

LES ANTIBIOTIQUESNOUVEAUX MODES D'ACTION NOUVEAUX MECANISMES DE RESISTANCE

Voilà le thème de la journée organisée par la Société Française de Microbiologie- Section des Agents anti-microbiens, qui s'est déroulée le 5 décembre 2007 au CIS de l'Institut Pasteur de Paris.

Je m'y suis inscrite et j'y ai assisté avec beaucoup de plaisir et d'intérêt. Les orateurs qui se sont succédés étaient tous des experts de réputation scientifique mondiale et de différentes nationalités, Américaine, Danoise, Allemande et Française.

Pour la majorité des exposés, l'anglais était à l'honneur et j'ai pu réaliser à quel point il devient primordial de maîtriser cette langue si l'on désire se mettre au diapason de l'univers scientifique, tout au moins en Biologie.

Après une brève introduction de P. Courvalin, organisateur de la journée, le 1^{er} orateur, J.A.SILVERMAN, prend la parole avec un exposé portant sur un Glycopeptide déjà connu : **DAPTOMYCINE**.

Il explique à travers des résultats d'études électromicrographiques illustrées par des photographies éloquentes, que cette molécule agit sur les bactéries Gram + en provoquant une septation asymétrique lors de la division cellulaire, avec, particulièrement, l'apparition de septums aberrants, à proximité de celle-ci.

Ces défauts de septation ont été décrits chez *Staphylococcus aureus* mais ne sont pas spécifiques de ce microorganisme. En effet, l'auteur rapporte des effets similaires provoqués par la Daptomycine chez *Enterococcus faecalis*, avec toutefois des septums multiples mais symétriques.

Par ailleurs, chez *Bacillus subtilis*, autre Gram +, on retrouve des septums aberrants situés aux pôles du bacille sous l'effet de cette molécule.

D'après l'auteur, ces septations anormales seraient spécifiques de la Daptomycine, bien que d'autres types d'altérations de la paroi bactérienne aient été observés avec d'autres antibiotiques tels Vancomycine et Rifampicine.

En résumé, le traitement antibiotique à la Daptomycine induirait une inhibition de la biosynthèse du peptidoglycane d'où formation de septums aberrants lors de la division bactérienne.

Par ailleurs cet antibiotique agirait aussi sur la membrane cytoplasmique des bactéries à Gram + en provoquant une dépolarisation membranaire.

Ce phénomène se manifesterait par une déstabilisation des lipides, formation de vésicules membranaires qui, en fusionnant, aboutissent à des incurvations de la double couche lipidique membranaire.

Le 2^{ème} orateur, B.BENTON, aborde une autre catégorie d'antimicrobiens, la **TELEVANCIN** ainsi que des Hétérodimères tels **TD-1792**.

L'orateur décrit ainsi de nouvelles molécules, caractérisées par plusieurs déterminants (sites) de liaisons leur permettant d'agir sur une ou plusieurs cibles. Ces molécules sont douées d'un accès plus rapide à la cible moléculaire avec un plus grand potentiel d'action.

Il décrit alors un dérivé semi synthétique de la Vancomycine : la TELEVANCIN, ainsi qu'une molécule associant la Vancomycine et un hétérodimère : la TD-1792.

La TELEVANCIN est une molécule à large spectre d'action sur les Gram +, couvrant les MRSA, h/VISA, CoNS, B_hS, Spn et *Enterococcus* spp., de même que des Anaérobies Gram+ tels *Clostridium*, *Corynebacterium* spp., *Bacillus* spp. Cette molécule n'a cependant pas d'activité sur les Gram - (Enterobactéries, Bacilles non fermentaires, Bacilles anaérobies Gram-).

On apprend aussi que la TELEVANCIN aurait une CMI 50% de 0,5 chez les VISA (N= 37) contre 4 pour la Vancomycine et de 4 chez les Enterococci VAN A (N=341) contre 512 pour la Vancomycine.

Elle dériverait de la molécule de Vancomycine par une modification au niveau du core et agirait sur le dipeptide DALA-DALA au cours de l'étape de Glycosylation lors de la synthèse pariétale.

Quant au TD-1792, cette molécule serait une combinaison entre une cephalosporine et/ou la Vancomycine, et un Linker. Son activité antibactérienne serait supérieure à celle de ces différents composants et son effet, supérieure à celui de la Vancomycine sur les Gram +, y compris les souches résistantes.

Le 3^{ème} orateur, M.PAGE, nous instruit sur une nouvelle Bêtalactamine appelée **CEFTOBIPROL MEDOCARIL**. C'est une nouvelle cephalosporine, active sur les Gram+ (y compris MRSA) et sur les Gram-, très efficace sur les Staphylocoques MRSA et MSSA, de même que sur les PRP.

Son activité sur les Gram- est similaire à celle des C3G et C4G.

Elle résiste à l'action de nombreuses Bêtalactamases y compris AmpC ; vis-à-vis de *P.aeruginosa*, son activité est comparable à celle de CEFTAZIDIME et CEFEPIME.

Elle est bien tolérée et semble particulièrement intéressante dans le traitement des infections staphylococciques.

Après la pause-café, nous entamons la 2^{ème} séance de la matinée avec P.BRADFORD, qui nous présente une nouvelle cycline, une Glycylcycline : la **TIGECYCLINE**.

De spectre large, couvrant aussi bien les Gram+, y compris les MRSA, PRP... que les Gram- avec les Enterobactéries BLSE, *Acinetobacter spp.*, *S.maltophilia*, *P.multocida* et *Haemophilus influenzae*, ainsi que les Anaérobies ou les Mycobactéries atypiques.

Cette molécule aurait le même mode d'action que toute cycline.

Son activité antibactérienne serait 3 fois supérieure à celle de la Minocycline et 6 fois supérieure à celle de la Tétracycline. Son affinité pour le ribosome est 5 fois supérieure à celle de la Minocycline et 100 fois supérieure à celle de la Tétracycline.

Quant à son effet sur l'inhibition de la synthèse des protéines bactériennes, il serait nettement supérieur à ceux de la Minocycline et de la Tétracycline.

Des résistances à la Tigecycline ont cependant été relevées chez *Proteus mirabilis*, *Morganella morganii*, *P.aeruginosa* et des Enterobactéries telles *K.pneumoniae*, *E.cloacae* et *E.coli*.

Ainsi, chez *P.aeruginosa*, on obtient facilement des mutants résistants à la Tigecycline dans les souches de type mexXY [hyperexpression de pompes Efflux].

Suit alors une présentation du français V.JARLIER, sur les nouveaux antituberculeux. Il cite les **DIARYL-QUINOLINES (DARQ)** et les **IMIDAZOLES**.

Les 1^{ères} ont été une découverte fortuite suite à un screening de banques de molécules destinées à rechercher des molécules actives sur *H.pylori*.

Ainsi, a-t on découvert le R 207910, actif sur le BK. De spectre très large, il existe cependant quelques espèces naturellement résistantes à cette molécule, telles *M.xenopii*.

Des tests in vivo, réalisés chez la souris, ont montré que cette molécule réduisait les microorganismes d'environ 5log, en 8 semaines de traitement et agissait aussi efficacement que le traitement triple standard.

En cas de souche de BK multirésistante, l'auteur rapporte une très bonne activité de R207910 associée à Moxifloxacin.

La durée du traitement n'est pas raccourcie. Elle reste de 6 mois, avec le même pourcentage de rechute que dans le traitement standard chez la souris.

La cible d'action des DARQ est l'ATP synthase bactérienne.

Pour ce qui est des IMIDAZOLES, la molécule décrite, **PA-824** est une molécule proche du Metronidazole. L'orateur décrit l'association RIF +INH+PA-824 comme n'entraînant pas de rechute : c'est le produit **OPC-67683**, qui semble aussi actif, voire un peu plus, que le traitement standard.

C'est un produit particulièrement intéressant sur les souches MDR de M.tuberculosis, qui représenteraient 500.000 nouveaux cas annuellement.

L'orateur termine sa communication en précisant que, pour lui, ces nouvelles molécules introduites en thérapeutique anti-mycobactérienne, ne réduiraient pas la durée du traitement mais permettraient, en réduisant les prises à seulement une prise par semaine pendant 6 mois, soit au total 24 prises, de mieux prendre en charge les cas de tuberculose à souches MDR, qui résident souvent en zones déshéritées (Afrique) et même, d'en guérir une proportion non négligeable.

J.M.GHIGO est un jeune scientifique talentueux et plein d'humour ; d'ailleurs, sa communication, intitulée GHIGOMYCINE, en a fait sourire plus d'un dans le parterre des auditeurs.

Il aborde en fait le problème des **BACTERIES DE BIOFILMS** et les moyens à mettre en œuvre pour les atteindre et les éradiquer.

En effet, à travers les biofilms tapissant les prothèses, cathéters et autres matériels médicaux, ces bactéries entretiennent l'infection chronique. Elles sont d'ailleurs bien connues dans certaines affections dont l'évolution est émaillée d'infections chroniques telles la Mucoviscidose.

Les biofilms posent divers problèmes :

- 1) la tolérance aux antibiotiques : l'échec de la pénétration des ATB dans les biofilms, la diminution du taux de croissance des bactéries dans ces biofilms ainsi qu'une tolérance aux biocides... Il s'en suit un phénomène de persistance bactérienne sous l'effet des antibiotiques
- 2) le traitement antibiotique lui-même induirait la formation de biofilm
- 3) les cellules bactériennes planctoniques sont moins efficaces que les cellules bactériennes de biofilms.

Selon l'orateur, pour lutter contre les biofilms, on possède 2 moyens :

- tuer les cellules planctoniques, ce que l'on peut obtenir par les antibiotiques
- prévenir l'adhésion initiale, à l'origine du biofilm.

Il s'agit donc, pour J.M.GHIGO, de créer des surfaces qui entraîneraient la lyse bactérienne à leur contact, mais ceci va être suivi de l'accumulation de débris cellulaires en surface, d'où gêne.

En définitive, l'avenir appartiendrait à des biofilms empêchant l'adhésion bactérienne.

L'auteur décrit alors une étude expérimentale détaillant la production d'un

MIXED-BIOFILM, biofilm associant des espèces bactériennes différentes qui libèreraient un polysaccharide capsulaire (groupe II) à leur surface, lequel inhiberait l'interaction cellule bactérienne-surface du biofilm et l'interaction cellule-cellule.

Ce polysaccharide capsulaire serait produit par des souches d'E.coli B2 ou D et agirait sur un large éventail de microorganismes pathogènes.

Après-midi :

S.MOBASHERY aborda les mécanismes de résistance chez les MRSA et décrit avec force détails, la structure et le fonctionnement des **PBP ainsi que les gènes de structure et de régulation de ces protéines.**

Puis vint le tour de M.GALLIMAND qui parla des mécanismes de résistance aux aminosides par 16S rRNA methylation.

Il décrit **2 méthylases : ArmA et rmtB**, parmi les plus répandues, qui agissent en bloquant la liaison de la sous-unité 30S à la Gentamicine, au niveau du site A, ainsi qu'une nouvelle méthylase, NpmA (Ref sur AAC 12/07) agissant par methylation de l'Adénine 1408 du site A.

Parmi les questions posées au terme de cette communication, une intéressante question a concerné un des signes permettant de suspecter l'existence d'une méthylase chez la souche testée (exemple de *Klebsiella pneumoniae*) : c'est l'observation d'un aspect de « double zone » (comme s'il y avait contamination) autour des disques d'Aminosides.

Vint ensuite un orateur Allemand, S.SCHWARTZ, qui parla de la résistance multiple par **RNA Methylation** à travers une série de 11 souches d'origine animale ;il s'agissait de souches isolées lors du diagnostic courant entre 1997 et 2003, de Staphylocoques multirésistants porteurs du gène cfr plasmidique qui code pour une nouvelle rRNA méthylase, conférant une résistance aux Phénicolés, Lincosamides, Oxazolidinones, Pleurometiline et Streptogramine A.

C'est le premier gène transférable pour la résistance à Oxazolidinone et Pleurometiline. (Ref sur AAC 51 :2007/483-7 par Kehrenberg and al).

Après la pause-café , J.L. MAINARDI fit , en français, une excellente communication sur *Enterococcus faecium* et sa résistance aux Bêtalactamines par **L.D-Transpeptidation.**

Il décrit à cet effet, une souche d'*E.faecium* (souche M512) présentant un haut niveau de résistance à l'Ampicilline (CMI=2000 µg/ml), obtenue en experimentation par L.D-Transpeptidation à partir d'une souche sensible (D344S , CMI =0,06 µg/ml) démunie de sa PLP5.

La souche M512 reste cependant sensible aux Carbapenems (CMI=0,5 µg/ml) , l'Imipenem inhibant la L.D-Transpeptidase.

Il s'agit donc d'une nouvelle famille de transpeptidases et d'un nouveau mécanisme de résistance aux Bêtalactamines (sauf Carbapenems) chez *E.faecium*. Cette résistance est croisée avec les Glycopeptides. L'orateur termine son exposé en évoquant le rôle possible de telles souches en clinique.

S'en suit la communication de D.ANDERSSON sur la résistance bactérienne aux **Polypeptides.** Il affirme qu'il se semble pas à priori facile de développer des résistances aux Polypeptides mais qu'en fait, la résistance à ces molécules pourrait être plus fréquente qu'on ne le croit : « Just look and you'll find ! » affirme-t-il.

En prenant l'exemple des Protamines, il décrit des mutants résistants par déficit en biosynthèse de l'Hème.

Enfin , G.MOECK termine la séance avec une communication intitulée : « Antibiotiques targeting chronic osteomyelitis ». Il évoque le lourd problème des ostéomyélites chroniques dont les étiologies sont dominées par les Gram+ tels *S.aureus* et qui restent difficiles à traiter par manque d'antibiotiques actifs d'où la nécessité de développer de nouveaux agents pour juguler le problème de échecs thérapeutiques et des multirésistances.

Dans cet objectif, il rapporte l'expérience des **BIPHOSPHONATES (BPS)**, Pyrophosphate Analogs, obtenus par combinaison avec un antibiotique et un linker. Ces BPS auraient une grande efficacité et une bonne diffusion dans l'os et ne seraient pas toxiques.

Leur concentration dans l'os du tibia serait excellente .

Il décrit une prodrogue : **RIFABUTIN BPS**, qui aurait une CMI de 0,001 à 0,016 µg/ml chez *S.aureus* , serait active sur les biofilms, aurait une très bonne fixation osseuse (>99% en 1heure), s'éliminerait lentement une fois liée à l'os (>0,3% /j).

RIFABUTIN BPS Prodrug ou TT99000647 aurait été étudiée expérimentalement chez le lapin.

A l'aide d'une étude randomisée qu'il décrit, l'orateur aboutit à la conclusion qu'avec 10 doses de cette molécule, le tibia infecté expérimentalement est stérilisé à 100% alors que 10 doses de RIF stérilisent l'os à 43%.

Avec 7 doses seulement , le TT9000647 stérilise 57% du tibia.

Quant aux clones résistants, ils seraient retrouvés aussi bien avec la RIF qu'avec le TT9000647.

En somme , cette nouvelle molécule serait plus efficace que la RIFAMPICINE ou encore la GATIFLOXACINE (56 doses) , avec , en plus , une posologie plus réduite.

L'orateur précise tout de même qu'une plus ample caractérisation de cette prodrogue est en cours.

A la fin de la journée, X.NASSIF résume l'ensemble des données rapportées par les différents orateurs.

Il met à l'honneur l'industrie pharmaceutique en se disant satisfait de réaliser à quel point la motivation est toujours de mise pour le développement de nouvelles molécules antibiotiques. Puis il passe en revue les connaissances acquises au terme de la journée.

Selon lui, l'association de 2 principes actifs différents au sein d'une même molécule semble une perspective attrayante , même si la pharmacocinétique de cette association chez l'homme n'est pas encore parfaitement connue .

Par ailleurs, les molécules rapportées par les différents orateurs sont, pour nombre d'entre elles, des dérivés d'anciennes molécules...si ce n'est le cas des DARQ (Diaryl- quinolines) qui se révèlent comme une superbe perspective pour traiter les tuberculoses multirésistantes surtout dans les pays démunis, en raison de leur prise hebdomadaire unique.

Il a aussi relevé le manque de nouvelles molécules anti-Gram négatif , probablement parce que de mise au point plus difficile.

Pour ce qui est des mécanismes de résistance bactérienne vis-à-vis des nouvelles molécule, ils seraient similaires à ceux vis-à-vis des molécules dont elles dérivent, ce qui prouve que les bactéries finissent toujours par s'adapter (exemple des nouvelles méthylases).

Côté innovation, des antimicrobiens ciblant des germes dans l'os représentent une arme inespérée ...bien qu'à son avis, envisager de telles molécules dans le traitement des infections neuro-méningées apparaît aussi comme un objectif encore plus crucial de part la gravité et l'urgence de ce type d'infections.

En définitive, il ne faut pas oublier, comme le souligne X.NASSIF, que les conséquences d'utilisation des antimicrobiens reste le risque d'émergence, par pression de sélection, des souches multi résistantes dans l'intestin.

« Dans l'avenir, élaborer des composés antimicrobiens ciblant la bactérie « en situation pathologique » ou encore élaborer des molécules à utiliser en « traitement prophylactique chez le patient à haut risque »...voilà le challenge !!!! » conclut-il.