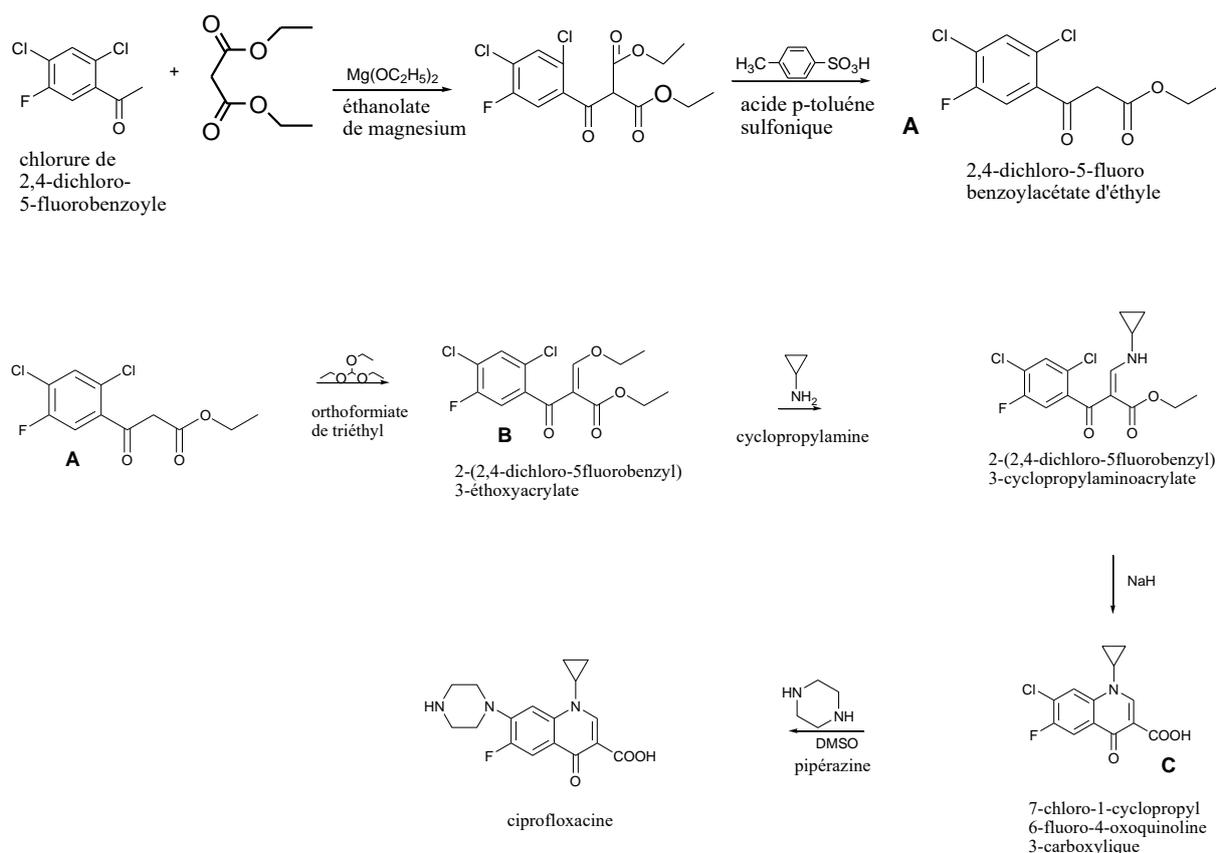
Pour les *céphalosporines*, après une isomérisation en acide pénicillique N, un agrandissement du cycle est réalisé grâce à des enzymes propres à certaines espèces de *Cephalosporium* (figure 15) [33].



**Figure 15 :** Biosynthèse des pénicillines [34]

## IV.2.Synthèse des fluoroquinolones : la ciprofloxacine

La condensation du chlorure de 2,4-dichloro-5-fluorobenzoyl avec du diéthylmalonate en présence d'éthanoate de magnésium dans de l'éther donne le 2,4-dichloro-5-fluorobenzoylmalonate de diéthyle qui est partiellement hydrolysé et décarboxylé avec l'acide *p*-toluène sulfonique pour donner le 2,4-dichloro-5-fluorobenzoylacétate d'éthyle (**A**). La condensation de celui-ci avec de l'orthoformiate de triéthyle dans l'anhydride acétique donne du 2-(2,4-dichloro-5-fluorobenzoyl)-3-éthoxyacrylate d'éthyle (**B**) qui est traité avec de la cyclopropylamine dans de l'éthanol pour donner de l'éthyle 2- (2, 4-dichloro-5-fluorobenzoyl) -3-cyclopropylaminoacrylate. La cyclisation du 2- (2,4-dichloro-5-fluorobenzoyl) -3-cyclopropylaminoacrylate d'éthyle se fait par l'intermédiaire de la soude NaOH dans le dioxanne pour donner le 7-chloro-1-cyclopropyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxoquinoléine-3-acide carboxylique (**C**) qui est finalement condensé avec de la pipérazine dans du dimethylsulfoxyde (DMSO) chaud pour donner le composé cible ciprofloxacine (**figure 16**) [35].



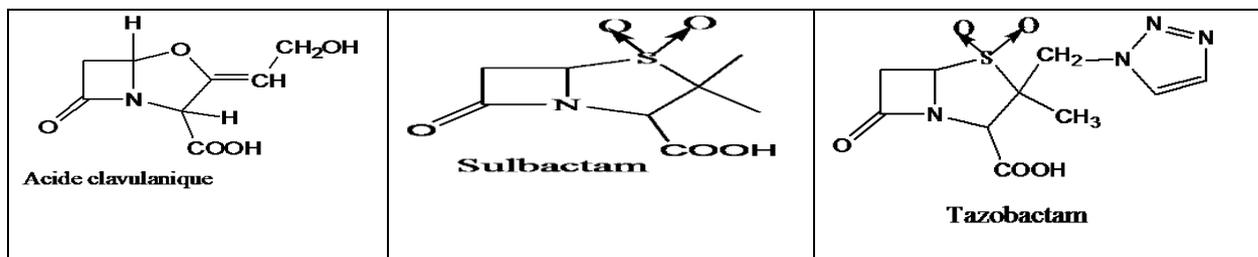
**Figure 16 :** Synthèse des Ciprofloxacines [35]

## V.Cibles actuelles dans la recherche

A l'heure actuelle, *Pseudomonas aeruginosa* présente une résistance à l'ensemble des molécules d'antibiotiques utilisées en thérapie. A cet effet, l'utilisation d'autres moyens de lutte contre cette bactérie est devenue obligatoire pour faire face à cette résistance. Parmi ces moyens de lutte on peut en citer la bithérapie. Dans ce cas de mesure, elle consiste à une combinaison entre un antibiotique et un inhibiteur. Ces inhibiteurs peuvent être des inhibiteurs d'enzymes (bêta-lactamases) comme ils peuvent être un inhibiteur de la pompe d'efflux.

### V.1.Les inhibiteurs des bêta-lactamases

Ils sont actifs au cours de la phase de croissance bactériennes. Sur le plan biochimique les inhibiteurs sont des bêta-lactamines qui ont pour rôle de se fixer de manière irréversible aux bêta-lactamases et inhiber les effets destructeurs des antibiotiques. En effet, ils sont utilisés toujours en association avec un bêta-lactamine plus précisément les pénicillines. Les principales molécules inhibitrices des bêta-lactamases sont l'acide clavulanique, le sulbactam et le tazobactam (**tableau 2**). Cependant notons que l'acide clavulanique inhibe seulement les pénicillinases alors que le tazobactam et le sulbactam peuvent inhiber les pénicillinases mais surtout les céphalosporinases [22].



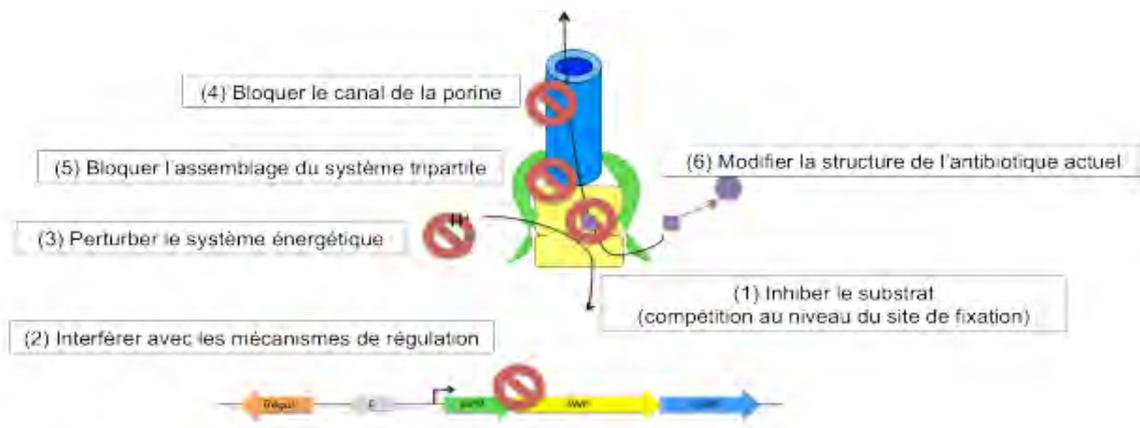
**Tableau 2 :** Différents inhibiteurs de bêta-lactamines [36]

En effet, ces inhibiteurs n'ont montré leurs efficacités que pour un bout de temps car des études ont montré que *Pseudomonas aeruginosa* produit des bêta-lactamases résistant aux inhibiteurs. Ces dernières sont dérivées de certains BLSE par mutation ponctuelle.

A part la production des bêta-lactamases, la bactérie présente d'autres types de résistances : l'efflux actif et la pompe d'efflux. Ces formes de résistance bien qu'elles sont considérées comme moindres, se présentent dans la quasi-totalité des souches bactériennes. De ce fait, un bon nombre de chercheurs orientent leurs recherches sur ce qui peut inhiber les effets de l'efflux actif.

## V.2. Les contournements des efflux actifs

L'inhibition d'efflux actif semble être une alternative intéressante à utiliser en synergie avec les traitements actuels. En effet, si chaque classe d'antibiotique génère des mécanismes de résistance qui lui sont propres l'activation des systèmes d'efflux semble être un déterminant commun. En outre leur spécificité ne se restreint généralement pas à une seule famille d'antibiotiques. Dans ce contexte il semble donc tout à fait pertinent de s'attacher à trouver soit un inhibiteur spécifique ou un inhibiteur commun de cet efflux actif qui serait utilisé en combinaison avec les antibiotiques actuels afin de potentialiser leur efficacité. Cette inhibition pourrait toutefois agir à différents niveaux (**Figure17**).



**Figure 17 :** Différentes stratégies envisageables pour inhiber l'efflux actif [20]

- (1) inhiber le substrat par un mécanisme de liaison compétitive,
- (2) interférer avec les mécanismes régulant l'expression des pompes d'efflux,
- (3) perturber le système énergétique nécessaire à l'activité de la pompe,
- (4) bloquer la protéine canal de la membrane externe,
- (5) empêcher l'assemblage de ces systèmes tripartites,
- (6) modifier la structure des antibiotiques actuels afin qu'ils ne soient plus reconnus par les systèmes d'efflux.

## V.3. Les inhibiteurs de l'efflux actif

### V.3.1. Agents perméabilisant la membrane

Parmi ces agents, la colistine présente des propriétés intéressantes. En effet nous l'avons vu précédemment grâce à leur liaison au lipopolysaccharide elles perméabilisent la membrane externe pour faciliter le passage d'antibiotiques hydrophobes ou d'autres composés bactéricides. Ainsi son association avec d'autres antibiotiques pourrait être satisfaisante.

### V.3.2. Agents ciblant l'énergie de la pompe

Des composés tels que le carbonyle cyanide méta-chlorophenylhydrazone (CCCP) (**figure 18A**) sont classiquement utilisés dans les laboratoires pour abolir l'efflux de nombreuses molécules. Ils réduisent la viabilité cellulaire en dissipant la force proto-motrice

membranaire. Cependant la question de savoir si leur effet passe par une meilleure pénétration de l'antibiotique ou par une altération de l'enveloppe cellulaire reste ouverte. Par conséquent, ce sont des composés nocifs et cytotoxiques également substrats des pompes d'efflux bactériennes.

#### **V.4. Les inhibiteurs de la pompe d'efflux**

##### **V.4.1. Les Peptidomimétiques**

Le premier composé de cette famille à avoir été isolé est la phénylalanine arginyl  $\beta$ -naphthylamide (PA $\beta$ N) (**figure 18B**). Son activité vis à vis d'autres antibiotiques tels que le chloramphénicol et les macrolides a également été rapportée [37] lui conférant le statut d'inhibiteur à large spectre des pompes d'efflux. L'étude de son mécanisme d'inhibition a permis de montrer que le PA $\beta$ N était en fait un substrat des pompes d'efflux qui agirait comme inhibiteur compétitif en se liant sur la même poche d'affinité que les antibiotiques. Une nouvelle série de dérivés de 2-naphthamide substitués en position 4 ont été conçus, synthétisés et évalués pour leur activité biologique. En particulier, l'aptitude des composés à potentialiser l'action des antibiotiques, à inhiber l'efflux de Nile Red et à cibler spécifiquement AcrB a été étudiée. Les résultats ont indiqué que la plupart de ces composés étaient capables de créer une synergie avec les antibiotiques testés et d'inhiber l'efflux de Nile Red par AcrB dans le phénotype résistant [38]. Néanmoins le problème majeur de cette famille d'inhibiteur de pompe d'efflux (IPE) reste encore leurs propriétés toxiques.

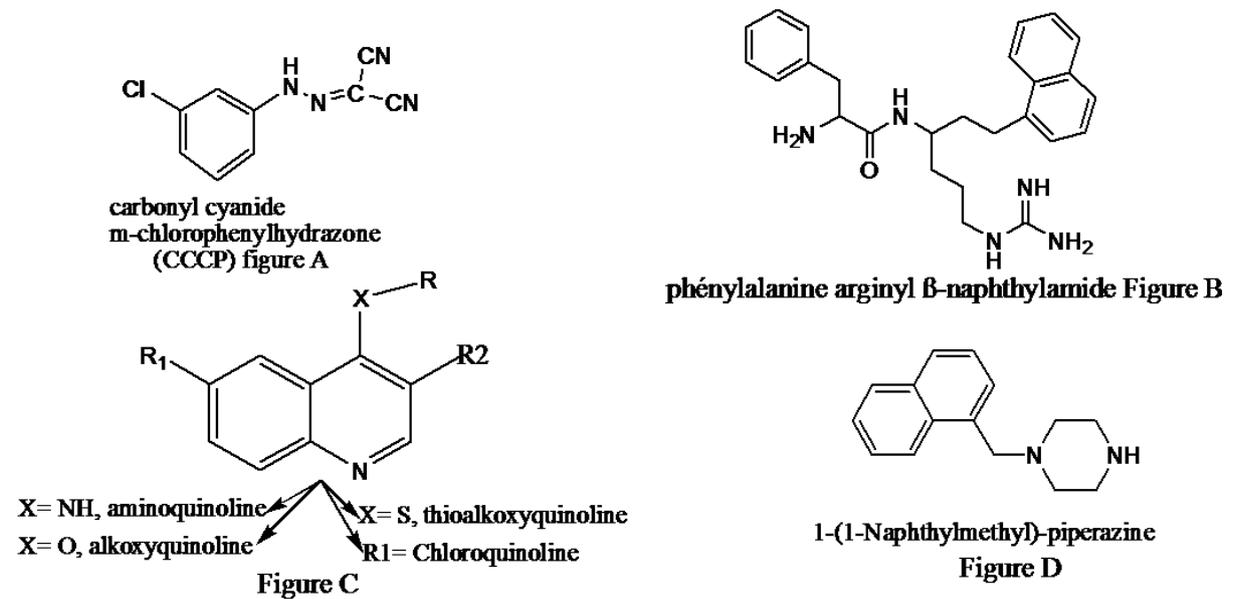
##### **V.4.2. Dérivés des quinolines**

Cette nouvelle classe de composés comprenant des aminoquinolines, alkoxyquinolines, thioalkoxyquinolones et chloroquinolines (**figure 18C**) a vu le jour grâce à des criblages réalisés sur des souches des *Enterobacter aerogenes* visant à restaurer leur sensibilité vis à vis des différentes classes d'antibiotiques (quinolones, phénicol, cyclines). Par des mesures de concentration intracellulaire d'antibiotiques, il a été montré que ces composés avaient une activité directe sur le mécanisme d'efflux [39]. Les molécules de quinazoline présentant un groupe fonctionnel nitro sont plus actives et des études de relation structure-activité peuvent être entreprises pour identifier le pharmacophore impliqué dans les sites d'affinité AcrB et MexB [40]. L'encombrement stérique généré par ces IPE au niveau du site de fixation serait vraisemblablement à l'origine de leur activité inhibitrice.

##### **V.4.3. Dérivés des pyridopyrimidines et des arylpiperazines**

Ces dérivés naphthylmethyl-piperazine (**figure 18D**) ont été testés pour leur activité inhibitrice sur la pompe MexAB-OprM chez *P. aeruginosa* [41]. Ils ne possèdent pas d'activité antibactérienne intrinsèque mais agissent par un mécanisme indéterminé en tant que

potentialisateurs de l'activité des antibiotiques. Toutefois, ils présentent une faible stabilité et une haute affinité pour les protéines sériques.



**Figure 18 :** Quelques exemples d'inhibiteurs de l'efflux actif [42]

### V.5.Utilisation des peptides antimicrobiens

Les peptides antimicrobiens (PAM) sont synthétisés par tous les organismes vivants, de la bactérie à l'homme en passant par les végétaux. Ils représentent l'une des familles d'anti-infectieux les plus prometteuses qui ont été découverts au cours de ces dernières décennies.

Le mode d'action des PAM fait toujours appel à des interactions électrostatiques et hydrophobes et dépend du peptide lui-même et de sa concentration. La plupart des PAM ont un effet bactéricide par insertion dans la membrane, entraînant ainsi une perméabilisation puis une lyse cellulaire [43]. Certains sont capables de traverser la membrane et cibler des molécules anioniques telles que les acides nucléiques ou des enzymes interférant ainsi avec les processus biologiques de la cellule. Les PAM utilisés actuellement sont obtenus par des procédés de culture. Une méthode chimique efficace d'obtention serait révolutionnaire et serait donc une bonne perspective de recherche.

## **Conclusion :**

*Pseudomonas aeruginosa* est un germe ubiquitaire capable de causer de multiples infections. Il est souvent à l'origine d'infections nosocomiales. Son intérêt médical réside principalement dans le fait que les infections opportunistes causées sont souvent graves et difficiles à guérir en raison d'une forte résistance de la bactérie due à l'utilisation abusive des antibiotiques. Cette résistance touche mêmes les principales familles anti-*Pseudomonas* comme les bêta-lactamines, les quinolones (fluoroquinolones) et les polymixines (la colistine) comme présenté dans la première partie de ce travail.

La revue des modes d'action des différentes molécules face à la bactérie a montré que si chaque classe d'antibiotique génère des mécanismes d'action qui lui sont propres, l'activation des systèmes d'efflux semble être un dénominateur commun. Ainsi la bithérapie a utilisé ce point commun afin d'associer d'abord des molécules inhibitrices de l'efflux et des antibiotiques. Cependant l'efflux étant assuré par les pompes, qui rejettent les antibiotiques, les chercheurs se sont intéressés à la pompe elle-même ce qui aura pour conséquence le développement de l'association inhibitrice de pompes à efflux et d'antibiotiques par la suite. Signalons toutefois que ces inhibiteurs ne sont pas des antimicrobiens intrinsèques d'où leur utilisation en association. L'inhibition des pompes d'efflux peut se fait par le blocage spécifique de la porine de la membrane externe ou par l'assemblage du système tripartite RND-OMF-MFP.

Des méthodes de détection des pompes d'efflux doivent être développées et leur utilisation systématique doit être envisagée dans les laboratoires hospitaliers. Seules de telles procédures pourront permettre d'évaluer l'impact de ces pompes d'efflux dans le domaine complexe des résistances bactériennes et inciter le développement de nouvelles molécules destinées à réduire voire supprimer ces phénomènes de résistance.

Des modes d'actions découlent également une autre approche, l'utilisation des peptides antimicrobien ; mais à ce jour, à notre connaissance, ils sont obtenus par des procédés de culture ; ce qui rend leur coût excessif. Il serait donc judicieux de mieux comprendre le phénomène afin d'envisager une méthode de synthèse.

## RÉFÉRENCES

- [1].Jarlier V., Arnaud I., Carbone A. Surveillance des bactéries multirésistantes dans les établissements de santé en France. Réseau BMR-Raisin Résultats 2010. Institut de veille sanitaire, Saint Maurice ; 2012, 84 P.
- [2].Willemsen I., Elbert S.,Verhulot C., Rizinburger M., Filius M., Savelkoul C et al. Highly resistant gram-negative microorganism incidence density and occurrence of nosocomial transmission (Triangle Study). *Infect control HospEpidemiol*, 2011; 32: 333-334.
- [3].Kesah C.N., Egri – Okwaji M.T., Iroha E et al. Aerobic bacterial nosocomial infection in pediatric surgical patients at a tertiary health institution in Lagos, Nigeria. *Niger Postgrad Med J*, 2004; 11: 4-9.
- [4].Atif ML., Bezzaoucha A., Mesbah S., Dgellato S., Boudechou N., Bellouni R. Evaluation of nosocomial infection prevalence in an Algeria university hospital (2001 to 2005). *Med Mal Infect* 2006; 36: 423-428.
- [5]. Diouf E., Beye MD., Ndoye M., Kane O., Seydi AA et al. Nosocomial ventilator-associated *Pneumonia* in a tropical intensive care unit. *Dakar Medecine*, 2006; 51: 81-88.
- [6].Shorr A.F. Review of studies of the impact on Gram-negative bacterial resistance on outcome in the intensive care unit. *Crit Care Med*, 2009; 37: 1463-1469.
- [7].Sadoff J.C.,Artenstein M.S. The outer cell-wall membrane of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Infect Dis*, 1974: 81-93.
- [8].Nikaido D., Harayama S. Identification and characterization of porins in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Biol Chem*, 1991: 770-779.
- [9].Ndiaye M. Profil de résistance des souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées au CHU de Fann (2012-2016).*Dakar Médecine*, 2017 : 85P.
- [10].Flandrois J.P. Bactériologie médicale. Presse universitaire de Lyon, Lyon.1997;207P.
- [11].Denis F., Poly M.C, Martin C., Bingen E., Quentin R. Bactériologie médicale techniques usuelles. Masson, 2007, 680P.
- [12].Delarras C. Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Lavoisier, Paris 2007, 476P.
- [13].Weiss C. La résistance bactérienne: nouvelle guerre froide. *Le médecin du Québec*, 2002; 37 (3) :41-49.
- [14].Errafi K. Aperçu sur les bactéries et leur résistance aux antibiotiques. *Dakar Médecine*, 2013:150P.

- [15].Ghuysen J.M., Goffin C. Lack of cell wall peptidoglycan versus penicillin sensitivity. New insight into the chlamydial anomaly. *Antimicrob Agents Chemother*, 1999 ; 43(10) : 2339-2344.
- [16].Jeht M., Chomarar M., Weber M., Gerard A. De l'antibiotique à la prescription. Biomérieux, 2003 :136P.
- [17].Diallo S. Les nouvelles molécules d'antibiotiques en thérapeutique anti-infectieux intérêt dans la prise en charge des infections à cocci à Gram positif. Dakar Pharmacie, 2003 : 111P.
- [18].Chrysostome N.J. Sensibilité aux antibiotiques de *Staphylococcus aureus* isolé en milieu hospitalier. Dakar Médecine, 1984 :104P.
- [19]. Laura M. Etude structurales et fonctionnelles de la pompe d'efflux Mex AB – OprM impliquée dans la résistance aux antibiotiques chez *Pseudomonas aeruginosa*, Paris Descartes, 2012 :250P.
- [20].Dixon R.A., Chopra I. Leakage of periplasmic proteins from *Escherichia coli* mediated by polymyxin B nonapeptide. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 1986;29:781-788.
- [21].Martis N., Leroy S., Blanc V. Colistin in multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* blood stream infections: a narrative review for the clinician. *Journal of Infection*, 2004;69: 1-12.
- [22].BambekeV.F. Syllabus nationale belge de pharmacologie et pharmacothérapie anti-infectieux, 2009-2010. [www.farm.ucl.ac.be](http://www.farm.ucl.ac.be) consulté le 30-12-2018
- [23].Norris S.A., Sciortino C.V. Monoclonal antibody to an Aminoglycoside resistance factor from *Pseudomonas aeruginosa*. *Infect. Dis*, 1989; 158 (6): 1324-1328.
- [24].Van K.B. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*, *Hemophilus influenza* and *Staphilococcus aureus*, *Chest. Med Mal Infect*, 1988; 94 (2): 103-108.
- [25].Li X.Z., Nikaïdo H. Efflux-Mediated Drug Resistance in Bacteria: an Update, *clinical microbiology reviews*; 2009; 69 (12): 1555-1623.
- [26].Sugawara E., Nagano, K., et Nikaïdo H. Alternative folding pathways of the major porin OprF of *Pseudomonas aeruginosa*, *FEBS Journal*; 2012.
- [27].Ochs M.M., Mc Cusker M.P., Bains, M., et Hancock, R. E. W. Negative regulation of the *Pseudomonas aeruginosa* outer membrane porin OprD selective for imipenem and basic amino acids. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, (1999); 43(5): 1085–1090.
- [28].Aubry A., Veziris N., Cambau E., Truffot-Pernot C., Jarlier V., et Fisher, L. M. Novel gyrase mutations in quinolone-resistant and hyper susceptible clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*: Functional analysis of mutant enzymes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2006; 50(1): 104–112.

- [29]. Fatin B. et al ; Résistance aux fluoroquinolones en 2013: quelle impact pour l'interniste? La revue de Medecine interne, 2014, 35 (9): P601-608.
- [30]. Rubin, E. J., Herrera, C. M., Crofts, A. A., & Trent, M. S. PmrD is required for modifications to *Escherichia coli* endotoxin that promote antimicrobial resistance. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2015; 59(4), 2051–2061.
- [31].Velkov T., Thompson P.E., Nation R.L., Li J. Structure-activity relationships of polymyxin antibiotics. J Med Chem, 2009; 53:1898-1916.
- [32].Van B.L., Lee V.J. Inhibitors of bacterial efflux pumps as adjuvants in antibacterial therapy and diagnostic tools for detection of resistance by efflux. Frontiers in anti-infective drug discovery; 2010; 1: P138–175.
- [33].Tomislav M. Biosynthèse de pénicilline. New-Medical.Net consulté le 29 janvier 2019.
- [34].Biosynthèse de pénicilline. <https://fr.wikipedia.org/wiki/Pénicilline> consulté le 20 janvier 2019.
- [35]. Synthesis Of Drugs: Laboratory Synthesis Of Ciprofloxacin. <http://drugsynthesis.blogspot.in> consulté le 27 Décembre 2018.
- [36].Gutmann L. Spectre des inhibiteurs de bêta-lactamases. Med. Mal. Inf. Hors-série, Mai, 1989 : 52-56.
- [37].Lomovskaya O. et Bostian K.A. Practical applications and feasibility of efflux pump inhibitors in the clinic-a vision for applied use. Biochem Pharmacol, 2006; 71(7): 910-918.
- [38]. Wang Y., Mowla R., Guo L., al. Design, synthesis and biological activity evaluation of novel 4-substituted 2-naphthamide derivatives as AcrB inhibitors. European Journal of Medicinal Chemistry, 2018, 143: 699-704.
- [39].Chevalier J., Mahamoud A. et al. Quinazoline derivatives are efficient chemo sensitizers of antibioticactivity in *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella Pneumonia* and *Pseudomonas aeruginosa* resistant strains. Int J Antimicrob Agents, 2010; 36 (2): 164-168.
- [40].Pages J. M., Masi M., et al. Inhibitors of efflux pumps in Gram-negative bacteria. Trends Mol Med, 2005;11(8): 382-389.
- [41].Jafari E., Khajouei M.R, et al. Quinazolinone and quinazoline derivatives: recent structures with potent antimicrobial and cytotoxic activities. Pub Med, 2018, 4: 281-297.
- [42].Tian Y., Zhang T., Long L., Li Z., al. Design, synthesis, biological evaluation and molecular modeling of novel 2-amino-4-(1-phenylethoxy) pyridine derivatives as potential ROS1 inhibitors. European Journal of Medicinal Chemistry 2018, 143: 182-199.
- [43]. Lemaoui C.E, Layaida H., Badi A., Foudi N. Stratégies actuelles de lutte contre la résistance aux antibiotiques. Journal des Anti-infectieux, 2017; 19:165-170.



## Résumé

*Pseudomonas aeruginosa* est l'un des pathogènes nosocomiaux majeurs. Ce bacille à Gram négatif encore appelé bacille pyocyanique cause de nombreuses pertes en vie humaine. Les principales familles d'antibiotiques anti-*Pseudomonas aeruginosa* sont les bêta-lactamines (les pénicillines les céphalosporines, carbapénème et monobactame), les quinolones (les fluoroquinolones) et les polymyxines (les colistines). La face négative de ce progrès sanitaire est l'apparition croissante de bactéries résistantes et multirésistantes du fait d'une utilisation massive et répétée de ces molécules.

Actuellement, la résistance bactérienne aux antibiotiques est un phénomène observé vis-à-vis de toutes les molécules dont nous disposons. Chez *Pseudomonas aeruginosa* l'augmentation des souches multirésistantes est particulièrement inquiétante. *Pseudomonas aeruginosa* cumulent constamment plusieurs mécanismes de résistance aux antibiotiques : efflux actif (système de transport actif assuré par les protéines membranaires appelé pompe), imperméabilité de la membrane, modification du site de fixation de l'antibiotique ou l'inactivation enzymatique (production des bêta-lactamases).

L'avènement de la bithérapie au début du siècle contribuera au développement de l'association antibiotique - inhibiteur d'efflux. Ensuite les inhibiteurs de pompes à efflux verront le jour. À l'heure actuelle, des combinaisons antibiotique-inhibiteur de pompes sont en développement. Des méthodes de synthèse de peptides simples sont à envisager.

**Mots clé** : antibiotique, inhibiteur d'efflux, infection nosocomiale, *Pseudomonas aeruginosa*

## Abstract

*Pseudomonas aeruginosa* is one of the major nosocomial pathogens. This gram-negative bacillus is called pyocyanic bacillus and causes many losses in human life. The main families of anti-*Pseudomonas aeruginosa* antibiotics are beta-lactams (penicillins, cephalosporins, carbapenem and monobactam), quinolones (fluoroquinolones) and polymyxins (colistins). The negative side of this health progress is the increasing appearance of resistant and multi-resistant bacteria caused by a massive and repeated use of these molecules.

Currently, bacterial resistance to antibiotics is a phenomenon observed regarding all the molecules we have. In *Pseudomonas aeruginosa* the increase of multiresistant strains is particularly worrying. *Pseudomonas aeruginosa* constantly accumulate several mechanisms of resistance to antibiotics: active efflux (active transport system provided by membrane proteins called pump), impermeability of the membrane, modification of the binding site of the antibiotic or enzymatic inactivation (production of beta lactamases).

The advent of dual therapy at the beginning of the century will contribute to the development of the antibiotic association - efflux inhibitor. Then the inhibitors of efflux pumps will emerge. At present, antibiotic-inhibitor combinations of pumps are in development. Simple peptide synthesis methods are envisaged.

**Key words:** antibiotic, efflux inhibitor, nosocomial infection, *Pseudomonas aeruginosa*