



Université de Strasbourg  
**FACULTÉ DE PHARMACIE**

N° d'ordre: \_\_\_\_\_

**MÉMOIRE DE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

—

**QUORUM QUENCHING, INHIBITEUR DE LA COMMUNICATION  
BACTERIENNE : MECANISMES ET APPLICATIONS**

Présenté par Marie GASSER

Soutenu le 24 novembre 2023 devant le jury constitué de

Professeur GEOFFROY Valérie, Directeur de thèse, Président

Professeur GEORGEL Philippe, Autre membre du jury

Docteur MULLER BAUDOUIN Gaele, Autre membre du jury

Docteur ALLAHAM Anas, Autre membre du jury

Approuvé par le Doyen et  
par le Président de l'Université de Strasbourg



**Doyen** : Didier NICOLAS  
**Directeurs adjoints** : Julien COET  
 Martine HURTALL  
 Isabelle DEK  
**Directeur adjoint Prédip** : Lise COSSON-METZGER

**LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT**

**Professeurs**

Hélène BILCHET  
 Nathalie BOULANGER  
 Lise BOUDEL  
 Pascal COEN  
 Gild JOURNAUD  
 Valérie LESTIENNE  
 Jean-Marie LES  
 Martine LUTHAULT  
 Esther ALLIENROUX  
 Noémie LYRARD  
 Giti MAZOUZ  
 Franck MULLERIN  
 Yves NOLY  
 Jean-Yves PABET  
 Françoise PONS  
 Valérie SCHNEIDER  
 Florence TOUT  
 Thierry VANDAMME  
 Catherine VERTHEUX  
 Pascal VIGNÉ

Physiologie  
 Parasitologie  
 Chimie Bioanalytique  
 Biochimie  
 Chimie analytique  
 Microbiologie  
 Bactériologie, Virologie  
 Pharmacologie moléculaire  
 Pharmacie galénique  
 Bio-informatique  
 Biologie cellulaire  
 Chimie analytique  
 Syst et économie pharm.  
 Physique et Biophysique  
 Syst économique pharm.  
 Parasitologie  
 Pharmacologie  
 Pharmacologie  
 Biophysique  
 Pharmacogénie  
 Pharmacie galénique

**Maîtres de conférences**

Arlette ARTEL  
 Geneviève BATHIS  
 Martine BERGHEZ  
 Stéphanie BONNARD  
 Aurélie BOUQUENON  
 Emmanuel BOUQUET  
 Véronique BRUNEL  
 Anne CADET  
 Thierry CHATELAIN  
 Marjolaine CHIFFO  
 Guillaume COSSON  
 Marcella DE COSSO  
 Serge DIARD  
 Gild JOURNAUD  
 Céline LACOMME  
 Julie LAFRANC  
 Jérémy LEBLANC  
 Clément MAILLARD  
 Gaëlle MAILLET  
 Clément MAILLET  
 Nathalie MATHIEU  
 Serge MATHIEU  
 Sylvie MATHIEU  
 Aurélien MATHIEU  
 Frédéric MATHIEU  
 Gaëlle MATHIEU  
 Stéphanie MATHIEU  
 Antoine MATHIEU  
 Catherine MATHIEU  
 Corinne MATHIEU  
 Gild JOURNAUD  
 Marie-Monique MATHIEU  
 Jérôme MATHIEU  
 Nicolas MATHIEU  
 Aurélie MATHIEU  
 Bruno MATHIEU  
 Marie MATHIEU

Pharmacie Biogalénique  
 Biochimie  
 Chimie analytique  
 Biochimie  
 Pharmacologie  
 Virologie et Microbiologie  
 Physiologie et physiopath.  
 Toxicologie  
 Pharmacologie  
 Pharmacie Biogalénique  
 Pharmacie galénique  
 Pharmacochimie  
 Biologie cellulaire  
 Microbiologie  
 Chimie analytique  
 Pharmaco-chimie  
 Chimie analytique  
 Chimie physique  
 Pharmacologie  
 Chimie  
 Pharmacologie  
 Pharmacogénie  
 Parasitologie  
 Chimie en flux  
 Biochimie  
 Microbiologie  
 Biochimie  
 Biophysique  
 Analyse de médicament  
 Toxicologie  
 Pharmacologie  
 Pharmacogénie  
 Chimie thérapeutique  
 Physiopathologie  
 Chimie physique  
 Pharmacogénie  
 Physiologie  
 Chronopharmacologie

**Professeurs praticiens hospitaliers**

Julien COET  
 Jean-Marie LESTIENNE  
 Bruno MAILLET  
 Martine MAILLET  
 Catherine MAILLET

Biostatistiques - science des données  
 Biochimie  
 Pharm. clinique santé publique  
 Immunologie  
 Pharmacochimie

**Enseignants contractuels**

Alexandra CHAMBERET  
 Martine CHIFFO  
 Hélène SALAS  
 Hélène SALAS  
 Caroline MAILLET-VERHEL

Pharmacie d'officine  
 Pharmacie d'officine  
 Syst et économie pharm.  
 ingénierie pharmaceutique  
 Pharmacie d'officine

**Maîtres de conférences - praticiens hospitaliers**

Gild JOURNAUD  
 Gild JOURNAUD

Parasitologie  
 Pharmacologie pharm. clinique

**Aspirants hospitaliers universitaires**

Camille MAILLET

Biochimie

# SERMENT DE GALIEN

JE JURE,

en présence des Maîtres de la Faculté,  
des Conseillers de l'Ordre des Pharmaciens  
et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit  
dans les préceptes de mon art et de  
leur témoigner ma reconnaissance en  
restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique,  
ma profession avec conscience et de respecter non  
seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles  
de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne dévoiler à personne les secrets  
qui m'auront été confiés et dont j'aurai eu  
connaissance dans la pratique de mon art.

Si j'observe scrupuleusement ce serment,  
que je sois moi-même honoré  
et estimé de mes confrères  
et de mes patients.

## Remerciements

Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde gratitude envers ma directrice de thèse, Madame Valérie Geoffroy, pour sa guidance, son expertise et sa patience tout au long de la rédaction de ma thèse. Ses conseils et son dévouement ont été essentiels pour l'aboutissement de mon travail.

Je souhaite également adresser mes remerciements les plus sincères aux membres de mon jury, en particulier à mon professeur Philippe Georgel. C'est grâce à son enseignement inspirant que ma passion pour la microbiologie a été éveillée lors de la 3<sup>ème</sup> année d'étude de pharmacie.

Un immense merci à Gaëlle, qui a accepté de faire partie de mon jury et qui a été une source d'inspiration et de confiance pendant mon expérience en alternance au sein de son équipe. Cette expérience en industrie a renforcé ma détermination à poursuivre dans cette voie.

À Anas, membre de mon jury, je souhaite le remercier pour l'année passée au sein de l'équipe du QA du QC qui a été enrichissante grâce à ses précieux enseignements et son soutien constant, tant sur le plan professionnel que personnel.

Un grand merci à mes amies de faculté, Claire, Estelle, MH et Andrée. Andrée, tu as été ma plus belle rencontre durant ces années d'études, une amie pour la vie.

Je ne saurais oublier de remercier chaleureusement mes parents pour m'avoir inculqué les valeurs du travail et pour m'avoir donné les clés qui m'ont permis d'atteindre ce point de ma vie. Leur soutien, même à leur manière, et leur foi en moi, lorsque je doutais, ont été inestimables. Je leur dis simplement : je vous aime.

À ma petite sœur, qui a toujours été là pour m'écouter et m'encourager à donner le meilleur de moi-même pour être un exemple pour elle, je t'aime.

Enfin, à mon fiancé, Arnaud, tu as été un colocataire, mon amour, mon chéri, mon confident pendant ces sept années d'études, merci pour ton soutien indéfectible. Depuis nos débuts en tant que lycéens, tu m'as accompagné, grandi avec moi et su me guider à travers les défis les plus importants de ma vie. Je t'aime sincèrement.

# Table des matières

<b>I.</b>	<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>9</b>
<b>II.</b>	<b>LE QUORUM SENSING</b> .....	<b>11</b>
1)	LA DECOUVERTE DU MECANISME DE QUORUM SENSING .....	11
a.	<i>Le phénomène de bioluminescence</i> .....	11
b.	<i>Le Quorum Sensing</i> .....	13
c.	<i>Le mécanisme général de la communication bactérienne</i> .....	13
2)	LE QUORUM SENSING CHEZ LES BACTERIES, LEVURES ET MOISSISSURES .....	14
a.	<i>Le QS chez les bactéries à Gram négatif</i> .....	14
b.	<i>Le QS chez les bactéries à Gram positif</i> .....	16
c.	<i>Le Quorum Sensing chez les champignons</i> .....	17
d.	<i>La communication inter-espèce</i> .....	18
3)	LE RESULTAT DU QS SUR L'ACTIVITE BACTERIENNE .....	19
a.	<i>Les facteurs de virulence</i> .....	19
b.	<i>Les gènes de résistance</i> .....	22
4)	LES BIOFILMS .....	25
a.	<i>La vie en biofilm</i> .....	25
b.	<i>Les biofilms sur les dispositifs médicaux</i> .....	27
<b>III.</b>	<b>QUORUM QUENCHING : INHIBITEUR DE LA COMMUNICATION BACTERIENNE</b> .....	<b>29</b>
1)	LE QUORUM QUENCHING .....	29
2)	LES INHIBITEURS DU QUORUM SENSING .....	30
a.	<i>Les enzymes du QQ</i> .....	30
b.	<i>Les anticorps pour piéger les IA</i> .....	33
c.	<i>Cyclodextrines</i> .....	34
d.	<i>Les nanoparticules</i> .....	35
e.	<i>Inhibition du QS par les bactéries</i> .....	36
3)	L'ORIGINE DES INHIBITEURS DU QQ .....	38
a.	<i>Les molécules issues de plantes</i> .....	38
b.	<i>Les molécules issues du vivant</i> .....	41
c.	<i>Molécules synthétisées par l'Homme</i> .....	43
4)	LES MECANISMES DU QQ .....	44
a.	<i>Inhibition de la synthèse d'AHL</i> .....	44
b.	<i>Inhibition de la synthèse d'A12</i> .....	45
c.	<i>Inhibition de la synthèse d'AIP</i> .....	47
d.	<i>Inhibition du QS par les anticorps</i> .....	47
5)	L'INTERET DU QQ .....	48
<b>IV.</b>	<b>APPLICATIONS ET LIMITES DU QUORUM QUENCHING</b> .....	<b>49</b>
1)	APPLICATION DU QQ SUR LA FORMATION DE BIOFILMS .....	49
a.	<i>Application du QQ aux dispositifs médicaux</i> .....	49
b.	<i>Utilisation de nanoparticules pour lutter contre la formation de biofilm</i> .....	55
2)	L'ANTIBIORESISTANCE .....	57
a.	<i>Impact et enjeux de l'antibiorésistance</i> .....	57
b.	<i>Les mécanismes de l'antibiorésistance chez les bactéries</i> .....	57
c.	<i>Application du QQ sur le phénomène d'antibiorésistance</i> .....	58
d.	<i>Activité des enzymes du QQ sur les infections</i> .....	59
e.	<i>Les molécules ayant une activité QQ sur l'antibiorésistance</i> .....	61
3)	AGENTS DU QQ AYANT DES APPLICATIONS .....	62
a.	<i>Les peptides antimicrobiens</i> .....	62
b.	<i>L'application de l'utilisation des plantes ayant une activité QQ</i> .....	62
c.	<i>L'utilisation des phages comme stratégie QQ</i> .....	62
4)	LIMITE DES APPLICATIONS DU QQ .....	63
a.	<i>La résistance au QQ</i> .....	63
b.	<i>Les limites de l'utilisation de ces composés sur la santé</i> .....	65
c.	<i>Les limites de la production de ces agents du QQ</i> .....	65
<b>V.</b>	<b>CONCLUSION</b> .....	<b>66</b>
<b>VI.</b>	<b>REFERENCES</b> .....	<b>67</b>

## Liste des abréviations

QSI : Quorum sensing inhibitor = inhibiteur du Quorum Sensing

UFC : Unité formant colonie

AHL : acyl-homosérine lactone

SAM : S-adénosyl méthionine

AI-1 : Auto-inducteurs de type 1

ADN : Acide désoxyribonucléique

QS : Quorum Sensing

QQ : Quorum Quenching

QSI : Quorum sensing inhibitor = inhibiteur du Quorum Sensing

MGE : Élément génétique mobiles

AIP : Peptide auto inducteur

SAH : S-adénosylhomocystéine

DPD : N-(3-Oxododecanoyl)-L-homosérine lactone

CRBSI : Infection du sang liée au cathéter

## Liste des illustrations

- Figure 1 : Phénomène de bioluminescence d'une sèche colonisée par *V. fischeri*
- Figure 2 : Régulation du QS chez les bactéries
- Figure 3 : Activation et régulation de l'opéron *lux*
- Figure 4 : Molécule d'AHL
- Figure 5 : Le système du *Quorum Sensing* chez les bactéries à Gram négatif
- Figure 6 : Le système du *Quorum Sensing* chez les bactéries à Gram positif
- Figure 7 : Les différentes formes du thalle de *C. albicans*
- Figure 8 : Communication inter-espèces
- Figure 9 : Le système de détection de quorum de la cytolysine chez *E. faecalis*
- Figure 10 : Les différents mécanismes impliqués dans les transferts horizontaux de gènes
- Figure 11 : Les différents mécanismes de résistance chez *Acinetobacter*
- Figure 12 : Photo comparative de tuyaux utilisés dans l'industrie agroalimentaire avec présence de biofilm et tuyau sans biofilm.
- Figure 13 : Les différentes étapes de formation d'un biofilm.
- Figure 14 : QS chez *S. aureus*
- Figure 15 : Inhibition du mécanisme du QS : Le QQ est à l'origine de la dégradation et l'interruption de la perception des signaux de QS par les bactéries au niveau intra et extracellulaire via différents processus.
- Figure 16 : Différents mécanismes enzymatiques du *Quorum Quenching*
- Figure 17 : Schéma de cyclodextrines (CD)
- Figure 18 : Activité anti-QS des nanoparticules Ag, TiO<sub>2</sub> et ZnO chez *Chromobacterium violaceum*
- Figure 19 : Diversité des agents anti-QS et les différentes étapes du QS pouvant être inhibées.
- Figure 20 : Plusieurs enzymes du QQ et QSIs produits par les bactéries, les archées et les eucaryotes.
- Figure 21 : Différents mécanismes du QQ de l'inhibition d'AHL.
- Figure 22 : Mécanisme du QQ de l'inhibition d'AI-2 chez *E. coli*
- Figure 23 : Effet de la présence ou de l'absence de la lactonase
- Figure 24 : Observation de la formation de biofilm de la souche *Candida albicans* sur une période de 2 à 24 h dans différents puits par microscopie en contraste de phase
- Figure 25 : Six mécanismes de résistances aux antibiotiques
- Tableau 1 : Différents QSI d'origine naturelle retrouvés chez les eucaryotes.
- Tableau 2 : Exemples de stratégies QQ d'AI-

## I. Introduction

Parmi tous les êtres vivants présents sur notre Terre, les bactéries ont été les premiers identifiés, il y a environ 3,6 milliards d'années. (1) Ce sont des organismes invisibles à l'œil nu, unicellulaires, ubiquistes et sans noyau avec un génome constitué d'ADN. Les bactéries sont présentes dans tous les milieux et entretiennent de nombreuses interactions avec l'environnement dans lequel elles se trouvent. Le corps humain contient autant de cellules que de bactéries ! On imagine donc que ces bactéries, présentes dans notre corps, sont capables de recevoir des stimulus provenant de l'environnement dans lequel elles se trouvent et d'interagir avec celui-ci. Cette interaction peut être bénéfique pour l'environnement et les bactéries ou au contraire être à l'origine d'événements indésirables.(2)

Comme tout être vivant, les bactéries ont évolué au cours des millénaires pour s'adapter à leur environnement. Certaines bactéries ont acquis la capacité de vivre dans des environnements extrêmes, elles sont alors qualifiées de bactéries extrêmophiles. Ces changements font suite à des stimulus provenant de cet environnement, ils peuvent être, des stimulus abiotiques comme la température, la présence de nutriments ou des stimulus biotiques comme l'intégration de bactériophages dans leurs organismes, via des systèmes variés.

En intégrant les stimulus, les bactéries ont modifié leur comportement pour réguler des processus variés comme la sporulation, la virulence, la formation de biofilm ou la résistance aux antibiotiques. Cette adaptation à l'environnement révèle la capacité qu'ont les bactéries à communiquer entre elles. Avant la découverte du système de communication bactérienne, de Quorum Sensing, les bactéries étaient perçues comme des entités individuelles. Le Quorum sensing a permis aux bactéries de changer leur mode de vie et de passer d'un mode de vie planctonique, à un mode de vie en communauté. Lors de la découverte de la communication bactérienne, il a été montré que l'interaction entre les bactéries leur permet de coordonner leur comportement comme le font les organismes pluricellulaires, en faisant intervenir de petites molécules : les auto-inducteurs. Ces auto-inducteurs vont réguler de façon synchrone l'expression de différents gènes en fonction de la densité cellulaire dans le milieu.

Ce mécanisme de communication du Quorum Sensing, retrouvé chez les bactéries à Gram négatif et à Gram positif, permet à toutes les bactéries qui nous entourent de répondre plus rapidement aux contraintes de l'environnement. Les modifications engendrées sur les différents phénotypes bactériens, peuvent entraîner une augmentation de la résistance aux antibiotiques, la formation de biofilm ou la production de nouveaux facteurs de virulence, et sont des contraintes auxquelles l'Homme doit faire face dans le secteur industriel, la santé publique et l'environnement.

Pour éliminer ces contraintes, des recherches ont été réalisées lors des 20 dernières années afin d'identifier des stratégies pour inhiber les différents mécanismes régulés par le Quorum Sensing (QS). Le Quorum Quenching (QQ) va interférer avec le système QS au niveau intracellulaire ou extracellulaire, il fait intervenir des molécules inhibitrices du QS (QSI). Les QSI vont mimer les auto-inducteurs impliqués dans le QS, pour ensuite inhiber la production ou la perception des molécules signal par les cellules bactériennes. Ce mécanisme peut intervenir lors de la détection des molécules par les bactéries à l'aide d'anticorps ou de macromolécules, ou bien en dégradant ces molécules avec des enzymes spécifiques.

Le QQ présente une solution d'avenir à de nombreuses contraintes en matière de santé publique, auxquelles nous devons faire face, comme la résistance aux antibiotiques, la sélection de souches multi-résistantes, la formation de biofilm et la formation des facteurs de virulence. Quels sont les mécanismes de la communication bactérienne et comment le QQ permet-il de résoudre les contraintes d'aujourd'hui et de demain ?

La première partie de cette thèse sera consacrée au Quorum Sensing et présentera les mécanismes impliqués dans la production des différents phénotypes bactériens.

La seconde partie traitera du Quorum Quenching ainsi que des différents moyens d'inhiber le Quorum sensing.

Pour finir, la troisième partie permettra de découvrir des applications du Quorum Quenching ses enjeux et limites.

## II. Le Quorum Sensing

### 1) La découverte du mécanisme de Quorum Sensing

#### a. Le phénomène de bioluminescence

Le QS a été découvert dans les années 1970 par *Nealson et Hastings* lors de l'observation du phénomène de bioluminescence. Ce phénomène (figure 1) a été observé chez la bactérie marine, *Vibrio fischeri*, vivant en symbiose avec une seiche, *Euprymna scolopes*. Cette association biologique est ingénieuse, car elle va permettre à la seiche de se protéger de ses prédateurs en émettant de la lumière dans l'océan mimant ainsi les rayonnements lumineux de la lune.



Figure 1 : Phénomène de bioluminescence d'une seiche colonisée par *V. fischeri* (3)

Dans son mode de vie à l'état libre, la bactérie *Vibrio fischeri* n'émet aucune luminescence. Pour induire le phénomène de bioluminescence, la densité cellulaire est de l'ordre de  $10^{10}$  -  $10^{11}$  UFC/ml. En dessous de ce seuil, la quantité de molécules signal produite est trop faible pour déclencher la bioluminescence. Après colonisation, les bactéries se reproduisent dans un espace restreint de l'organe photophore de l'animal. Les bactéries étant proches, cette proximité va déclencher l'expression des gènes impliqués dans la bioluminescence. Cet état de confinement des bactéries correspond au phénomène de *quorum* (figure 2). (4)

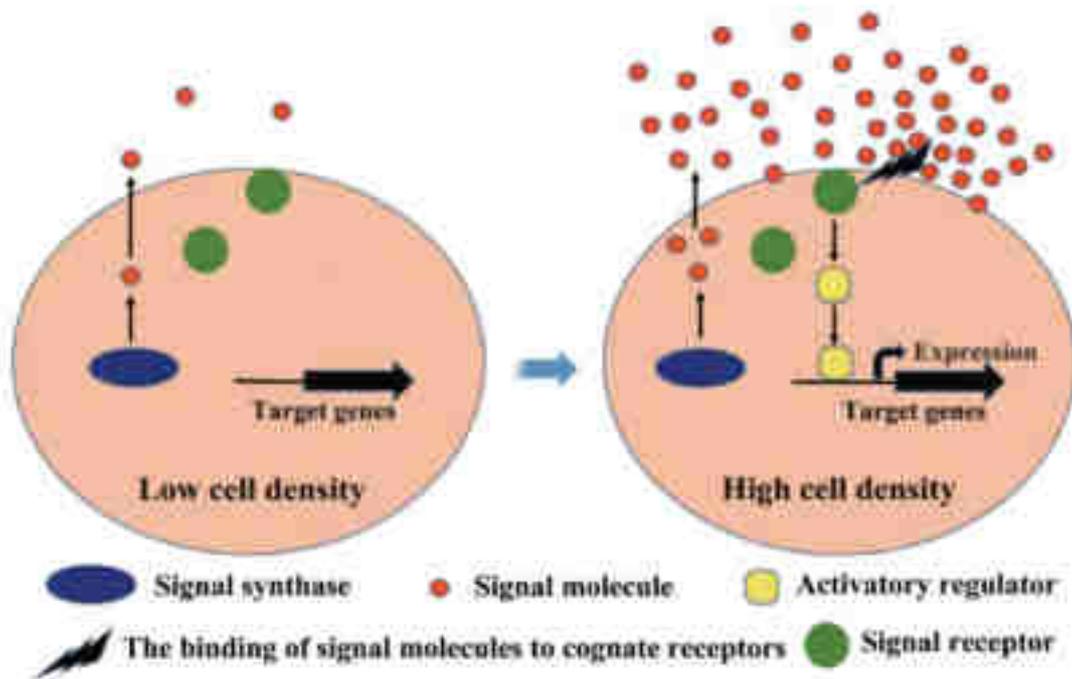


Figure 2 : Régulation du QS chez les bactéries (5)

Le QS bactérien est basé sur la communication en fonction du changement de la densité cellulaire. Lorsque le nombre de molécule signal est important (densité cellulaire élevée) ces molécules vont pouvoir se lier au récepteur et activé le régulateur de réponse qui va entrainer l'expression de gène du QS.

Le phénomène de bioluminescence va pouvoir se déclencher lorsque la concentration seuil en cellules bactériennes est atteinte.

À ce moment-là, les auto-inducteurs, de petites molécules diffusibles qui correspondent à la quantité de bactéries présentes, sont libérés dans l'environnement et affectent les cellules qui les ont générés.

Ces molécules produites vont activer l'opéron *lux*. *luxI* code pour une acyl-homosérine lactone (AHL) synthase, qui convertit la S-adénosyl méthionine (SAM) en AHL. Les AHL se lient à luxR, l'activant ainsi et régulant à la hausse la transcription de l'opéron *lux* (figure 3). L'opéron *lux* fut décrit pour la première fois comme auto-inducteurs de type 1 (AI-1) chez les bactéries à Gram négatif en 1981 par Eberhard *et al.*

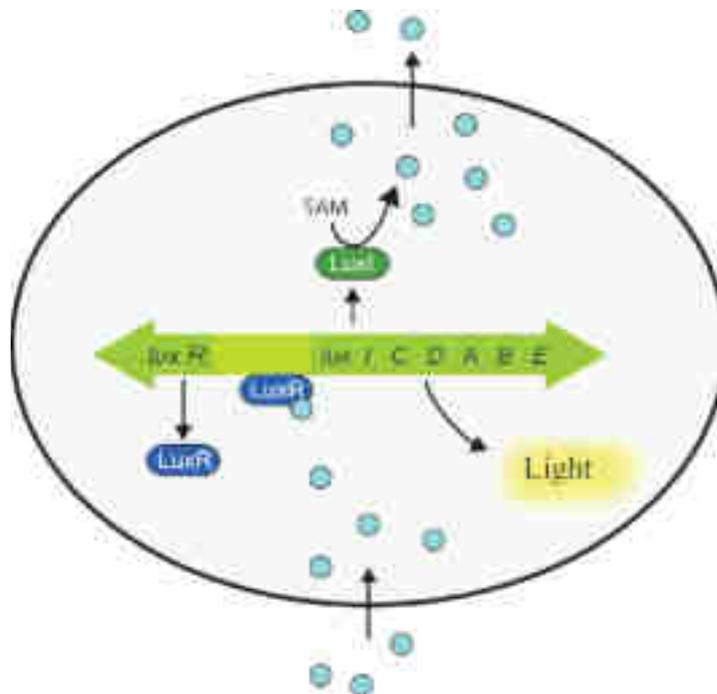


Figure 3 : Activation et régulation de l'opéron lux. (6)

Lux I code pour une AHL synthase qui va convertir SAM en AHL. Les AHL vont être exportées à l'extérieur de la cellule. Ces AHL peuvent diffuser à travers la cellule et se lier au récepteur LuxR. La liaison avec LuxR va entraîner la transcription de l'opéron lux responsable de l'expression de gènes du QS et de la production de lumière.

#### b. Le *Quorum Sensing*

Après la découverte du phénomène de bioluminescence par *Nealson et Hastings*, le phénomène du *Quorum sensing* a été décrit dans les années 1990, chez les bactéries à Gram positif et négatif, mettant en évidence les molécules impliquées dans ce phénomène.

Le *Quorum Sensing* (QS) est un mécanisme de communication cellule-cellule reposant sur la production, la libération et la détection de molécules de signalisation extracellulaires, appelées auto-inducteurs. Il permet aux bactéries de modifier leur comportement en réponse aux modifications de la densité cellulaire et à la composition de la communauté microbienne environnante. Ce phénomène va permettre de synchroniser l'activité au sein d'un groupe de bactéries.

#### c. Le mécanisme général de la communication bactérienne

En 2005, *Waters et Bassler* ont mis en évidence que l'activité bactérienne engendrée par le mécanisme de *Quorum Sensing* se produit quand le seuil ou quorum est atteint. L'activité bactérienne est proportionnelle à la densité bactérienne de la colonie et/ou à l'augmentation de la concentration de molécules signal. Cela permet d'empêcher l'utilisation superflue d'énergie en n'activant les gènes qu'au moment opportun.(7)

Les molécules signal produites par les bactéries sont détectées par celles-ci à des concentrations de l'ordre du pmol ou  $\mu\text{mol}$  et vont se lier au récepteur, une protéine, et activer un gène cible.

Les bactéries peuvent posséder plusieurs voies du QS. Cependant, il n'est pas rare que ces voies soient interconnectées. La communication bactérienne peut se faire entre espèces, intra-espèces, ou entre espèces différentes, on parlera alors de communication inter-espèces. Ce phénomène, présent chez différentes espèces bactériennes, implique la présence de récepteurs structurellement et fonctionnellement différents selon l'espèce.

Le système du QS est régulé par de petites molécules, les auto-inducteurs (Ais), qui vont diffuser à travers la membrane ou seront transportés à l'extérieur de la cellule. Ces derniers vont s'accumuler dans l'environnement parallèlement à l'augmentation de la population bactérienne. La perception des molécules du QS peut se faire par des senseurs membranaires (on parlera de perception extracellulaire qui va activer une cascade de phosphorylation) ou par des régulateurs de transcription. La liaison de ces molécules aux récepteurs va engendrer un changement dans l'expression génique par des mécanismes allostériques. Les bactéries à Gram négatif et positif utilisent toutes les deux le *Quorum Sensing* mais avec des systèmes plus ou moins différents.

## 2) Le *Quorum Sensing* chez les bactéries, levures et moisissures

### a. Le QS chez les bactéries à Gram négatif

Les auto-inducteurs impliqués dans la communication chez les bactéries à Gram négatif sont les AHL, des acylhomosérine lactones, appelé auto-inducteurs de type 1 (AI-1) (figure 4). Elles sont produites par les bactéries et sont librement diffusibles à travers l'enveloppe cellulaire.(8)

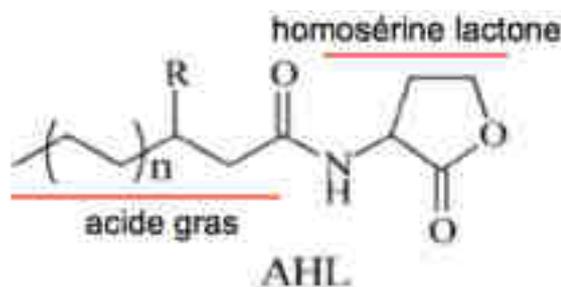


Figure 4 : Molécule d'AHL

Les AHL sont produites par des synthases de type *LuxI*, et dérivent de la fraction lactone de la S-adénosylméthionine (SAM). La chaîne acyle est généralement obtenue à partir d'intermédiaires de la biosynthèse des acides gras. Les synthases ne génèrent qu'un nombre limité de molécules AHL, qui se

distinguent par la façon dont les synthases se lient aux chaînes acyles ainsi que par la longueur et la structure de ces chaînes.(8)

Cependant, une même bactérie peut posséder des synthases différentes. Il existe une classification des synthases selon leur homologie de séquence.

- Classe I : LuxI de *Vibrio fischeri*
- Classe II : LuxM de *Vibrio harveyi*
- Classe III : HdtS de *Pseudomonas fluorescens*

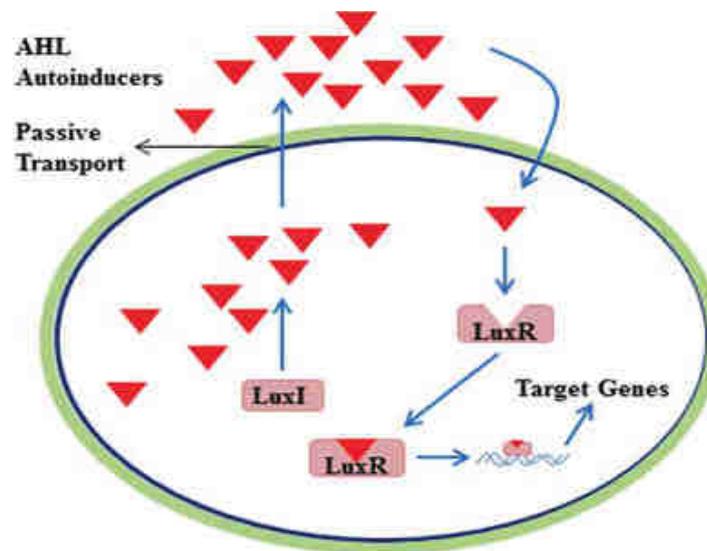


Figure 5 : Le système du *Quorum Sensing* chez les bactéries à Gram négatif (9)

Lux I est responsable de la production d'AHL. Les AHL vont diffuser à l'extérieur la cellule. Ces AHL peuvent diffuser à travers la cellule et se lier au récepteur LuxR. La liaison avec LuxR va entraîner la transcription du signal responsable de l'expression de gène du QS.

L'auto-inducteur va former un complexe en se liant au régulateur transcriptionnel appartenant à la famille LuxR. Ce complexe, qui possède un niveau de seuil élevé, va affecter l'activité transcriptionnelle des gènes cibles. De nombreux systèmes de *quorum sensing* de type LuxR ont été découverts. (8) Les bactéries à Gram négatif utilisent majoritairement ces protéines *LuxR* comme récepteurs à deux domaines : un domaine de liaison au ligand amino-terminal et un domaine de liaison à l'ADN carboxy-terminal. *LuxR* va détecter et lier les ligands AHL produits par les protéines LuxI puis activer la transcription de l'opéron luciférase (figure 5). L'AHL va donc se lier à la protéine régulatrice LuxR, qui est le modulateur de l'expression des gènes. La liaison auto-inducteur et récepteur induira une boucle de *feed-forward* qui va promouvoir l'expression génique. Ces récepteurs sont des récepteurs spécifiques du cytoplasme de la cellule. La modification de dizaines à centaines de gènes est impliquée dans divers processus biologiques.

Dans la majorité des cas, les bactéries à Gram négatif utilisent des récepteurs LuxR. Aucune bactérie à Gram positif n'a été identifiée à ce jour comme capable de produire des AHL. (6)

b. Le QS chez les bactéries à Gram positif

La communication bactérienne chez les bactéries à Gram positif est basée sur les peptides auto-inducteurs. Ces peptides cycliques de 7 à 11 acides aminés sont synthétisés par les ribosomes et exportés à l'extérieur des cellules. Il s'agit de peptides précurseurs, pouvant être soumis à des modifications post-traductionnelles et produire un peptide auto-inducteur actif et stable. Les peptides utilisés par les bactéries à Gram positif sont appelés peptides auto-inducteurs (AIP). Il existe un grand ensemble de peptides sécrétés par les bactéries à Gram positif à partir de la biosynthèse et de la dégradation protéolytique. Ils peuvent comprendre des phéromones qui modulent l'expression de gène spécifique, pour réguler la biosynthèse de protéines dépendantes du *quorum*. Les modifications sur le peptide précurseur sont intracellulaires et impliquent des enzymes codés par des gènes soumis à l'autorégulation. Chez les bactéries à Gram positif, les AIP peuvent être réimportés dans la cellule après leur libération et les cellules sont capables de répondre aux AIP qu'elles ont sécrétés. Ce peptide fonctionne comme molécule de signalisation et est perçu par un senseur membranaire qui va reconnaître les oligopeptides, il s'agit de senseurs à histidine kinase. L'auto-induction se déclenche avec un faible niveau de densité cellulaire, mais la concentration seuil doit être atteinte pour l'activation des récepteurs histidine kinase. La kinase sera alors auto-phosphorylée et va ensuite phosphoryler le régulateur de réponse qui va activer transcriptionnellement le gène de structure pour l'autoinducteur.

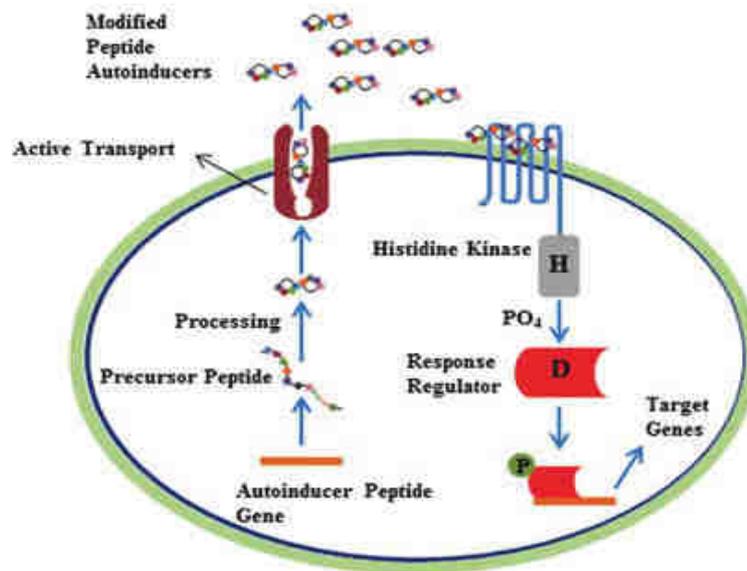


Figure 6 : Le système du Quorum Sensing chez les bactéries à Gram positif (9)

Les peptides auto-inducteurs vont être fabriqués à partir de peptides précurseurs et transportés par un transport actif hors de la cellule bactérienne puis sont perçus par le *senseur* membranaire des autres bactéries (senseur à histidine kinase). Le récepteur à histidine kinase va être phosphorylé et va induire la phosphorylation de régulateur de réponse R qui va activer la transcription de gènes activant l'expression des gènes du QS

### c. Le *Quorum Sensing* chez les champignons

Le *Quorum Sensing* a également été observé chez les moisissures et levures, il dépend comme pour les bactéries de la densité cellulaire du milieu. Le QS des champignons va réguler des phénotypes variés comme la virulence et la formation de biofilm. C'est la découverte du mécanisme du QS, impliqué dans la filamentation de la levure *Candida albicans* par le farnésol, qui a révélé l'existence du QS chez la levure.

Comme chez les bactéries, les molécules produites s'accumulent dans le milieu extérieur, par diffusion passive à travers la membrane grâce aux pompes d'efflux et aux transporteurs spécifiques. La détection du *Quorum* chez les champignons est similaire à la détection chez les bactéries. Elle se fait via de petites molécules qui s'accumulent dans l'environnement. Il existe une grande diversité des molécules signal chez les champignons, notamment des lipides comme l'oxylipine, des peptides avec les phéromones, les alcools (farnésol, tyrosol ...) et des acétaldéhydes.

Nous allons décrire le mécanisme du QS observé chez la levure *C. albicans*. Ce micro-organisme est un agent commensal de l'Homme. Il peut dans certaines circonstances provoquer des infections allant d'infections superficielles de la peau à des infections systémiques, potentiellement mortelles. (7)

Le farnesol, un alcool sesquiterpène, joue des rôles multiples dans la signalisation. Il possède des effets néfastes sur les cellules hôtes humaines et agit sur le changement levures-hyphes de *C. albicans* (figure 7).

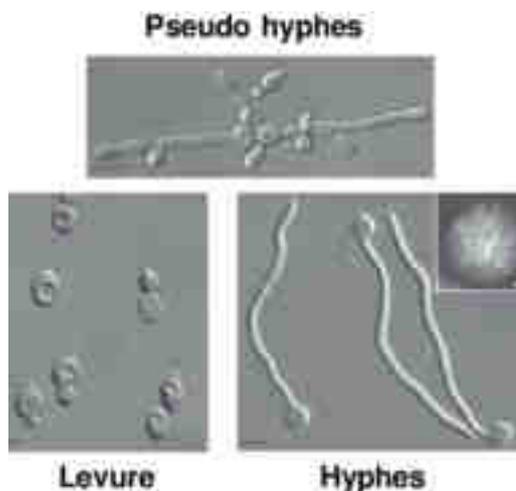


Figure 7 : Les différentes formes du thalle de *C. albicans* (10)

D'autres alcools aromatiques contrôlent quant à eux la croissance, la morphogenèse et la formation de biofilm chez la levure. Le farnesol est produit de manière endogène par la déphosphorylation enzymatique du diphosphate de farnésyle. Cette molécule est libérée en continu lors de la croissance de la levure *Candida albicans*. Le farnesol va permettre de bloquer la transition levure-filament en inhibant la cascade de l'AMP cyclique Ras- protéine kinase A et d'induire en plus l'expression du gène codant pour une catalase. Dans un biofilm avec une densité cellulaire élevée, principalement composée de cellules filamenteuses, le farnesol va permettre la dissémination de cellules en phase de levure, permettant de coloniser de nouveaux environnements. Cette molécule agit également sur la résistance aux médicaments, le transport du fer et la résistance aux chocs thermiques chez *C. albicans*. Dans le cas de résistance aux antifongiques, le farnesol joue un rôle important permettant d'échapper aux effets toxiques des médicaments.

#### d. La communication inter-espèce

Les molécules produites par les bactéries ne se limitent pas à la signalisation entre les mêmes espèces ; elles ont évolué pour développer un système de communication inter-espèces. Parmi ces molécules impliquées dans la communication inter-espèces, on trouve les AI-2 (auto-inducteurs 1 non AHL). Le gène responsable de leur production est le gène LuxS, qui est régulé chez de nombreuses bactéries à Gram négatif et à Gram positif.

Cet auto-inducteur est détecté par la protéine transmembranaire LuxQ. Lorsque l'AI-2 se lie aux deux domaines du récepteur périplasmique LuxP, cela active LuxQ (voir figure 8). Cette activation déclenche une cascade de phosphorylation qui régule divers phénotypes bactériens.

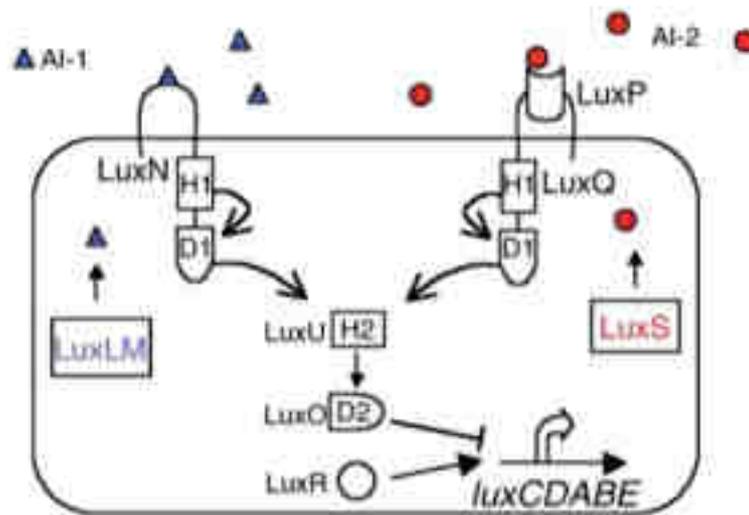


Figure 8 : Communication inter-espèces (11)

Lux S est le gène responsable de la production des auto-inducteurs de type 2 (AI-2). Les AI-2 vont se lier au récepteur LuxP et activer luxQ. L'activation de luxQ va engendrer une cascade de phosphorylation responsable de l'activation des gènes du QS.

La communication inter-espèces peut également entraîner une modification dans le comportement d'organismes eucaryotes. Cela est possible grâce au mimétisme moléculaire orchestré par les cellules eucaryotes, qui utilisent des hormones, cytokines et des neurotransmetteurs. Un des exemples le plus notable est la relation de symbiose entre les cellules de l'épithélium intestinal et la bactérie *Bacillus subtilis*. Ce système est induit par la surexpression des protéines HSPs qui vont adhérer à l'épithélium intestinal et le protéger de lésions oxydatives en apportant un climat propice au développement des bactéries. (12)

### 3) Le résultat du QS sur l'activité bactérienne

Le QS est impliqué dans la régulation des activités bactériennes, il permet ainsi aux bactéries de coordonner leurs réponses et d'agir comme un organisme pluricellulaire, ce qui leur confère des avantages. Dans chaque exemple de phénotype médié par le QS, nous étudierons une bactérie.

#### a. Les facteurs de virulence

Depuis les 20 dernières années, la communication cellule-cellule a pris de l'importance dans l'étude de l'évolution d'infections chroniques. Les facteurs de virulence sont impliqués dans la pathogénicité de

nombreuses souches bactériennes en déterminant leur aptitude à infecter l'hôte et à intensifier leur impact sur lui.

La production de facteurs de virulence implique le mécanisme de QS chez les bactéries à Gram négatif et à Gram positif. Différents facteurs de virulence sont observés chez les bactéries comme la capsule, les flagelles, la production de toxines et l'adhésion aux cellules de l'hôte. Chacun de ces facteurs de virulence a pour but d'échapper au système de défense de l'organisme infecté, comme la capsule des bactéries qui empêche les cellules immunitaires telles que les macrophages et neutrophiles de détecter ces bactéries.(13)

Les facteurs de virulence sont présents dans les infections nosocomiales, une infection nosocomiale est une infection contractée lors d'une hospitalisation, on l'appelle également infection associée aux soins. Chaque année, on compte près de 750 000 infections nosocomiales en France, responsable de 4 000 décès environ. Un des germes fréquemment rencontrés lors d'infections liées aux soins est la bactérie *Enterococcus faecalis*. Cette dernière est une bactérie à Gram positif présente dans l'environnement et dans le tractus gastro-intestinal des animaux, des insectes et de l'Homme. Elle est responsable de bactériémie, d'infections du tractus urinaire, digestif et d'endocardite. De plus, cette bactérie possède des résistances acquises et intrinsèques à une variété d'antibiotiques.(14)

Quinze protéines ont été identifiées chez *E. faecalis* comme protéines dépendantes de la détection du quorum. Chez les bactéries multirésistantes, l'enzyme LuxS est hautement sécrétée cependant chez la bactérie *E. faecalis*, le pouvoir pathogène est régulé par le système cytolysine.

Environ 30 % des souches d' *E. faecalis* sont productrices de cytolysine. La toxicité de la cytolysine d' *E. faecalis* a été évaluée *in vivo* et *in vitro* et pour ces résultats cliniques. Cette toxine entraîne la lyse de cellules humaines comme les entérocytes, les leucocytes, les cellules rétinienne, ce qui suggère son rôle dans les maladies intestinales et l'endophtalmie.

La cytolysine possède des sous-unités CylL L et CylL S, le mode d'action exact de la cytolysine est semblable à celui de la bactériocine lacticine, un antibiotique à deux composants porogènes (lacticine A1 et lacticine A2), produit par *Lactococcus lactis*. La lacticine va former un pore suite à trois étapes similaires chez la cytolysine :

- la sous-unité lacticine A1 est associée à la membrane et au lipide II ;
- l'interaction avec la lacticine A2 forme un complexe à trois composants de haute affinité ;
- l'extrémité C-terminale de la lacticine A2 dans le complexe est transloquée dans la membrane pour former un pore.

Ces peptides précurseurs linéaires à deux composants sont codés par deux gènes, *cylL L* et *cylL S*, qui sont situés dans l'opéron cytolysine. Lorsque la concentration de CylL S augmente jusqu'à un niveau seuil, elle favorise l'auto-induction de la cytolysine opéron par un mécanisme de détection de *quorum*. L'opéron cytolysine est situé sur le plasmide pAD1, et comprend huit gènes (*cylR1*, *cylR2*, *cylL L*, *cylL*, *cylM*, *cylB*, *cylA* et *cylI*). Deux gènes, *cylR1* et *cylR2* vont coder pour des protéines régulatrices. Les gènes *cylL L* et *cylL S* codent pour une grande sous-unité de 68 acides aminés (un peptide leader de 30 résidus à l'extrémité N-terminale et un peptide central de 38 résidus à l'extrémité C-terminale) et une petite sous-unité de 63 acides aminés (un peptide leader de 42 résidus à l'extrémité N-terminale et un peptide central de 21 résidus à l'extrémité C-terminale). Les produits des gènes *cylL L* et *cylL S* sont modifiés post-traductionnellement par la lantionine synthétase (CylM) (figure 9). CylM contient un domaine de déshydratation qui est impliqué dans l'hydrolyse des résidus d'acides aminés N-terminaux de CylL S. CylB va éliminer la plupart des peptides CylL L et CylL S et va les transporter dans l'environnement extracellulaire via un transporteur ABC. Le gène *cylA* code pour une sérine protéase, CylA, qui élimine six acides aminés (Gly-Asp-Val-Gln-Ala-Glu) de l'extrémité N-terminale des sous-unités de toxines sécrétées, et va les convertir en sous-unités de toxines actives à la surface cellulaire. Ces sous-unités forment un complexe oligomérique inactif en présence de cellules hôtes ; CylL L présente une liaison préférentielle à la membrane de la cellule hôte, ce qui permet à CylL S de devenir molécule de signalisation. CylL S va alors agir comme un autoinducteur et, à une certaine concentration seuil, se lier à CylR1. Cela conduit à l'expression de l'opéron cytolysine. (15)

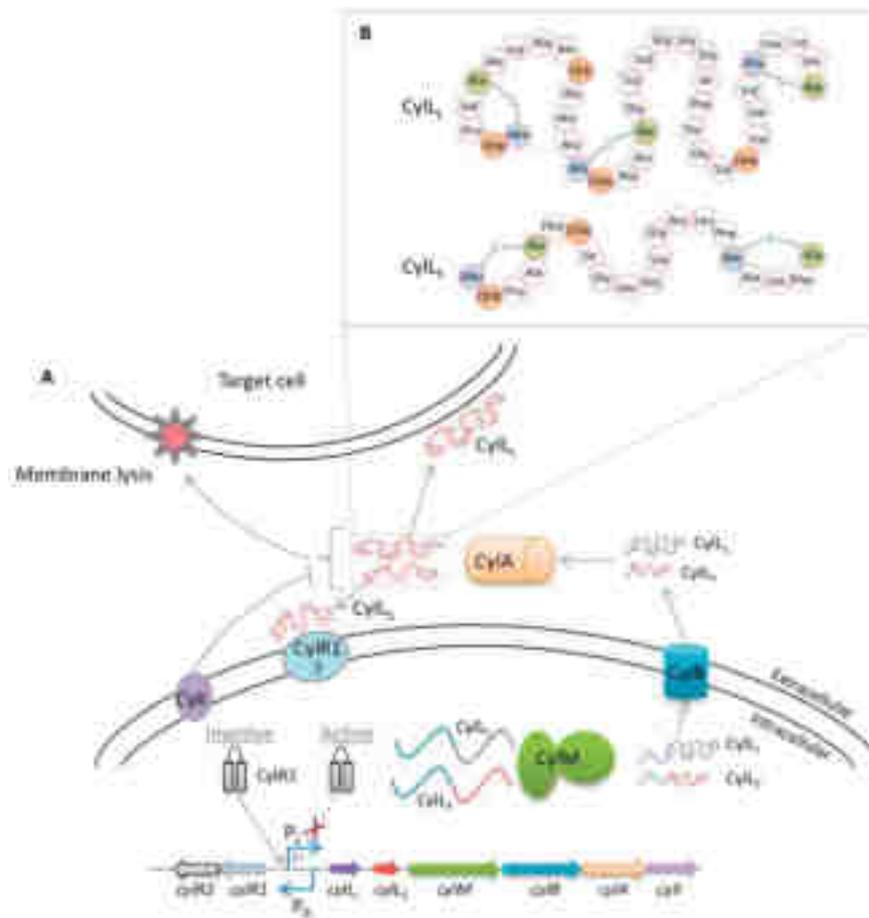


Figure 9 : Le système de détection de quorum de la cytolysine chez *E. faecalis*(16)

A) Mécanisme de production de la toxine : Les composants structurels de la toxine CylLL (sous-unité plus grande) et CylLS (sous-unité plus petite) sont codés par *cylLL* et *cylLS*. Les peptides centraux CylLL et CylLS sont modifiés post-traductionnellement par CylM, ces peptides sont ensuite perçus transportés par CylB. La protéase extracellulaire, CylA, élimine six résidus d'acides aminés de CylLL et de CylLS, ce qui en fait des sous-unités actives de toxine.

B) Structures de sous-unités de cytolysine matures *cylLL* et *cylLS*.

## b. Les gènes de résistance

### i. Les mécanismes de transfert de gènes

Les bactéries sont capables d'acquérir de l'information génétique et de transférer entre elles de l'information génétique par un mécanisme appelé le transfert horizontal de gènes.

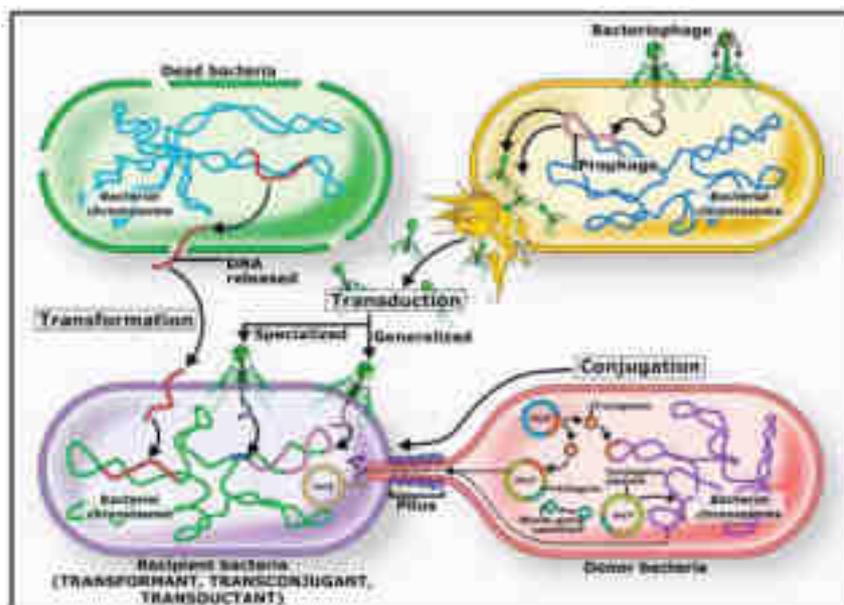


Figure 10 : Les différents mécanismes impliqués dans les transferts horizontaux de gènes.(17)

Les mécanismes de la transduction, de la conjugaison et de la transformation (figure 10) sont les mécanismes par lesquels les bactéries vont pouvoir mobiliser et partager l'information génétique et notamment le transfert de gènes de résistance.

La transformation est l'incorporation et l'expression d'ADN exogène entre des bactéries étroitement apparentées. Le matériel génétique est étranger à la bactérie, on le qualifie de « nu » et peut être présent dans l'environnement dans lequel la bactérie se développe. Il va pouvoir pénétrer la membrane cellulaire de la bactérie qui se trouve dans un état compétent.

La transduction est un mécanisme de transfert horizontal de gènes qui fait intervenir des bactériophages. Ces virus vont injecter les segments d'ADN qu'ils contiennent dans la capsid de l'hôte. L'ADN injecté va être recombinaison avec l'ADN chromosomique de l'hôte et va générer un cycle lytique ou lysogénique.

La conjugaison est le mécanisme de transfert horizontal de gènes le plus commun chez les bactéries et est responsable de l'émergence de multi-résistances notamment dans le milieu hospitalier. Le transfert de gènes de résistance aux antibiotiques est médié par des plasmides, dit plasmides conjugatifs intégratifs. Il est retrouvé chez les bactéries à Gram négatif et les bactéries à Gram positif. Ce phénomène nécessite un contact direct de cellule à cellule qui, entraîne le transfert unidirectionnel de matériel génétique via la formation d'un pont conjugatif entre la cellule donneuse et la cellule receveuse. (17) (18)

Ces mécanismes sont responsables des résistances aux antibiotiques qui depuis les dernières années, posent de plus en plus de problèmes. Les antibiotiques qui sont importants dans le traitement des

maladies bactériennes, sont basés sur des mécanismes engendrant la mort bactérienne et cela a conduit à l'émergence de souches résistantes voir multirésistantes par la pression sélective.

La résistance aux antibiotiques concerne différentes souches, par exemple chez la bactérie à Gram négatif *Acinetobacter baumannii*, la souche S (AbS) présente des AHL qui lui confère une résistance aux antibiotiques. Les AHL vont activer les gènes de résistance aux antibiotiques en réponse à l'augmentation de la densité cellulaire. Une fois produites, les molécules d'AHL diffusent dans l'environnement et vont se lier aux récepteurs de la cellule et engendrer des cascades de signalisation intracellulaires conduisant à l'activation de gènes de résistances. Dans le cas de *Acinetobacter baumannii* il s'agit de la production de bêta-lactamases ou de la régulation des pompes d'efflux.

## ii. Le mécanisme de résistance chez *Acinetobacter*

Le genre *Acinetobacter* comprend d'importants agents pathogènes humains qui provoquent des infections nosocomiales chez les hôtes immunodéprimés. Cette bactérie est capable de produire les enzymes  $\beta$ -lactamases qui sont à l'origine des résistances de *A. baumannii* aux bêta lactamines. Chez le genre *Acinetobacter*, la résistance aux aminoglycosides qui correspond à l'inactivation enzymatique par les acétyltransférases (AAC) est également présente ainsi que la présence de pompes d'efflux acquises, notamment la pompe à efflux Tet, dont Tet (A) et Tet (B), qui confèrent une résistance à la tétracycline. Ces multirésistances (figure 11) ont été acquises via des MGE ou éléments génétiques mobiles tels que les plasmides, les intégrons et les transposons.

Les intégrons sont des éléments génétiques mobiles dans des cassettes de gènes résistants qui vont pouvoir s'intégrer dans des chromosomes ou dans des plasmides via une recombinaison spécifique au site. Chez la bactérie *A. baumannii* on retrouve les intégrons de classe 1 et de classe 2 qui ont été associés à des épidémies d'infections nosocomiales plus particulièrement les intégrons bla GES-14, bla IMP, bla VIM et bla SIM.

Chez la bactérie *A. baumannii*, on retrouve également le plasmide GR6, le plasmide majoritaire rencontré chez cette bactérie. Ce plasmide peut transférer des gènes de résistance aux antibiotiques par le mécanisme de transfert horizontal de gènes via les mécanismes de transformation, conjugaison ou transduction. Les plasmides retrouvés contiennent des gènes de résistances qui comprennent les  $\beta$ -lactamines (*bla*<sub>GES-11</sub>), les carbapénèmes (*bla*<sub>IMP</sub>, *bla*<sub>VIM</sub>, *bla*<sub>OXA-23</sub>, *bla*<sub>OXA-24</sub>, *bla*<sub>OXA-58</sub> et *bla*<sub>NDM-1</sub>), les sulfamides (*sul*2) et les gènes de résistance à la streptomycine (*str*AB). (19)(20)(21)(22)

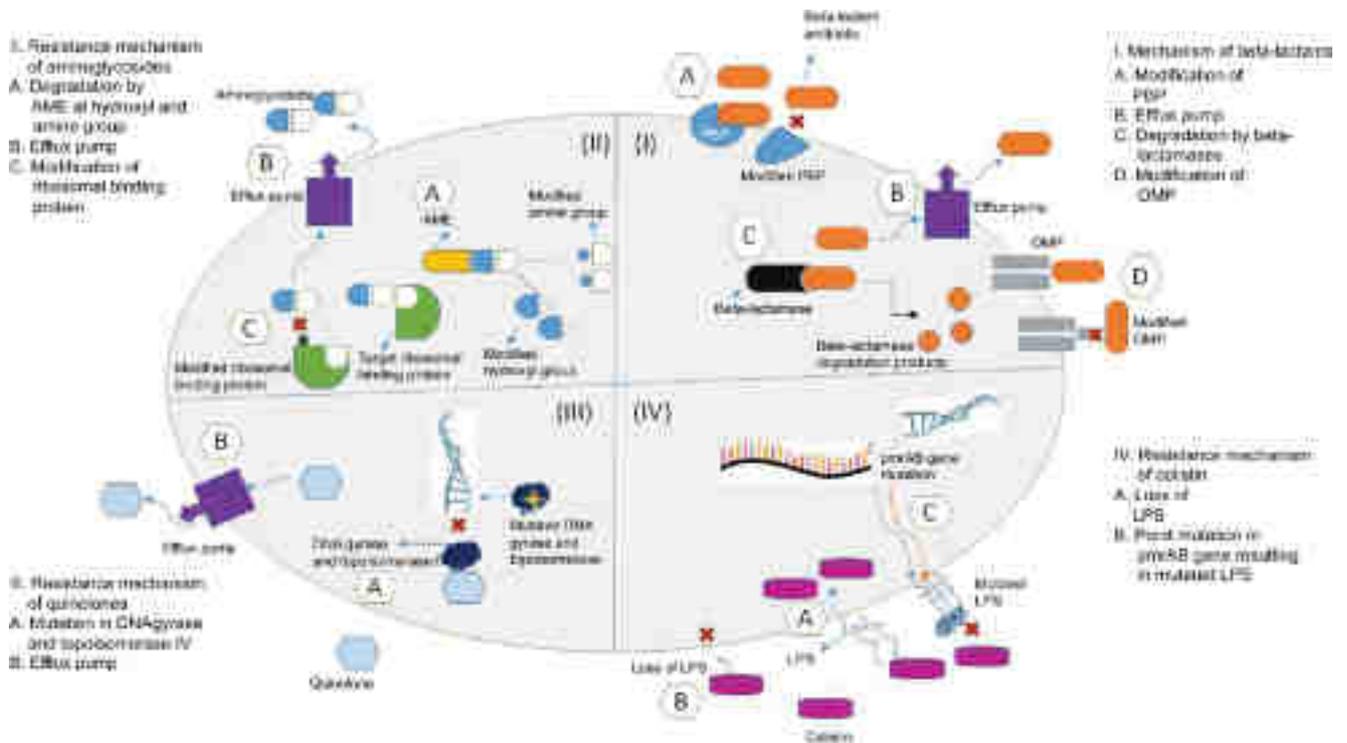


Figure 11 : Les différents mécanismes de résistance chez *Acinetobacter* (23)

(I) bêta-lactamines ; (II) les aminosides; (III) les quinolones; (IV) colistine.

#### 4) Les biofilms

##### a. La vie en biofilm

Les bactéries se trouvent dans un mode de vie sessile lorsqu'elles sont libres dans l'environnement dans lequel elles se trouvent. Quand elles vivent à plusieurs, attachées à un support, elle forme un biofilm (figure 12). Les bactéries qui s'y développent sont protégées à l'intérieur de ce biofilm, ce qui leur confère un moyen de protection contre les agressions extérieures telles que, par exemple, le stress environnemental, la dessiccation, les attaques du système immunitaire et les antimicrobiens.

Ce mode de vie permet aux bactéries d'acquérir des résistances aux agents antimicrobiens, une stabilité et une protection contre les facteurs environnementaux.

Le biofilm est composé d'une matrice extracellulaire produite par les bactéries qui a pour rôle de protéger les bactéries des agressions extérieures. De plus, les bactéries vont produire des EPS, une substance extracellulaire, qui permet d'alimenter le biofilm en eau, oxygène, nutriments et autres molécules signalétiques. Les auto-inducteurs impliqués dans la formation du biofilm sont les AI-1.



Figure 12 : Photo comparative de tuyaux utilisés dans l'industrie agroalimentaire avec présence de biofilm et tuyau sans biofilm. (24)

Plusieurs étapes sont nécessaires à la formation d'un biofilm. Dans un premier temps intervient la fixation, lors de laquelle les bactéries vont adhérer de manière irréversible à la surface. Elles vont ensuite entrer en division, cela entraîne une augmentation de la densité cellulaire, qui va permettre aux bactéries adjacentes de détecter les signaux du *quorum sensing*. Cette matrice extracellulaire est produite par les bactéries pour résister aux agressions de l'environnement. La dernière étape de formation du biofilm consiste en la dispersion bactérienne, c'est l'étape de détachement, afin d'étendre le biofilm (figure 13). (19)

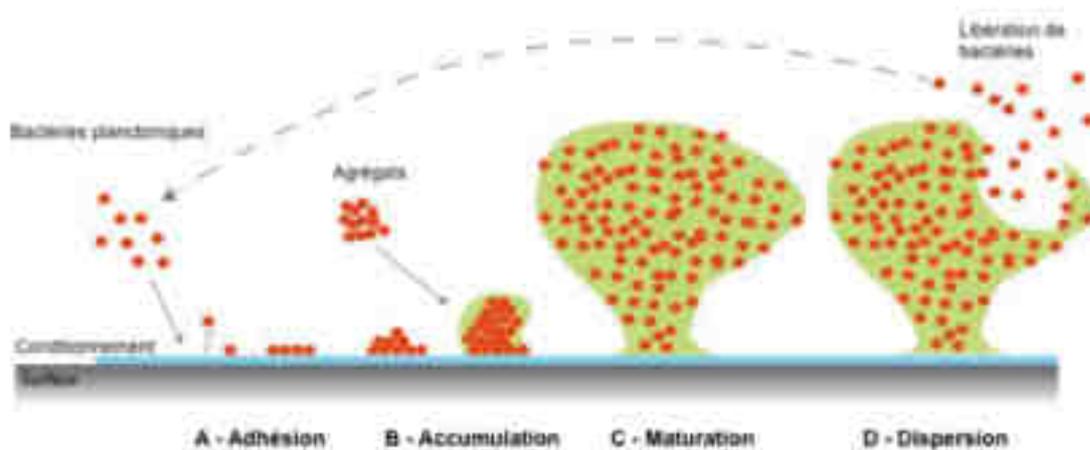


Figure 13 : Les différentes étapes de formation d'un biofilm. (26)

A) Les bactéries vont adhérer à la surface B) Accumulation des bactéries C) Maturation du biofilm formation d'EPS (en vert) D) Dispersion de bactéries de manière contrôlée dans l'environnement pour recoloniser de nouvelles surfaces.

## b. Les biofilms sur les dispositifs médicaux

Les biofilms ont une importance dans les maladies humaines et notamment lors de la formation de biofilm sur les dispositifs médicaux. Un groupe de bactéries, « ESKAPE », comprend les bactéries impliquées dans les infections graves associées au biofilm composé d'*Enterococcus spp*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterobacter spp.*, qui provoquent diverses infections. L'acronyme « ESKAPE » est formé des premières lettres des bactéries qui ont la faculté d'«échapper» au système immunitaire et à l'antibiothérapie. Ces bactéries sont des causes fréquentes d'infections nosocomiales potentiellement mortelles, en particulier chez les personnes immunodéprimées. (27)

On retrouve de nombreuses maladies, dites nosocomiales à *S. aureus*, qui sont responsables d'infections sévères chez l'humain. *S. aureus* est une bactérie à Gram positif ubiquitaire responsable de nombreuses infections liées aux soins. Ce pathogène est capable de créer des biofilms qui sont à l'origine d'infections persistantes. Les différentes actions du système immunitaire pour lutter contre une infection persistante du biofilm sont inefficaces. (28)

La formation du biofilm sur les dispositifs médicaux à *S. aureus* se fait à partir du système *agr* du QS. Ce système est composé de deux unités : RNAII et RNAIII transcrites de manière divergente. Cette transcription est dirigée par les promoteurs P2 et P3.

Les gènes *argB*, *argC*, *argD* et *argA* sont les gènes contenus dans l'ARNII. Les produits des gènes *agrB* et *agrD* sont impliqués dans la production du peptide auto-inducteur AI. Ce peptide est composé de 8 acides aminés, il est codé par le gène *agrD* et forme une structure cyclique contenant de la thiolactone. L'AI va se lier à une protéine transmembranaire, l'AgrC, qui va agir comme une kinase du système de régulation bactérien. Cette liaison à l'AgrC, va entraîner l'activation du régulateur de réponse AgrA, qui va induire la transcription de RNAII et RNAIII (figure 14).

La formation de biofilm chez *Staphylococcus* pourrait être due à la non-fonctionnalité du système *agr* qui va faciliter l'adhésion de la bactérie à un support et constituer ainsi la première étape de formation d'un biofilm. Il s'agirait de la protéine AtlE, présente sur la surface des staphylocoques, et surexprimée dans un mutant *agr* notamment chez *S. epidermidis*.

La deuxième étape de formation du biofilm est la multiplication et l'adhésion cellule-cellule. Cette étape est rendue possible par l'exopolysaccharide : PAI pour polysaccharide adhésine intercellulaire. Quand le biofilm est en place, certaines cellules vont pouvoir se détacher de ce dernier et se disséminer dans

l'environnement, ce qui est, dans la plupart des cas, responsable de la dissémination d'infections causées par les biofilms. Ce détachement est sous le contrôle de peptides amphiphathiques, connus sous le nom de PSM pour modulines phénol-solubles. Ces PSM sont produites de manière agr-dépendant. (29)

C'est le système agr qui facilite la fixation des cellules à la surface. Ce système joue également un rôle dans l'étape de détachement lorsque le biofilm est mature. Les cellules pourront alors être disséminées vers un site distant. Ainsi, le détachement du biofilm est d'une importance fondamentale pour la propagation d'une infection associée au biofilm. Des études suggèrent que le contrôle de Agr jouerait un rôle majeur dans le processus de détachement.

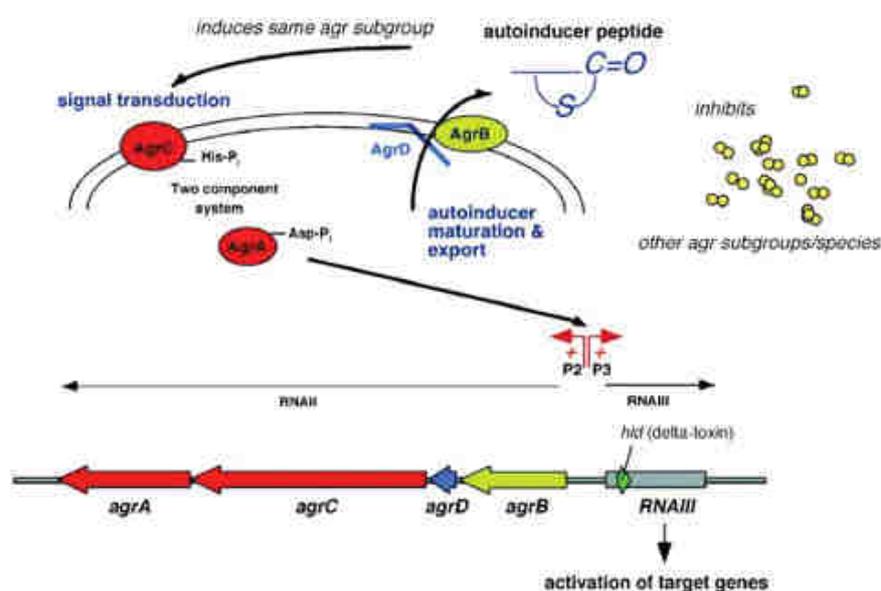


Figure 14 : QS chez *S. aureus* (29)

Chez *S. aureus*, le signal extracellulaire du système est une phéromone peptidique modifiée post-traductionnellement. Le précurseur de la phéromone est codé par le gène *agrD*. AgrB permet la maturation et l'exportation du précurseur de phéromone. AgrA et AgrC forme un système de transduction de signal à deux composants. Les gènes cibles sont contrôlés par une molécule d'ARN régulateur, l'ARNIII.

Arg B est impliqué dans la sécrétion de facteurs de virulence qui vont favoriser la dispersion du biofilm par une production accrue de métalloprotéinase. Au cours de la formation du biofilm de *S. aureus*, une petite sous-population subit une lyse pour fournir de l'ADN extracellulaire qui colle ensemble la matrice extracellulaire. Ce processus est régulé par les systèmes CidABC de type holin et LrgAB de type anti-holin. CidA, qui régule les activités des hydrolases, favorise la libération d'ADN génomique et la formation de biofilm. LrgAB, qui est régulé par le LytSR TCS, inhibe la lyse médiée par CidA. La muréine hydrolase AtlA est importante pour l'adhésion initiale de *S. aureus* à une surface. AtlA est également nécessaire pour la division cellulaire, le renouvellement de la paroi cellulaire et la lyse bactérienne. L'EPS entourant les bactéries intégrées dans le biofilm protège les cellules des conditions environnementales défavorables et perturbatrices. Les biofilms peuvent augmenter la tolérance

microbienne à la déshydratation, aux radiations, aux températures et pH extrêmes, au stress osmotique, aux carences en nutriments, à la toxicité des métaux et aux antibiotiques. C'est notamment le cas pour la résistance accrue à l'ampicilline dans les biofilms contrairement à la ciprofloxacine qui pénètre plus facilement les biofilms. (29)

### III. *Quorum Quenching* : inhibiteur de la communication bactérienne

Le QS régule des phénotypes qui engendrent de nombreux questionnements. Des moyens de diminuer les effets de la communication bactérienne sont nécessaires dans les domaines de la santé publique mais aussi dans les secteurs industriels. Une stratégie d'inhibition a alors été développée : le *Quorum Quenching* (QQ). Le *Quorum Quenching* peut être utilisé comme stratégie pour contrôler la croissance bactérienne ou pour empêcher la formation de biofilm.

#### 1) Le *Quorum Quenching*

Le terme *Quorum Quenching* (QQ) a été utilisé pour la première fois dans les années 2000 (*Dong et al., 2000*) pour décrire la dégradation enzymatique des signaux AHL et l'inhibition du QS par des petits antagonistes moléculaires. Depuis plusieurs termes peuvent être attribués à ce phénomène d'extinction du *Quorum sensing*. Le QQ désigne l'inhibition de la communication bactérienne par des mécanismes qui perturbent la synthèse, l'accumulation ou l'action des molécules de signalisation utilisée par les bactéries pour communiquer entre elles. Plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour perturber la communication bactérienne, en utilisant des analogues des molécules impliquées dans la communication bactérienne, telles que l'utilisation d'enzymes qui vont dégrader les molécules du QS, de substances chimiques et de petites molécules inhibitrices qui vont cibler les facteurs régulés par le QS. Le mécanisme du QQ va pouvoir interférer avec tout phénotype régulé par le QS(30). Les petites molécules inhibitrices (QSI) peuvent mimer l'effet des auto-inducteurs, permettant ainsi d'inhiber la perception de ces auto-inducteurs au niveau de la cellule bactérienne.

Plusieurs processus vont permettre d'interagir avec les auto-inducteurs du QS au niveau extracellulaire en interférant avec la détection des auto-inducteurs ou en inhibant leur synthèse. Ils peuvent également interagir au niveau intracellulaire en inactivant les auto-inducteurs. On retrouve :

- La production ou perception des auto-inducteurs via de petites molécules, les QSI ;
- L'utilisation d'anticorps pour piéger les auto-inducteurs ;
- L'utilisation d'enzymes pour hydrolyser les auto-inducteurs ;
- L'utilisation de macromolécules(31).

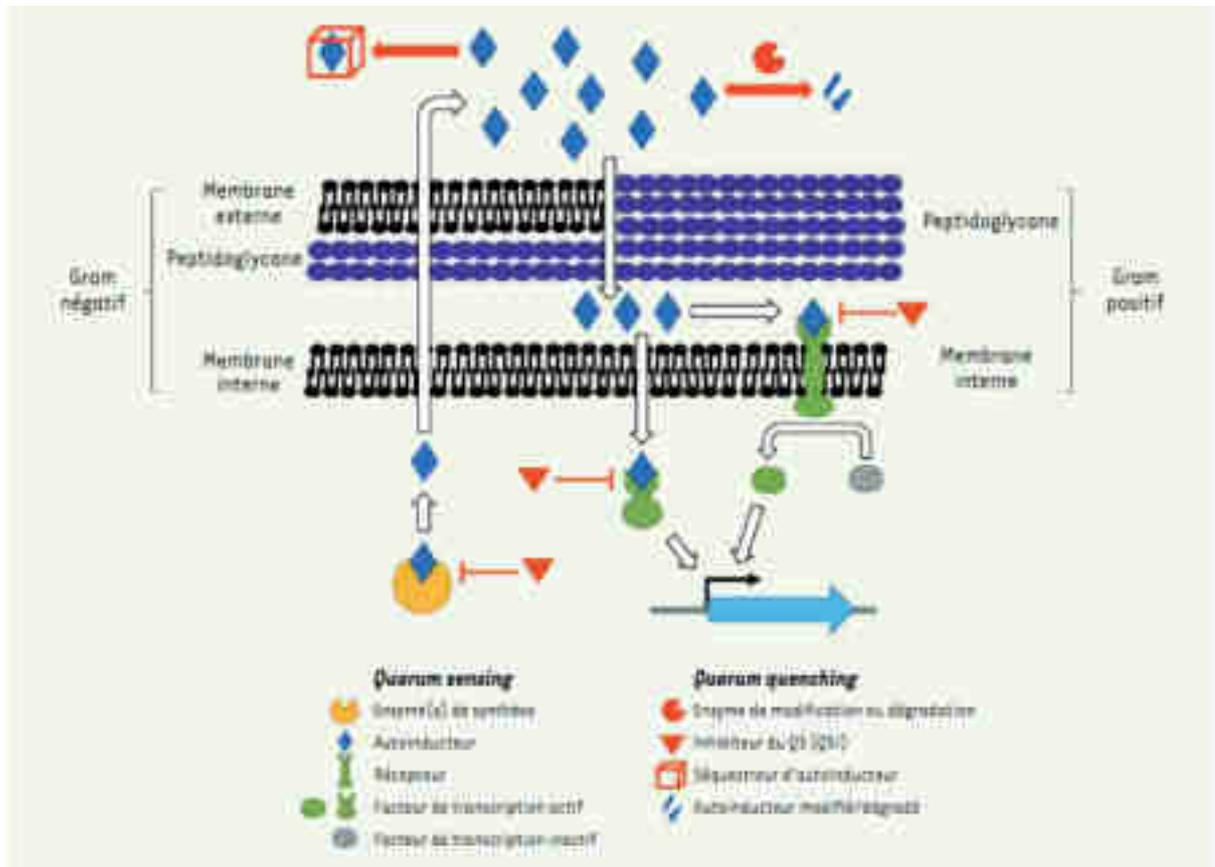


Figure 15 : Inhibition du mécanisme du QS : Le QQ est à l'origine de la dégradation et l'interruption de la perception des signaux de QS par les bactéries au niveau intra et extracellulaire via différents processus. (31)

Au niveau extracellulaire, les enzymes de dégradation vont dégrader les autoinducteurs, les autoinducteurs peuvent être séquestrés. Au niveau intracellulaire, les inhibiteurs du QS vont empêcher la liaison de l'autoinducteur au récepteur, vont inhiber la transcription du signal, ou agir sur les enzymes de synthèse des autoinducteurs.

## 2) Les inhibiteurs du *Quorum Sensing*

Il existe plusieurs inhibiteurs du *Quorum Sensing* qui diffèrent par leur mécanisme d'actions, leur taille, leur origine.

Parmi les molécules les plus observés dans le QQ, on retrouve à la première position les enzymes.

### a. Les enzymes du QQ

Le phénomène de *Quorum Quenching* fait intervenir des enzymes. *Dong et Zhang* ont décrit, dans les années 90, la structure chimique de la molécule d'AHL et ses différents modes de dégradation enzymatique par la lactonase, la décarboxylase, l'acylase et la désaminase.(32) Ces enzymes vont dégrader respectivement l'AHL par une hydrolyse lactone, une amidohydrolyse et une oxydoréduction. Ces enzymes sont souvent produites par des bactéries antagonistes qui vivent en compétition avec les

bactéries pathogènes et qui peuvent ainsi inhiber leur croissance en perturbant leur communication (figure 16) .

### iii. Les lactonases

La première enzyme purifiée du QQ est une lactonase, découverte chez la bactérie du sol *Bacillus spp.* L'enzyme AiiA, capable d'inactiver trois AHL, se compose d'une séquence de 250 acides aminés avec un motif de séquence similaire au motif de liaison au  $Zn^{2+}$  conservé chez les enzymes de la famille des lactonases (33). Des enzymes homologues d'AiiA, notamment des enzymes thermostables, ont été découvertes chez d'autres bactéries appartenant au genre *Bacillus* notamment *Geobacillus kaustophilus* et *Geobacillus caldoxylosilyticus*.

Parmi les lactonases, on retrouve plusieurs familles :

- les métallob-lactamase-like lactonases qui possèdent un repliement unique
- les lactonases de type phosphotriesterase
- les paraoxonases
- les B-hydrolase lactonases

Des études récentes ont montré que les lactonases AHL nécessitent des ions métalliques (sauf AiiM et QsdH) et peuvent cibler des AHL à chaîne acyle courte et longue. De plus, ces ions métalliques sont importants dans le clivage de la liaison éther sur le cycle lactone et le bon repliement de l'enzyme. Ce serait donc la structure et l'activité de ces enzymes qui expliqueraient le mécanisme enzymatique. Concernant l'activité catalytique, elle peut se produire spontanément à pH alcalin et peut être inversé à pH acide.

La lactonase catalyse la dégradation des molécules de *quorum* appelées lactones, des esters cycliques, en hydrolysant des liaisons éthers qu'elles contiennent. Elles vont hydrolyser la liaison éther en C-O dans la molécule de lactone, ce qui permet de dégrader la molécule en un N-acyl-homosérine et inhiber son action en rendant ainsi la liaison de la molécule de signalisation avec son régulateur cible impossible. (34)

### iv. Acylases

Les acylases sont connues sous le nom d'AHL amidohydrolase qui catalysent la dégradation des acylhomoserine lactones (AHL). L'acylase va hydrolyser la liaison peptidique amide C-N du cycle lactone de l'AHL pour produire une homosérine lactone et la chaîne d'acides gras correspondante, ce qui va entraîner une réduction significative de la fonction de la molécule de signalisation. À la différence

des lactonases, les acylases nécessitent une spécificité de substrat basée sur la longueur de la chaîne acyle.

Cette enzyme est présente chez *Ralstonia* sp. Xj12B, on l'appelle : l'AiiD, un polypeptide composé de 794 acides aminés. Elle appartient à la superfamille des aminohydrolases nucléophiles N-terminales. Cette enzyme nécessite une modification post-traductionnelle pour être fonctionnelle. On retrouve également une autre AHL acylase chez la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* : la PvdQ. (35)(32)(36)(37)

#### v. Oxydoréductases

Ces enzymes ont la capacité de réduire ou d'oxyder des composés chimiques présents dans les cellules bactériennes. Elles vont réduire les auto-inducteurs, ce qui réduit leur concentration et perturbe le signal de *quorum*. Les oxydoréductases sont étudiées pour l'antibiothérapie en raison de leur efficacité à détruire les bactéries en réduisant la toxicité des antibiotiques et en limitant le développement de résistance.

Il existe plusieurs types d'oxydoréductases :

- Des enzymes qui agissent sur les acides gras à chaîne courte. Ces oxydoréductases sont spécialisées dans le catabolisme des acides gras à chaîne courte, c'est-à-dire des acides gras qui ont moins de 10 atomes de carbone, en utilisant l'oxygène pour cataboliser les acides gras finaux tels que l'acide acétique et l'éthanol. Il existe plusieurs types d'enzymes qui agissent sur les acides gras à chaîne courte comme l'acide acétyl acétique (AAA).
- Des enzymes qui agissent sur des acides gras à chaîne moyenne. Ces oxydoréductases sont spécialisées dans le catabolisme des acides gras à chaîne moyenne, c'est-à-dire des acides gras qui ont entre 10 et 16 atomes de carbone, comme l'acide 3-oxo-docécanoïque (3-ODA).

Ce phénomène a été observé chez la bactérie *R. erythropolis* par la modification des AHL 3-oxo-substituées en leurs dérivés 3-hydroxy correspondants.

L'AHL sera alors fonctionnel mais modifié ce qui peut empêcher sa liaison spécifique avec son récepteur LuxR provoquant ainsi une perturbation de l'activation des gènes médiés par le QS. (35)(32)(36)(37)

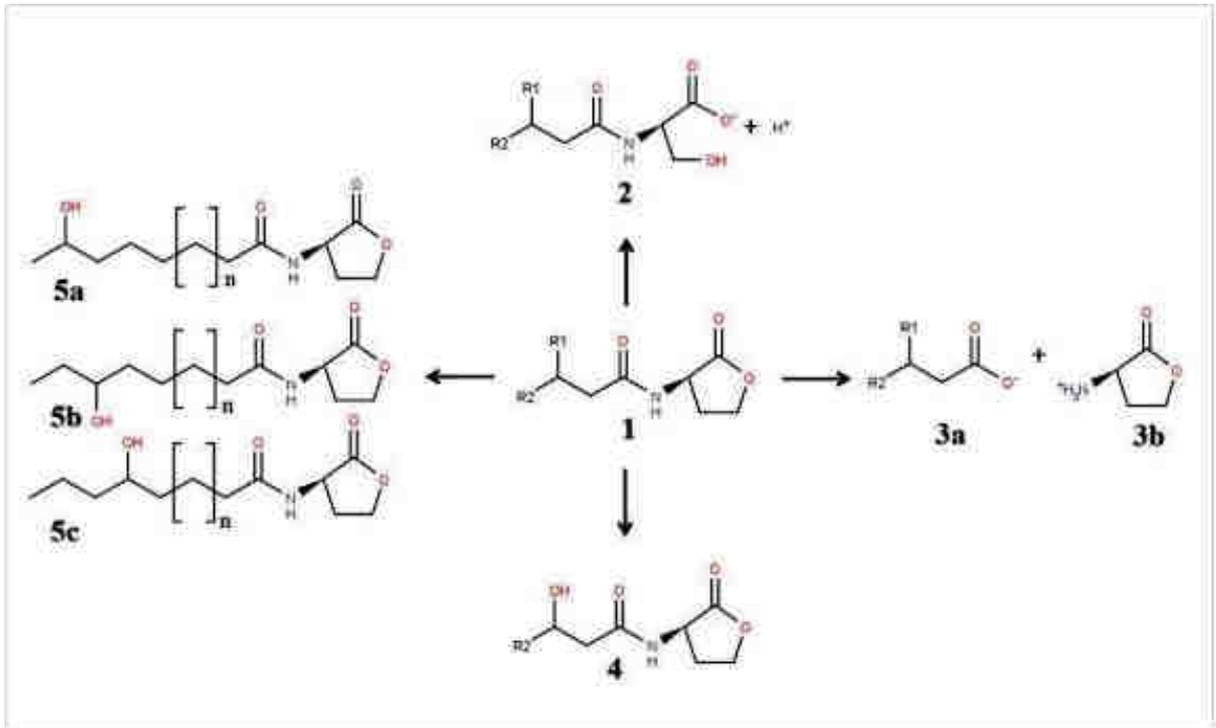


Figure 16 : Différents mécanismes enzymatiques du *Quorum Quenching* (35)

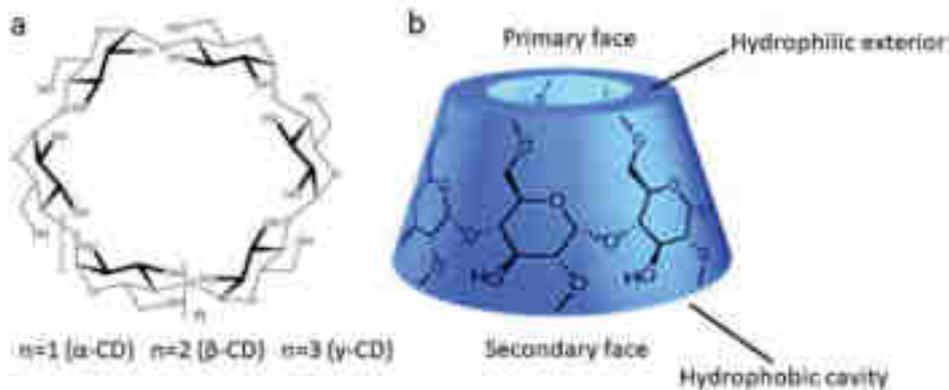
- 1 : molécule de AHL (N-acyl homosérine lactone)  
 2 : N- acyl homosérine produit par le mécanisme de la lactonase  
 3 : un acide gras (3a) et une homosérine lactone (3b) produit par le mécanisme de l'acylase  
 4 : Par le mécanisme de l'oxydoréductase, l'AHL est inactivé en substituant le groupe oxo en C3 par un groupe hydroxy.  
 5 : En (5a, 5b, 5c) chaîne acyle de l'AHL réduite aux positions -1, -2 et -3 R1 ce qui correspond à la chaîne latérale de la position C3 (3-oxo-, 3-hydroxy- et 3-non substitué). R2 correspond à la chaîne latérale acyle de AHL et ne correspond pas au groupe alkyle.

#### b. Les anticorps pour piéger les IA

Dans le QQ, on retrouve également des molécules capables de séquestrer les auto-inducteurs présents dans l'environnement avant qu'elles n'atteignent leur cible, les anticorps. Les anticorps sont des glycoprotéines complexes produites par le système immunitaire adaptatif pour lutter contre des agents pathogènes. Dans le QQ, les anticorps sont spécifiques pour chaque type de signal de quorum, et sont capables de se lier à ces signaux de manière très précise. Dans les stratégies anti-QS, les anticorps font leurs preuves, car ils sont capables de séquestrer les molécules signal. Cette stratégie est retrouvée chez les bactéries à Gram négatif comme chez les bactéries à Gram positif. Il existe plusieurs types d'anticorps du QQ, qui sont spécifiques pour différents types de signaux de quorum. Par exemple, l'anticorps AP4-24H11 est un anticorps synthétique qui est capable de se lier aux peptides auto-inducteurs afin de réguler la virulence chez *S. aureus* et d'inhiber son activité hémolytique. (38)(39)

### c. Cyclodextrines

Les cyclodextrines (CD) sont des oligosaccharides cycliques qui se composent d'une partie externe hydrophile et d'une partie interne hydrophobe. Ces oligosaccharides présentent un avantage : ils améliorent la biodisponibilité et la stabilité des produits tels que les médicaments et les cosmétiques (figure 17). Les CD constituent également une approche innovante dans les stratégies de QQ.



L'activité QQ des cyclodextrines a été étudiée chez la bactérie *Aliivibrio fischeri*, une bactérie, productrice de lumière. Les gènes *luxI* et *luxR* sont impliqués dans le phénomène de bioluminescence de cette bactérie. C'est dans les peroxyosomes du cytoplasme bactérien qu'a lieu la synthèse de la molécule signal AHL à partir de la protéine I qui diffuse par la suite à travers la membrane cellulaire vers l'espace extracellulaire. Ces molécules signal se lient ensuite à la protéine intercellulaire R qui agit comme un activateur de la transcription. Au fur et à mesure que la densité de population bactérienne augmente, les molécules signal s'accumulent et au-dessus d'un certain nombre de récepteurs saturés, la protéine R induit la transcription de *lux*, ce qui conduit à l'expression de gènes responsables de la bioluminescence. L'effet QQ des CD serait en partie dû à la chaîne acyle celle-ci étant le site d'interaction le plus important du signal 3-oxo-C8-AHL avec la membrane cellulaire. L'inclusion de cette chaîne acyle dans la cavité va alors perturber l'activité QS.

L'activité QQ des CD va dépendre de la concentration en cyclodextrine ainsi que du temps de contact.

Cependant, le mécanisme d'extinction du QS n'est pas encore totalement élucidé, mais les découvertes sur les nanoéponges à base de  $\beta$ -cyclodextrine sont prometteuses puisque ces  $\beta$ -cyclodextrine contenues dans les éponges marines présentent une activité antimicrobienne contre *E. coli*, *S. aureus*, et *P. aeruginosa*. Une inhibition de croissance a été observée contre *E. coli* en raison de la rupture de la membrane cellulaire. (41)(3)

#### d. Les nanoparticules

Les nanoparticules sont d'autres molécules utilisées dans le QQ. Il s'agit de particules de dimensions inférieures à 100 nm. Nous allons nous intéresser aux nanoparticules à base de métal qui sont les plus utilisées. On retrouve notamment les nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnONP), les nanoparticules de dioxyde de titane (TiO<sub>2</sub> NPs) et les nanoparticules d'argent (AgNPs). Ces 3 nanoparticules ont montré une activité d'inhibition sur le QS bactérien.

Les nanoparticules vont avoir un effet anti-QS via différents mécanismes dont :

- l'induction d'un stress oxydatif ;
- l'interaction et/ou la perméabilisation de la membrane cellulaire ;
- la formation d'ions métalliques ;
- l'interaction avec des protéines ou l'ADN bactérien.

L'activité anti-QS a été étudiée sur différentes bactéries comme *Chromobacterium violaceum*, capable de produire un pigment : la violacéine ; il a été montré que les ZnONP vont perturber la perception du QS et ainsi la réponse signal. Les nanoparticules TiO<sub>2</sub> et Ag perturbent quant à eux la biosynthèse des auto-inducteurs (figure 18). (41–44)

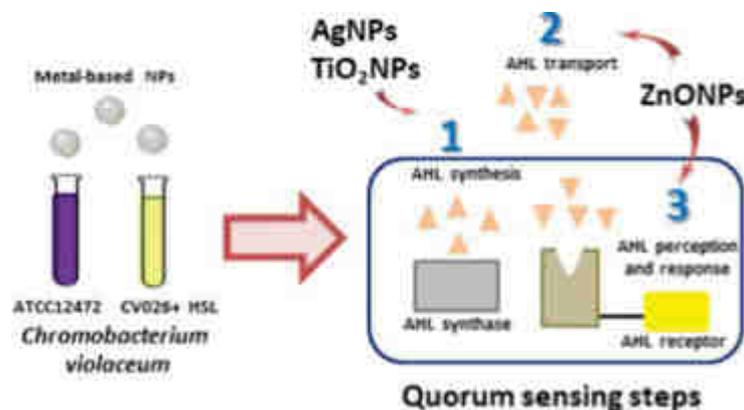


Figure 18 : Activité anti-QS des nanoparticules Ag, TiO<sub>2</sub> et ZnO chez *Chromobacterium violaceum* (43)

1) Inhibition la synthèse d'AHL en agissant sur l'enzyme AHL synthase, 2) Inhibition du transport des AHL à l'intérieur de la cellule, 3) Inhiber la liaison avec le récepteur et la perception du signal.

#### e. Inhibition du QS par les bactéries

Il existe, en plus des agents moléculaires et macromoléculaires, un moyen d'inhiber le QS basé, comme dans tout règne, sur la présence d'une compétition entre les espèces. C'est le cas pour les bactéries, ce qui leur confère un effet QQ sur les autres. Ce mécanisme a été mis en évidence en laboratoire dans des co-cultures de bactéries et a montré un effet QQ de certaines espèces sur d'autres.

Les bactéries du genre *Staphylococcus*, qui sont des bactéries à Gram positif, coagulase positive, excrètent des petits composés ayant un effet QQ. Ces petits composés peuvent inhiber l'expression des toxines et d'autres composés régulés par le QS. Ils peuvent aussi contrôler la croissance de bactéries à Gram négatives. Chez la bactérie *S. aureus*, le mécanisme utilisé dans le QQ est en réalité le mécanisme du QS de cette bactérie qui comprend quatre groupes différents d'AIP qui peuvent activer spécifiquement leur récepteur AgrC apparenté, mais inhiber tous les autres en se liant de manière compétitive aux récepteurs non apparentés.

Ces composés ont pu être isolés chez l'espèce *S. delphini*, ils permettent d'éteindre la régulation du QS dans un large spectre de bactéries à Gram négatives en stimulant la phosphorylation médiée par des gènes Lux. Par exemple, elle va inhiber la production de pyocyanine, un produit du QS de la bactérie à Gram négatif *P. aeruginosa*, sur une co-culture de 24 heures. De plus, dans des études de co-culture avec des bactéries à Gram négatif, *S. delphini* a également supprimé la production de prodigiosine et de violacéine ainsi que la bioluminescence de bactéries à Gram négatif.

Ce mécanisme d'inhibition du QS existe également entre différentes espèces, mais aussi entre différentes souches de la même espèce. Par exemple chez l'espèce *C. violaceum*, une bactérie à Gram négatif, ce phénomène existe entre la souche *C. violaceum* ATCC 31532 et la souche *C. violaceum* ATCC 12472. L'AHL natif utilisé par *C. violaceum* ATCC 31532 est C6-HSL mais la production de violacéine régulée par QS peut être inhibée par les AHL à longue chaîne produite par *C. violaceum* ATCC 12472 ou d'autres bactéries.

Le mécanisme d'inhibition du QS par les bactéries peut également être dépendant des caractéristiques de la bactérie. Certaines bactéries et plus particulièrement les bactéries halophiles, qui sont des bactéries capables de vivre dans des milieux riches en sel, possèdent une activité antimicrobienne. Cette activité antimicrobienne serait liée aux conditions extrêmes de leur milieu de vie qui leur confère des propriétés physiologiques et génétiques propres aux bactéries halophiles. Parmi de nombreuses souches halophiles, les études réalisées sur les genres *Marinobacter*, *Halomonas* et *Haloterrigena* ont montré leurs activités antimicrobiennes sur les espèces *B. subtilis*, *S. aureus* et *S. pyogenes* et *S. enterica* par la souche *Marinobacter* sp. SK-3. Les substances antimicrobiennes que ces bactéries sont capables de produire

sont des extraits d'acétate d'éthyle qui associés aux éponges sont capables d'inhiber la croissance de *B. subtilis*.

De plus, certaines bactéries halophiles sont capables de produire des bactériocines. Les bactéries de la famille des *Halobacteriaceae* produisent des bactériocines qui ont une activité QQ. Les bactériocines vont inhiber la croissance bactérienne de différentes manières, notamment en perturbant la membrane cellulaire. Les bactériocines vont agir en formant des pores dans la membrane cellulaire de la bactérie ce qui va provoquer la mort cellulaire. Elles peuvent également perturber la synthèse de l'ADN des bactéries. (45) (46)

Le QQ a montré son efficacité sur l'inhibition du QS grâce à une importante variété de composés comme les enzymes, les anticorps, les macromolécules et les *QSIs*. Dans la figure 19, on observe les différentes étapes du QS comme la synthèse de précurseurs, la formation de complexe QS/récepteur, la synthèse de signaux du QS, le transport des signaux du QS et la diffusion de ces signaux. Chaque étape du QS peut être inhibée par le QQ, les inhibiteurs du QS représentés sont soit des enzymes, anticorps ou *QSIs*. En noir sur la figure 19, on observe les différentes molécules du QQ qui ciblent les différentes étapes du QS. La couleur indique quel signal du QS est inhibé : l'AHL (en violet), AIP (en rouge), PQS (en bleu) et AI-2 (en vert). Ces composés peuvent être synthétisés par l'Homme où sont déjà disponibles dans l'environnement et issus des plantes et animaux qui nous entourent.

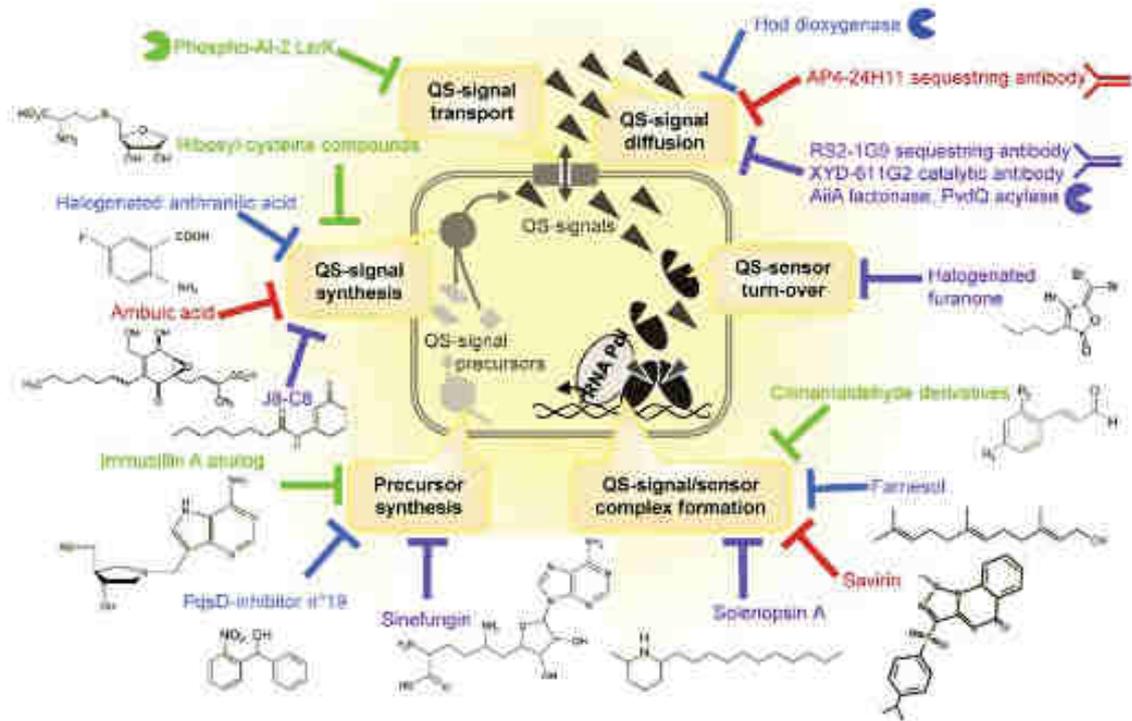


Figure 19 : Diversité des agents anti-QS et les différentes étapes du QS pouvant être inhibées. (47)

Pour chaque agent du QQ on distingue les cibles : les AHL (couleur violette), les AIP (couleur rouge), les PQS (couleur bleue) et les AI-2 (couleur verte).

Les cibles des agents du QQ sont respectivement au niveau extracellulaire le transport et la diffusion du signal du QS. Au niveau intracellulaire les cibles sont la synthèse de les auto-inducteurs et la réception du signal.

### 3) L'origine des inhibiteurs du QQ

Il existe de nombreux inhibiteurs du *Quorum Sensing* (QSI) d'origine naturelle. Les composés d'origine naturelle sont utilisés en médecine dans le traitement de plusieurs pathologies dont les infections bactériennes. Ils sont biodégradables ce qui leur confère un avantage dans le traitement de maladies. Il a été démontré que de nombreux organismes sont capables de produire des QSI. Ces QSI ont pu être isolés dans le thé, les champignons, le miel, l'ail et les organismes marins... On a notamment découvert des inhibiteurs AHL-dépendant parmi les bactéries marines, les algues, coraux et éponges.

Certains QSI ont été synthétisés en laboratoire à partir de la structure des AI afin de créer une structure similaire qui va jouer le rôle d'antagoniste. Nous allons étudier quelques origines possibles des QSI.

#### a. Les molécules issues de plantes

De nombreux aliments connus pour être bénéfiques pour la santé de l'Homme comme des fruits, herbes et plantes médicinales sont dotés d'une activité QQ. Les plantes peuvent avoir un effet inhibiteur sur le QS. Cet effet est expliqué par la similitude de structure chimique avec celles des molécules signal du QS. La dégradation des récepteurs signaux notamment, LuxR, a été identifiée chez les plantes. Les composés des plantes responsables de cette activité anti-QS sont par exemple, les composés phénoliques.

Ces composés ont montré une activité anti-QS dépendant de l'AHL. Les composés phénoliques sont une partie des composés possédant une activité QQ, mais le nombre de substances naturelles aux propriétés biologiques est bien plus important. Cette catégorie de molécules se découpe en plusieurs classes chimiques : les polyphénols, terpènes, alcaloïdes et coumarines. *Ahmad et Viljoen (2014)* ont également découvert une activité QQ des COV des végétaux et plus particulièrement des terpènes d'huiles essentielles sur les QS à base d'AHL dans *Chromobacterium*. Cependant, la plupart des QSI naturels agissent en association.(48)

#### i. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont également appelés polyphénols et sont des molécules synthétisées par les plantes. Ces composés appartiennent au métabolisme secondaire des plantes et leur permettent de se défendre contre les agressions du milieu extérieur. Les polyphénols confèrent aux plantes la teinte de leurs feuilles et fruits. Il s'agit du plus grand groupe de composés chimiques présent chez les plantes. Cette classe compte plus de 8 000 composés présentant tous un squelette commun : un cycle aromatique à 6 carbones. Les polyphénols peuvent être séparés en 10 classes selon la structure chimique de base qui peut être une structure simple ou une structure complexe et hautement polymérisés comme celle des tanins.

#### ii. Les acides phénoliques

Un acide phénolique est un composé organique qui possède une fonction carboxylique ainsi qu'un hydroxyle phénolique. Chez les végétaux, il est présent sous la forme d'esters d'alcools aliphatiques ou d'esters d'acide, d'acide rosmarique ou de glycosides. C'est le nombre de groupements hydroxyles du composé phénolique qui est responsable de la toxicité vis-à-vis des différents microorganismes. À savoir que plus cette hydroxylation est importante, plus la toxicité est importante. Les mécanismes responsables de la toxicité phénolique contre les micro-organismes proviendraient de réactions avec des groupes sulfhydriques ou d'interactions non spécifiques avec des protéines. (45)

#### iii. Les flavonoïdes

Parmi les composés phénoliques, on retrouve les flavonoïdes qui sont les pigments responsables de la coloration des fleurs, des fruits et des feuilles. Les flavonoïdes possèdent des propriétés intéressantes pour contrôler la croissance et le développement des plantes en interagissant de manière complexe avec les différentes hormones de croissance des plantes. Ils possèdent également une activité anti-infectieuse,

car ils sont synthétisés par la plante pour lutter contre certaines infections causées par des champignons ou bactéries.

Ce sont des composants du miel et du propolis. Les flavonoïdes présentent de nombreuses activités pharmacologiques et présentent une divergence structurale. Il existe plus de 4 000 flavonoïdes qui possèdent le même squelette de base à quinze atomes de carbone, constitué de deux unités aromatiques, deux cycles C6 liés par une chaîne C3. Leur biosynthèse est réalisée à partir d'un précurseur commun. La catéchine flavan-3-ol, isolée chez *Combretum albiflorum*, est le premier composé flavonoïde identifié et est capable de réduire la production de facteurs de virulence chez *P. aeruginosa* PAO1 en interférant avec RhlR. Les flavonoïdes peuvent être répartis en différentes classes de molécules selon le degré d'oxydation et la nature du substituant porté sur le cycle. Il existe 14 groupes identifiés dont six groupes sont étudiés et répandus : les flavones, isoflavones, flavanones, flavanols, flavonols et les anthocyanidines. (41)

#### iv. Les terpènes

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels de structure cyclique ou à chaîne ouverte. La molécule de base est l'isoprène. On utilise plus communément le terme terpénoïde pour désigner un ensemble de substances possédant un squelette terpénique avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide ou lactone...). Leur classification est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène : hémiterpènes (C 30), tétraterpènes (C 40) et polyterpènes. On retrouve des composés terpéniques et plus particulièrement des mono et sesquiterpènes dans les huiles essentielles. Ces composés sont obtenus à partir de différentes parties de la plante par la méthode de la distillation. Les huiles essentielles et leurs composés ont montré plusieurs activités pharmacologiques telles que des propriétés antibactériennes et antifongiques. (45)

#### v. Les tanins

Les tanins hydrolysables sont des composés phénoliques; les fractions riches en tanins de diverses plantes ont montré une activité inhibitrice du QS contre *C. violaceum* et *P. aeruginosa*. (45)

#### vi. Les coumarines

Les coumarines sont également des molécules retrouvées dans les substances d'origine naturelle comme les végétaux. Cette molécule possède des activités anti-QS et notamment sur l'inhibition du biofilm et les mécanismes QS des bactéries *C. violaceum* et *P. aeruginosa* (49). Ces activités sont liées au squelette de la molécule, qui contient des groupes hydroxyles sur un cycle aromatique, qui lui confère son activité d'inhibition de biofilm de *P. aeruginosa*. (49)

## vii. Perspectives des phytomolécules

Les composés présentés ci-dessus comme les terpénoïdes et les flavonoïdes sont efficaces contre les bactéries et les moisissures, même à de faibles concentrations. Les mécanismes d'action de ces composés ont de nombreuses cibles bactériennes dont la membrane, la paroi et la chaîne respiratoire. Ces propriétés antibactériennes sont dues à la présence de terpènes et de phénols.

Les phytomolécules présentent ainsi des perspectives anti-QS très intéressante, car elles possèdent des activités antibactériennes et pourraient être utilisées dans le traitement des infections humaines. De plus, il s'agit d'un important réservoir de composant anti-QS. Du fait de la présence de ces molécules dans les plantes entières ou dans un de leurs organes (feuilles, fleurs, racines et graines) ils offrent de nombreuses perspectives anti-QS. Parmi ces plantes certaines sont déjà connues pour exercer une action QQ.

Les huiles essentielles de plantes comme l'huile de *Citrus reticulata* ou *Eucalyptus radiata* ou *globulus* ont montré des effets d'inhibition du QS. Les effets anti-QS des huiles essentielles viendraient de l'effet synergique des composés majoritaires et mineurs composants les huiles essentielles.

Comme l'ail, le curcuma, possède une activité anti-QS qui inhibe l'expression des gènes de virulence de *P. aeruginosa* PA01. (45)

### b. Les molécules issues du vivant

Les molécules naturelles du QQ n'ont pas comme unique réservoir les plantes, elles peuvent provenir d'animaux. Les chercheurs ont isolé plusieurs molécules à activités QQ chez des organismes marins comme les éponges et les coraux. Parmi ces organismes marins, les bryozoaires, sont capables de produire des alcaloïdes bromés ayant la capacité de bloquer l'expression génique régulée par l'AHL. Les octocoraux produisent quant à eux des QSI diterpénoïdes macrocycliques qui agissent sur l'inhibition de la maturation du biofilm des bactéries à Gram positif et négatif. Les éponges produisent des sesquiterpènes qui vont agir comme modulateur du biofilm chez les bactéries Gram négatif.

De plus, les enzymes peuvent être d'origine animale. Les paraoxonases, identifiées chez les mammifères, sont un groupe de 3 enzymes PON1, PON2 et PON3. Ces enzymes sont capables d'hydrolyser le paraxon qui est un métabolite du parathion. PON2 va cliver les AHL et présente en plus une activité arylestérase.

Tableau 1 : Différents QSI d'origine naturelle retrouvés chez les eucaryotes.

Structural group	Chemical representative	Class	Examples	Produced by	Reference
Cyclic molecules	Phenolic derivatives	Phenolic aldehyde	Vanillin	<i>Vanilla planifolia</i>	Choo, Rukiyadi and Hwang (2006)
		Tannin	Tannic acid	<i>Quercus</i>	Pennasathy, Paul and Kweon (2009)
		Flavonoids	Naringenin	<i>Citrus sinensis</i>	Truchado et al. (2012)
			Taxifolin	<i>Cedrus deodara</i>	Vandeputte et al. (2011)
		Eriodictyol	<i>Eriodictyon californicum</i>	Vandeputte et al. (2011)	
	Phenylpropane	Methyl eugenol	<i>Cuminum cyminum</i>	Pachlavathy et al. (2012)	
	Nitrogen cyclin	Indole derivatives	Aurin	Cruciferae	Lee, Cho and Lee (2011)
		Alkaloids	3-Indolylacetonitrile Solenopsin A Betonin	<i>Solenopsis invicta</i> <i>Ahmfeliopsis flabelliformis</i>	Park et al. (2008a) Kim et al. (2007)
	Furanones	Halogenated furanones	Brominated alkaloids 4-Benzyl-3-butyl-5-(dibromomethyl)-2(5H)-furanone	<i>Tuarea fulvocata</i> <i>Delisea pulchra</i>	Peters et al. (2003) Denys et al. (1993)
	Lactones	Unsaturated lactones	cinnamylid valdiviolide	<i>Drymys suteri</i>	Carrano et al. (2014)
Polyketide lactone		Patalin	Penicillium	Rasmussen et al. (2005)	
Non-cyclic molecules	Organosulfur compounds	Isothiocyanates	Iberin	<i>Armoracia rusticana</i>	Jakobsen et al. (2012a)
		Sulfonic acids	Crucin	<i>Brassica oleracea</i>	Canin et al. (2013)
			Isethionic acid	<i>Ahmfeliopsis flabelliformis</i>	Kim et al. (2007)
	Disulfides	Ajoene	<i>Allium sativum</i>	Jakobsen et al. (2012a)	
	Others	Acetaldehyde	Houttuynin	<i>Houttuynia cordata</i>	Wu et al. (2014)

Les nombreuses enzymes impliquées dans le QQ ont été découverts chez différentes espèces de bactéries, archées et eucaryotes, comme le montre la figure 19. On peut observer l'origine d'enzymes comme la lactonase en rose, l'oxydoréductase en vert, l'acylase en bleu et les QSIs en noir ainsi que les réactions enzymatiques. Certaines bactéries sont capables de cliver leur propre signal AHL c'est le cas du genre *Pseudomonas*.

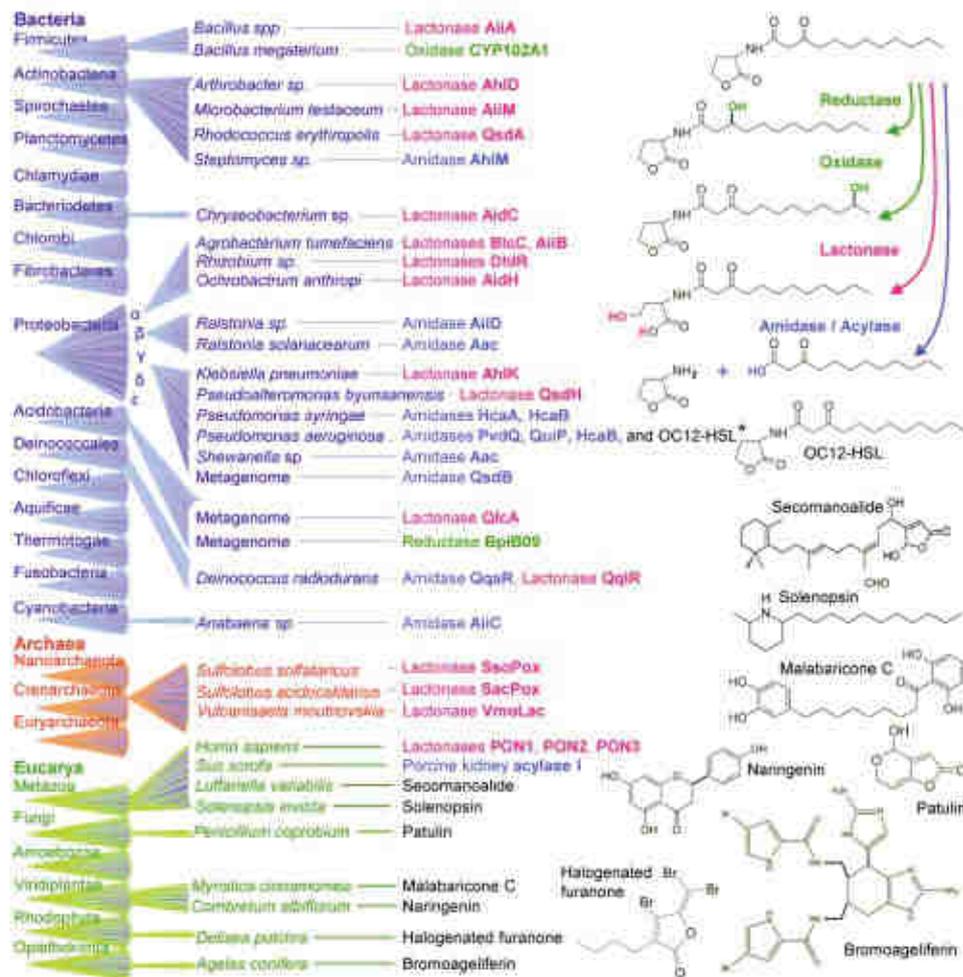


Figure 20 : Plusieurs enzymes du QQ et QSI produits par les bactéries (en violet), les archées (en orange) et les eucaryotes (en vert). (47)

### c. Molécules synthétisées par l’Homme

Les nanoparticules peuvent également provenir de sources multiples comme les sources naturelles, industrielles ou accidentelles. L’Homme va utiliser des méthodes d’extraction pour isoler les composés d’intérêt par différentes méthodes comme la chromatographie, l’électrophorèse, la centrifugation...

Certaines molécules déjà reconnues pour leurs effets antibiotique ou anticancéreux disposent d’un potentiel de QQ. C’est notamment le cas pour l’azithromycine qui est connue pour son utilisation comme antibiotique et du 5-fluorouracile utilisé dans le traitement de cancers.

Les QSI ont des origines différentes. Après identification des inhibiteurs QS, ils peuvent être soit purifiés à partir d’extraits bruts pour les candidats issus de substances naturelles soit faire l’objet d’un criblage haut débit, avant d’être étudié pour déterminer le mécanisme de ces inhibiteurs du QS.

#### 4) Les mécanismes du QQ

Il existe plusieurs mécanismes d'inhibition du QQ selon, la nature du signal du QS et des inhibiteurs utilisés. Le QQ va pouvoir interagir à différentes étapes du QS que ce soit au niveau de la synthèse des auto-inducteurs, de la densité cellulaire, de l'accumulation d'AI dans le milieu extérieur, jusqu'à la détection d'AI par les récepteurs. Les QSIs ont plusieurs cibles et vont pouvoir interférer avec la synthèse des auto-inducteurs en interférant avec la synthèse ; inactiver les AI par différents mécanismes chimiques, enzymatiques ou métaboliques ; interférer avec la perception et la transduction du signal de l'auto-inducteur par son interaction avec des molécules inhibitrices ou en formant un complexe avec les AI. Le mécanisme le plus connu est celui de l'inhibition de la biosynthèse de l'AHL via l'inhibition des enzymes impliquées dans la biosynthèse de la chaîne acyle et la protéine LuxI.

##### a. Inhibition de la synthèse d'AHL

Dans le QS médié par AHL, il existe trois composants de base et donc des cibles pour une intervention externe dans le système de détection de *quorum* (figure 20).

La première cible consiste en l'inhibition de la synthèse d'AHL en incluant la synthase de type Lux I qui génère des signaux AHL. La deuxième cible consiste à interagir avec le ligand AHL en bloquant les récepteurs de l'AHL, comme signal lui-même et le récepteur du signal (Lux R), puis le troisième consiste à agir sur la dégradation des AHL par les lactonases.

Concernant la voie des AHL qui sont synthétisés à partir des précurseurs SAM et acyl-ACP, le QQ va impliquer soit la suppression de la production d'auto-inducteurs soit l'inhibition de la synthèse des précurseurs ou de l'activité des synthases du signal. Pour les AHL, l'inhibition complète de leur synthèse entraînerait la mort de la cellule bactérienne. Ce sont alors des analogues de (SAM) qui vont agir comme inhibiteurs de la synthèse de l'AHL, par exemple le butyryl-SAM et le sine-fungin.(32,39,50)

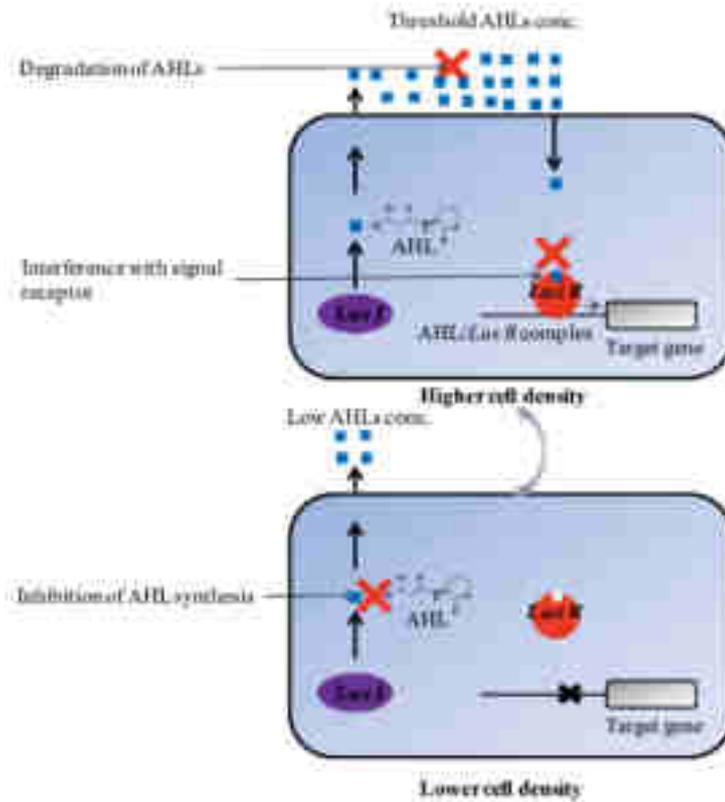


Figure 21 : Différents mécanismes du QQ de l'inhibition d'AHL (51)

- 1) Inhibition de la synthèse des AHL au niveau intracellulaire
- 2) Dégradation des AHL au niveau extracellulaire
- 3) Interférence avec le récepteur LuxR

b. Inhibition de la synthèse d'AI2

Le QQ de l'AI2 implique l'inhibition de la communication cellulaire bactérienne par l'intermédiaire de l'AI2 en bloquant ou en réduisant la production de cet auto-inducteur. Il existe plusieurs stratégies d'inhibition AI-2. Dans le tableau 2, nous pouvons voir différents exemples d'inhibiteur, leur mode d'action ainsi que leur effet biologique.

Tableau 2 : Exemples de stratégies QQ d'AI-2

Inhibiteur	Mode d'action	Effet biologique
BuT-DADMe-Immucilin-A (analogue de l'état de transition)	Inhibition de Pfs	Inhibe la production d'AI-2 et la formation de biofilms chez <i>V. cholerae</i> et <i>E. coli</i> O157:H7
Pei composé 10 et 11	Inhibiteur de LuxS	Inhibe la production d'AI-2 et la formation de biofilms chez <i>V. cholerae</i>
Ajout ex vivo de LsrK et d'ATP	Phosphorylation et dégradation de AI-2	Inhibe la bioluminescence dans <i>V. harveyi</i> et l'expression de lsr dans <i>E. coli</i> et <i>S. Typhimurium</i>
Analogues de DPD-C1-alkyle	Rivaliser avec AI-2	Antagonistes de la bioluminescence chez <i>V. harveyi</i>  Inhibe la production de pyocyanine dans <i>P. aeruginosa</i>
Furanones bromés	Non déterminé	Diminution de la formation de biofilm chez <i>S. Typhimurium</i>

Dans les stratégies QQ, on observe des enzymes qui peuvent être utilisés, les AI2 lyases. Lorsqu'on expose les AI2 lyases, elles vont dégrader l'AI2 via la réaction de lyase qui va ajouter un groupe carbonyle à un atome de carbone de l'AI2. Cela va produire des dérivés de l'AI2 qui ne pourront plus remplir leur rôle d'auto-inducteurs. Parmi les AI2 lyases, on trouve l'AI2 lactonase, l'enzyme de dégradation de l'acide 3,4-dihydroxybenzoïque.

Prenons l'exemple chez la bactérie *E. coli* (figure 21), Le premier mécanisme d'interférence du QS repose sur des enzymes capables d'inhiber l'effet de Pfs et LuxS qui sont à l'origine de la synthèse des auto-inducteurs AI-2, et ce, à partir des dérivés de SAM qui convertissent le sous-produit SAH (S- adénylhomocysteine), de la méthylation de la SAM par l'enzyme LuxS qui va ensuite favoriser la poursuite de la réaction et la déshydrogénation de la S-ribosylhomocystéine (SRH). Le DPD (4,5-dihydroxy-2,3-pentanedione) est produit par réaction enzymatique à partir de la SRH. Il s'agit de la forme inactive de l'AI-2. Le DPD est cyclisé par Lux S qui forme l'AI-2 active et est ensuite exporté dans le milieu extracellulaire.

Le second mécanisme est la dégradation du signal à l'extérieur de la cellule en ajoutant une AI-2 kinase, LsrK et de l'ATP. LsrK va pouvoir phosphoryler la DPD et donc empêcher la formation AI-2. Un autre mécanisme du QQ est d'empêcher la transduction du signal qui conduit à la production AI-2 en ciblant les récepteurs avec des analogues de la molécule signal DPD. (52,53)

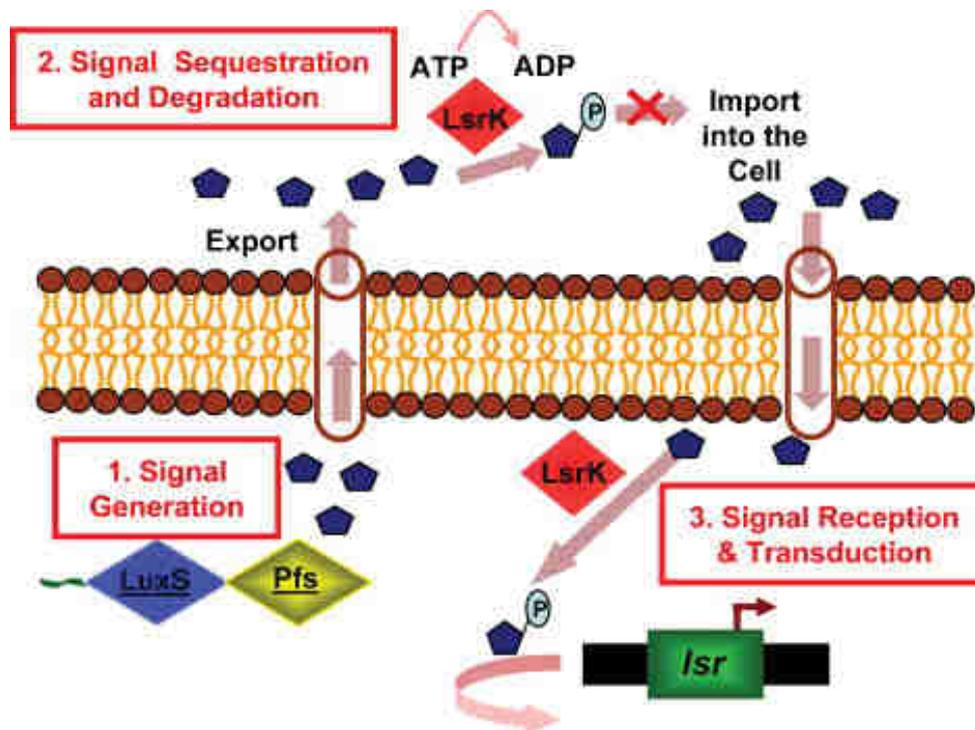


Figure 22 : Mécanisme du QQ de l'inhibition d'AI-2 chez *E. coli* (52)

1)

1) Inhibition des enzymes LuxS et Pfs à l'origine des auto-inducteurs 2) Séquestration et dégradation extracellulaire des auto-inducteurs par des enzymes (LsrK) 3) Interférence avec la réception et transduction du signal par des enzymes (LsrK).

### c. Inhibition de la synthèse d'AIP

Chez les bactéries à Gram positif, des peptides pro-AIP sont produits par AgrD, puis traités et sécrétés sous forme d'AIP mature par le transporteur transmembranaire : endopeptidase AgrB qui élimine le segment N-terminal des peptides pro-AIP. Certains peptides linéaires contenant un résidu proline inhibent le clivage par la peptidase AgrB et empêchent donc la maturation de l'AIP. Par exemple, l'apolipoprotéine B séquestre le signal AIP de *S. aureus* et empêche ainsi la signalisation ultérieure du QS via le récepteur AgrC. (50,54,55)

### d. Inhibition du QS par les anticorps

Parmi les anticorps pouvant séquestrer le signal du QS, on retrouve l'anticorps AP4-24HAA dirigé contre AIP-4 de *S. aureus* ou l'anticorps RS2-1G9 dirigé contre OC12HSL chez *P. aeruginosa*.

Prenons l'exemple de l'anticorps R2S-1G9, cet anticorps reconnaît la N-acyl homosérine lactone. Le mécanisme réside dans l'encapsulation du groupement cyclique de l'analogue AHL et celle des six premières unités carbonées de la chaîne C12 dans l'anticorps.

Les AHL et les molécules signal de faible poids moléculaire, de nature non protéique ne peuvent dans la majorité des cas déclencher une réponse immunitaire à base d'anticorps. Cependant, les AHL

bactériens ont été signalés comme pouvant entraîner l'apoptose ou la modulation de l'activité NF-kappaB. (39)

## 5) L'intérêt du QQ

Un des avantages du QQ est que via les différents mécanismes du QQ, on ne va pas affecter la croissance bactérienne et cela va minimiser la pression de sélection ainsi que l'apparition de résistance inhérente. Le QQ pourrait constituer une alternative aux agents antimicrobiens actuels en supprimant la pression sélective qui entraîne le développement de résistance, mais qui contrôle également de nombreux facteurs de virulence bactérienne. De tels facteurs sont impliqués dans de nombreuses pathologies humaines et constituent un enjeu majeur de santé publique avec l'augmentation des résistances aux agents antimicrobiens entraînant de plus en plus d'impasses thérapeutiques. Les stratégies du QQ sont prometteuses et peuvent être utilisées dans des domaines pour lesquels le QS est à l'origine de problématiques comme la résistance aux agents antimicrobiens et la formation de biofilms. (54–56)

## IV. Applications et limites du *Quorum Quenching*

Le *Quorum Quenching* permet d'inhiber le *Quorum Sensing* ainsi que les phénotypes inhérents. L'application du QQ permettrait de résoudre de nombreux problèmes causés par le QS comme l'antibiorésistance, la formation de biofilm, les facteurs de virulence... Dans cette perspective des études *in vitro* et *in vivo* ont été menées par des chercheurs du monde entier pour trouver des applications au QQ. Pour tester les interactions QS/QQ, il existe différentes techniques dont la chromatographie, la spectroscopie de masse, la bioluminescence, la fluorescence, l'électrochimie et la colorimétrie. Cela permet d'avoir les mesures qualitative et quantitative des molécules QS/QQ. Nous verrons quelques applications du QQ notamment pour l'antibiorésistance et la formation de biofilm ainsi que les limites de ces applications.

### 1) Application du QQ sur la formation de biofilms

Le QS qui est impliqué dans le passage du stade commensal au stade pathogène des bactéries, intervient dans la formation des biofilms. De nombreuses bactéries pathogènes sont capables de former ces biofilms notamment au niveau des plaies rendant l'infection difficile à traiter. Ce comportement est médié par l'accumulation des AI du QS. La stratégie du QQ visant à limiter la pathogénicité de ces bactéries est apparue dans les années 2000.

#### a. Application du QQ aux dispositifs médicaux

##### i. Association de DM avec des molécules du *QQ*

L'OMS qualifie un dispositif médical comme « tout instrument, appareil, équipement, matière, produit, à l'exception des produits d'origine humaine, ou autre article utilisé seul ou en association, y compris les accessoires et logiciels nécessaires au bon fonctionnement de celui-ci, destiné par le fabricant à être utilisé chez l'homme à des fins médicales et dont l'action principale voulue n'est pas obtenue par des moyens pharmacologiques ou immunologiques ni par métabolisme, mais dont la fonction peut être assistée par de tels moyens(...) ». Il existe différents dispositifs médicaux allant du stéthoscope, aux lunettes jusqu'à des DM de traitement contre le cancer. Certains dispositifs médicaux sont conçus pour être implantés en totalité ou partiellement comme les pacemakers, les prothèses, les cathéters... (57) Ces derniers sont sujets à la formation de biofilms et entraînent de nombreux problèmes de santé publique. Malgré les instructions d'utilisations et de nettoyage mentionnées par le fabricant, le problème reste bel et bien existant et la morbidité et mortalité liées à l'infection sanguine due au cathéter (CRBSI) pose un

problème dans les unités de soins du monde entier. C'est la raison pour laquelle de nombreux chercheurs ont testé en laboratoire des molécules ayant une activité anti-QS sur les dispositifs médicaux. Parmi ces molécules, les chercheurs ont testé le 5-fluorouracile ou 5-FU, un anti-métabolite indiqué dans les chimiothérapies cancéreuses.

L'utilisation du 5-FU en association avec les cathéters a fait l'objet d'une étude clinique réalisée en Amérique en 2010, qui recensait 960 adultes dans 25 centres médicaux américains. Il a été montré que ces cathéters sont une alternative aux cathéters fonctionnalisés par la chlorhexidine ou la sulfadiazine d'argent. Il s'agit d'un essai prospectif en simple aveugle, randomisé et multicentrique. Le résultat antimicrobien a été défini en une mesure dichotomique ( $\leq 15$  UFC ou  $> 15$  UFC) pour la colonisation du cathéter. Le 5-FU présente à des concentrations faibles une activité contre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif ainsi que sur *Candida*. Les cathéters ont été revêtus de polymère ou autres agents ayant un effet antimicrobien pour limiter les AIS.

Les résultats de l'étude ont montré que seulement un nombre restreint de ces molécules est passé du stade laboratoire au stade des essais cliniques.

Le mécanisme d'action du 5-FU consiste en l'inhibition de l'enzyme thymidylate synthase qui va entraîner une altération de la synthèse d'ADN ou va cibler l'ARN microbien. Les résultats obtenus chez les patients en soins intensifs avec l'insertion d'un CVC pendant une période pouvant aller jusqu'à 28 jours, montrent que la colonisation par cathéters était de 2,9% chez les sujets avec le 5-FU contre 5,3% chez les sujets avec l'autre cathéter. Concernant les germes retrouvés, il s'agit principalement de bactéries à Gram positif sur les cathéters au 5-FU et des bactéries à Gram négatif et positif ainsi que *Candida* sur les autres cathéters. 2,8% de CRBSI sont survenus chez le groupe avec les cathéters à la chlorhexidine contre 0% chez les patients avec les cathéters au 5-FU. De même pour les infections au site local le pourcentage est de 1,4% contre 0,9%. La conclusion de cette étude est que les cathéters au 5-FU sont une alternative sûre à l'utilisation des cathéters avec revêtements contenant des antibiotiques ou des antiseptiques.

## ii. Association de DM avec des enzymes du QQ

Les bactéries liées aux affections dues aux soins comme *A. baumannii* ou *P. aeruginosa* sont isolées dans les infections urinaires suite à l'utilisation de cathéters ou encore dans les infections pulmonaires. Certaines enzymes ont été intégrées dans des cathéters pour empêcher la formation de biofilm de *P. aeruginosa*.

Quand les enzymes sont couplées au dispositif médical, on parle de dispositifs médicaux fonctionnalisés. Elles présentent la capacité de dégrader un large spectre d'AI. Plus particulièrement les

Phosphotriestérasés lactonases like (PLL). Ces enzymes sont isolées à partir de microorganismes extrémophiles ce qui les rend robustes et leur permettent de résister à de nombreuses contraintes industrielles. Les PLL hyperthermostables sont isolés chez l'archée *Sulfolobus solfataricus*. Les enzymes sont fixées au dispositif médical via des interactions électrostatiques entre le support et l'enzyme. Les PLL sont des lactonases naturelles, constituées de deux cations métalliques divalents coordonnés par quatre histidines, un acide aspartique et une lysine carboxylée. Ce sont les deux cations métalliques qui sont à l'origine de l'activité de cette enzyme, laquelle participe à la catalyse en tant qu'acide de Lewis, et est impliquée dans l'activation d'une molécule d'eau en ion hydroxyde conduisant à l'attaque nucléophile du substrat.

Il a été montré que l'utilisation de lactonase d'extinction du quorum présente un effet sur la formation de biofilm chez la souche *A. baumannii*. Cette bactérie retrouvée dans le monde entier est responsable d'infections nosocomiales. Certains *Acinetobacter* ont développé des résistances aux carbapénèmes, antibiotiques utilisés dans le traitement des infections dues à cette bactérie. Les infections causées par *Acinetobacter baumannii* sont dues principalement à la capacité de former un biofilm. La formation de biofilm est due à l'activation d'un réseau de détection de quorum de type LuxI/LuxR impliquant *abaI* synthase et un récepteur *abaR*. L'AHL 3-hydroxy-dodécanoyl-L-homosérine lactone est l'AHL majeur dans le signal du quorum chez ce pathogène.

L'extinction du quorum chez *Acinetobacter baumannii* a été montré en utilisant des enzymes capables de dégrader le signal de l'AHL lactonase.

Par exemple, la lactonase thermostable de *Geobacillus kaustophilus* appartient également à la famille des PLL. L'activité catalytique de cette enzyme devra être améliorée dans ses utilisations en industrie et dans le domaine médical afin de réduire la quantité d'enzymes utilisée dans des conditions moins permissives. Une étude a montré la formation de biofilms en mettant en culture une souche sauvage de *A. baumannii* avec ou sans lactonases. Les résultats ont montré que les analogues de l'AHL ont empêché la formation de biofilm chez *A. baumannii* (figure 22). (58)

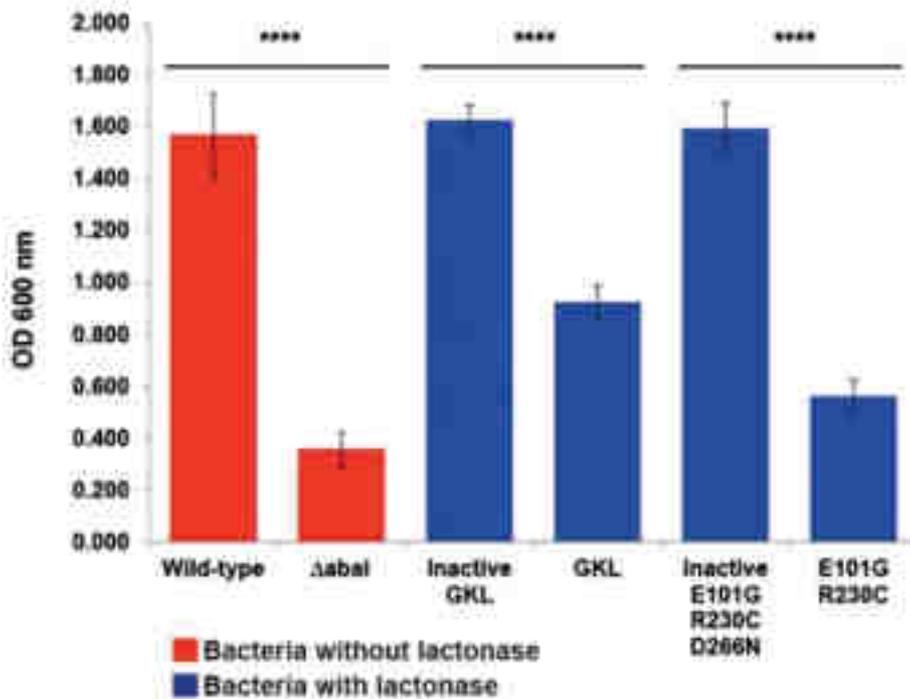


Figure 23 : Effet de la présence ou de l'absence de lactonase

Quantification de la formation de biofilm par coloration au cristal violet. Les colonnes rouges représentent la quantité de biofilm formée par *A. baumannii* (type sauvage (wild-type) et mutant (*abaI*) sans ajout de lactonases). Les colonnes bleues représentent la quantité de biofilm formé par *A. baumannii* de type sauvage en présence de différentes lactonases de *Geobacillus kaustophilus* GKL (GKL inactive, GKL de type sauvage, GKL (E101G/ R230C/D266N) inactive et GKL (E101G/R230C)). Test de Student Valeur P de  $\leq 0,0001$ . (58)

Cette étude montre l'activité de la lactonase comme enzyme du *QQ* sur la formation du biofilm chez la souche *A. baumannii*. En présence de lactonase, la formation de biofilms est réduite par rapport au groupe témoin (*A. baumannii* sauvage). Cependant, *A. baumannii* avec un mutant *abaI* obtient les meilleurs résultats prouvant qu'*AbaI* est impliqué dans la formation de biofilm et cela suggère la nécessité d'utiliser les lactonases en synergie.

L'enzyme QQ nouvellement découverte chez la bactérie marine *Marinomonas sp.*, MomL peut dégrader efficacement différents AHL de diverses bactéries à Gram négatif. Il a été prouvé que MomL réduisait la formation de biofilms et augmentait la sensibilité du biofilm à différents antibiotiques chez *A. baumannii*. L'AHL synthase est l'enzyme clé dans la synthèse des molécules signal, les AHL. Chez *A. baumannii*, les AHL se lient aux molécules réceptrices à la surface cellulaire et initient le processus *QS*. Le ciblage de l'AHL synthase peut être une stratégie *QQ* efficace. Lorsque la synthase est inhibée, les molécules signal ne sont pas synthétisées, et donc le mécanisme *QS* est interrompu (20,22,59).14/12/2023 11:32:00

Chez les patients brûlés, les infections microbiennes sont communes. Les infections à *P. aeruginosa* chez les brûlés et la dissémination rapide de ce pathogène entraînent des bactériémies et un choc septique. Des modèles de pansements ont été mis en évidence comme présentant une activité anti-QS. Dans cette étude de 2015, des souris ont été utilisées comme modèle et ont été brûlées au 3<sup>ème</sup> degré puis ont été infectées en sous-cutané avec une dose de 10<sup>6</sup> UFC de la bactérie *P. aeruginosa*. Les chercheurs leur ont ensuite appliqué un gel contenant de la lactonase isolée chez la bactérie *Bacillus ZAI2* dans certaines conditions. Différents groupes de souris ont été traités par :

- une solution saline de tampon phosphate (PBS, pH 7,2) administrée par voie intrapéritonéale (témoin).
- par l'enzyme lactonase (3U/ml) appliquée localement en gel.
- par l'enzyme lactonase (3 U/ml) administrée en voie intrapéritonéale.
- par l'antibiotique ciprofloxacine administré par voie intrapéritonéale (20 mg/kg de poids corporel).
- par la ciprofloxacine (20 mg/kg de poids corporel) appliquée par voie topique en gel.
- par la lactonase (3 U/ml) et la ciprofloxacine (20 mg/kg de poids corporel) en combinaison toutes deux appliquées localement en gel.
- par la lactonase (3 U/ml) et la ciprofloxacine (20 mg/kg de poids corporel) en combinaison toutes deux administrées par voie intrapéritonéale.
- par la lactonase, appliquée localement en gel (3 U/ml) et la ciprofloxacine par voie intrapéritonéale (20 mg/kg de poids corporel) en association.

L'application topique de l'enzyme lactonase utilisée dans cette étude a réduit la propagation systémique de *P. aeruginosa* chez la souris ce qui a été montré par la baisse du nombre de bactéries dans le sang et a augmenté le taux de survie des souris.

L'application topique de ciprofloxacine a empêché l'invasion systémique de la bactérie et son administration en intrapéritonéale a réduit la charge bactérienne des organes. Bien que ces résultats soient similaires à ceux observés dans le groupe traité à la lactonase, le problème du développement de la résistance aux antibiotiques reste un enjeu majeur lors de l'utilisation d'antibiotiques contre les bactéries. C'est la raison, pour laquelle la co-administration de lactonase avec l'antibiotique a été utilisée dans cette étude.

L'administration intrapéritonéale de lactonase et de ciprofloxacine en combinaison s'est avérée inefficace, car son effet est limité à la propagation systémique des bactéries à partir de la peau. Pour les autres groupes traités avec la combinaison de lactonase et ciprofloxacine les résultats se sont montrés bien plus prometteurs. Le groupe avec l'application de la lactonase par voie topique et de la ciprofloxacine par voie intrapéritonéale ont montré un taux de survie de 100%. De plus, cette association est facile d'utilisation et entraîne une inhibition du mécanisme QS de *P. aeruginosa* empêchant les bactéries de se propager de manière systémique.

Ce gel a permis d'éviter une infection systémique par *P. aeruginosa* et a réduit la mortalité des souris. De plus, il a été montré que l'association de la lactonase avec un antibiotique, la ciprofloxacine, a permis de guérir les souris ce qui confirme les bénéfices d'une synergie (38,54,60,61).

### iii. Application *in vivo* sur le biofilm de la levure *C. albicans*

*Candida albicans* est une levure commensale de l'Homme, qui peut être également pathogène chez les individus. La levure *C. albicans* est à l'origine d'infections systémiques mortelles causées par les biofilms présents sur les dispositifs médicaux.

Deux protéines *QQ* d'origine naturelle de la bactérie marine à Gram négatif *Nereida ignava* dérivée du métagénome ont été utilisés : QQ5 et QQ7. (62)

Ces enzymes *QQ* sont capables d'interférer sur la communication cellule-cellule basée sur l'acyl homosérine lactone (AHL) et/ou l'auto-inducteur AI-2 par une activité oxydoréductase.

Pour évaluer l'effet *QQ* de QQ5 et QQ7 sur cette souche, les protéines du *QQ* ont été immobilisées avec du MBP (Maltose binding protein) et la formation de biofilm de *C. albicans* a été observée *in vivo* sur une période de 24h par microscopie à contraste de phase.

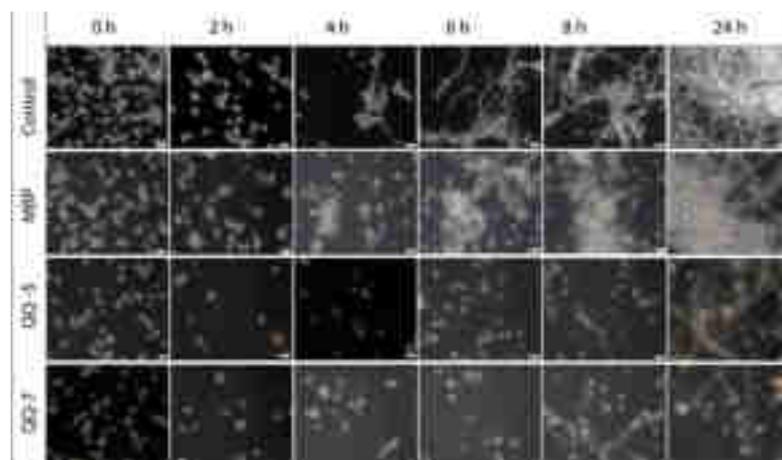


Figure 24 : Observation de la formation de biofilm de la souche *Candida albicans* sur une période de 2 à 24 h dans différents puits par microscopie en contraste de phase (62)

- 1) Puit contrôle :  $10^9$  cellules de levure/mL de *C. albicans*
- 2) MBP :  $10^9$  cellules de levure/mL de *C. albicans* en présence de MBP (incubé à 30°C)
- 3) QQ-5 et QQ-7 :  $10^9$  cellules de levure/mL de *C. albicans* en présence des protéines QQ-5 et QQ-7

Les résultats de cette étude montrent une efficacité sur la réduction de la formation du biofilm de *C. albicans* en présence des protéines de fusion MBP-QQ purifiées. Dans les puits témoins : *C. albicans* se sont rapidement attachés à la surface et ont formé des tubes germinatifs après 2 heures d'incubation. Au bout de 4 heures on observe la formation de longs filaments ramifiés, les hyphes. La prolifération de

cellules de levure et des hyphes ont entraîné un réseau dense de cellules de levure, d'hyphes et de matrice polymérique extracellulaire formant un biofilm mature de *Candida* en 24 heures. La densité cellulaire a augmenté au cours du temps. Cependant dans les puits en présence de protéines de fusion MBP-QQ purifiées immobilisées, incubées à 30°C, la prolifération des cellules de levure a été plus lente et la formation du tube germinatif a été retardée. On observe une légère augmentation de la densité cellulaire au bout de 4 heures et un début de la transition de la forme hyphes à levures, conduisant à la formation d'un biofilm.

Dans les puits sans MBP, la transition de la forme levure au développement des hyphes a été affectée par les protéines *QQ*. De plus, il a été montré que la transcription du gène clé *dpp3* est régulé par QQ-5 et QQ-7. Cela a entraîné l'augmentation de la production de farnésol qui empêche la formation d'hyphes et donc la formation de biofilm. Dans les puits avec QQ-5 et QQ-7 on observe l'inhibition de la formation du biofilm de *C.albicans*. La densité cellulaire est plus faible et la formation d'hyphes est inhibée (62).

#### b. Utilisation de nanoparticules pour lutter contre la formation de biofilm

Les nanoparticules peuvent également être utilisées dans la lutte contre la formation de biofilm et la résistance aux antibiotiques. On retrouve de nombreuses nanoparticules comme les nanoparticules métalliques antimicrobiennes et anti-biofilm, les nanoparticules métalliques, organiques, vertes et leurs combinaisons. Les nanoparticules sont des agents du *QQ* plus stables et ayant une bonne biodisponibilité par rapport à d'autres agents du *QQ*.

Les nanoparticules sont par exemple utilisées lors de caries dentaires. Les caries dentaires sont causées par *S. mutans*. En contrôlant les facteurs de virulence comme la production d'exopolysaccharides, la formation de biofilm et en améliorant la reminéralisation de l'émail des dents, on peut lutter contre la formation de caries. Le CaF<sub>2</sub>-NPs, une nanoparticule sous forme de cristaux de petite taille, composée de fluorure de calcium permettrait de lutter contre la formation de caries en inhibant les facteurs de virulence de la souche *S. mutans* dont la première étape consiste en l'adhérence à la surface grâce aux interactions hydrophobes entre les cellules et la surface adhérente. Une étude a montré l'effet de CaF<sub>2</sub>-NPs sur le développement de caries dans un modèle in vivo et plus particulièrement sur la souche *S. mutans*.

Pour cela, les chercheurs ont déterminé la concentration minimale inhibitrice (CMI) de CaF<sub>2</sub>-NPs contre *S. mutans*. De plus, la formation de biofilms par dosage au cristal violet a été étudiée. Il a été montré qu'à des concentrations inférieures à la CMI de CaF<sub>2</sub>-NPs, les nanoparticules modifient les propriétés physiques de la cellule de surface qui va inhiber l'adhérence en réduisant les interactions hydrophobes entre *S. mutans* et la surface adhérente.

Le glucane est le principal exopolysaccharide produit par *S. mutans* et est impliqué dans la formation de biofilm dépendant du saccharose de *S. mutans* sur les dents. CaF<sub>2</sub>-NPs va réduire la synthèse des glucanes et ainsi diminuer la formation de biofilms. CaF<sub>2</sub>-NP agit également contre les facteurs de virulence de *S. mutans*. Une des propriétés anti-biofilm est due à la libération d'ions fluorures qui vont former des complexes métalliques et vont inhiber de nombreuses enzymes. Ainsi, il est possible que la suppression de la capacité de production d'acide et de glucane par la présence de CaF<sub>2</sub>-NPs soit due à la libération d'ions fluorures des nanoparticules. L'effet anti-biofilm des CaF<sub>2</sub>-NPs contre *S. mutans* est une combinaison de la suppression de l'activité enzymatique associée à la synthèse des glucanes. Il a été montré que CaF<sub>2</sub>-NPs n'affecte pas la viabilité des cellules bactériennes, mais que l'utilisation topique de CaF<sub>2</sub>-NPs a diminué la capacité de *S. mutans* à coloniser les surfaces dentaires, inhibant par conséquent le développement de caries de surface lisse et les lésions carieuses.

L'application topique de fluorures sur la surface des dents a montré que cela va protéger la surface de la dent et aider à la reminéralisation de l'émail. L'ajout de nanoparticules sur les dents va donc permettre de libérer de manière prolongée des ions fluorures de CaF<sub>2</sub>-NPs ce qui va aider à supprimer la virulence de *S. mutans* mais va également favoriser la reminéralisation.

Chez *E. coli* les nanoparticules peuvent être utilisées comme agents antimicrobiens pour restreindre l'infection et la formation de biofilms. Les nanoparticules d'argent présentent une toxicité portée par le groupe thiol, inactivent de nombreuses enzymes impliquées dans la répllication de l'ADN et la traduction de protéines. Ces nanoparticules sont synthétisées à partir de l'extrait aqueux de fleur de *Calotropis procera* et ont présenté une bonne efficacité sur les biofilms entérotoxiques d'*E. coli* en diminuant la colonisation de l'intestin grêle du modèle de souris infantile. Ces nanoparticules d'argent, qui sont de petite taille, leur confèrent l'avantage de pouvoir être assimilées à des dispositifs médicaux et à des pansements. L'utilisation de nanoparticules a également été testée en spray antimicrobien, JUC, contre le biofilm d'*E. coli* formé dans les CAUTI qui sont des infections des voies urinaires associées aux sondes vésicales. L'utilisation de ce spray chez les patients a entraîné la formation d'un film invisible et protecteur chargé positivement sur la surface après sa pulvérisation empêchant toute croissance bactérienne. Dans cette étude chez les patients pour lesquels le cathéter a été traité avec JUC, 4,52% des patients ont reçu un diagnostic de CAUTI contre 13,04 % chez le groupe témoin pour lequel les cathéters ont été pulvérisés avec de l'eau distillée. (46)

## 2) L'antibiorésistance

### a. Impact et enjeux de l'antibiorésistance

Les antibiotiques sont des médicaments utilisés en médecine humaine et vétérinaire pour inhiber la croissance des bactéries ou les tuer. Leur consommation abusive a entraîné de nombreux phénomènes de résistance.

Ce phénomène de résistance aux antibiotiques est régulé par le QS et est un réel enjeu de santé publique. Pour cause, l'Organisation Mondiale de la Santé la considère comme « une des menaces les plus sérieuses pour la santé publique ».

On estime qu'en France, en 2050, 238 000 personnes mourront suite à des infections à impasse thérapeutique causées par l'antibiorésistance.

### b. Les mécanismes de l'antibiorésistance chez les bactéries

*Klebsiella pneumoniae*, un pathogène impliqué dans les infections liées aux soins présente de nombreuses multirésistances, dont la résistance aux antibiotiques non-enzymatiques. Cette résistance est liée à la non-expression ou à la mutation des porines et à la surexpression de pompes à efflux. Les facteurs de virulence de cette souche sont multiples : fimbriae à capsule anti-phagocytaire, LPS, sidérophores ou transporteurs membranaires.

Ces dernières décennies de nombreuses souches MDR dont *Klebsiella* résistante aux carbapénèmes ont été étudiées. Les stratégies de résistance de ces bactéries sont multiples comme :

- la production de carbapénémases ;
- la mutation du gène de la porine ;
- la mutation de la pompe à efflux.

Il existe un lien entre la capacité de cette bactérie à former des biofilms et la résistance aux antibiotiques comme (figure 26) :

- la modification chimique : la structure chimique de l'antibiotique va être modifiée ;
- le système de pompe à efflux : qui va décharger les antibiotiques dans le milieu extracellulaire ;
- la modification des gènes ciblant les médicaments : la conformation des gènes est changée ;
- l'adaptation de la cellule bactérienne au stress ;
- le biofilm qui va réduire la perméabilité des antibiotiques ;
- la résistance aux antimicrobiens dans les biofilms : Le biofilm est une barrière qui réduit la perméabilité aux antibiotiques et permet la production de nutriments et de résistances multiples aux antibiotiques.

De plus, l'environnement extrême à l'extérieur du biofilm va favoriser les résistances aux antibiotiques à l'intérieur du biofilm. Cette résistance des agents antimicrobiens aux biofilms pourrait s'expliquer par la perméabilité du biofilm à cet agent. La faible perméabilité est causée par la surproduction des

composants de la matrice extracellulaire qui vont séquestrer l'agent QQ comme le glucane qui va par exemple séquestrer les aminoglycosides. Il est difficile d'éradiquer une infection par biofilm, car le biofilm assure la protection contre les macrophages et les antibiotiques par rapport au mode de vie libre (19,63).

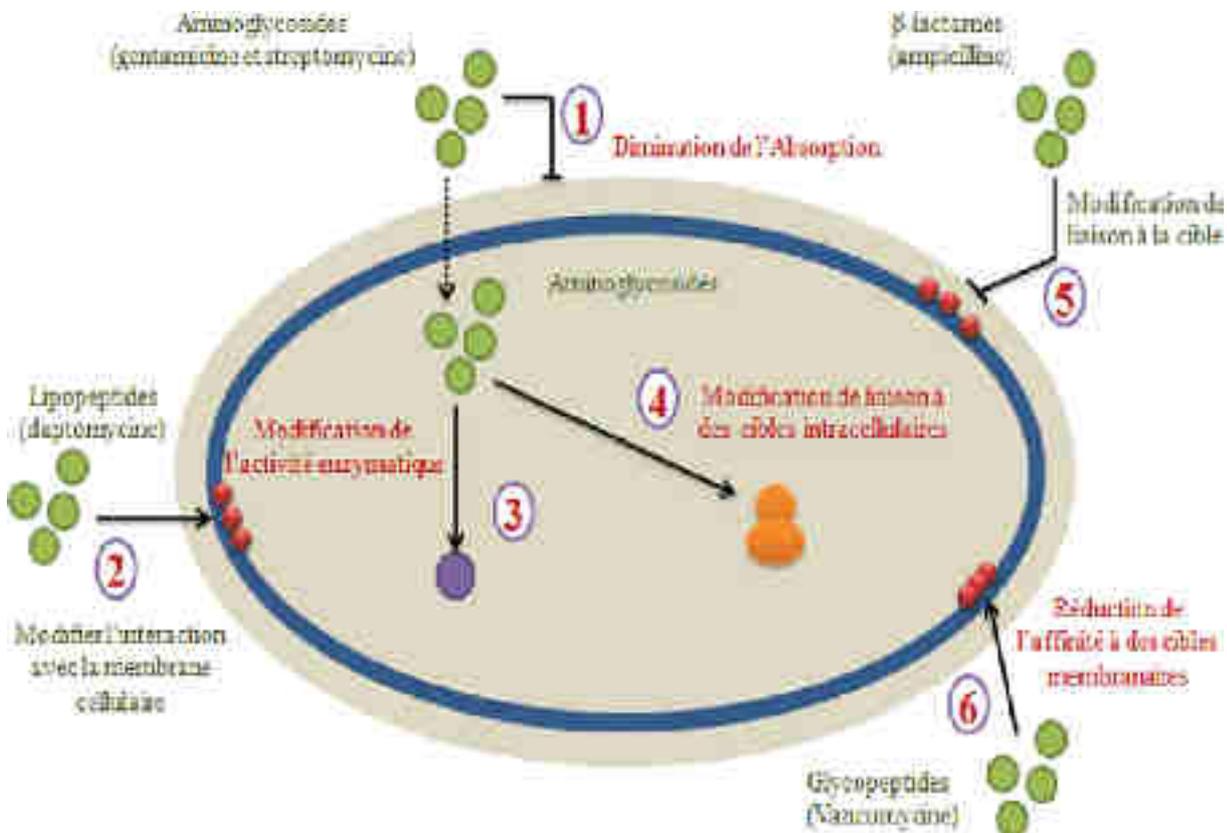


Figure 25: Six mécanismes de résistances aux antibiotiques (64).

- 1) Diminution de l'absorption des aminoglycosides, 2) Modification de l'interaction des lipopeptides avec la membrane cellulaire, 3) Modification de l'activité enzymatique des aminoglycosides, 4) Modification de la liaisons des B-lactamines à des cibles intracellulaires, 5) Modification de liaison à des cibles membranaires, 6) Réduction de l'affinité des glycopeptides à des cibles membranaires.

### c. Application du QQ sur le phénomène d'antibiorésistance

L'utilisation du QQ pour interférer avec le QS et lutter contre les infections bactériennes contrairement aux antibiotiques ne va pas inhiber la croissance des microorganismes, mais va réduire les dommages que causent les agents pathogènes notamment en réduisant la production de facteurs de virulence. Cela permettra d'éviter le phénomène de résistance entraîné par une pression de sélection.

#### d. Activité des enzymes du QQ sur les infections

##### i. Infections à *A. baumannii*

Plusieurs bactéries à Gram négatif sont résistantes à plusieurs familles d'antibiotiques. Prenons l'exemple de quelques bactéries : *Acinetobacter baumannii* une bactérie aérobie présente une résistance par le mécanisme d'inactivation des lactames par les B-lactamases. L'autre méthode utilisée par cette bactérie consiste à utiliser des pompes à efflux, cela lui confère une résistance à différentes classes d'antibiotiques. Il existe différentes catégories de pompes à efflux, celle de la résistance à la nodulation (RND), la superfamille des facilitateurs (MFS) et la famille des petits transporteurs de résistance aux multidrogues. On retrouve également la résistance due à la production d'enzymes et la résistance due à un défaut de perméabilité par modification de la perméabilité de l'enveloppe par les porines. On peut également retrouver une altération des sites cibles, telle que les protéines de liaisons à la pénicilline.

Comme traitement contre la résistance aux antibiotiques, plusieurs stratégies sont possibles :

- L'utilisation d'adjuvants antibiotiques : ces composés n'ont aucune activité antibiotique, mais ils améliorent l'activité des antibiotiques lorsqu'ils sont administrés en association à des antibiotiques ou bloquent la résistance des bactéries à ce médicament.

On retrouve aussi les inhibiteurs de B-lactamases, les inhibiteurs de la pompe à efflux et les perméabilisant de la membrane externe.

- Les B-lactamases sont les adjuvants les plus utilisés contre la résistance aux B-lactamines, ce sont des enzymes qui vont hydrolyser le noyau lactame des antibiotiques B-lactames par l'acylation – désacylation. Il s'agit de l'acide clavulanique, le sulbactam et le tazobactam qui appartiennent au groupe des Sérine-B-lactamases. Dans ce groupe, une fraction sérine nucléophile de la lactamase va se lier de manière covalente à une B-lactame hydrolysée.

- L'acide clavulanique est un composé qui a été isolé chez la bactérie *Streptomyces clavuligerus*. Il s'agit du premier agent inhibiteur de B-lactamase utilisé en association avec l'amoxicilline. Sa structure est semblable à celle de la pénicilline et va se lier de manière covalente à la lactamase par l'intermédiaire de la sérine catalytique et former ainsi un adduit stable. Cependant, il est inefficace contre les B-lactamases de classe B, C et D.

- Le sulbactam et tazobactam sont des sulfones ayant un mécanisme similaire à celui de l'acide clavulanique, mais ils vont ouvrir le cycle après l'attaque catalytique de la sérine suite à la formation d'un groupe sulfonate. Un autre groupe moins utilisé est celui des MBL qui ont un site actif avec un ou

deux ions zinc qui vont ainsi provoquer une attaque nucléophile aux lactames via une molécule d'eau polarisée.

ii. Infections à *P. aeruginosa*

Une étude a été menée sur des rats atteints d'une pneumonie à *P. aeruginosa* afin d'évaluer la capacité d'une lactonase appelée Sso Pox-I à réduire leur mortalité. La lactonase a été utilisée par inhalation. La lactonase est une variante de la lactonase hyperthermostable Sso-Pox isolée chez l'archée extrémophile *Sulfolobus solfataricus*. Sso-Pox est stable et capable d'hydrolyser les AHL 3-oxo-C12. Sso Pox-I a été administrée par voie intra-trachéale dans les 3 premières heures suivant l'infection. Cette conception a été choisie pour aborder les méthodes thérapeutiques préventives cliniques utilisées chez les patients à risque d'infections à *P. aeruginosa*, tels que les patients en soins intensifs.

Pour cette étude de rats adultes Sprague-Dawley exempts d'agents pathogènes ont été utilisés. 20 rats ont été infectés par inoculation intra-trachéale avec 250  $\mu$ l d'une solution de PBS contenant  $10^8$  UFC/ml de souche *P. aeruginosa* PAO1. Après infection, un groupe témoin a reçu 250  $\mu$ l de PBS tandis qu'un autre groupe a reçu 250  $\mu$ l de Sso-Pox-I à une concentration de 1 mg/ml. Le dernier groupe a reçu 250  $\mu$ l de 1 mg/ml de Sso Pox-I 3 heures après l'infection. Les chercheurs ont observé les animaux pendant 2 jours après l'infection et ont répertorié la mortalité spontanée. Les poumons des rats ont ensuite été étudiés.

Le taux de mortalité spontanée était de 75 % (15/20) dans le groupe non traité (NT). Lorsque les rats ont été traités avec Sso Pox-I (1 mg/ml) immédiatement après l'infection (IT), le taux de mortalité a été significativement réduit à 20 % (4/20) ( $p = 0,0001$  vs NT). L'effet protecteur de la lactonase sur la mortalité est moins significatif dans le groupe par traitement différé (DT), pour lequel le traitement a été administré 3 heures après l'infection (taux de mortalité de 50 % (10/20) ( $p = ns$  vs. NT).

Le poids de l'animal et les dommages aux poumons ont montré un meilleur résultat chez les groupes de rats traités par Sso Pox-I.

Dans cette étude, il a été démontré une amélioration importante de la survie dans un groupe de rat présentant une pneumonie aiguë hautement mortelle traité par administration de lactonases. Sso Pox-I n'a pas réduit de manière significative les lésions pulmonaires ni la mortalité des rats lorsqu'il est administré 3 heures après le début de l'infection. Cette inefficacité pourrait être due à l'utilisation d'un modèle d'infection hautement létal (mort en 48 heures). L'action préventive de la Sso Pox-I pourrait être supérieure à son effet curatif comme cela a été précédemment observé pour le *QSI*.

Cette application du *QQ* est prometteuse dans la mesure où elle augmente l'arsenal thérapeutique, notamment dans le domaine de la pneumonie nosocomiale. Cependant, le modèle utilisé n'a pas totalement imité les paramètres cliniques, principalement en raison de la grande quantité de bactéries administrées aux rats.

*P. aeruginosa* est une souche multirésistante, qui a la capacité de résister aux antibiotiques et de former des biofilms dans les unités de soins causant de nombreuses infections urinaires. Pour observer l'action QQ des enzymes sur la formation de biofilms et la résistance aux antibiotiques chez cette bactérie, des chercheurs ont utilisé des isolats cliniques d'infections urinaires et de septicémies à *P. aeruginosa*. Certaines des souches isolées sont résistantes aux antibiotiques, produisent des biofilms et ont alors été utilisées pour la suite de la recherche.

Les chercheurs ont donc ajouté de la lactonase sur les cultures et ont observé que la lactonase éradiquait les biofilms en 24 heures d'une manière dose dépendante. La résistance aux antibiotiques a été testée au sein des différents biofilms. Ces biofilms étaient résistants à la ciprofloxacine et à la gentamicine. Le traitement à la lactonase a néanmoins montré une sensibilité aux antibiotiques. Et pourtant le traitement à la gentamicine présente habituellement une résistance chez *Pseudomonas* du fait de la dégradation enzymatique au cours de la pénétration de l'antibiotique. De plus, l'ajout de lactonase a permis de réduire la production de facteurs de virulence.

e. Les molécules ayant une activité QQ sur l'antibiorésistance

Dans les années 2000, lorsque l'azithromycine a été utilisée dans des essais cliniques pour traiter la mucoviscidose, cet antibiotique a montré sa capacité à perturber la signalisation bactérienne chez *P. aeruginosa* à des concentrations non bactéricides. Depuis, l'azithromycine a été étudiée pour son activité QQ.

L'azithromycine est un antibiotique dérivé de l'érythromycine qui appartient à la famille des macrolides. Son mécanisme d'action est l'inhibition de la synthèse des protéines bactériennes en fixant la sous-unité 50 S du ribosome bactérien bloquant ainsi la traduction de l'ARNm. Cet antibiotique est utilisé dans le traitement de nombreuses pathologies allant de la simple otite aux maladies sexuellement transmissibles. Dans le cas de diarrhée par *Campylobacter spp* l'azithromycine peut également être utilisé suite au développement de résistance aux fluoroquinolones et bêta-lactamines, antibiotiques de première intention dans les épisodes d'entérite.

Une étude prospective a été menée sur la sensibilité à l'azithromycine. La concentration minimale inhibitrice pour l'azithromycine a été déterminée dans tous les isolats par gradient dans de la gélose Mueller Hinton incubée à 37°C avec 5% de CO<sub>2</sub>. Les résultats après 24h ont montré que des souches résistantes à plusieurs antibiotiques dont la ciprofloxacine, ampicilline sont sensibles à l'azitromycine avec une valeur de CMI faible ( $\leq 16\text{mg/L}$ ). L'azitromycine serait donc une alternative en cas de résistance aux traitements de première intention. De plus, elle possède une biodisponibilité intéressante. La streptomycine présente également un potentiel QSI sur la bactérie *Acinetobacter baumannii* en agissant comme antagoniste de 3-OH-C12-HSL qui va ainsi interférer avec la liaison du signal à la

protéine AbaR. Ce potentiel QSI, a une concentration sous-inhibitrice chez *A. baumannii* qui est due à une action antagoniste de la streptomycine de 3-OH-C12- HSL, interférant avec la liaison du signal à la protéine AbaR (18,18,27,31,48,54,65,66).

### 3) Agents du *QQ* ayant des applications

#### a. Les peptides antimicrobiens

Les peptides antimicrobiens (AMP) sont des agents *QQ* produits par des organismes vivants pour lutter contre les infections. Les deux peptides antibactériens KT2 et RT2 contenant du tryptophane sont très efficaces contre les souches multirésistantes. Notamment, contre la souche *E. coli* O157: H7 formant des biofilms et responsable d'entérohémorragies. Cette efficacité est à une concentration de  $1\mu\text{ mol L}^{-1}$ . De plus, ces peptides seraient capables de traverser l'intérieur de la cellule et de se lier à l'ADN pour son action antimicrobienne (60).

#### b. L'application de l'utilisation des plantes ayant une activité *QQ*

Les plantes sont des agents *QQ* de plus en plus explorées pour leur capacité à tuer les microorganismes en évitant de développer une résistance. Par exemple la 7-hydroxycoumarine (7-HC), l'indole-3-carbinol (I3C), l'acide salicylique et la saponine ont montré une activité inhibitrice dirigée contre la culture planctonique d'*E. coli* et de *S. aureus* tout en étant capable de restreindre la croissance de biofilms. Ces composés ont notamment eu des effets sur la motilité bactérienne pour *E. coli* et *S. aureus*. De plus, I3C présenterait une efficacité importante en synergie.

#### c. L'utilisation des phages comme stratégie *QQ*

Les bactériophages sont des virus qui disposent d'une activité bactéricide. Ils ont été découverts dans les années 1917 et grâce à une technologie de pointe, ont été découverts de nouveaux traitements bactériophages. L'un des avantages des bactériophages est qu'ils ont un degré élevé de spécificité d'espèce ou de souche en étant capable de pénétrer dans une cellule eucaryote sans engendrer d'effet secondaire. Ils sont également capables de pénétrer les biofilms. Les phages comme agent anti-*QS* peuvent être largement isolés dans l'environnement. Ils ont l'avantage d'être spécifiques à des hôtes. En effet, ils vont pouvoir s'adapter à la bactérie hôte grâce à leurs capacités élevées de mutations. Ainsi, les phages ont montré leur capacité d'éradiquer le biofilm de souches résistantes. La dépolymérase qui est produite par les phages permet une meilleure efficacité sur les biofilms en facilitant la pénétration pour dégrader l'EPS et conduire à la lyse des cellules bactériennes.

De plus, il a été montré que l'utilisation de plusieurs bactériophages a un impact plus important sur les bactéries du biofilm, car leur association provoque une lyse des cellules bactériennes du biofilm plus importante qu'avec un seul bactériophage. En associant des phages avec des antibiotiques, une diminution remarquable des *E. coli* résistants aux antibiotiques a été montrée. (19)

#### 4) Limite des applications du QQ

L'inhibition des signaux *QS*, qui régule la production de biofilm et d'autres gènes de virulence, est devenue l'objectif de nombreuses nouvelles thérapies ces dernières années. Cependant, cette stratégie prometteuse contre la formation de biofilm et la résistance aux antibiotiques semble avoir quelques limites.

##### a. La résistance au QQ

Ces dernières années, il a été démontré qu'il existe des résistances au QQ. Ces résistances ont été mises en avant dans les biofilms pour lesquels la plage thérapeutique de l'agent QQ est étroite.

La première découverte d'une résistance au QQ a été présentée par Defoirdt et al. en 2010. Cette résistance concerne les gènes *QS* qui sont impliqués dans la détection et la production d'auto-inducteurs ainsi que la transduction du signal *QS*. En effet, leur variabilité est héréditaire et si certains gènes présentent une résistance au QQ, celle-ci peut être favorisée par le phénomène de sélection naturelle. Cependant, des études ont montré que la transmission de ces résistances au QQ par sélection naturelle est peu probable. Une des résistances aux agents *QQ* serait la perméabilité au biofilm. En outre une profondeur critique du biofilm peut entraîner des échecs thérapeutiques de par les difficultés d'action des composés au niveau des biofilms. La perméabilité des médicaments *QQ* dans les biofilms peut être due à la production de composants de la matrice extracellulaire qui vont séquestrer l'agent *QQ* comme le glucane.

De plus, le début du traitement est important pour son effet anti-*QS* sur un biofilm et déterminera ou non l'efficacité du traitement en fonction du moment où il aura été initié.

Les cellules pourraient toutefois développer des résistances au QQ dans des milieux dans lesquels les conditions ne sont pas favorables en raison du manque de nutriments. Bien qu'il n'y ait pas de pression sélective imposée par les inhibiteurs, il est possible qu'à long terme les bactéries pathogènes puissent développer une résistance aux inhibiteurs de détection de quorum basée sur une structure agoniste.

Des preuves cliniques supplémentaires de la capacité des souches à développer une résistance aux composés QQ ont été fournies. En étudiant la résistance d'isolats cliniques mexicains provenant d'échantillons d'urine, de sang et d'embouts de cathéter d'enfants à la furanone bromée (C-30) et au 5-fluorouracile (5-FU), les chercheurs ont pu mettre en évidence ce phénomène de résistance. L'uracile agissant comme signal positif sur la formation de biofilm et le 5-FU permettant d'inhiber la formation du biofilm, agissent sur la production de pyocyanine et la production de rhamnolipides.

Pour identifier les souches résistantes au 5-FU, les chercheurs ont dosé la production de pyocyanine, d'élastase et de protéase alcaline sur des souches isolées cliniquement et ont identifiés deux souches résistantes à la C-30. Parmi ces deux souches, une des souches résistantes n'était pas sensible aux antibiotiques, ce qui indique que le mécanisme de résistance au C-30 de cette souche n'est probablement pas lié à l'efflux actif. De plus, certains isolats cliniques ont montré une résistance pour au moins un phénotype avec le 5-FU.

Des études ont montré que les résistances au QQ venaient principalement d'un mécanisme de l'efflux ou d'un changement prédit des récepteurs QS. Il existe également des résistances des enzymes dégradant le signal comme les lactonases et acylases pour les auto-inducteurs AHL.

Un des enjeux serait de se focaliser sur des composés extracellulaires qui ne nécessitent pas de rentrer dans la cellule qui empêcherait la résistance liée à l'efflux, mais aussi d'augmenter la production d'auto-inducteurs, de synthétiser des auto-inducteurs modifiés (qui sont moins sensibles à l'attaque des enzymes dégradants).

Il a été démontré que les bactéries développent une résistance aux composés QQ à la fois dans des études en laboratoire et des études cliniques. Les composés QQ peuvent tout de même être utilisés en combinaison avec d'autres antimicrobiens. Les bactériophages pourraient donc avoir un rôle dans l'amélioration de la résistance aux composés QQ.

Les traitements QQ ont fait leurs preuves dans les infections animales en réduisant les charges bactériennes pathogènes. Néanmoins, il a été constaté que certaines souches sont résistantes aux QQ, même sans préexposition à ces agents du QQ. Cependant, les thérapies QQ devraient avoir des taux de résistance inférieurs à ceux des antibiotiques, mais la conception d'une thérapie efficace faisant face aux phénomènes de résistance pour traiter les infections bactériennes est bien plus complexe que l'on pense.

(67)

## b. Les limites de l'utilisation de ces composés sur la santé

D'après les études sur l'utilisation des enzymes ayant une activité anti-QS, aucune réaction telle qu'une inflammation ou réponse cytokinique n'a été démontrée suite à l'application cutanée ou l'injection intrapéritonéale de la lactonase. Cependant, comme il ne s'agit d'aucune enzyme d'origine humaine, il existe un risque de réactions allergiques ou immunitaires liées à leur utilisation. De plus, les enzymes d'origine procaryote peuvent causer de potentielles réponses immunitaires. Les PON qui ont une faible immunogénicité sont cependant insolubles.

Cependant, il existe des techniques pour empêcher une réaction immunitaire comme le piégeage dans des liposomes.

Des études ont montré que les nanoparticules pouvaient avoir des effets nocifs sur la santé et notamment dans le tractus gastro-intestinal humain. Il faut donc montrer l'effet des nanoparticules sur le microbiote intestinal pour empêcher l'utilisation de nanoparticules délétères pour la flore microbienne du tube digestif.

Cela est encore à démontrer comme pour l'exemple des nanoparticules CaF<sub>2</sub>-NPs qui ne présentent aucune toxicité par voie orale ou toute autre cytotoxicité (37,39).

## c. Les limites de la production de ces agents du QQ

Lorsqu'il s'agit d'études cliniques, les essais se font sur un nombre limité de sujets. Or lors de l'utilisation après mise sur le marché, un nombre bien plus important de sujets seront traités avec ces agents du QQ. Il faudra alors produire des agents QQ à grande échelle et faire face aux contraintes industrielles ainsi qu'à la stabilité et à la compatibilité. Par exemple, pour obtenir des enzymes il existe deux approches : l'évolution dirigée et la conception rationnelle. L'évolution dirigée va permettre d'adapter et d'améliorer l'enzyme en accumulant des mutations bénéfiques au cours de cycles itératifs de mutagenèse et de criblage ou de sélection. Contrairement à l'évolution dirigée, la conception rationnelle dépend de la connaissance préalable de la séquence, de la structure et des données fonctionnelles des protéines afin de concevoir des mutations spécifiques.

Il existe trois familles structurellement distinctes de lactonases du QQ, les lactonases de type phosphodiesterase (PLL), les métallo-B-lactamase-like lactonases et les paraoxonases sériques (PON). Des enzymes d'origine eucaryotes ont été utilisées pour de l'ingénierie afin que celles-ci résistent à la chaleur, à la stabilité, à la solubilité et à la facilité de purification. Les acylases et lactonases ont été formulées avec succès sous forme de poudres sèches adaptées à l'administration pulmonaire qui pourraient être un moyen de produire ces composés à grande échelle.

## V. Conclusion

Les bactéries comme tous les êtres vivants se sont adaptées à l'environnement dans lequel elles se trouvent. Le QS a fortement contribué à cette adaptation en permettant aux bactéries de communiquer entre elles. Certains phénotypes médiés par le QS sont devenus un vrai problème pour les hommes dans divers domaines comme celui de la santé, de l'agriculture, de l'industrie. Dans cette thèse, nous avons pu voir les dangers du QS en matière de santé publique. Et comme tout problème à sa solution, les chercheurs ont découvert le QQ. Cette découverte est un espoir pour des enjeux majeurs comme la résistance aux antibiotiques et la lutte contre les biofilms. Le QQ constitue une stratégie prometteuse pour contrôler la croissance bactérienne et prévenir la formation de biofilm dans différents contextes, notamment dans l'industrie alimentaire, l'agriculture et les soins de santé. Cette stratégie est d'autant plus prometteuse au vu du nombre de possibilités existantes comme l'utilisation d'enzymes, d'anticorps, de substances naturelles... D'autant plus que ces molécules sont nombreuses et proviennent de sources différentes, que des moyens d'extraction existent et qu'il est possible de réaliser une synthèse en laboratoire.

Des études ont été menées sur l'utilisation de ces agents du QQ en association avec des antibiotiques ou à l'hôpital pour des applications sur les biofilms concernant les DM. Ces applications ont montré des résultats très prometteurs.

Le QQ a été découvert ces 20 dernières années et nécessite encore des études approfondies afin de pouvoir l'appliquer dans de nombreux domaines.

Cependant, il est important de noter que cette approche n'est pas sans risques et peut avoir des effets indésirables sur l'environnement et la santé humaine. Il est donc important de mener des études complémentaires avant de mettre en œuvre cette stratégie, pour limiter les résistances au QQ et limiter les effets sur la santé de l'Homme. Cette stratégie reste pour l'instant très peu utilisée en industrie pharmaceutique, en cause la méconnaissance de l'impact de l'utilisation des inhibiteurs du QS sur la santé des patients et de l'efficacité du QQ selon l'espèce bactérienne mais aussi son coût. Les stratégies d'avenir seront de développer l'utilisation du QQ afin de réduire son coût et de rendre son utilisation plus pour les produits ainsi que pour les patients.

## VI. Références

1. Woolfson A. Origins of life: An improbable journey. *Nature*. avr 2015; vol 520:p.617-8.
2. Abbott A. Scientists bust myth that our bodies have more bacteria than human cells. *Nature*. jan2016.19136 : <https://doi.org/10.1038/nature.2016.19136>, consulté le 2 octobre 2022.
3. Molnár M, Fenyvesi É, Berkl Z, Németh I, Fekete-Kertész I, Márton R, et al. Cyclodextrin-mediated quorum quenching in the *Aliivibrio fischeri* bioluminescence model system – Modulation of bacterial communication. *Int J Pharm*. fév 2021;vol 594.120150:p.1-10.
4. Mayer FL, Wilson D, Hube B. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. *Virulence*. 15 févr 2013;4(2):p.119-28.
5. Zhou L., Zhang Y., Ge Y., Z X., P J. Regulatory Mechanisms and Promising Applications of Quorum Sensing-Inhibiting Agents in Control of Bacterial Biofilm Formation. *Front. Microbiol*. 2020, vol 11:p.589–640.
6. Aebli K, Hutchison E. Classroom Activities to Engage Students and Promote Critical Thinking about Genetic Regulation of Bacterial Quorum Sensing. *J Microbio & Bio Edu*. mai 2016; vol 17(2):p.284-5.
7. Bassler BL, Losick R. Bacterially Speaking. *Cell*. avr 2006; vol 125(2):p. 237-46.
8. Pappenfort K, Bassler B. Quorum-Sensing Signal-Response Systems in Gram-Negative Bacteria. *Nat Rev Microbiol*. aug 2016; vol14(9):p.576-88.
9. Sitaraman R. Prokaryotic horizontal gene transfer within the human holobiont: ecological-evolutionary inferences, implications and possibilities. *Microbiome*. 2018 Sep 17; vol 6(1):p.163.
10. Sitterlé E. La candidose cutanéomuqueuse chronique : un modèle d'étude de l'adaptation génomique chez *Candida albicans*. Th. D Sciences de la vie et de la santé, Paris Sorbonne (2018).
11. Federle MJ, Bassler BL. Interspecies communication in bacteria. *J Clin Invest*. nov 2003; vol 112(9):p.1291-9.
12. Atkinson S, Williams P. Quorum sensing and social networking in the microbial world. *J R Soc Interface*. nov 2009; vol 6(40): p.959-78.
13. Diard M, Hardt WD. Evolution of bacterial virulence. *FEMS Microbiol Rev*. sep 2017; vol 41(5): p.679-97.
14. Inserm. Infections nosocomiales [Internet].[cité 8 janv 2023]. Disponible sur: <https://www.inserm.fr/dossier/infections-nosocomiales>.
15. Ali L, Goraya MU, Arafat Y, Ajmal M, Chen JL, Yu D. Molecular Mechanism of Quorum-Sensing in *Enterococcus faecalis*: Its Role in Virulence and Therapeutic Approaches. *Int J Mol Sci*. mai 2017; vol 18(5). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5454873/>, consulté le 15 septembre 2022.
16. Ali L, Goraya MU, Arafat Y, Ajmal M, Chen JL, Yu D. Molecular Mechanism of Quorum-Sensing in *Enterococcus faecalis*: Its Role in Virulence and Therapeutic Approaches. *Int J Mol Sci*. mai 2017; vol 18(5):p.960
17. Bello-López JM, Cabrero-Martínez OA, Ibáñez-Cervantes G, Hernández-Cortez C, Pelcastre-Rodríguez LI, Gonzalez-Avila LU, et al. Horizontal Gene Transfer and Its Association with Antibiotic Resistance in the Genus *Aeromonas spp*. *Microorganisms*. sept 2019; vol 7(9): p.363.
18. Tao S, Chen H, Li N, Wang T, Liang W. The Spread of Antibiotic Resistance Genes In Vivo Model. *Can J Infect Dis Med Microbiol*. 18 juil 2022; 2022:3348695:p.11

19. Breijyeh Z, Jubeh B, Karaman R. Resistance of Gram-Negative Bacteria to Current Antibacterial Agents and Approaches to Resolve It. *Mol. mars* 2020; vol 25(6):p1340.
20. Asif M, Alvi IA, Rehman SU. Insight into *Acinetobacter baumannii*: pathogenesis, global resistance, mechanisms of resistance, treatment options, and alternative modalities. *Infect Drug Resist* août 2018; vol 11: p.1249-60.
21. Dou Y, Song F, Guo F, Zhou Z, Zhu C, Xiang J, et al. *Acinetobacter baumannii* quorum-sensing signalling molecule induces the expression of drug-resistance genes. *Mol Med Rep.* jun 2017; vol 15(6): p.4061-8.
22. Dong YH, Zhang LH. Quorum Sensing and Quorum-Quenching Enzymes. *J Microbio.* 2005;43(spc1):p.101-9.
23. Asif M, Alvi IA, Rehman SU. Insight into *Acinetobacter baumannii*: pathogenesis, global resistance, mechanisms of resistance, treatment options, and alternative modalities. *Infect Drug Resist* août 2018; vol 11: p.1249-60.
24. Esha. Food Processing and Manufacturing: The Risks of Biofilm Contamination [Internet]. [cité 27 sept 2023]. Disponible sur: <https://orapiasia.com/importance-of-biofilm-in-the-food-and-beverage-industry>.
25. Solano C, Echeverz M, Lasa I. Biofilm dispersion and quorum sensing. *Curr Opin Microbiol.* avr 2014; vol 18: p.96-104.
26. Filloux A, Vallet I. Biofilm : mise en place et organisation d'une communauté bactérienne. *Med Sci (Paris).* jan 2003; vol 19(1): p.77-83.
27. Sionov RV, Steinberg D. Targeting the Holy Triangle of Quorum Sensing, Biofilm Formation, and Antibiotic Resistance in Pathogenic Bacteria. *Microorganisms.* jun 2022;vol 10(6): p.1239.
28. Archer N, Mazaitis J, Costerton W, Leid J, Powers E, Shirliff M. *Staphylococcus aureus* biofilms. *Virulence.* sep 201; vol 2: p.445-459.
29. Kong KF, Vuong C, Otto M. *Staphylococcus* quorum sensing in biofilm formation and infection. *Int J Med Microbiol.* avr 2006; vol 296(2):p.133-9.
30. Hemmati F, Salehi R, Ghotaslou R, Kafil HS, Hasani A, Gholizadeh P, et al. Quorum Quenching: A Potential Target for Antipseudomonal Therapy. *IDR.* août 2020; vol 13: p.2989-3005.
31. Rémy B, Mion S, Plener L, Elias M, Chabrière E, Daudé D. Interference in Bacterial Quorum Sensing: A Biopharmaceutical Perspective. *Frontiers in Pharmacology.*[Internet]. [cité 6 nov 2022].<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2018.00203>, consulté le 6 novembre 2022.
32. Dong YH, Zhang LH. Quorum Sensing and Quorum-Quenching Enzymes. *J Microbio.* 2005; vol 43(spc1): p.101-9.
33. Dong YH, Xu JL, Li XZ, Zhang LH. AiiA, an enzyme that inactivates the acylhomoserine lactone quorum-sensing signal and attenuates the virulence of *Erwinia carotovora*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* mars 2000;vol 97(7):p.3526-31.
34. Hong KW, Koh CL, Sam CK, Yin WF, Chan KG. Quorum Quenching Revisited—From Signal Decays to Signalling Confusion. *Sensors.* avr 2012; vol12(4):p 4661-96.
35. Amara N, Krom BP, Kaufmann GF, Meijler MM. Macromolecular Inhibition of Quorum Sensing: Enzymes, Antibodies, and Beyond. *Chem Rev.* janv 2011;vol 111(1):p.195-208.
36. Dong YH, Gusti AR, Zhang Q, Xu JL, Zhang LH. Identification of Quorum-Quenching N-Acyl Homoserine Lactonases from *Bacillus* Species. *Appl Environ Microbiol.* avr 2002; vol 68(4):p.1754-9.

37. Rémy B, Plener L, Elias M, Daudé D, Chabrière E. Des enzymes pour bloquer la communication bactérienne, une alternative aux antibiotiques ? *Ann Pharm Fr.* nov 2016; vol 74(6):p.413-20.
38. Debler EW, Kaufmann GF, Kirchdoerfer RN, Mee JM, Janda KD, Wilson IA. Crystal Structures of a Quorum-Quenching Antibody. *J Mol Biol.* mai 2007;vol 368(5):p.1392-402.
39. Mion S, Rémy B, Plener L, Chabrière É, Daudé D. Quorum sensing et quorum quenching : Comment bloquer la communication des bactéries pour inhiber leur virulence ? *Med Sci (Paris).* janv 2019; vol 35(1): p.31-8.
40. Asif M, Alvi IA, Rehman SU. Insight into *Acinetobacter baumannii*: pathogenesis, global resistance, mechanisms of resistance, treatment options, and alternative modalities. *Infect Drug Resist.* août 2018; vol 11: p. 1249-60.
41. Thanh Nguyen H, Goycoolea FM. Chitosan/Cyclodextrin/TPP Nanoparticles Loaded with Quercetin as Novel Bacterial Quorum Sensing Inhibitors. *Molecules.* 15 nov 2017; vol 22(11):p.1975.
42. Lu HD, Spiegel AC, Hurley A, Perez LJ, Maisel K, Ensign LM, et al. Modulating *Vibrio cholerae* Quorum-Sensing-Controlled Communication Using Autoinducer-Loaded Nanoparticles. *Nano Lett.* avr 2015; vol 15(4):p.2235-41.
43. Gómez-Gómez B, Arregui L, Serrano S, Santos A, Pérez-Corona T, Madrid Y. Unravelling mechanisms of bacterial quorum sensing disruption by metal-based nanoparticles. *Sci Total Environ.* déc 2019; vol 696:p.1338-69.
44. Kulshrestha S, Khan S, Hasan S, Khan ME, Misba L, Khan AU. Calcium fluoride nanoparticles induced suppression of *Streptococcus mutans* biofilm: an in vitro and in vivo approach. *Appl Microbiol Biotechnol.* févr 2016; vol 100(4): p.1901-14.
45. Bouyahya A, Dakka N, Et-Touys A, Abrini J, Bakri Y. Medicinal plant products targeting quorum sensing for combating bacterial infections. *Asian Pac J Trop Med.* août 2017; vol 10(8):p.729-43.
46. Chu YY, Nega M, Wölflé M, Plener L, Grond S, Jung K, et al. A New Class of Quorum Quenching Molecules from *Staphylococcus* Species Affects Communication and Growth of Gram-Negative Bacteria. *PLoS Pathog.* sept 2013; vol 9(9):p.1003-654.
47. Grandclément C, Tannières M, Moréra S, Dessaux Y, Faure D. Quorum quenching: role in nature and applied developments. *FEMS Microbiol Rev.* janv 2016; vol 40(1): p.86-116.
48. Bouyahya A, Dakka N, Et-Touys A, Abrini J, Bakri Y. Medicinal plant products targeting quorum sensing for combating bacterial infections. *Asian Pac J Trop Med.* août 2017; vol 10(8):p.729-43.
49. D'Almeida RE, Molina RDI, Viola CM, Luciardi MC, Nieto Peñalver C, Bardón A, et al. Comparison of seven structurally related coumarins on the inhibition of Quorum sensing of *Pseudomonas aeruginosa* and *Chromobacterium violaceum*. *Bioorg Chem.* août 2017; vol 73: p.37-42.
50. Huedo P, Coves X, Daura X, Gibert I, Yero D. Quorum Sensing Signaling and Quenching in the Multidrug-Resistant Pathogen *Stenotrophomonas maltophilia*. *Front Cell Infect Microbiol.* 24 avr 2018. [Internet]. [cité 20 mars 2021]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5928129/>, consulté le 20 juin 2022.
51. Lade H, Paul D, Kweon JH. Quorum Quenching Mediated Approaches for Control of Membrane Biofouling. *Int J Biol Sci.* mai 2014; vol 10(5): p.550-65.
52. Roy V, Adams BL, Bentley WE. Developing next generation antimicrobials by intercepting AI-2 mediated quorum sensing. *Enzyme Microb Technol.* 10 juil 2011; vol 49(2): p.113-23.
53. Ahmed NAAM, Petersen FC, Scheie AA. AI-2 quorum sensing affects antibiotic susceptibility in

*Streptococcus anginosus*. J Antimicrob Chemother. juill 2007; vol 60(1): p.49-53.

54. Hemmati F, Salehi R, Ghotaslou R, Samadi Kafil H, Hasani A, Gholizadeh P, et al. Quorum Quenching: A Potential Target for Antipseudomonal Therapy. Infect Drug Resist. août 2020; vol 13: p. 2989-3005.

55. Tang K, Zhang XH. Quorum Quenching Agents: Resources for Antivirulence Therapy. Mar Drugs. mai 2014; vol 12(6):p.3245-82.

56. Grandclément C, Tannières M, Moréra S, Dessaux Y, Faure D. Quorum quenching: role in nature and applied developments. Fems Microbiol Rev. janv 2016; vol 40(1):p.86-116.

57. Ministère de la Santé et de la Prévention. Les dispositifs médicaux (implants, prothèses...). 2023. [Internet]. [cité 9 janv 2023]. Disponible sur: <https://solidarites-sante.gouv.fr/soins-et-maladies/autres-produits-de-sante/article/les-dispositifs-medicaux-implants-protheses>.

58. Chow JY, Yang Y, Tay SB, Chua KL, Yew WS. Disruption of Biofilm Formation by the Human Pathogen *Acinetobacter baumannii* Using Engineered Quorum-Quenching Lactonases. Antimicrob Agents Ch. févr 2014; vol 58(3): p.1802-5.

59. Chan KG, Atkinson S, Mathee K, Sam CK, Chhabra SR, Cámara M, et al. Characterization of N-acylhomoserine lactone-degrading bacteria associated with the *Zingiber officinale* (ginger) rhizosphere: Co-existence of quorum quenching and quorum sensing in *Acinetobacter* and *Burkholderia*. BMC Microbiol. mars 2011: p.11:51.

60. Roy V, Adams BL, Bentley WE. Developing next generation antimicrobials by intercepting AI-2 mediated quorum sensing. Enzyme Microb Technol. juill 2011; vol 49(2):p.113-23.

61. O'Loughlin CT, Miller LC, Siryaporn A, Drescher K, Semmelhack MF, Bassler BL. A quorum-sensing inhibitor blocks *Pseudomonas aeruginosa* virulence and biofilm formation. Proc Natl Acad Sci U S A. oct 2013; vol 110(44):p.17981-6.

62. Weiland-Bräuer N, Malek I, Schmitz RA. Metagenomic quorum quenching enzymes affect biofilm formation of *Candida albicans* and *Staphylococcus epidermidis*. Plos One. janv 2019; vol 14(1): p. 211-366.

63. Breijyeh Z, Jubeh B, Karaman R. Resistance of Gram-Negative Bacteria to Current Antibacterial Agents and Approaches to Resolve It. Molecules. mars 2020; vol 25(6):p.1340.

64. Phytothérapie. Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. [Internet]. [cité 3 déc 2023]; Disponible sur: <https://doi.org/10.1007/s10298-017-1118-z>, consulté le 6 mars 2022.

65. Lade H, Paul D, Kweon JH. N-Acyl Homoserine Lactone-Mediated Quorum Sensing with Special Reference to Use of Quorum Quenching Bacteria in Membrane Biofouling Control. Biomed Res Int. 2014; vol 2014:p.1625-84.

66. Tegos GP, Hamblin MR. Disruptive innovations: new anti-infectives in the age of resistance. Curr Opin Pharmacol. oct 2013; vol 13(5):p.10.

67. García-Contreras R, Maeda T, Wood TK. Resistance to Quorum-Quenching Compounds. Appl Environ Microbiol. nov 2013; vol 79(22):p.6840-6.