

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT
& BIOCHIMIE

DE

MICROBIOLOGIE

N°:



DOMAINE : SCINCES DE LA NATURE ET DE LA

VIE

FILIERE : SCIENCE BIOLOGIQUE

OPTION : BIOCHIMIE APPLIQUEE

Mémoire présenté pour l'obtention

Du diplôme de Master Académique

Par : BENMESLI tiziri sarra

Intitulé

Le Quorum Quenching désarme les bactéries sans induire de résistance : une approche post-antibiotique prometteuse

Soutenu devant le jury composé de :

Dr. Samia Bouaziz

Université Mohamed Boudiaf M'sila

Présidente

Dr. Seifeddine Drif

Université Mohamed Boudiaf M'sila

Rapporteur

Dr. Karima Abdellaoui

Université Mohamed Boudiaf M'sila

Examinatrice

Année universitaire : 2024 /2025

Dédicace

J'ai l'immense honneur de dédier ce travail à la mémoire de mon père bien-aimé, À toi, papa.

Mon modèle, mon pilier, mon refuge dans les tempêtes de la vie. Il n'y a pas de mots assez forts, assez justes, pour exprimer l'amour que je te porte et le vide immense que ton départ a laissé dans mon cœur. Chaque jour sans toi est un combat silencieux, mais c'est ton souvenir qui me relève, c'est ton regard qui me guide, c'est ton amour qui continue de m'élever.

Ce projet, cette réussite, je la dois à la force que tu m'as transmise, à l'espoir que tu as toujours su entretenir en moi. Tu n'es plus là pour me prendre dans tes bras, mais je sens ton âme veiller sur moi. Tu vis dans chacun de mes choix, dans chacun de mes efforts, dans chaque sourire que j'arrive encore à offrir malgré la peine.

J'espère que, de là où tu es, tu vois la femme que je suis devenue, et que tu es fier. Fier de mon parcours, fier de mon courage, fier de tout l'amour que je continue à te porter...Je t'aime papa.

À la lumière de mes jours, à la source de mes efforts, à la flamme de mon cœur : ma mère bien-aimée. Toi qui représentes ma vie et mon bonheur, reçois toute mon affection et ma reconnaissance.

À la mémoire de mon très cher oncle Abbas, qui fut pour moi un second père. Que cet hommage soit le reflet de l'amour et de la gratitude éternelle que je te porte.

À ma précieuse nièce Ania, dont l'arrivée a illuminé nos vies. Tu es une étincelle de douceur et de joie, un rayon de lumière dans mes journées les plus sombres. Que ce travail, empreint de l'amour, de l'espoir et de la force que tu m'inspires, puisse un jour t'encourager à poursuivre tes rêves avec la même lumière que tu fais briller dans la mienne.

À mon frère bien-aimé Islam, à ma sœur Narimane et à son époux Samir, qui occupent une place unique dans mon cœur. Je vous dédie ce travail avec l'espoir sincère d'un avenir rempli de bonheur, de sérénité et de réussite.

À mes amies de cœur, Manar, Nermin et Khalida, pour toutes les années partagées, les souvenirs tissés, et les épreuves traversées ensemble. Votre présence fidèle dans les moments les plus sombres de ma vie a été un véritable soutien. Je vous remercie du fond du cœur et vous embrasse avec tendresse.

À mes chers amis, compagnons de route dans ce long et exigeant parcours. Les heures passées à étudier, les discussions passionnées sur nos rêves d'avenir, resteront à jamais gravées dans ma mémoire. Je vous souhaite, à chacun, une vie riche en accomplissements et en succès.

Remerciement

En premier lieu, je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers Dieu, le Tout-Puissant, pour m'avoir accordé le courage et la volonté nécessaires à l'aboutissement de ce projet. Je souhaite également remercier chaleureusement mes chers parents pour leur soutien constant et leurs encouragements tout au long de ma vie et de mon parcours académique.

Mes remerciements les plus sincères vont au Dr.Seifeddine Drif , pour sa disponibilité, la richesse de ses conseils et la pertinence de ses remarques, qui ont grandement contribué à l'amélioration de la qualité de ce travail.

J'adresse également toute ma reconnaissance aux membres du jury pour avoir accepté d'évaluer ce mémoire.

Enfin, je remercie vivement l'ensemble des enseignants de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de M'Sila, pour la qualité de l'enseignement qu'ils m'ont dispensé tout au long de mon cursus universitaire.

Sommaire

Résumé	i
Liste des abréviations	ii
Liste des figures.....	iii
Liste des tableaux	v
Introduction	1
ChapitreI. Représentation de la bactérie <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3
I.1. Présentation générale et étymologie de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3
I.2. Classification taxonomique et propriétés microbiologiques de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3
I.3. Répartition écologique et réservoirs de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4
I.4. Morphologie et pigments associés à la virulence de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5
I.4.1. Pyocyanin.....	7
I.4.2. Pyoverdine.....	7
I.5. Structure cellulaire et antigènes de surface de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8
I.6. Facteurs de virulence et mécanismes infectieux de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10
I.6.1. 1. Les facteurs de virulence sécrétés	11
I.6.2. Les facteurs de virulence liés à la surface cellulaire	13
I.6.3. Le biofilm.....	13
I.7. Caractéristique générales de <i>pseudomonas aeruginosa</i>	14
ChapitreII. Le Quorum Sensing	16
II.1. Qu'est ce que le Quorum Sensing ?.....	16
II.2. Le principe du Quorum Sensing	16
II.3. Mécanisme d'action du Quorum Sensing.....	17
II.3.1. Le système <i>las</i>	18
II.3.2. Le système <i>rhl</i>	18

II.3.3. Molécule de signalisation (AHL)	19
II.3.4. Interaction entre le système las et rhl.....	20
II.4. Rôle du Quorum sensing (QS) dans la virulence de <i>pseudomonas aeruginosa</i>	20
II.4.1. Production de facteurs de virulence.....	21
II.4.2. Formation de biofilms.....	21
II.4.3. Résistance aux antibiotiques.....	22
II.4.4. Évasion du système immunitaire	22
II.4.5. Coordination des comportements collectifs.....	22
II.5. Les infections chroniques causées par <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et régulées par le Quorum Sensing (QS).....	22
II.5.1. Infection pulmonaires chroniques chez les patients atteints de mucoviscidose (fibrose kystique)	23
II.5.2. Infection des plaies chroniques.....	24
II.5.3. Infections associées aux dispositifs médicaux.....	24
II.5.4. Infections respiratoires nosocomiales	24
II.5.5. Infections oculaires chroniques	24
II.5.6. Infections urinaires chroniques	25
II.6. Autres systèmes de Quorum Sensing chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i> : les systèmes PQS et IQS	25
II.6.1. Le système PQS	25
II.6.2. Le système IQS	26
II.7. Le Quorum Sensing chez d'autres bactéries pathogènes : cas de <i>Escherichia coli</i> et <i>Vibrio cholerae</i>	27
II.7.1. <i>Escherichia coli</i>	27
II.7.2. <i>Vibrio cholerae</i>	27
II.7.3. Le Quorum Sensing et son interférence avec le microbiote intestinal	28
II.7.4. Le rôle du Quorum Sensing dans les interactions microbiennes intestinales.....	28
II.7.5. Influence du Quorum Sensing sur les pathogènes intestinaux	28

II.7.6. Mécanismes d'interférence (Quorum quenching)	28
II.7.7. Implications thérapeutiques	28
II.8. Méthodes d'étude du Quorum Sensing en laboratoire : biosenseurs, modèles animaux, et autres approches	29
II.8.1. Systèmes biosenseurs.....	29
II.8.2. Modèles animaux.....	29
II.8.3. Techniques analytiques et moléculaires	30
Chapitre III. Le Quorum Quenching et son potentiel thérapeutique chez <i>P.aeruginosa</i>	31
III.1. Problématique.....	31
III.2. Qu'est ce que le Quorum Quenching ?.....	31
III.3. Mécanismes du Quorum Quenching	32
III.3.1. Dégradation des molécules signal (auto-inducers).....	32
III.3.2. Inhibition des récepteurs de Quorum Sensing.....	33
III.3.3. Inhibition de la synthèse des auto-inducers.....	34
III.3.4. Perturbation et dégradation des biofilms	34
III.3.5. Modulation de l'expression génétique.....	34
III.4. Applications du Quorum Quenching contre <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	34
III.4.1. Inhibition de la formation de biofilms.....	35
III.4.2. Réduction de la virulence	35
III.4.3. Synergie avec les antibiotiques	35
III.5. Le Quorum Quenching dans d'autres espèces bactériennes	35
III.5.1. Le Quorum Quenching dans <i>Escherichia coli</i>	35
III.5.2. Le Quorum Quenching dans <i>Vibrio harveyi</i>	36
III.6. Méthodes expérimentales pour évaluer le Quorum Quenching	37
III.6.1. Essais in vitro basés sur des biosenseurs	37
III.6.2. Tests sur les biofilms	37
III.6.3. Évaluation de la production de facteurs de virulence.....	38

III.7. Stratégies thérapeutiques basées sur le Quorum Quenching.....	39
III.7.1. Utilisation de peptides et molécules synthétiques.....	39
III.7.2. Approche par phagothérapie couplée au QQ.....	39
III.7.3. Utilisation de probiotiques produisant des enzymes QQ.....	39
III.7.4. Nanotechnologies pour la délivrance ciblée d'inhibiteurs QS.....	40
III.7.5. Revêtements anti-biofilms pour dispositifs médicaux.....	40
III.8. Avantages du Quorum Quenching par rapport aux approches antimicrobiennes classiques.....	40
III.8.1. Réduction du risque de résistance aux antibiotiques.....	40
III.8.2. Ciblage spécifique des mécanismes de virulence.....	40
III.8.3. Efficacité contre les biofilms.....	41
III.8.4. Applications thérapeutiques et industrielles.....	41
III.9. Applications cliniques et industrielles du Quorum Quenching (QQ).....	41
III.9.1. Traitement des infections respiratoires chroniques (mucoviscidose).....	41
III.9.2. Traitement des infections cutanées (brûlures, ulcères).....	42
III.9.3. Applications dans l'agroalimentaire (conservation, sécurité alimentaire).....	42
III.9.4. Applications environnementales (bioremédiation, traitement des eaux).....	42
III.10. Limites, enjeux réglementaires et perspectives.....	42
III.10.1. Défis pharmacocinétiques et pharmacodynamiques.....	43
III.10.2. Brevets et développement industriel.....	43
III.10.3. Réglementation et essais cliniques.....	43
III.10.4. Perspectives de recherche et thérapies combinées (QS inhibitors + antibiotiques)	
.....	43
ChapitreIV. Discussion.....	45
IV.1. Présentation de quelques études anciennes.....	45
IV.2. Présentation de quelques études récentes majeures.....	45
IV.3. Analyse croisée et discussion.....	46
IV.3.1. Une efficacité démontrée in vitro et in vivo, mais contextuelle.....	46

IV.3.2. Une variabilité d'efficacité liée aux cibles moléculaires	46
IV.3.3. Des effets synergiques avec les antibiotiques classiques	47
IV.3.4. Un positionnement thérapeutique encore limité par des défis pratiques.....	47
IV.3.5. Une approche thérapeutique complémentaire, non exclusive.....	47
IV.4. Position du Quorum Quenching parmi les autres alternatives aux antibiotiques.....	48
conclusion.....	49
Références bibliographiques	50

ملخص

في ظل الارتفاع المقلق في مقاومة المضادات الحيوية، لا سيما لدى *Pseudomonas aeruginosa*، أصبحت الحاجة إلى إيجاد استراتيجيات علاجية بديلة أمرًا ملحًا. يتناول هذا البحث تقنية كبح التراسل البكتيري (Quorum Quenching - QQ)، وهي مقاربة مبتكرة تهدف إلى تعطيل نظام الإحساس بالنصاب (Quorum Sensing - QS)، وهو نظام اتصال بين البكتيريا يتحكم في إنتاج عوامل الضراوة، وتكوين الأغشية الحيوية، وآليات المقاومة. تعتمد تقنية QQ على استخدام إنزيمات (مثل اللاكتوناز والأسايلاز) أو جزيئات مثبطة قادرة على تحطيم أو تعطيل الإشارات الكيميائية دون قتل البكتيريا مباشرة، مما يقلل من الضغط الانتقائي المؤدي إلى تطور المقاومة. يسلط هذا البحث الضوء على الآليات الجزيئية لتقنية QQ وتطبيقاتها ضد *P. aeruginosa*، خصوصًا في حالات العدوى المزمنة مثل التليف الكيسي، والجروح، والعدوى المرتبطة بالأجهزة الطبية، إضافة إلى دورها كعامل معزز لفعالية المضادات الحيوية. وعلى الرغم من الإمكانيات العلاجية الواعدة، لا تزال هناك تحديات قائمة، مثل استقرار الإنزيمات، الفعالية داخل الجسم الحي، والتصديق السريري. ويقترح هذا العمل بديلًا فعالًا ومستدامًا للمضادات الحيوية التقليدية، عبر استهداف سلوكيات البكتيريا الجماعية بدلًا من قتلها.

Abstract

In light of the alarming rise in antibiotic resistance, particularly in *Pseudomonas aeruginosa*, the search for alternative therapeutic strategies has become a pressing priority. This thesis explores **Quorum Quenching (QQ)**, an innovative approach aimed at disrupting **Quorum Sensing (QS)**—a bacterial communication system that regulates virulence, biofilm formation, and resistance

mechanisms. QQ relies on the use of enzymes (lactonases, acylases) or inhibitory molecules capable of degrading or blocking chemical signals without directly killing the bacteria, thereby reducing the selective pressure that drives resistance. The study highlights the molecular mechanisms of QQ, its applications against *P. aeruginosa*—particularly in chronic infections such as cystic fibrosis, wounds, and medical device-related infections—as well as its advantages as a synergistic agent alongside antibiotics. Despite its promising therapeutic potential, several challenges remain, including enzyme stability, in vivo efficacy, and clinical validation. This work thus proposes a credible and sustainable anti-virulence alternative to conventional antibiotics, targeting bacterial collective behaviors rather than viability.

Résumé

Face à la montée alarmante des résistances aux antibiotiques, notamment chez *Pseudomonas aeruginosa*, la recherche d'approches thérapeutiques alternatives devient une priorité. Ce mémoire explore le **Quorum Quenching (QQ)**, une stratégie innovante qui vise à perturber le **Quorum Sensing (QS)** — un système de communication bactérienne régulant la virulence, la formation de biofilms et la résistance aux traitements. Le QQ repose sur l'utilisation d'enzymes (lactonases, acylases) ou de molécules inhibitrices capables de dégrader ou bloquer les signaux chimiques sans tuer directement les bactéries, limitant ainsi la pression sélective responsable de l'apparition de résistances. L'étude met en lumière les mécanismes moléculaires du QQ, ses applications contre *P. aeruginosa*, notamment dans les infections chroniques (fibrose kystique, plaies, dispositifs médicaux), ainsi que ses avantages comme agent synergique avec les antibiotiques. Malgré un potentiel thérapeutique prometteur, des défis persistent : stabilité enzymatique, efficacité in vivo, et approbation clinique. Ce travail propose ainsi une alternative anti-virulence crédible et durable aux antibiotiques traditionnels, en ciblant les comportements collectifs des bactéries plutôt que leur survie.

Liste des abréviations

AHL : Acyl-Homosérine Lactones

AI-2 : Autoinducteur-2

CAI-1 : *Cholera Autoinducer-1*

C4-HSL : N-Butanoyl Homosérine Lactone

ETA : Exotoxine A

HAI-1 : Homoserine Autoinducer-1

HCN : Cyanure d'Hydrogène

IQS : Integrated Quorum Sensing Signal

LPS : Lipopolysaccharide

LasI : Long-chain Acyl-homoserine lactone Synthase I

LuxS : Enzyme productrice d'AI-2

PBP : Penicillin-Binding Protein

PQS : Pseudomonas Quinolone Signal

QQ : Quorum Quenching

QS : Quorum Sensing

qRT-PCR : Quantitative Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction

RNA-seq : RNA sequencing

Rhl : Rhamnolipid (ou système Rhl de QS)

SdiA : Régulateur de détection du quorum sensing chez Escherichia coli

TCP : Toxin Co-regulated Pilus

T3SS : Type III Secretion System

Liste des figures

Figure I.1. Observation microscopique de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3
Figure I.2. Carte environnementale de distribution de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5
Figure I.3. Morphologie typique de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et structure du flagelle polaire.	6
Figure I.4. Production des pigments pyocyanine et pyoverdine par <i>P. aeruginosa</i> en culture.	7
Figure I.5. Organisation cellulaire typique de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , bactérie à Gram négatif.	9
Figure I.6. Structure des lipopolysaccharides (LPS) de la membrane externe de <i>P. aeruginosa</i>	10
Figure I.7. Représentation globale des principaux facteurs de virulence de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10
Figure I.8. Schéma du mécanisme d'action de l'exotoxine A (ETA).	12
Figure I.9. Facteurs de virulence de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14
Figure I.10. Mécanismes de virulence de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> : interaction avec les cellules épithéliales hôtes.	15
Figure II.1. Mécanisme de régulation génétique par quorum sensing chez les bactéries.	17
Figure II.2. Schéma des systèmes de quorum sensing (Lux) et transporteurs ABC chez <i>P. aeruginosa</i>	17
Figure II.3. Fonctionnement des systèmes de quorum sensing Las et Rhl chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	19
Figure II.4. Structure des AHL et mécanismes enzymatiques de leur dégradation par hydrolyse de l'amide ou de la lactone.	20
Figure II.5. Interaction entre les systèmes de quorum sensing de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> : Las, Rhl, PQS et IQS dans la régulation de la virulence	21
Figure II.6. Pathogénicité de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> : mécanismes de lésion pulmonaire et infections associées.	23
Figure II.7. Rôle multifonctionnel du signal PQS dans le quorum sensing, le stress oxydatif, la modulation immunitaire et l'acquisition du fer chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	26

Figure III.1.Stratégies d'interférence avec le Quorum Sensing bactérien (Quorum Quenching).....	32
Figure III.2.Mécanismes enzymatiques de dégradation des AHL dans le Quorum Quenching.	33
Figure III.3. Schéma récapitulatif des principales méthodes expérimentales utilisées pour évaluer le Quorum Quenching (QQ).....	38

Liste des tableaux

Tableau I.1. Classification de *Pseudomonas aeruginosa*..... 4

Introduction

Introduction

L'une des crises sanitaires les plus urgentes de notre époque est la résistance antimicrobienne, en particulier celle aux antibiotiques. Selon un rapport majeur de la *Review on Antimicrobial Resistance*, dirigé par Jim O'Neill, sans action décisive, les infections dues à des bactéries multirésistantes pourraient entraîner jusqu'à 10 millions de décès par an d'ici 2050, dépassant ainsi le nombre de décès dus au cancer (O'Neill, 2016).

Cette situation est exacerbée par l'usage excessif, souvent inapproprié, des antibiotiques, qui a favorisé l'émergence et la dissémination de souches résistantes à de multiples classes de médicaments. Face à cette menace mondiale, la recherche scientifique explore des stratégies alternatives, capables de traiter les infections bactériennes sans exercer une pression sélective favorisant la résistance. Parmi ces approches innovantes, l'inhibition de la communication bactérienne, connue sous le nom de *Quorum Sensing (QS)*, suscite un intérêt croissant.

Le *Quorum Sensing* est un mécanisme de signalisation intercellulaire qui permet aux bactéries de détecter leur densité de population à l'aide de molécules signal appelées auto-inducteurs. Ce processus régule l'expression coordonnée de nombreux gènes impliqués dans des comportements collectifs tels que la production de facteurs de virulence, la formation de biofilms ou encore la résistance au stress environnemental (Miller & Bassler, 2001). Les biofilms, en particulier, représentent un défi majeur en milieu clinique, car ils offrent aux bactéries une protection accrue contre les antibiotiques et le système immunitaire de l'hôte (Flemming et al., 2016).

En perturbant le Quorum Sensing, il devient possible d'inhiber ces comportements pathogènes sans tuer directement les bactéries. Cette stratégie, qualifiée d'anti-virulence, réduit ainsi la pression sélective à l'origine du développement de résistances (Rutherford & Bassler, 2012).

Parmi les outils étudiés dans cette optique, les enzymes Quorum Quenching telles que les lactonases ou acylases se révèlent prometteuses. Ces enzymes dégradent les auto-inducteurs, empêchant ainsi les bactéries de synchroniser leurs activités pathogènes (Dong et al., 2001 ; Fetzner, 2015). Contrairement aux antibiotiques classiques, elles n'induisent pas directement de mort cellulaire, ce qui limite le risque d'émergence de résistances.

Cependant, plusieurs défis subsistent quant à leur application thérapeutique. Parmi eux figurent leur stabilité in vivo, les modalités de leur administration ciblée, ainsi que les interactions

complexes avec le microbiote et les écosystèmes bactériens (Grandclément et *al.*, 2016 ; Uroz et *al.*, 2009).

Ce travail théorique vise à analyser en profondeur le mécanisme de Quorum Sensing (QS) et à explorer, à partir de données issues de la littérature scientifique, le Quorum Quenching (QQ) comme une stratégie innovante de lutte contre les infections bactériennes. L'objectif est d'examiner comment l'inhibition ciblée des systèmes de communication interbactérienne permettrait de réduire l'expression des facteurs de virulence, notamment chez *Pseudomonas aeruginosa*, sans altérer la viabilité bactérienne. En s'inscrivant dans une approche anti-virulence, complémentaire aux traitements antibiotiques traditionnels, cette stratégie présente un fort potentiel pour limiter l'émergence de résistances antimicrobiennes. Aucun travail expérimental n'est mené dans le cadre de ce mémoire, qui repose exclusivement sur une synthèse critique et actualisée des connaissances disponibles.

Chapitre I : Représentation
de la bactérie *Pseudomonas*
aeruginosa

Chapitre I. Représentation de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa*

I.1. Présentation générale et étymologie de *Pseudomonas aeruginosa*

Le bacille pyocyanique, dont le nom provient de la combinaison du terme grec « pyon » (pus) et du mot latin « cyaneus » (bleu foncé), est désormais désigné sous le nom de *Pseudomonas aeruginosa*. Cette dénomination fait référence à son origine latine : « aes » (bronze, cuivre), « aerugo » (rouille d'airain, vert-de-gris) et « aeruginosus » (couvert de rouille) (Fig. I.1). *Pseudomonas aeruginosa* est l'espèce du genre *Pseudomonas* la plus fréquemment impliquée dans des infections pathologiques. Elle a été identifiée par Gessard en 1882 (Léon et *al.*, 1990).



Figure I.1. Observation microscopique de *Pseudomonas aeruginosa*.

I.2. Classification taxonomique et propriétés microbiologiques de *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie appartenant à la famille des *Pseudomonaceae*. Elle est caractérisée par sa Gram négativité, sa polarité ciliaire (et sa capacité à se déplacer de manière généralement mobile), son caractère strictement aérobique et son métabolisme exclusivement respiratoire. Cette bactérie est incapable de fermenter le glucose. Le tableau I.1 ci-dessous présente la classification de *Pseudomonas aeruginosa* (Bourahla et Haddache, 2015).

Tableau I.1. Classification de *Pseudomonas aeruginosa*.

Règne	<i>Bactéria</i>
Embranchement	<i>Prokaryota</i>
Division	<i>Proteobactéria</i>
Classe	<i>Gammaproteobactéria</i>
Ordre	<i>Pseudomonadales</i>
Famille	<i>pseudomonaceae</i>
Genre	<i>pseudomonas</i>
Espèce	<i>aeruginosa</i>

I.3. Répartition écologique et réservoirs de *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa est un micro-organisme omniprésent, largement distribué dans l'environnement. Il s'agit d'un saprophyte capable de se développer dans le sol et les milieux humides, avec une remarquable aptitude à survivre aussi bien dans l'eau distillée que dans l'eau salée. Il peut également persister à la surface des plantes, représentant ainsi une source potentielle de contamination pour l'homme et les animaux. Une étude a notamment montré que cette bactérie est présente dans le sol agricole et peut coloniser certains végétaux, tels que la laitue et les haricots, en particulier dans des conditions favorables d'humidité et de température (Green *et al.*, 1974). Une large variété de légumes frais présente ainsi une contamination superficielle par des bacilles pyocyaniques d'origine tellurique. Par conséquent, *P. aeruginosa* est fréquemment retrouvée dans le système digestif de 4 à 12 % des individus en bonne santé, ainsi que sur les zones cutanées humides, telles que le périnée et les creux axillaires.

Dans un contexte hospitalier, *Pseudomonas aeruginosa* peut être présent dans l'environnement immédiat des patients. Cette bactérie peut également coloniser la flore transitoire humaine, notamment la flore intestinale, cutanée et pharyngienne. Il a été démontré que la présence de cette bactérie s'intensifie avec l'augmentation de la durée de séjour à l'hôpital (Patrick *et al.*, 1989).



Figure I.2. Carte environnementale de distribution de *Pseudomonas aeruginosa*.

I.4. Morphologie et pigments associés à la virulence de *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie en forme de bacille rigide, non sporulée, droite, aux extrémités arrondies. Elle présente une mobilité active assurée par un flagelle polaire unique, lui permettant de se déplacer en ligne droite avec un léger mouvement de va-et-vient, à condition que la tension partielle en oxygène soit suffisante (Khalilzadeh, 2009 ; Todar, 2008).

À la suite d'une coloration de Gram, cette bactérie apparaît comme un bacille Gram négatif, uniformément coloré ou présentant parfois une apparence bipolaire. Elle mesure entre 0,5 et 1,0 μm de diamètre et de 1,5 à 5,0 μm de longueur (Madigan et *al.*, 2015). Les cellules sont

généralement isolées ou disposées en petits amas ; des formes allongées peuvent être observées dans les cultures anciennes (Greenwood et *al.*, 2007).

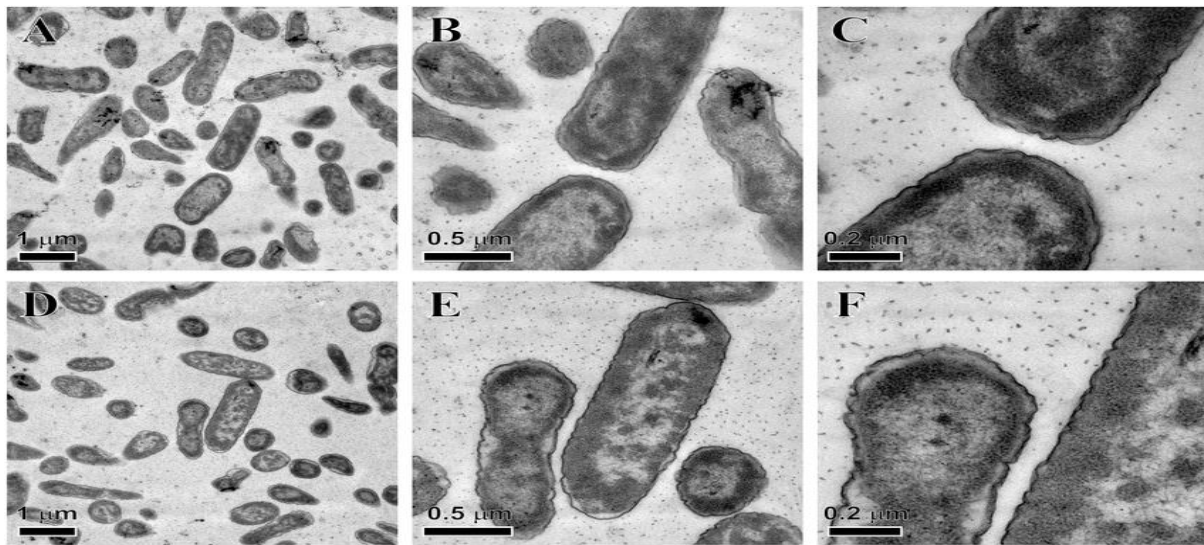


Figure I.3. Morphologie typique de *Pseudomonas aeruginosa* et structure du flagelle polaire.

Pseudomonas aeruginosa est également connue pour sa production de deux principaux pigments : la **pyocyanine**, un pigment bleu-vert aux propriétés redox, impliqué dans sa pathogénicité, et la **pyoverdine**, un pigment fluorescent jaune-vert jouant le rôle de sidérophore, essentiel pour l'acquisition du fer dans des environnements limités en cet élément (Cornelis, 2010 ; Khalilzadeh, 2009).



Figure I.4. Production des pigments pyocyanine et pyoverdine par *P. aeruginosa* en culture.

I.4.1. Pyocyanine

La pyocyanine est un pigment bleu-vert produit par *Pseudomonas aeruginosa*, appartenant à la famille des phénazines. Ce métabolite secondaire joue un rôle clé dans la pathogénicité de la bactérie en interférant avec les mécanismes de défense de l'hôte. Il a été démontré que la pyocyanine supprime la réponse immunitaire des cellules hôtes, en particulier en induisant l'apoptose des neutrophiles, ce qui affaiblit la capacité de l'organisme à contrôler l'infection (Khalilzadeh, 2009 ; Lau et *al.*, 2004).

Des études menées sur des modèles animaux ont confirmé l'implication directe de la pyocyanine dans la virulence de *P. aeruginosa*, en exacerbant les lésions tissulaires et en favorisant la persistance de l'infection (Lau et *al.*, 2004). Sur le plan biochimique, la pyocyanine possède des propriétés redox qui lui permettent d'oxyder le glutathion intracellulaire, d'inhiber l'activité de la catalase des cellules épithéliales bronchiques, et ainsi d'amplifier les dommages induits par le stress oxydatif (Muller, 2002 ; Khalilzadeh, 2009).

I.4.2. Pyoverdine

La pyoverdine est un sidérophore fluorescent de haute affinité produit par *Pseudomonas aeruginosa*, essentiel pour la capture du fer dans des environnements pauvres en cet élément. Ce

composé joue un rôle déterminant dans la virulence bactérienne, non seulement en facilitant l'acquisition du fer, indispensable à la croissance, mais aussi en régulant l'expression de plusieurs facteurs de virulence. Parmi ces derniers figure notamment l'exotoxine A, dont la synthèse est modulée par la disponibilité du fer via des systèmes de signalisation dépendants de la pyoverdine (Khalilzadeh, 2009 ; Cornelis, 2010 ; Meyer *et al.*, 1996).

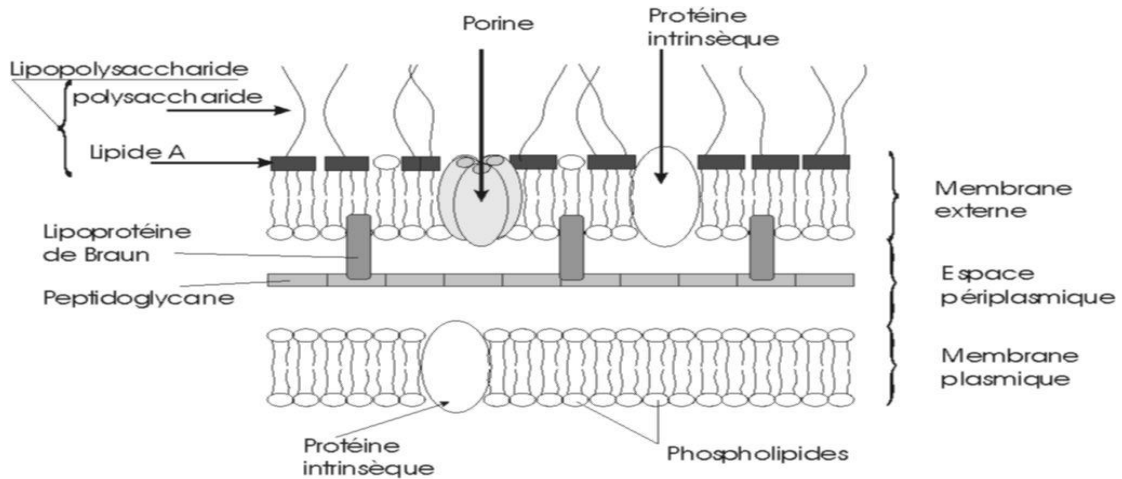
I.5. Structure cellulaire et antigènes de surface de *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa présente une organisation cellulaire caractéristique des bactéries à Gram négatif. Sa structure comprend deux membranes phospholipidiques : une membrane cytoplasmique interne et une membrane externe, séparées par un espace périplasmique. La membrane cytoplasmique abrite de nombreuses enzymes impliquées dans des processus métaboliques essentiels, notamment la respiration cellulaire et la phosphorylation oxydative. Elle contient également les protéines de liaison à la pénicilline (PBP), cibles privilégiées des antibiotiques β -lactamines.

La membrane externe, quant à elle, est composée de phospholipides, de protéines variées et d'un complexe macromoléculaire majeur : le lipopolysaccharide (LPS), élément déterminant dans la virulence et la reconnaissance immunitaire de la bactérie. À la surface de la cellule, on observe des structures de motilité et d'adhésion, telles qu'un flagelle polaire unique et des pili, qui contribuent à la colonisation des surfaces et à l'adhésion aux cellules hôtes.

P. aeruginosa exprime également plusieurs types d'antigènes de surface :

- **L'antigène O**, ou antigène somatique, qui permet la différenciation de plus de vingt sérotypes.
- **L'antigène H**, ou antigène flagellaire, correspondant à la sous-unité protéique externe des flagelles, avec au moins 55 variantes antigéniques identifiées.
- D'autres structures antigéniques incluent les pili, les porines et l'exotoxine A, éléments cruciaux dans les mécanismes d'infection (Bourahla & Haddache, 2015).



Paroi d'une bactérie Gram négatif.

R. Moreda Lycée Lacroix Nabonne

Figure I.5. Organisation cellulaire typique de *Pseudomonas aeruginosa*, bactérie à Gram négatif.

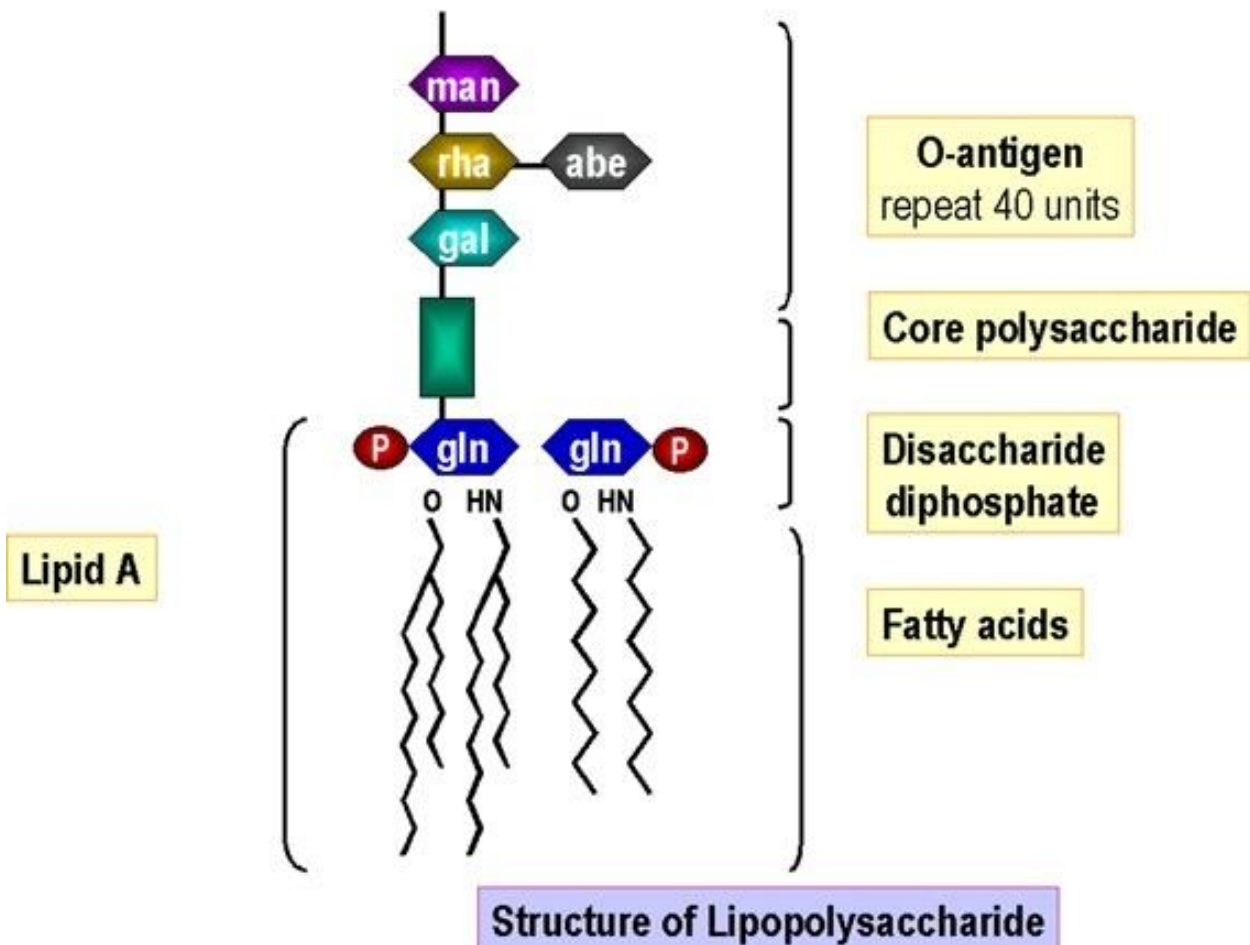


Figure I.6. Structure des lipopolysaccharides (LPS) de la membrane externe de *P. aeruginosa*.

I.6. Facteurs de virulence et mécanismes infectieux de *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa dispose d'un large éventail de facteurs de virulence (Fig. I.7) qui lui confèrent une remarquable capacité d'adaptation à des environnements variés, ainsi qu'une aptitude à coloniser de multiples hôtes. Ces déterminants de virulence sont mobilisés à différentes étapes du processus infectieux, contribuant à la persistance et à la sévérité des infections causées par cette bactérie opportuniste.

On distingue généralement deux grandes catégories de facteurs de virulence. La première regroupe les éléments sécrétés, notamment les toxines, telles que l'exotoxine A, et diverses enzymes protéolytiques (comme les protéases, l'élastase ou encore les phospholipases), qui altèrent les tissus de l'hôte et perturbent les réponses immunitaires. La seconde catégorie concerne les structures associées à la surface cellulaire, telles que le flagelle polaire et les pili, qui jouent un rôle fondamental dans l'adhésion aux cellules épithéliales, la colonisation initiale, ainsi que dans la motilité bactérienne (Bourahla & Haddache, 2015).

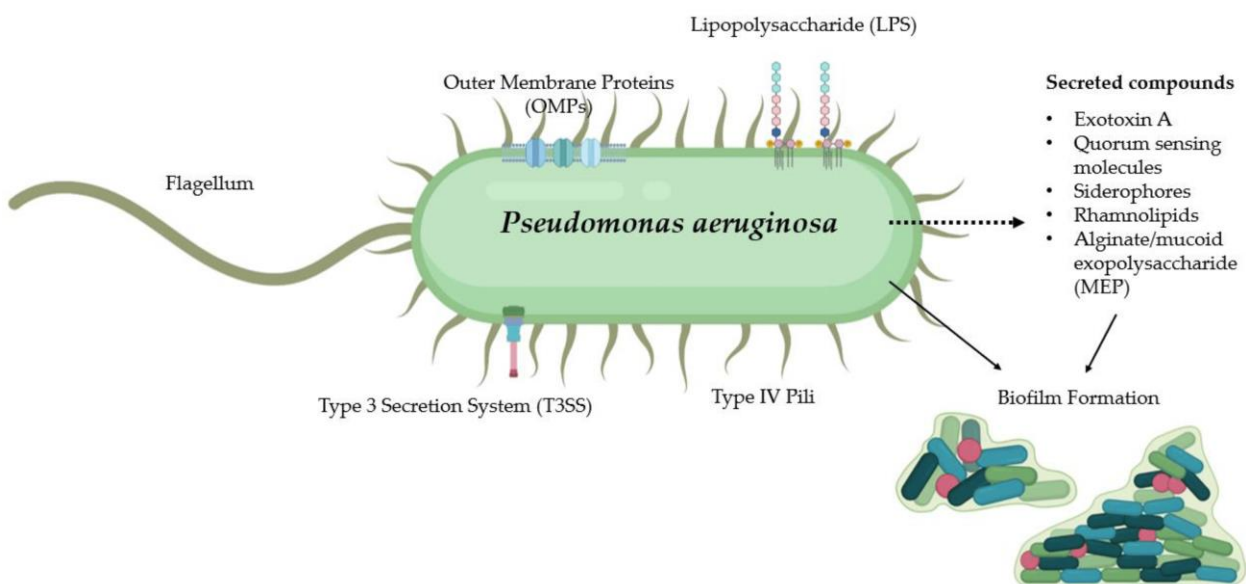


Figure I.7. Représentation globale des principaux facteurs de virulence de *Pseudomonas aeruginosa*.

I.6.1. Les facteurs de virulence sécrétés

I.6.1.1. L'exotoxine A

L'exotoxine A (ETA) est reconnue comme l'un des principaux facteurs de virulence de *Pseudomonas aeruginosa*. Elle exerce son effet toxique en inhibant la synthèse protéique au sein des cellules eucaryotes, par l'inactivation du facteur d'élongation EF-2 via un processus d'ADP-ribosylation. Cette inhibition conduit à la mort cellulaire, contribuant de manière significative à la nécrose tissulaire caractéristique des infections sévères, telles que les brûlures surinfectées et les pneumopathies aiguës (Hauser, 2011).

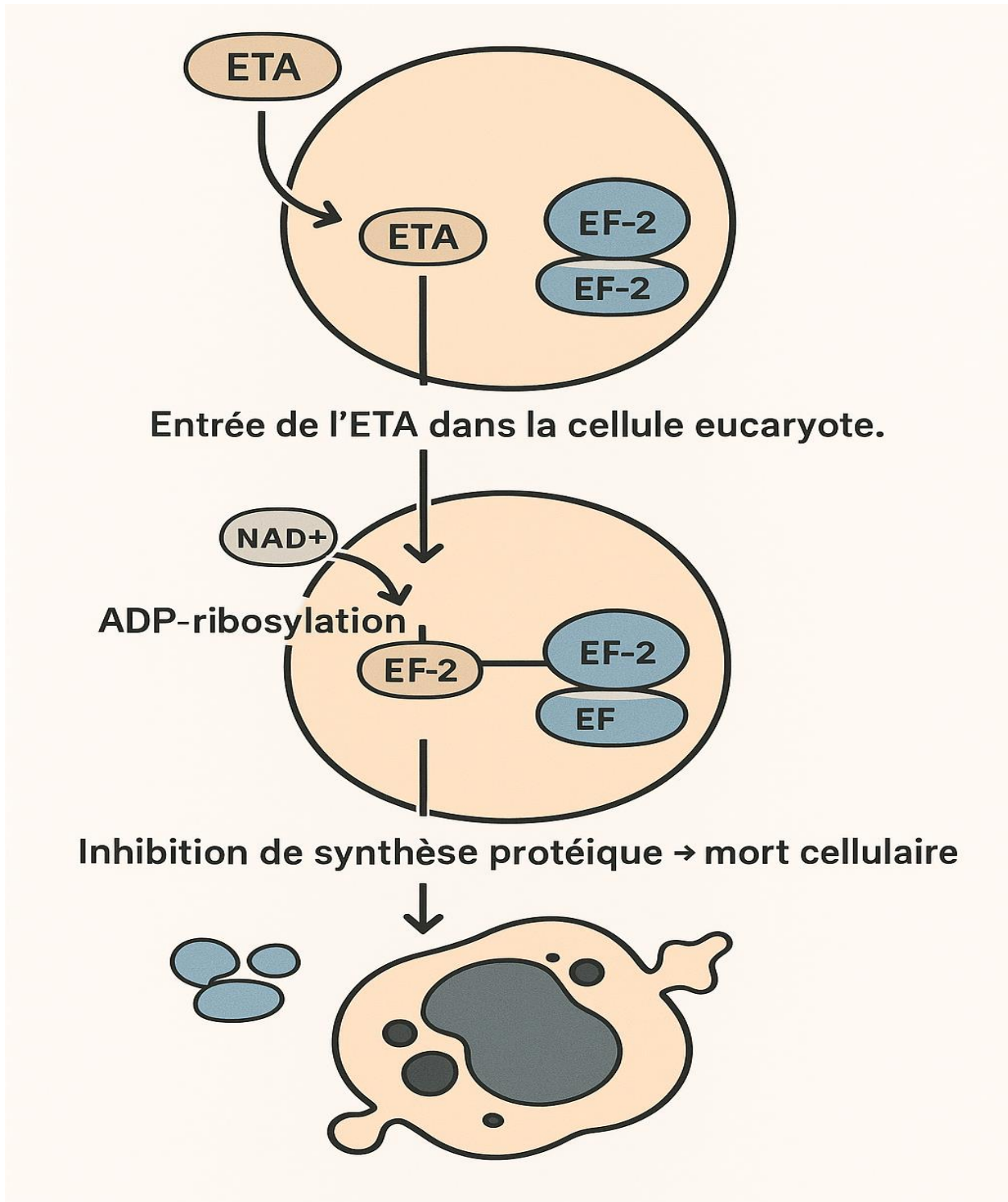


Figure I.8. Schéma du mécanisme d'action de l'exotoxine A (ETA).

I.6.1.2. Les protéases et enzymes extracellulaires

Pseudomonas aeruginosa sécrète un ensemble d'enzymes à fort pouvoir destructeur, contribuant à sa virulence. Parmi celles-ci figurent :

- L'élastase (LasB), capable de dégrader l'élastine, les immunoglobulines ainsi que certains composants du complément, facilitant ainsi la dissémination de la bactérie au sein des tissus ;
- La protéase alcaline, qui agit en synergie avec d'autres enzymes pour induire des lésions tissulaires chez l'hôte ;
- Les phospholipases C, intervenant dans la dégradation des membranes cellulaires.

L'action concertée de ces enzymes favorise l'échappement aux défenses immunitaires et facilite l'invasion des tissus (Lyczak *et al.*, 2000).

I.6.2. Les facteurs de virulence liés à la surface cellulaire

I.6.2.1. Le flagelle

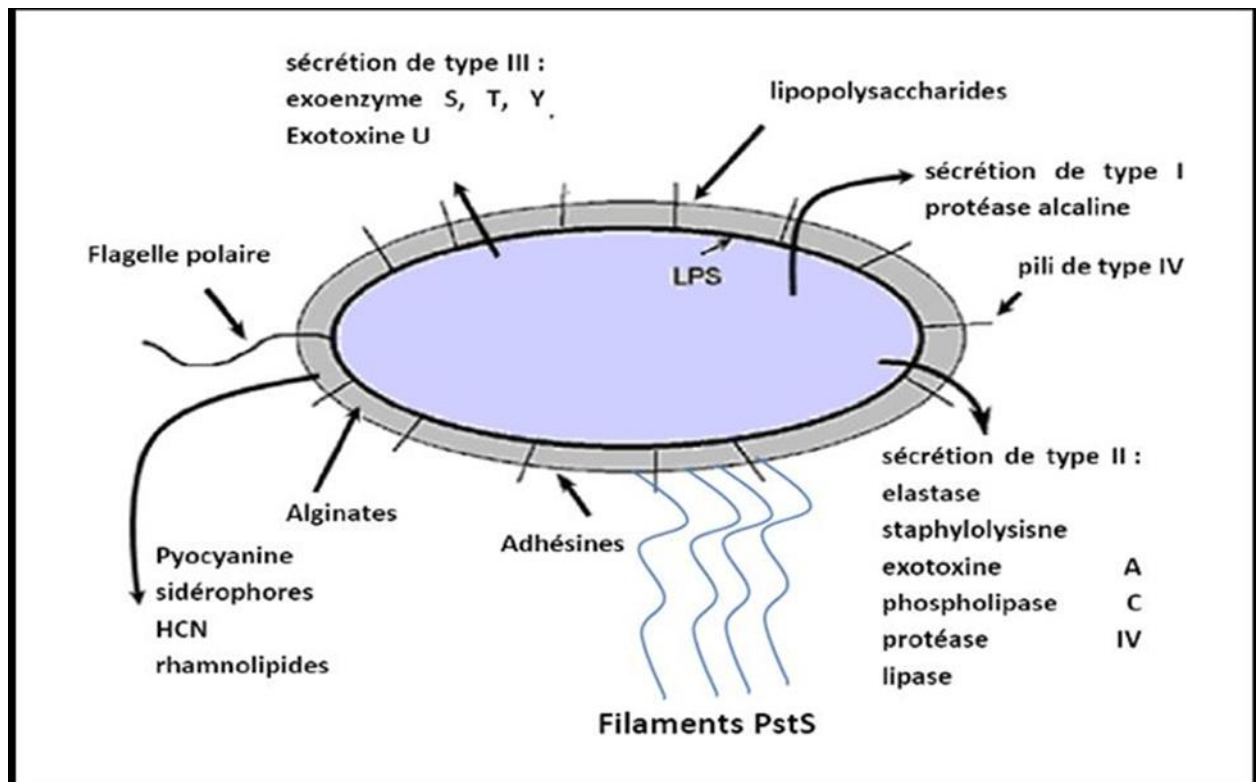
Le flagelle polaire unique de *Pseudomonas aeruginosa* est responsable de sa motilité dans les milieux liquides. Il joue également un rôle crucial dans la colonisation précoce des surfaces et dans l'activation des réponses immunitaires de l'hôte, notamment par la reconnaissance via les récepteurs de type Toll (TLR5) (Bever *et al.*, 2020).

I.6.2.2. Les pili de type IV

Les pili jouent un rôle essentiel dans l'adhésion aux cellules hôtes et dans la motilité de type « twitching ». Ils sont également indispensables à la formation du biofilm, un mode de croissance communautaire qui confère à la bactérie une résistance renforcée aux antibiotiques et aux défenses immunitaires (O'Toole & Kolter, 1998).

I.6.3. Le biofilm

Pseudomonas aeruginosa possède la capacité de former un biofilm, une structure tridimensionnelle constituée de microcolonies bactériennes encapsulées dans une matrice de polymères extracellulaires. Ce mode de croissance confère à la bactérie une protection contre les agents antimicrobiens et favorise l'établissement d'infections chroniques, en particulier au niveau des dispositifs médicaux (cathéters, sondes) ou chez les patients souffrant de mucoviscidose (Costerton *et al.*, 1999).

Figure I.9. Facteurs de virulence de *Pseudomonas aeruginosa*.

I.7. Caractéristique générales de *pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa est identifiée comme un agent pathogène opportuniste, entraînant des infections principalement chez les personnes dont le système immunitaire est affaibli ou qui souffrent de maladies sous-jacentes, comme la mucoviscidose, les brûlures sévères ou les cancers (Lister et al., 2009). *P. aeruginosa* se distingue particulièrement par sa capacité à résister à de nombreux antibiotiques. Cette résistance s'explique par divers processus, y compris la production de β -lactamases, l'activité des pompes à efflux et la création de biofilms, qui servent de bouclier aux bactéries contre les substances antimicrobiennes et le système immunitaire de l'hôte (Pang et al., 2019). Les biofilms, qui sont des structures sophistiquées formées de bactéries encapsulées dans une matrice extracellulaire, ont un rôle central dans la durabilité des infections chroniques et la résistance aux traitements (Costerton et al., 1999).

De plus, *P. aeruginosa* dispose d'une vaste gamme de facteurs de virulence, comme les exotoxines, les protéases et les systèmes de sécrétion de type III, qui lui confèrent la capacité à envahir les tissus hôtes et à causer des lésions cellulaires (Moradali et al., 2017). Elle est également capable de coordonner des comportements collectifs tels que la production de facteurs de virulence et la création de biofilms, grâce à sa compétence en communication par le quorum sensing, ce qui rend les infections particulièrement ardues à soigner (Rutherford & Bassler, 2012).

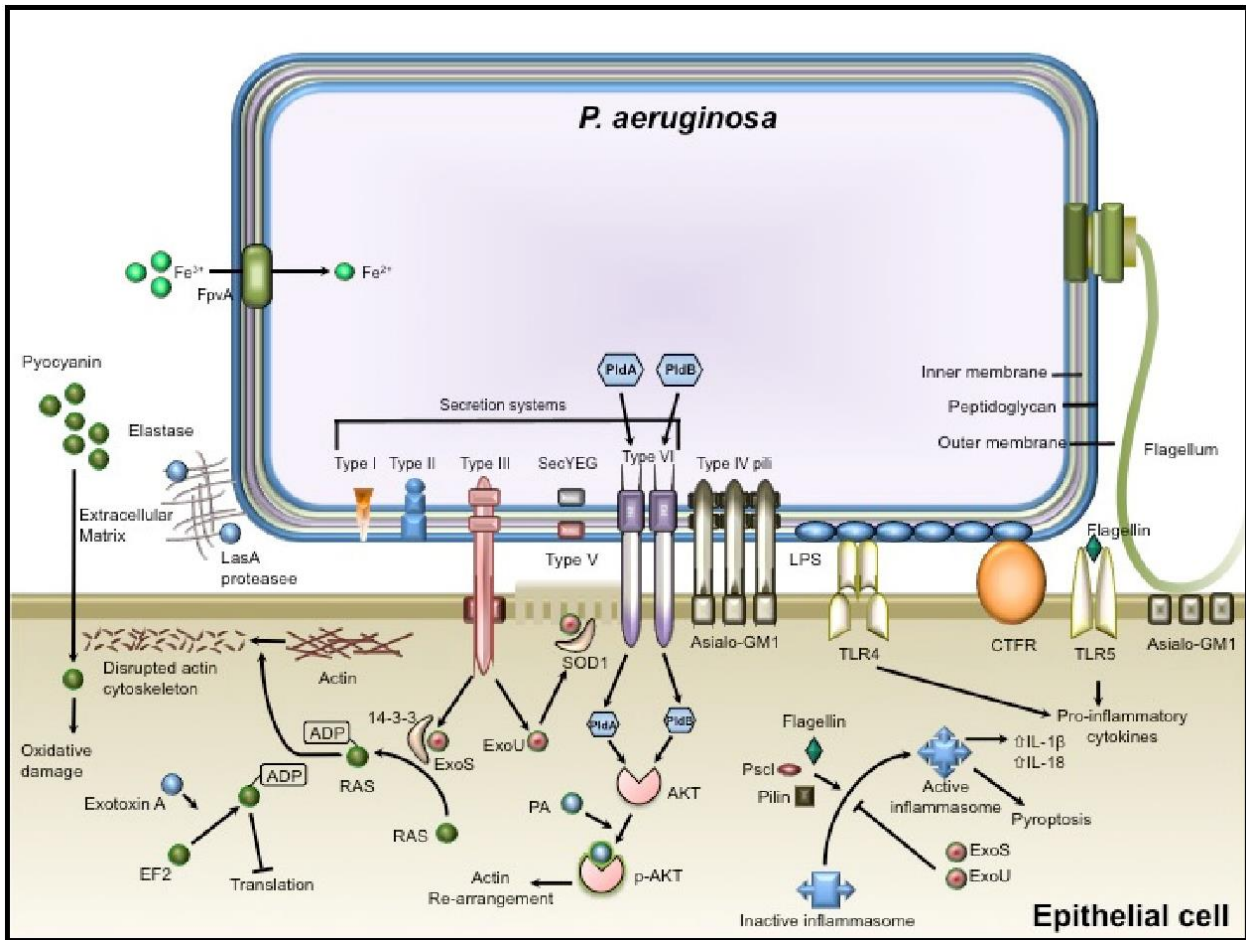


Figure I.10. Mécanismes de virulence de *Pseudomonas aeruginosa* : interaction avec les cellules épithéliales hôtes.

Chapitre II : Le Quorum Sensing

Chapitre II. Le Quorum Sensing

II.1. Qu'est ce que le Quorum Sensing ?

Le *Quorum Sensing* est un mécanisme sophistiqué de communication intercellulaire utilisé par les bactéries afin de moduler l'expression de certains gènes en fonction de la densité cellulaire de la population bactérienne. Ce processus repose sur la production, la libération et la détection de molécules signal appelées *auto-inducteurs*. Lorsque ces signaux atteignent un seuil critique, ils déclenchent une réponse concertée de la population bactérienne, favorisant ainsi des comportements collectifs tels que la formation de biofilms, la sécrétion de facteurs de virulence, ou encore la bioluminescence (Miller & Bassler, 2001).

II.2. Le principe du Quorum Sensing

Le mécanisme de *quorum sensing* repose sur une série d'étapes biochimiques coordonnées permettant aux bactéries d'adapter collectivement leur comportement. Dans un premier temps, les cellules bactériennes synthétisent et libèrent dans leur environnement des molécules de signalisation spécifiques, appelées *auto-inducteurs*. Lorsque la concentration de ces molécules atteint un seuil critique — indicateur d'une densité cellulaire élevée —, elles interagissent avec des récepteurs spécifiques situés soit sur la membrane plasmique, soit dans le cytoplasme des bactéries.

Cette interaction ligand-récepteur initie une cascade de signalisations intracellulaires, conduisant à l'activation ou à la répression de gènes cibles. Ce contrôle transcriptionnel confère aux bactéries la capacité de coordonner des réponses collectives. Parmi ces réponses figurent notamment la formation de biofilms, la production coordonnée de facteurs de virulence, ou encore, chez certaines espèces marines, la bioluminescence (Ng & Bassler, 2009).

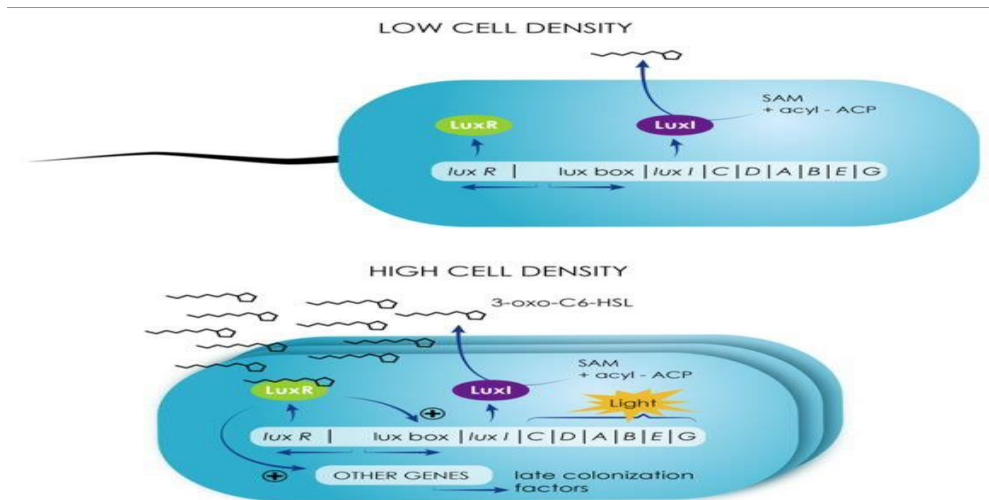


Figure II.1. Mécanisme de régulation génétique par quorum sensing chez les bactéries.

II.3. Mécanisme d'action du Quorum Sensing

Pseudomonas aeruginosa utilise principalement deux systèmes de détection de quorum (quorum sensing, QS) pour coordonner des comportements collectifs essentiels à sa pathogénicité : les systèmes **Las** et **Rhl**. Ces mécanismes reposent sur la production et la détection de molécules de signalisation, les **acyl-homosérine lactones** (AHL), qui permettent à la bactérie de réguler l'expression de gènes en fonction de la densité cellulaire.

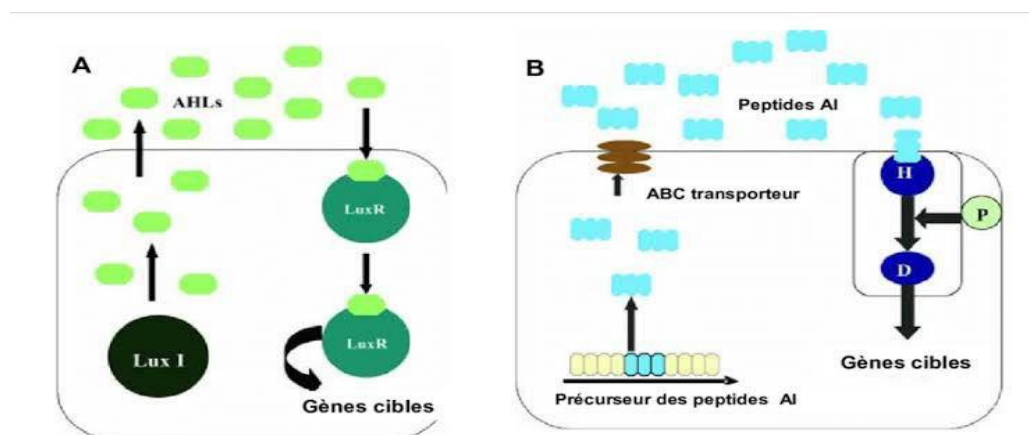


Figure II.2. Schéma des systèmes de quorum sensing (Lux) et transporteurs ABC chez *P. aeruginosa*.

II.3.1. Le système *las*

Le système Las constitue le premier mécanisme de Quorum Sensing identifié chez *P. aeruginosa*. Il comprend deux éléments fondamentaux :

- **LasI**, une enzyme synthétase responsable de la production de la molécule de signalisation **N-3-oxo-dodécanoyl-homosérine lactone (3-oxo-C12-HSL)** ;
- **LasR**, un facteur de transcription qui, après liaison avec la 3-oxo-C12-HSL, forme un complexe activant l'expression de plusieurs gènes de virulence.

Lorsque la concentration de 3-oxo-C12-HSL atteint un seuil critique, elle se fixe à LasR, induisant l'expression de gènes codant notamment pour des exoprotéases telles que l'élastase (LasB), ainsi que d'autres facteurs pathogènes (Passador et *al.*, 1993). Par ailleurs, le système Las régule directement l'expression du système Rhl, établissant une hiérarchie fonctionnelle dans les réseaux de quorum sensing (Latifi et *al.*, 1995).

II.3.2. Le système *rhl*

Fonctionnant selon un principe analogue au système Las, le système Rhl repose sur :

- **RhII**, une enzyme synthétase produisant la molécule **N-butanoyl-homosérine lactone (C4-HSL)** ;
- **RhIR**, un récepteur transcriptionnel qui s'associe à C4-HSL pour activer l'expression de gènes cibles.

Ce système contrôle l'expression de gènes impliqués dans la biosynthèse des **rhamnolipides** (agents tensioactifs favorisant le déplacement bactérien et la formation de biofilms), ainsi que dans la production de **cyanure d'hydrogène** et d'autres facteurs de virulence (Pearson et *al.*, 1997). Il joue un rôle clé dans la **formation des biofilms**, essentiels à la persistance des infections chroniques (Davies et *al.*, 1998).

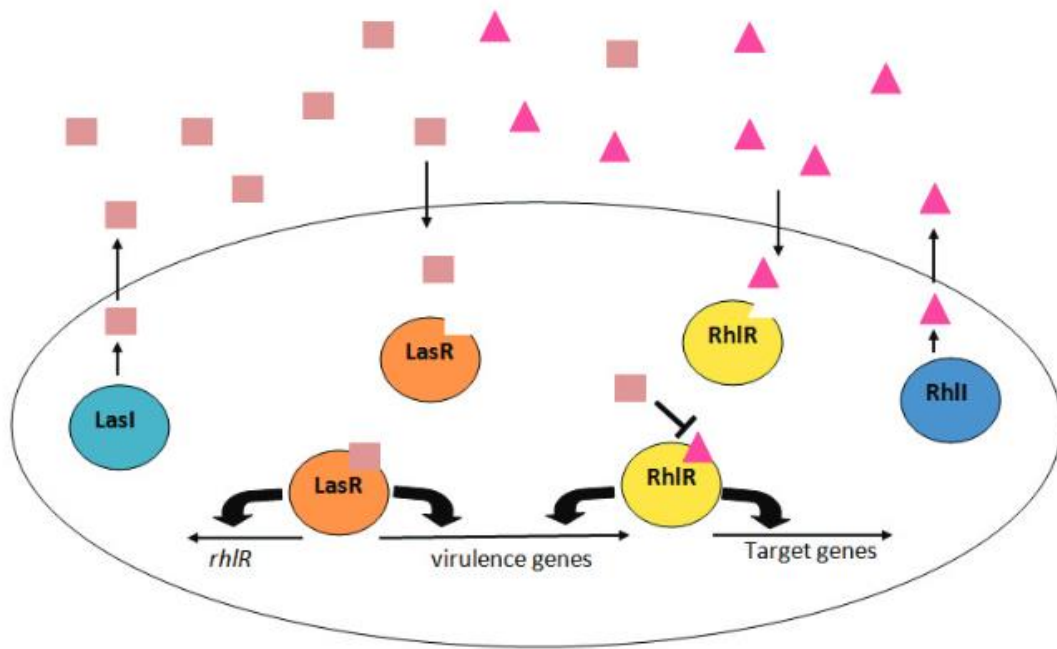


Figure II.3. Fonctionnement des systèmes de quorum sensing Las et Rhl chez *Pseudomonas aeruginosa*.

II.3.3. Molécule de signalisation (AHL)

Les AHL sont des auto-inducteurs essentiels dans le quorum sensing de *P. aeruginosa*. Chimiquement, elles sont constituées d'un noyau homosérine lactone relié à une chaîne acyle dont la longueur varie. Les deux principales AHL de *P. aeruginosa* sont :

- **3-oxo-C12-HSL**, synthétisée par LasI, qui active le système Las et régule les gènes de virulence ;
- **C4-HSL**, produite par RhlI, qui active le système Rhl et module la production de rhamnolipides ainsi que la formation des biofilms.

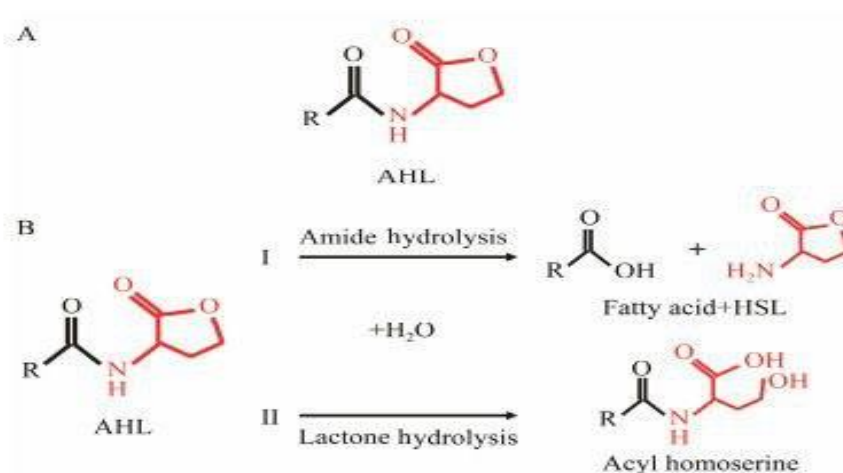


Figure II.4. Structure des AHL et mécanismes enzymatiques de leur dégradation par hydrolyse de l'amide ou de la lactone.

II.3.4. Interaction entre le système las et rhl

Les systèmes las et rhl ne travaillent pas de façon indépendante, mais collaborent pour constituer un réseau complexe de régulation. Pour illustrer, le système las déclenche l'expression de rhlI et rhlR, instaurant ainsi une hiérarchie où las prévaut dans un premier temps avant d'activer rhl (Latifi et *al.*, 1995). Cette orchestration offre à *P. aeruginosa* la capacité de moduler précisément ses actions en fonction des conditions d'environnement et de la densité cellulaire.

II.4. Rôle du Quorum sensing (QS) dans la virulence de *Pseudomonas aeruginosa*

Le Quorum Sensing (QS) est crucial dans la régulation de la virulence de *Pseudomonas aeruginosa*, une bactérie opportuniste à l'origine d'infections sévères chez les patients ayant un système immunitaire affaibli. Le QS offre à la bactérie la possibilité de synchroniser l'expression des gènes de virulence selon la densité cellulaire, améliorant ainsi sa compétence pour coloniser l'hôte et engendrer des lésions tissulaires. Les systèmes las et rhl, en plus des molécules de signalisation qui leur sont liées (AHL), constituent le centre névralgique de ce mécanisme de régulation. Voici une présentation approfondie du rôle du QS dans la virulence de *P. Aeruginosa*.

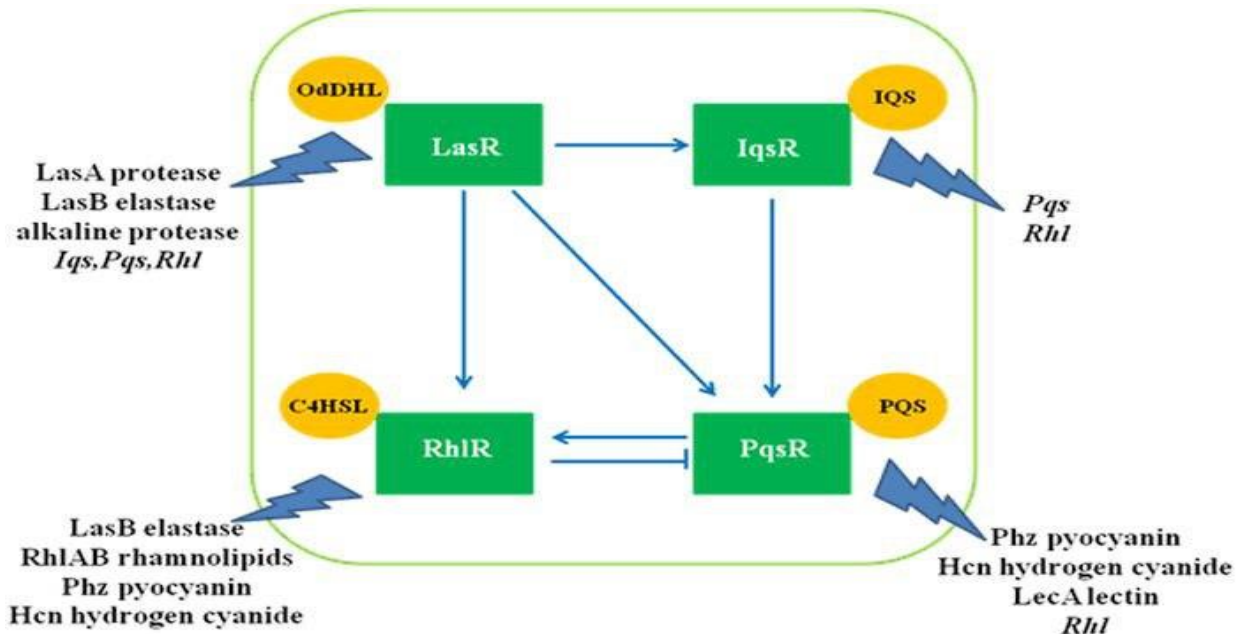


Figure II.5. Interaction entre les systèmes de quorum sensing de *Pseudomonas aeruginosa* : Las, Rhl, PQS et IQS dans la régulation de la virulence .

II.4.1. Production de facteurs de virulence

Le Quorum Sensing contrôle directement la production de plusieurs facteurs de virulence, y compris :

- Exoenzymes protéolytiques : L'élastase LasB, une protéase qui décompose les protéines de la matrice extracellulaire et les éléments du système immunitaire, est activée par le système las, favorisant ainsi l'infiltration des tissus (Passador et *al.*, 1993).
- Toxines : Le système rhl contrôle la production de rhamnolipides, des tensioactifs qui altèrent les membranes cellulaires et facilitent la propagation bactérienne (Pearson et *al.*, 1997).
- HCN (Cyanure d'hydrogène) : Le QS régule aussi la fabrication de HCN, un poison qui entrave la respiration cellulaire de l'hôte et favorise la nécrose des tissus (Pessi & Haas, 2001).

II.4.2. Formation de biofilms

Les biofilms sont des structures à plusieurs cellules enfermées dans une matrice extracellulaire, offrant une protection aux bactéries contre les antibiotiques et les mécanismes du système immunitaire. Le QS est essentiel pour le développement et l'évolution des biofilms :

Le système las déclenche la création du biofilm en contrôlant la production de polysaccharides et d'ADN extracellulaire, qui sont cruciaux pour la composition du biofilm (Davies et *al.*, 1998).

Le système rhl joue un rôle dans le développement du biofilm en générant des rhamnolipides, qui influencent la structure du biofilm et encouragent la propagation des bactéries afin d'envahir de nouveaux endroits (Pamp & Tolker-Nielsen, 2007).

II.4.3. Résistance aux antibiotiques

Le QS a plusieurs façons d'influencer la résistance aux antibiotiques : Les biofilms, qui se forment sous le contrôle du QS, représentent une barrière physique entravant l'infiltration des antibiotiques (Costerton et *al.*, 1999). Le QS stimule l'expression de pompes d'efflux et d'enzymes dégradantes d'antibiotiques, ce qui renforce la résistance intrinsèque de *P. aeruginosa* (Pang et *al.*, 2019).

II.4.4. Évasion du système immunitaire

Le QS offre à *P. aeruginosa* la possibilité d'esquiver les défenses de l'hôte :

- Les exoenzymes protéolytiques, telles que LasB, décomposent les immunoglobulines et les cytokines, diminuant ainsi la réponse immunitaire (Kharazmi, 1991).
- Les rhamnolipides, produits sous supervision du QS, altèrent les membranes des cellules immunitaires conduisant à leur lyse (Jensen et *al.*, 2007).

II.4.5. Coordination des comportements collectifs

Le QS coordonne les actions des bactéries afin d'optimiser leur virulence : Les bactéries, en présence d'une faible densité cellulaire, émettent des facteurs de colonisation afin de s'installer dans l'hôte. En milieu de haute densité cellulaire, le QS stimule l'expression de facteurs virulents et la création de biofilms, ce qui permet à la bactérie d'endurer et de provoquer des détériorations tissulaires (Rutherford & Bassler, 2012).

II.5. Les infections chroniques causées par *Pseudomonas aeruginosa* et régulées par le Quorum Sensing (QS)

Les infections chroniques causées par *Pseudomonas aeruginosa* et régulées par le **quorum sensing (QS)** sont un problème majeur en médecine, en particulier chez les patients immunodéprimés ou atteints de maladies chroniques. Le QS est un système de communication cellulaire qui permet aux bactéries de coordonner leur comportement en fonction de la densité de population. Ce mécanisme joue un rôle clé dans la virulence, la formation de biofilms et la résistance aux antibiotiques, ce qui rend les infections à *P. aeruginosa* particulièrement difficiles

à traiter. Voici un aperçu des principales infections chroniques associées à *P. aeruginosa* et au QS.

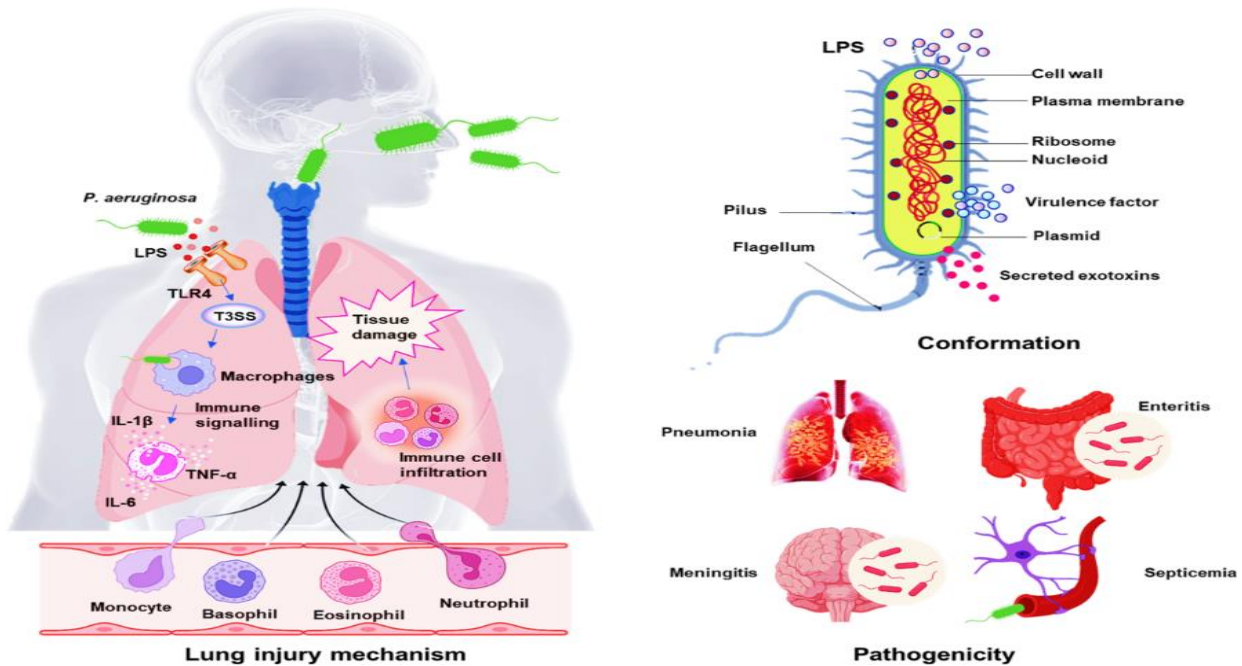


Figure II.6. Pathogénicité de *Pseudomonas aeruginosa* : mécanismes de lésion pulmonaire et infections associées.

II.5.1. Infections pulmonaires chroniques chez les patients atteints de mucoviscidose (fibrose kystique)

Dans les poumons des patients souffrant de mucoviscidose, *Pseudomonas aeruginosa* constitue un agent pathogène de premier plan. Cette bactérie s'installe dans les voies respiratoires et y demeure fréquemment pendant de nombreuses années, entraînant des infections de longue durée et une inflammation graduelle. Le QS régule la formation de biofilms, ce qui protège les bactéries des antibiotiques et de l'immunité. C'est un élément clé dans leur persistance. Les biofilms sont des formations complexes constituées de bactéries emprisonnées dans une matrice extracellulaire, ce qui rend la suppression de l'infection particulièrement ardue. Par ailleurs, le QS régule la génération de facteurs de virulence, comme les toxines et les enzymes protéolytiques, qui nuisent aux tissus des poumons et aggravent la pathologie (Smith et al., 2006).

II.5.2. Infection des plaies chroniques

P. aeruginosa colonise fréquemment les plaies chroniques, comme les ulcères diabétiques ou les brûlures. Cette bactérie exploite le QS pour créer des biofilms sur les tissus lésés, ce qui lui donne la capacité de résister aux thérapies antibiotiques et de persister au sein de la plaie. Les biofilms nuisent au processus de guérison et favorisent un état d'inflammation chronique, susceptible de provoquer des complications sévères, y compris une septicémie. Le QS contrôle aussi la génération de facteurs de virulence, comme les protéases et les toxines, qui nuisent aux tissus adjacents et entravent la régénération cellulaire(Zhao et al .,2013).

II.5.3. Infections associées aux dispositifs médicaux

Les équipements médicaux, comme les cathéters, les prothèses et les valves cardiaques, sont fréquemment sujets à une colonisation par *P. aeruginosa*, ce qui peut provoquer des infections de longue durée. Le QS est déterminant dans la création de biofilms sur ces surfaces, offrant une protection aux bactéries contre les antibiotiques et le système immunitaire. Ces infections suscitent une inquiétude particulière puisqu'elles peuvent conduire à des complications sévères, comme des septicémies ou des insuffisances organiques. La persistance de *P. aeruginosa* sur les équipements médicaux représente un enjeu crucial dans les hôpitaux, ce qui entraîne fréquemment la nécessité d'enlever l'appareil contaminé(Gellatly et al.,2013).

II.5.4. Infections respiratoires nosocomiales

P. aeruginosa est un agent principal des pneumonies acquises à l'hôpital, surtout chez les patients qui sont sous assistance respiratoire. Le QS joue un rôle dans la virulence de la bactérie en contrôlant la fabrication de toxines et d'enzymes responsables des lésions aux tissus pulmonaires. Par ailleurs, l'établissement de biofilms dans les voies respiratoires confère à la bactérie une résistance face aux antibiotiques, lui permettant ainsi de persister au sein des hôpitaux. On associe fréquemment ces infections à une mortalité élevée, surtout chez les patients ayant un système immunitaire affaibli(Bjarnsholt et al.,2010).

II.5.5. Infections oculaires chroniques

P. aeruginosa est susceptible de causer des kératites chroniques, notamment chez les individus qui portent des lentilles cornéennes. Le QS joue un rôle dans la formation de biofilms sur la surface des yeux, ce qui complique le traitement des infections. Les facteurs de virulence contrôlés par le QS, comme les protéases et les toxines, causent des dommages aux tissus cornéens et peuvent provoquer une déficience visuelle si l'infection n'est pas maîtrisée(Zegans et al.,2005).

II.5.6. Infections urinaires chroniques

P. aeruginosa peut entraîner des infections urinaires à répétition chez les patients munis de cathéters urinaires. Le QS contrôle la création de biofilms sur les surfaces des cathéters, ce qui permet à la bactérie de résister aux antibiotiques et de persister dans les voies urinaires. Ces maladies sont fréquemment ardues à soigner et peuvent donner lieu à des complications sévères, comme des pyélonéphrites ou des septicémies (Warren et al., 2001).

II.6. Autres systèmes de Quorum Sensing chez *Pseudomonas aeruginosa* : les systèmes PQS et IQS

En plus des systèmes classiques **Las** et **Rhl**, *Pseudomonas aeruginosa* dispose de voies alternatives de régulation par quorum sensing, parmi lesquelles les systèmes **Pseudomonas Quinolone Signal (PQS)** et **Integrated Quorum Sensing Signal (IQS)**. Ces circuits additionnels jouent un rôle déterminant dans la régulation de la virulence, l'adaptation aux conditions environnementales hostiles ainsi que dans l'orchestration de la communication intercellulaire.

II.6.1. Le système PQS

Le système PQS repose sur la biosynthèse de molécules signal de type quinolone, dont la principale est la **2-heptyl-3-hydroxy-4(1H)-quinolone**, communément appelée PQS. La synthèse de cette molécule est assurée par l'opéron **pqsABCDE**, en association avec les gènes **phnAB** et **pqsH**. Le facteur de transcription central de ce système est **PqsR** (également désigné MvfR), qui, après liaison à la molécule PQS, induit l'expression de nombreux gènes codant pour des facteurs de virulence, la formation du biofilm, ainsi que la production de métabolites secondaires (Diggle et al., 2006 ; Lee & Zhang, 2015).

Le système PQS agit en étroite coordination avec les systèmes **Las** et **Rhl**. En effet, le système Las active l'expression des gènes **pqsR** et **pqsH**, tandis que le système Rhl exerce un effet inhibiteur sur la biosynthèse de PQS durant les phases tardives de la croissance bactérienne (Déziel et al., 2004). Par ailleurs, ce système contribue à la synthèse de **pyocyanine**, un pigment aux propriétés toxiques pour les cellules hôtes, et participe à l'induction du stress oxydatif, renforçant ainsi les capacités pathogènes de la bactérie (Häussler & Becker, 2008).

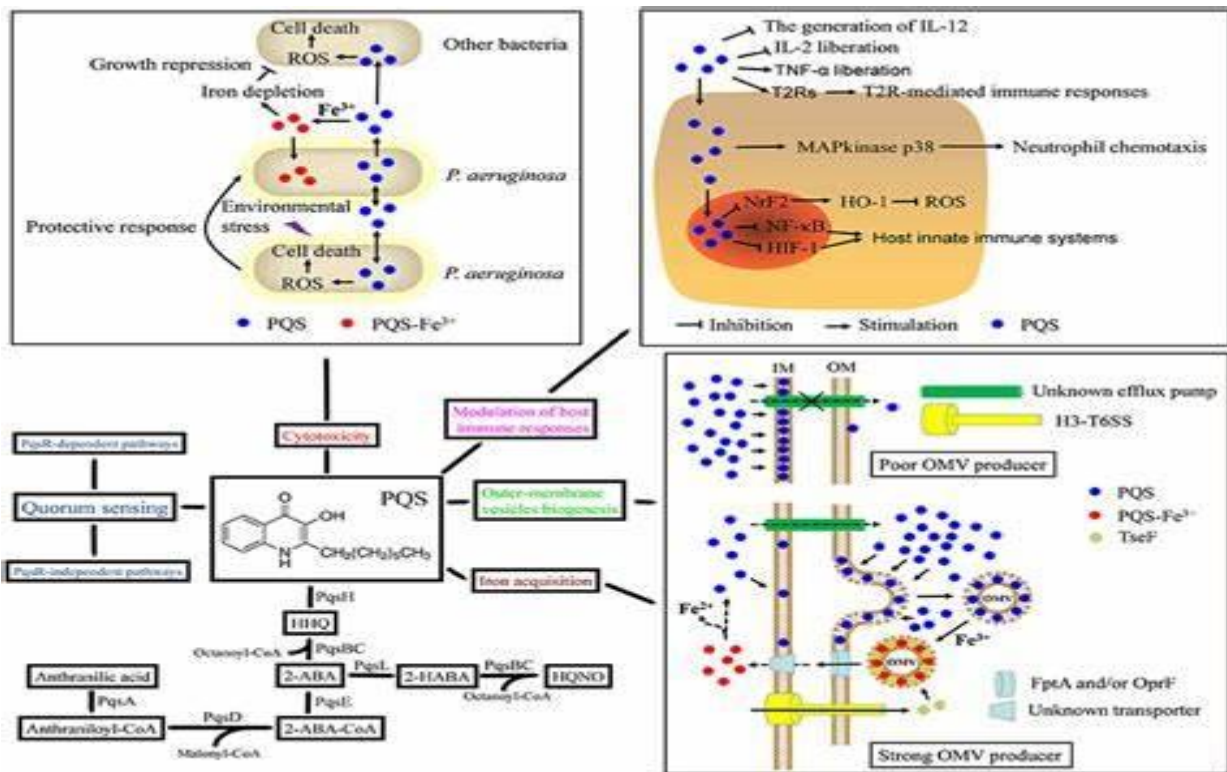


Figure II.7. Rôle multifonctionnel du signal PQS dans le quorum sensing, le stress oxydatif, la modulation immunitaire et l'acquisition du fer chez *Pseudomonas aeruginosa*.

II.6.2. Le système IQS

Plus récemment identifié, le système **IQS** (Integrated Quorum Sensing Signal) constitue un mécanisme adaptatif permettant à *P. aeruginosa* d'ajuster sa réponse de quorum sensing en fonction des stress environnementaux, en particulier les limitations en phosphate. L'IQS est une molécule dérivée de l'**anhydro-3-hydroxyquinoline**, produite via l'activité des gènes **ambBCDE**. Ce système est capable de prendre le relais des systèmes Las, Rhl et PQS lorsqu'ils sont altérés, assurant ainsi une **redondance fonctionnelle** cruciale au maintien de la virulence bactérienne (Lee et al., 2013).

Le système IQS joue un rôle central dans la **résilience métabolique** de la bactérie en conditions défavorables. Il est également impliqué dans l'induction de la production de toxines ainsi que dans la régulation du métabolisme secondaire. Ce système constitue ainsi une interface majeure entre les mécanismes de quorum sensing et les voies de signalisation du stress (Lee et al., 2013 ; Heeb et al., 2011).

II.7. Le Quorum Sensing chez d'autres bactéries pathogènes : cas de *Escherichia coli* et *Vibrio cholerae*

Outre *Pseudomonas aeruginosa*, plusieurs bactéries pathogènes utilisent des systèmes de quorum sensing (QS) pour coordonner l'expression de gènes impliqués dans la virulence, l'adaptation environnementale, et la formation de biofilms. Parmi les plus étudiées figurent *Escherichia coli* et *Vibrio cholerae*, deux pathogènes humains majeurs dont les mécanismes de QS diffèrent de ceux observés chez *P. aeruginosa*.

II.7.1. *Escherichia coli*

Chez *E. coli*, le QS repose principalement sur l'utilisation de l'autoinducteur AI-2 (Autoinducer-2), une molécule interspécifique produite par l'enzyme LuxS. Contrairement aux AHLs (N-acyl-homosérine lactones) spécifiques des Gram-négatifs comme *P. aeruginosa*, l'AI-2 est un signal universel reconnu par plusieurs espèces bactériennes (Surette et al., 1999).

Le système de QS de *E. coli* est moins directement impliqué dans la virulence que dans la régulation de processus comme la motilité, la formation de biofilms, et l'expression de gènes de stress. Toutefois, certaines souches pathogènes comme *E.coli* entérohémorragique (EHEC) utilisent aussi un système appelé SdiA, un récepteur d'AHLs produit par d'autres bactéries de l'environnement. Bien que *E. coli* ne produise pas lui-même d'AHLs, il peut détecter ces signaux et adapter son comportement en conséquence (Smith & Ahmer, 2003).

II.7.2. *Vibrio cholerae*

Chez *Vibrio cholerae*, le QS joue un rôle fondamental dans la régulation de la virulence et la dispersion du biofilm. Ce système repose sur deux autoinducteurs principaux : CAI-1 (Cholera Autoinducer-1) et AI-2. Ces signaux sont détectés par des récepteurs membranaires (CqsS pour CAI-1 et LuxPQ pour AI-2), qui transmettent l'information à une cascade de phosphorylation impliquant LuxU et LuxO (Miller et al., 2002).

À faible densité cellulaire, LuxO activé réprime l'expression du régulateur maître HapR, ce qui favorise la production de facteurs de virulence (toxine cholérique, pili TCP) et la formation de biofilm. À l'inverse, lorsque la densité bactérienne est élevée, les autoinducteurs inhibent LuxO, induisant l'expression de HapR, qui supprime les gènes de virulence et favorise la dispersion bactérienne (Zhu et al., 2002).

Ce système permet à *V. cholerae* d'adapter finement son comportement en fonction de la population bactérienne et de l'environnement hôte, optimisant ainsi la colonisation et la transmission.

II.7.3. Le Quorum Sensing et son interférence avec le microbiote intestinal

Le microbiote intestinal humain est un écosystème complexe composé de milliards de micro-organismes interagissant de manière dynamique entre eux et avec l'hôte. Dans ce contexte, le quorum sensing (QS) constitue un mode de communication bactérienne crucial qui module non seulement le comportement des pathogènes, mais aussi les interactions entre espèces commensales et opportunistes. L'interférence avec le QS, appelée **quorum quenching (QQ)**, peut ainsi influencer la stabilité, la composition et la fonction du microbiote intestinal.

II.7.4. Le rôle du Quorum Sensing dans les interactions microbiennes intestinales

Les bactéries intestinales utilisent des molécules de signalisation QS telles que les **acyl-homosérine lactones (AHLs)**, les **autoinducteurs de type AI-2**, et des **petits peptides** pour réguler des fonctions biologiques clés, incluant l'adhésion à la muqueuse intestinale, la formation de biofilms, et la compétition interspécifique (Thompson et al., 2015). Par exemple, AI-2 est une molécule de signal interspécifique synthétisée par de nombreuses bactéries, y compris *Escherichia coli*, et joue un rôle central dans la communication entre les membres du microbiote (Pereira et al., 2013).

II.7.5. Influence du Quorum Sensing sur les pathogènes intestinaux

Certaines bactéries pathogènes entériques, telles que *Salmonella enterica*, *Clostridioides difficile* ou encore *Escherichia coli* entérohémorragique (EHEC), utilisent le QS pour coordonner l'expression de leurs facteurs de virulence en réponse aux signaux microbiens ou de l'hôte. L'AI-3, une molécule produite par des membres du microbiote, peut par exemple activer chez EHEC les gènes de virulence via le système QseC/QseB, imitant les catécholamines humaines comme l'adrénaline et la noradrénaline (Hughes et Sperandio, 2008).

II.7.6. Mécanismes d'interférence (Quorum quenching)

L'interférence avec le QS par des membres du microbiote, via la dégradation ou l'inactivation des autoinducteurs, constitue un mécanisme de régulation de la compétition bactérienne. Certaines bactéries commensales, comme *Bacteroides thetaiotaomicron*, sont capables de produire des enzymes telles que les lactonases et acylases qui dégradent les AHLs, réduisant ainsi l'expression des facteurs de virulence de pathogènes comme *Pseudomonas aeruginosa* (Thompson et al., 2015 ; Kumar et al., 2020).

II.7.7. Implications thérapeutiques

Comprendre les interactions entre QS et microbiote intestinal ouvre de nouvelles perspectives thérapeutiques. La modulation du QS à travers le **Quorum Quenching** ou via des **prébiotiques**

ciblés pourrait permettre de renforcer les défenses naturelles de l'hôte, prévenir l'implantation de pathogènes, et restaurer l'équilibre du microbiote intestinal (Piewngam et *al.*, 2018).

II.8. Méthodes d'étude du Quorum Sensing en laboratoire : biosenseurs, modèles animaux, et autres approches

La compréhension des mécanismes de quorum sensing (QS) chez *Pseudomonas aeruginosa* a considérablement progressé grâce au développement de méthodes expérimentales spécifiques. Ces outils permettent de détecter, quantifier et perturber les signaux QS, ainsi que d'en étudier les effets physiopathologiques dans des contextes *in vitro* et *in vivo*. Les principales approches utilisées en laboratoire incluent les **biosenseurs génétiques**, les **modèles animaux d'infection**, ainsi que des **techniques analytiques** de détection des autoinducteurs.

II.8.1. Systèmes biosenseurs

Les biosenseurs sont des souches bactériennes modifiées génétiquement pour répondre à des signaux QS spécifiques. Ils sont souvent conçus pour produire un signal mesurable (fluorescence, luminescence, ou coloration enzymatique) en présence d'une molécule autoinductrice. Par exemple, la souche *Agrobacterium tumefaciens* NT1 (pZLR4), contenant un gène rapporteur **lacZ** sous le contrôle d'un promoteur activé par les AHLs (acyl-homosérine lactones), permet de détecter les AHLs produits par *P. aeruginosa* (Cha et *al.*, 1998).

Des biosenseurs dérivés de *Escherichia coli* ou *Chromobacterium violaceum* sont également couramment utilisés pour détecter des signaux de type AHL ou PQS, avec une grande sensibilité et spécificité (McClellan et *al.*, 1997 ; Winson et *al.*, 1998). Ces systèmes permettent non seulement de détecter la présence de signaux, mais aussi d'en évaluer la concentration, facilitant ainsi les études de régulation temporelle ou environnementale du QS.

II.8.2. Modèles animaux

Les modèles animaux constituent une étape essentielle pour valider les données obtenues *in vitro* et explorer le rôle du QS dans la pathogénie en conditions physiologiques. Le modèle **murin** (souris) est le plus utilisé pour étudier les infections aiguës et chroniques à *P. aeruginosa*, notamment dans le cadre de la fibrose kystique (Rumbaugh et *al.*, 1999). D'autres modèles, comme la **larve de *Galleria mellonella*** ou le **nématode *Caenorhabditis elegans***, offrent des systèmes simples, économiques et éthiquement acceptables pour étudier la virulence QS-dépendante (Gallagher et *al.*, 2002 ; Tan et *al.*, 1999).

Ces modèles ont permis de démontrer que l'inhibition du QS diminue significativement la virulence de *P. aeruginosa*, soutenant ainsi le développement de stratégies thérapeutiques ciblant ce système de communication (Rumbaugh et *al.*, 1999).

II.8.3. Techniques analytiques et moléculaires

Les techniques de **chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS)** ou à la **spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS)** sont utilisées pour identifier et quantifier les autoinducteurs produits par les bactéries (Ortori et *al.*, 2011). Ces approches permettent une analyse fine des profils de signalisation QS selon les conditions de culture.

Parallèlement, l'utilisation de techniques de **qRT-PCR** permet d'évaluer l'expression des gènes QS-régulés, tandis que le **RNA-seq** offre une vision globale de la régulation transcriptionnelle sous l'influence du QS (Schuster et *al.*, 2003).

**Chapitre III : Le Quorum
Quenching et son potentiel
thérapeutique chez
*P.aeruginosa***

Chapitre III. Le Quorum Quenching et son potentiel thérapeutique chez *P.aeruginosa*

III.1. Problématique

Le **Quorum Sensing (QS)**, également appelé **communication bactérienne**, est un mécanisme par lequel les bactéries coordonnent l'expression de gènes en fonction de leur **densité cellulaire**, grâce à la production et la détection de molécules signal, appelées **auto-inducteurs**. Ce système régule un ensemble de comportements collectifs essentiels, tels que la formation de **biofilms**, la **production de toxines**, l'**expression des facteurs de virulence**, ainsi que la **résistance aux antibiotiques** (Miller & Bassler, 2001).

Ces processus jouent un rôle déterminant dans de nombreux contextes cliniques et environnementaux : infections chroniques et résistantes en santé humaine, pathologies végétales en agriculture, ou encore bio-encrassement de surfaces dans l'industrie agroalimentaire ou pharmaceutique (Rutherford & Bassler, 2012). En parallèle, l'usage excessif ou inapproprié d'antibiotiques a accéléré l'émergence de **souches bactériennes multirésistantes**, posant un défi sanitaire mondial majeur (O'Neill, 2016).

Dans ce contexte, il devient indispensable d'explorer des **stratégies alternatives aux antibiotiques**, capables de **neutraliser la virulence bactérienne sans exercer de pression sélective létale**. Le **Quorum Quenching (QQ)**, qui consiste à perturber la communication bactérienne sans affecter directement la croissance microbienne, apparaît comme une piste prometteuse pour **freiner la propagation de la résistance antimicrobienne**, tout en maintenant l'efficacité des traitements existants (LaSarre & Federle, 2013).

III.2. Qu'est ce que le Quorum Quenching ?

Le Quorum Quenching se réfère à tous les mécanismes qui cherchent à entraver ou à bloquer le système de communication bactérienne connu sous le nom de Quorum Sensing (QS). Ces systèmes fonctionnent en entravant la production de molécules signaux (telles que les AHL), en décomposant ces molécules ou en empêchant leur liaison avec les récepteurs de régulation. Cette approche cherche à atténuer la virulence des bactéries et est explorée en tant qu'option de remplacement aux antibiotiques, en particulier pour lutter contre des bactéries multirésistantes telles que *Pseudomonas aeruginosa* (Ruimy et al., 2004).

III.3. Mécanismes du Quorum Quenching

Les processus moléculaires du quorum quenching (QQ) ont pour objectif de troubler la communication bactérienne, également appelée quorum sensing (QS), en entravant les signaux chimiques ou les voies de signalisation employées par les bactéries (Dang et al., 2001).

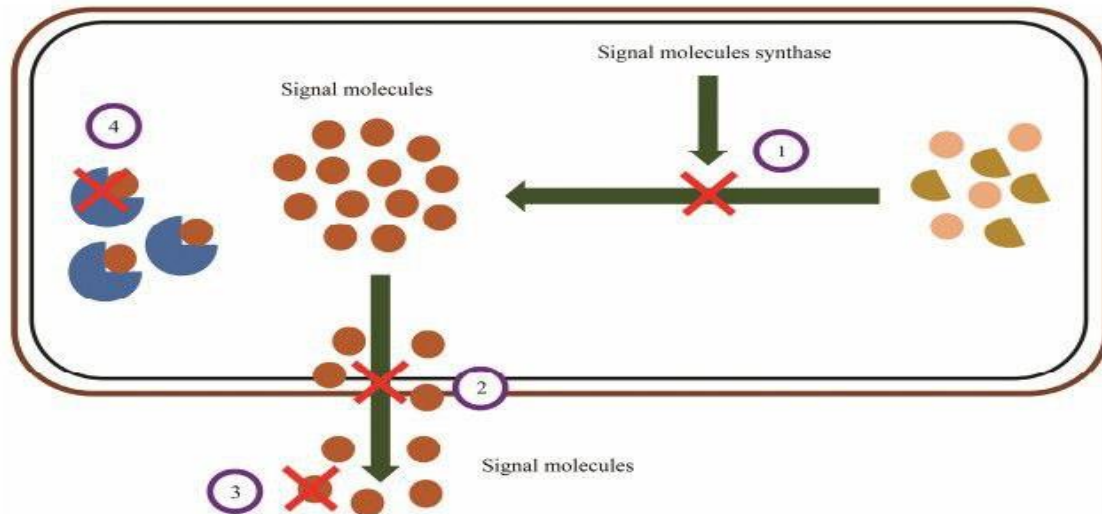


Figure III.1. Stratégies d'interférence avec le Quorum Sensing bactérien (Quorum Quenching).

III.3.1. Dégradation des molécules signal (auto-inducers)

Les bactéries utilisent des molécules de signalisation, appelées **auto-inducteurs**, pour coordonner collectivement des comportements physiologiques via un mécanisme connu sous le nom de quorum sensing. Le quorum quenching (QQ) peut perturber ce processus en **détruisant ou modifiant chimiquement ces signaux**, empêchant ainsi leur reconnaissance par les récepteurs bactériens.

Parmi les principaux acteurs de cette dégradation, on retrouve plusieurs enzymes :

- **Lactonases** : Ces enzymes hydrolysent le cycle lactone des **acyl-homoserine lactones (AHLs)**, qui sont les auto-inducteurs typiques des bactéries Gram-négatives, rendant ainsi les molécules inactives (Dong et al., 2001 ; Fetzner, 2015).
- **Acylases** : Elles clivent la liaison amide entre l'acide gras et l'homoserine lactone des AHLs, ce qui empêche toute activité biologique.

- **Oxydoréductases** : Ces enzymes modifient chimiquement la structure des AHLs, réduisant leur affinité pour leurs récepteurs, et bloquant leur capacité de signalisation (Grandclément et al., 2016).

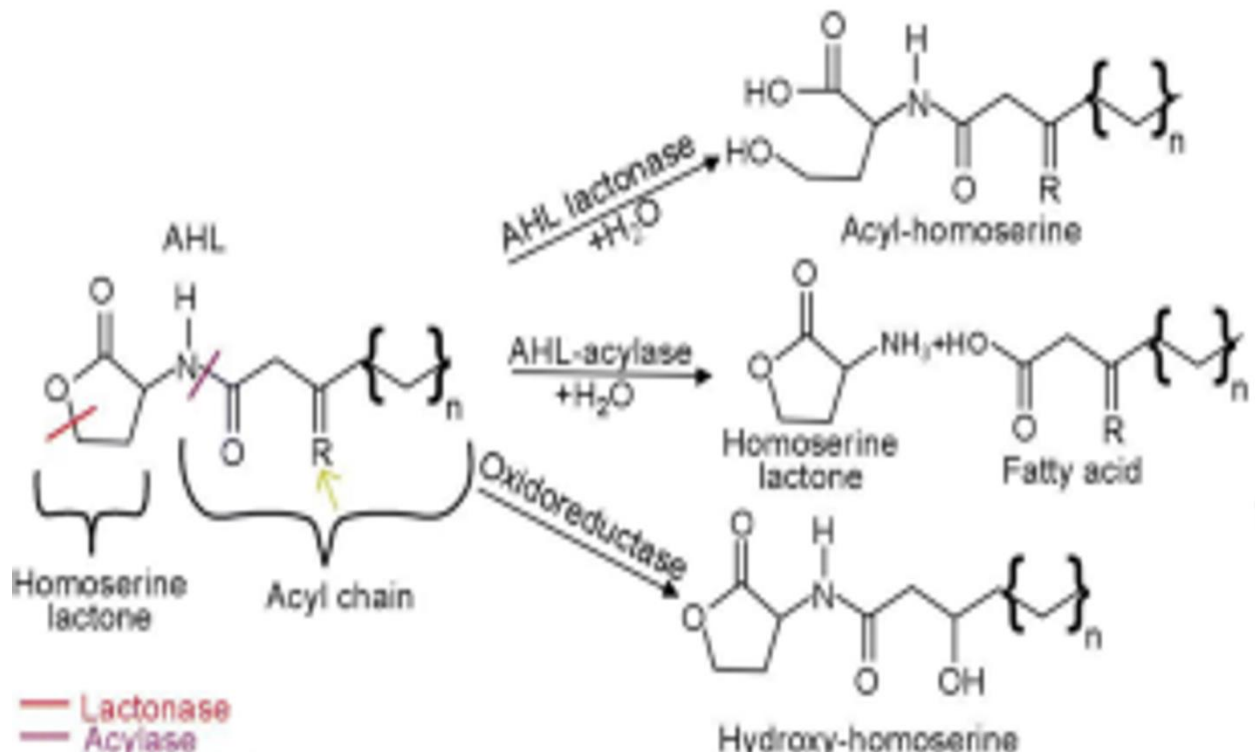


Figure III.2. Mécanismes enzymatiques de dégradation des AHL dans le Quorum Quenching.

III.3.2. Inhibition des récepteurs de Quorum Sensing

Une autre stratégie du QQ consiste à **empêcher la détection des signaux** par les bactéries en **ciblant directement leurs récepteurs** :

- **Antagonistes compétitifs** : Ce sont des molécules analogues aux AHLs, qui se lient aux récepteurs sans les activer, bloquant ainsi l'accès aux auto-inducteurs naturels. Cette approche a été testée avec succès chez plusieurs espèces pathogènes (Rasmussen & Givskov, 2006).
- **Modulateurs allostériques** : Ces molécules interagissent avec des sites secondaires du récepteur, entraînant une **modification conformationnelle** qui empêche l'activation même en présence de l'auto-inducteur (LaSarre & Federle, 2013).

III.3.3. Inhibition de la synthèse des auto-inducers

Le QQ peut également **bloquer la biosynthèse des auto-inducteurs en ciblant les enzymes responsables de leur production**, comme :

- **LuxI** chez les bactéries Gram-négatives, impliquée dans la synthèse des AHLs.
- **AgrB**, chez les Gram-positives, essentielle à la génération des peptides auto-inducteurs.

Des composés ont été identifiés comme **inhibiteurs spécifiques** de ces enzymes, capables de perturber l'accumulation des signaux et donc de **désamorcer précocement** l'activation du système QS (Rutherford & Bassler, 2012).

III.3.4. Perturbation et dégradation des biofilms

Le quorum sensing joue un rôle central dans la **formation et la stabilité des biofilms**, structures protectrices multicellulaires particulièrement résistantes aux traitements antimicrobiens. Le QQ peut **déstabiliser ces biofilms** via plusieurs mécanismes :

- En **désactivant les signaux nécessaires à leur formation**.
- En produisant des **enzymes de dégradation** de la matrice extracellulaire (DNases, protéases, amylases), qui désagrègent la structure du biofilm et facilitent l'accès des traitements (Ivanova et *al.*, 2021 ; Hentzer et *al.*, 2003).

III.3.5. Modulation de l'expression génétique

Le quorum sensing régule l'expression de nombreux gènes impliqués dans la virulence, la résistance et la bioformation. Le QQ peut ainsi interférer avec ces processus en **modulant directement la transcription ou la traduction des gènes QS-dépendants** :

- **ARN interférents (ARNi)** : Ces petits ARN ciblent spécifiquement les ARN messagers impliqués dans la synthèse des protéines régulées par QS, entraînant leur dégradation avant traduction (LaSarre & Federle, 2013).
- **Inhibiteurs de la transcription** : Certains composés chimiques empêchent la liaison des facteurs de transcription aux promoteurs des gènes régulés par QS, bloquant ainsi leur expression.

III.4. Applications du Quorum Quenching contre *Pseudomonas aeruginosa*

L'utilisation du **quorum quenching (QQ)** représente une approche innovante et prometteuse pour lutter contre les infections causées par *Pseudomonas aeruginosa*, un pathogène opportuniste notoire, connu pour sa **résistance intrinsèque aux antibiotiques** et sa capacité à former des **biofilms robustes**. Le QQ cible spécifiquement le système de communication intercellulaire

bactérienne appelé **quorum sensing (QS)**, qui régule l'expression de nombreux gènes associés à la virulence, à la formation de biofilms et à la production de divers facteurs pathogènes. En **perturbant ce mécanisme de signalisation**, le QQ permet d'**atténuer la virulence bactérienne** sans exercer de pression sélective directe, ce qui pourrait réduire significativement le risque d'émergence de résistances antimicrobiennes (Dong et *al.*, 2001).

III.4.1. Inhibition de la formation de biofilms

P. aeruginosa crée des biofilms qui lui confèrent une résistance face aux traitements antibiotiques et aux mécanismes de défense de l'hôte. Le QQ peut entraver la création de ces biofilms en stoppant les signaux de QS, comme les molécules N-acyl homosérine lactones (AHLs), indispensables à leur croissance. Par exemple, des enzymes telles que les lactonases et les acylases décomposent ces molécules, inhibant ainsi la coordination bactérienne requise pour la création du biofilm (Dong et *al.*, 2001).

III.4.2. Réduction de la virulence

Le QQ réduit l'expression des gènes de virulence, comme ceux qui codent pour les toxines, les protéases et les sidérophores. En se concentrant sur les systèmes QS tels que las et rhl, le QQ diminue la production de facteurs nuisibles aux tissus de l'hôte et favorisant l'infection (Rasmussen et Givskov, 2006).

III.4.3. Synergie avec les antibiotiques

Le QQ pourrait augmenter l'efficacité des antibiotiques en rendant *P. aeruginosa* plus réceptif à leur effet. En perturbant le QS, les bactéries perdent leur capacité à orchestrer une réaction collective de résistance, ce qui rend les antibiotiques plus efficaces (Hentzer et *al.*, 2003).

III.5. Le Quorum Quenching dans d'autres espèces bactériennes

III.5.1. Le Quorum Quenching dans *Escherichia coli*

Bien que *Escherichia coli* ne produise pas naturellement d'acyl-homosérine lactones (AHLs), elle est néanmoins capable de **percevoir et d'interférer** avec les signaux QS produits par d'autres bactéries, notamment via le **système Lsr (luxS regulated)**, qui capte et modifie les molécules d'autoinducteur-2 (AI-2). Cette capacité permet à *E. coli* de s'intégrer dans des environnements microbiens complexes et d'adapter son comportement en réponse aux signaux extrinsèques (Xavier & Bassler, 2005).

Le système **LsrK-LsrR**, régulé par le gène *luxS*, contrôle l'importation et la phosphorylation de l'AI-2, modulant ainsi la régulation transcriptionnelle de nombreux gènes impliqués dans le

métabolisme, la formation de biofilm, et les réponses au stress (Taga et al., 2001). Toutefois, certaines souches de *E. coli* possèdent également des mécanismes de **quorum quenching**, notamment via la **dégradation enzymatique ou la modification chimique des signaux QS exogènes**.

Par exemple, la protéine **SdiA**, un homologue de LuxR, permet à *E. coli* de détecter les AHLs produites par d'autres espèces (comme *Pseudomonas aeruginosa* ou *Salmonella enterica*), bien qu'elle n'en produise pas elle-même. Cette capacité sensorielle confère à la bactérie un avantage écologique en lui permettant d'**inhiber les processus de communication d'autres bactéries**, notamment en modulant l'expression de gènes de compétition ou de résistance (Smith & Ahmer, 2003).

En outre, certaines souches commensales de *E. coli* isolées du microbiote intestinal humain ont montré la capacité à **diminuer la virulence de pathogènes voisins** en interférant avec leurs signaux de QS, soit par séquestration des AHLs, soit par la production de composés inhibiteurs (Chourashi et al., 2021). Ces interactions suggèrent que le QQ chez *E. coli* pourrait jouer un rôle important dans la régulation de la dynamique microbienne intestinale et la protection de l'hôte.

III.5.2. Le Quorum Quenching dans *Vibrio harveyi*

Le phénomène de quorum quenching (QQ), défini comme l'interruption ou la perturbation des signaux de quorum sensing (QS), est largement observé chez diverses espèces bactériennes, y compris chez *Vibrio harveyi*, un modèle classique d'étude de la régulation QS dans les bactéries marines bioluminescentes.

Chez *V. harveyi*, le QS repose sur trois autoinducteurs principaux : **HAI-1** (un acyl-homosérine lactone), **AI-2** (autoinducteur universel interspécifique), et **CAI-1** (cholerae autoinducer-1), chacun étant détecté par un récepteur spécifique (Bassler et al., 1997 ; Henke & Bassler, 2004). Ces signaux sont intégrés via une cascade de phosphorylation qui régule l'expression du gène **luxR**, maître contrôleur de la bioluminescence et d'autres fonctions communautaires.

Certaines souches bactériennes, y compris des isolats marins et des espèces du microbiote environnemental, produisent des **enzymes de type lactonase ou oxydoréductase** capables de dégrader ou de modifier les autoinducteurs de *V. harveyi*, inhibant ainsi la bioluminescence et perturbant le système QS. Ce type d'interférence est particulièrement significatif dans des écosystèmes compétitifs, où les espèces antagonistes tirent avantage de la neutralisation des signaux de QS de leurs concurrents (Dong et al., 2001).

Par ailleurs, des travaux ont démontré que certaines algues marines sécrètent des composés naturels agissant comme des inhibiteurs des récepteurs QS de *V. harveyi*, illustrant un mécanisme de défense écologique via le quorum quenching (Teasdale et al., 2009). Cette capacité d'interférer avec les systèmes de communication bactérienne représente non seulement un avantage adaptatif, mais constitue également une piste prometteuse pour le développement de stratégies antibactériennes alternatives dans l'aquaculture et la santé humaine.

III.6. Méthodes expérimentales pour évaluer le Quorum Quenching

L'évaluation du quorum quenching repose sur diverses approches expérimentales permettant de mesurer l'inhibition du quorum sensing (QS) chez les bactéries, notamment à travers des **essais in vitro** et des **tests de formation de biofilm**. Ces méthodes visent à identifier des composés naturels ou synthétiques capables de perturber la communication intercellulaire bactérienne sans affecter la croissance cellulaire, critère essentiel pour limiter le développement de résistances (Grandclément et al., 2016).

III.6.1. Essais in vitro basés sur des biosenseurs

Les essais in vitro reposent fréquemment sur l'utilisation de **souches rapporteurs** (biosenseurs) génétiquement modifiées pour produire un signal mesurable (fluorescence, luminescence, coloration) en réponse à un signal QS. Par exemple, *Chromobacterium violaceum* CV026 est une souche couramment utilisée pour détecter les AHLs : en présence de ces molécules, elle produit un pigment violet (violacéine). L'ajout d'un composé inhibiteur de QS permet alors d'observer une diminution de la pigmentation, indiquant une activité QQ (McClellan et al., 1997).

Des systèmes rapporteurs basés sur la bioluminescence (*Vibrio harveyi*) ou sur la fluorescence (*Pseudomonas aeruginosa* contenant un gène GFP sous contrôle QS) permettent également une quantification sensible de l'activité QS et de son inhibition par des agents QQ (Rasmussen et al., 2005).

III.6.2. Tests sur les biofilms

Les biofilms, structures multicellulaires protectrices, sont régulés en grande partie par les systèmes QS. Ainsi, l'effet des composés QQ peut être évalué via des **essais de formation ou de dispersion de biofilms**. La méthode la plus courante consiste en une culture statique sur microplaques en présence ou absence du composé à tester, suivie d'une coloration au cristal violet pour quantifier la biomasse du biofilm (Stepanović et al., 2000).

Des approches plus avancées incluent la microscopie confocale pour analyser la structure tridimensionnelle du biofilm, ou encore l'utilisation de sondes moléculaires pour suivre l'expression de gènes QS au sein de la matrice biofilmique (Hentzer et al., 2003).

III.6.3. Évaluation de la production de facteurs de virulence

Un autre indicateur clé de l'activité QS (et donc de l'effet du QQ) est la production de facteurs de virulence QS-dépendants, comme la **pyocyanine**, l'**élastase** ou les **protéases** chez *P. aeruginosa*. Ces activités enzymatiques peuvent être mesurées par des tests colorimétriques, spectrophotométriques ou enzymatiques en présence de composés inhibiteurs (Skindersoe et al., 2008).

Ces méthodologies combinées permettent une évaluation fiable du potentiel QQ des molécules et sont essentielles dans le développement de nouvelles stratégies anti-virulence.

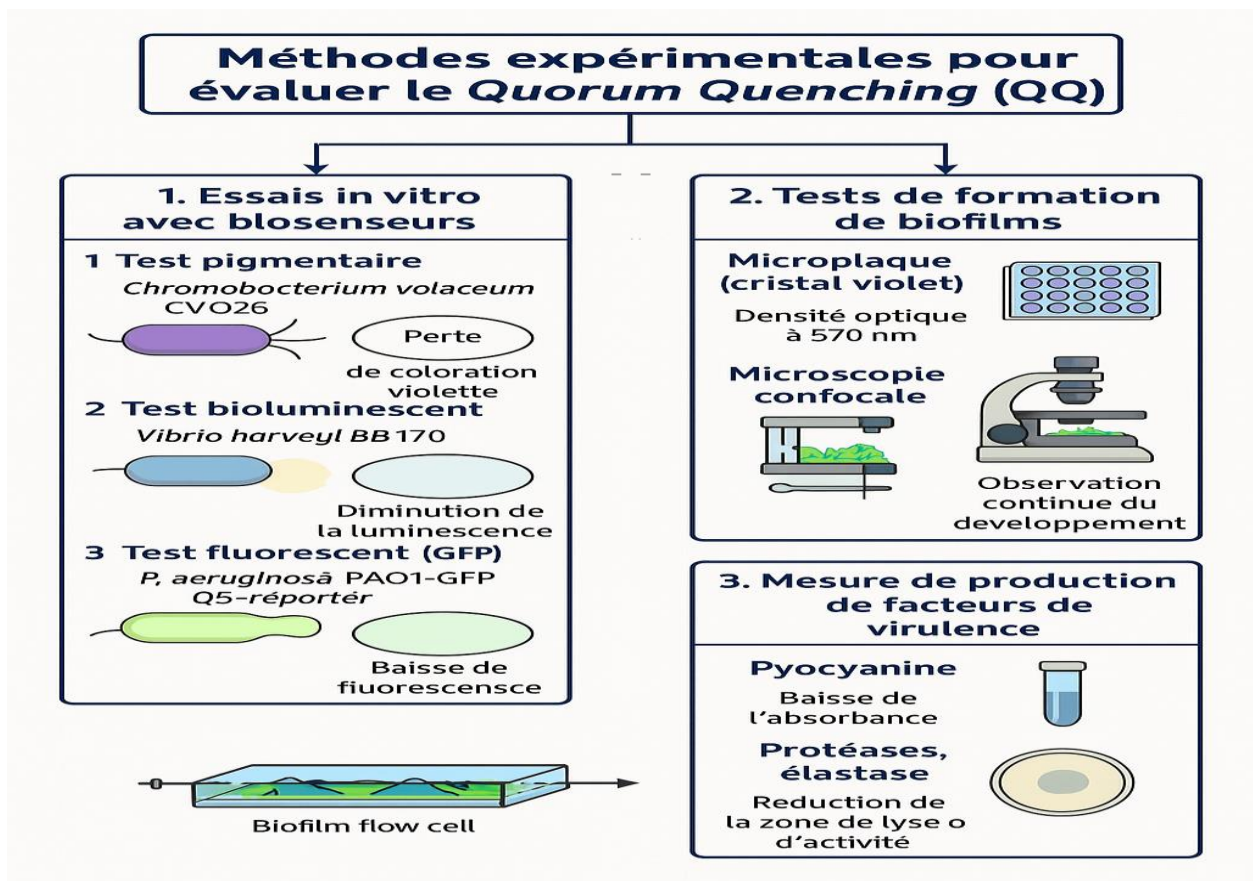


Figure III.3. Schéma récapitulatif des principales méthodes expérimentales utilisées pour évaluer le Quorum Quenching (QQ).

III.7. Stratégies thérapeutiques basées sur le Quorum Quenching

Face à la montée inquiétante de la résistance bactérienne aux antibiotiques, le quorum quenching (QQ) émerge comme une approche thérapeutique prometteuse. En perturbant les communications intercellulaires responsables de la virulence et de la formation de biofilms, le QQ vise à désarmer les pathogènes sans exercer de pression sélective directe.

III.7.1. Utilisation de peptides et molécules synthétiques

Les peptides et molécules synthétiques constituent l'une des stratégies les plus explorées pour inhiber le quorum sensing (QS). Certaines molécules miment les autoinducteurs (AHLs) pour se fixer aux récepteurs QS sans les activer, agissant ainsi comme des antagonistes compétitifs (LaSarre & Federle, 2013). Des dérivés furanoniques halogénés, inspirés de composés naturels produits par des algues rouges, se sont révélés particulièrement efficaces contre *Pseudomonas aeruginosa* en inhibant la formation de biofilms et la production de pyocyanine (Hentzer et al., 2003).

De plus, des peptides synthétiques tels que les peptidomimétiques sont développés pour interférer avec les systèmes QS Gram-positifs, notamment le système agr de *Staphylococcus aureus* (Otto, 2004).

III.7.2. Approche par phagothérapie couplée au QQ

La phagothérapie, consistant à utiliser des bactériophages pour cibler les bactéries pathogènes, peut être renforcée par des stratégies de QQ. Certains phages sont capables d'exprimer des enzymes QQ, telles que des lactonases, qui dégradent les AHLs et affaiblissent les défenses des bactéries (Pei & Lamas-Samanamud, 2014). Cette approche synergique favorise la pénétration des phages dans les biofilms et réduit les risques de rechute.

III.7.3. Utilisation de probiotiques produisant des enzymes QQ

Certaines souches probiotiques, telles que *Bacillus spp.* et *Lactobacillus spp.*, produisent naturellement des enzymes de type lactonases ou acylases, capables de dégrader les signaux QS (Dong et al., 2001). Ces souches pourraient être administrées comme agents thérapeutiques ou préventifs, notamment pour restaurer un microbiote protecteur en limitant la colonisation par des pathogènes QS-dépendants.

L'utilisation de ces bactéries probiotiques pourrait ainsi constituer une stratégie de biocontrôle, surtout dans les contextes de déséquilibre du microbiote (dysbiose) ou d'infection intestinale.

III.7.4. Nanotechnologies pour la délivrance ciblée d'inhibiteurs QS

Les nanotechnologies offrent des outils puissants pour la délivrance ciblée d'inhibiteurs QS. Des nanoparticules lipidiques, polymériques ou métalliques (notamment à base d'argent ou d'or) peuvent encapsuler des composés anti-QS et les libérer de manière contrôlée au site de l'infection (Gupta et *al.*, 2019). Ce ciblage améliore l'efficacité thérapeutique tout en limitant les effets secondaires.

Par ailleurs, certaines nanoparticules possèdent intrinsèquement une activité anti-QS, en perturbant les signaux ou en empêchant la formation de biofilms (Khan et *al.*, 2020).

III.7.5. Revêtements anti-biofilms pour dispositifs médicaux

Les dispositifs médicaux (cathéters, prothèses, sondes) sont des supports privilégiés pour les infections liées aux biofilms. Le développement de **revêtements anti-QS** constitue une stratégie innovante pour prévenir ces infections nosocomiales. Ces revêtements peuvent contenir des composés QS-inhibiteurs libérés de manière prolongée ou immobilisés à la surface du matériau (Bédard et *al.*, 2018).

De tels matériaux intelligents, intégrant par exemple des furanones ou des enzymes QQ, empêchent l'adhésion initiale des bactéries et la maturation du biofilm, prolongeant ainsi la durée de vie des implants.

III.8. Avantages du Quorum Quenching par rapport aux approches antimicrobiennes classiques

Le **quorum quenching (QQ)** se distingue des traitements antibiotiques traditionnels par ses mécanismes d'action indirects et sa capacité à cibler des fonctions non vitales mais cruciales pour la virulence bactérienne. Cette approche offre plusieurs **avantages stratégiques**, notamment dans la prise en charge des infections chroniques à *Pseudomonas aeruginosa*.

III.8.1. Réduction du risque de résistance aux antibiotiques

Contrairement aux antibiotiques conventionnels qui ciblent des fonctions essentielles à la survie bactérienne (synthèse de la paroi cellulaire, de l'ADN, ou des protéines), le QQ **ne provoque pas de pression létale directe**. Il perturbe la communication intercellulaire sans affecter la croissance bactérienne, ce qui réduit considérablement le **risque d'apparition de résistances** par sélection évolutive (LaSarre & Federle, 2013).

III.8.2. Ciblage spécifique des mécanismes de virulence

Le QQ agit principalement sur les **facteurs de pathogénicité**, tels que la production de toxines, d'exoenzymes ou de pigments comme la pyocyanine. Il permet de **neutraliser**

l'agressivité bactérienne sans perturber l'écosystème microbien global, préservant ainsi **le microbiote commensal** de l'hôte (Defoirdt et *al.*, 2013). Cela en fait une stratégie anti-infectieuse plus sélective et potentiellement mieux tolérée.

III.8.3. Efficacité contre les biofilms

Les biofilms sont des **structures complexes et résistantes**, fréquemment impliquées dans les infections chroniques, notamment pulmonaires, urinaires ou liées à des dispositifs médicaux. Le QQ peut **empêcher la formation de biofilms** ou **déstructurer ceux déjà établis**, en perturbant les signaux QS nécessaires à leur organisation et maintien (Bjarnsholt et *al.*, 2010). Cette propriété ouvre la voie à de nouvelles solutions contre les infections persistantes.

III.8.4. Applications thérapeutiques et industrielles

Au-delà des perspectives médicales, le QQ présente également un **potentiel d'application en santé publique et en industrie**. Il pourrait, par exemple, être intégré dans des **revêtements antibiofilm** pour dispositifs médicaux (cathéters, prothèses), ou utilisé pour **prévenir la contamination microbienne** dans des environnements industriels sensibles, comme les systèmes de filtration d'eau ou les circuits alimentaires (Grandclément et *al.*, 2016).

III.9. Applications cliniques et industrielles du Quorum Quenching (QQ)

Les stratégies de quorum quenching (QQ) offrent un large éventail d'applications pratiques allant de la médecine à l'environnement en passant par l'agroalimentaire. En ciblant la communication interbactérienne plutôt que la viabilité cellulaire, le QQ représente une approche prometteuse pour lutter contre les infections chroniques, les contaminations alimentaires et la pollution d'origine microbiologique.

III.9.1. Traitement des infections respiratoires chroniques (mucoviscidose)

La mucoviscidose est souvent associée à des infections pulmonaires persistantes, principalement causées par *Pseudomonas aeruginosa*. Ces infections sont difficiles à éradiquer en raison de la formation de biofilms résistants aux antibiotiques, largement régulés par le quorum sensing. Le QQ constitue une stratégie innovante pour désarmer ces pathogènes sans induire de pression sélective, réduisant ainsi la virulence et la persistance du biofilm (Bjarnsholt et *al.*, 2010).

Des études ont démontré que l'utilisation de molécules inhibant le QS, telles que les furanones ou les lactonases, permet de restaurer la sensibilité des bactéries aux antibiotiques classiques et de réduire l'inflammation pulmonaire (Hentzer et *al.*, 2003 ; Mayer-Hamblett et *al.*, 2014).

III.9.2. Traitement des infections cutanées (brûlures, ulcères)

Les brûlures et plaies chroniques, telles que les ulcères diabétiques, sont souvent colonisées par des bactéries opportunistes formant des biofilms. Le QS joue un rôle central dans la coordination de la formation de ces structures et la sécrétion de facteurs de virulence. L'application topique d'inhibiteurs de QS, incorporés dans des hydrogels ou des pansements, a montré une efficacité notable pour prévenir ou traiter ces infections cutanées (Skindersoe et *al.*, 2008).

Par exemple, l'administration locale de lactonases ou de peptides anti-QS permet de perturber la formation de biofilm et de favoriser la cicatrisation (Fong et *al.*, 2018).

III.9.3. Applications dans l'agroalimentaire (conservation, sécurité alimentaire)

Le QQ peut également être exploité dans le domaine agroalimentaire, en particulier pour prévenir la détérioration microbienne des produits périssables et améliorer la sécurité alimentaire. Certaines bactéries alimentaires pathogènes utilisent le QS pour réguler l'expression de toxines ou de mécanismes d'adhésion (e.g., *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.*).

L'ajout de composés QQ, d'origine naturelle ou synthétique, dans les emballages alimentaires actifs ou les revêtements comestibles permet de limiter la prolifération microbienne sans recourir à des conservateurs chimiques (Zhou et *al.*, 2020). De plus, l'utilisation de bactéries probiotiques produisant des enzymes QQ représente une alternative biologique de plus en plus étudiée.

III.9.4. Applications environnementales (bioremédiation, traitement des eaux)

Dans les écosystèmes aquatiques et les stations de traitement des eaux usées, certaines bactéries forment des biofilms nuisibles sur les surfaces des conduites et équipements. Ces biofilms, souvent régulés par le QS, sont responsables de la biofouling et de la corrosion. Le recours au QQ, via des agents enzymatiques ou des nanomatériaux anti-QS, constitue une solution innovante pour contrôler la prolifération microbienne dans ces environnements (Tan et *al.*, 2014).

Par ailleurs, le QQ peut être intégré dans les processus de bioremédiation pour réduire la virulence des populations microbiennes polluantes tout en conservant leur activité métabolique bénéfique (Niu et *al.*, 2013).

III.10. Limites, enjeux réglementaires et perspectives

Malgré les avancées notables dans le domaine du quorum quenching (QQ), plusieurs obstacles scientifiques, techniques et réglementaires freinent encore son application clinique et industrielle à grande échelle. Ce chapitre explore les principales limites actuelles ainsi que les perspectives de recherche en vue d'une intégration thérapeutique efficace.

III.10.1. Défis pharmacocinétiques et pharmacodynamiques

L'un des principaux défis réside dans la mise au point de molécules QQ présentant des profils pharmacocinétiques (absorption, distribution, métabolisme, excrétion) compatibles avec une utilisation *in vivo*. En effet, de nombreuses molécules anti-QS sont instables, rapidement métabolisées ou peu biodisponibles (Fong et Yildiz, 2015). De plus, leur action dépend souvent d'une concentration critique difficile à maintenir dans les tissus infectés.

Sur le plan pharmacodynamique, l'efficacité du QQ peut varier en fonction de la densité bactérienne, du type d'infection (aiguë vs chronique) et du microenvironnement (biofilm, hypoxie, pH). Il est donc crucial de développer des systèmes de délivrance ciblée (ex. : nanoparticules, hydrogels intelligents) pour améliorer la stabilité et la spécificité des inhibiteurs de QS (Kalia, 2013).

III.10.2. Brevets et développement industriel

Le développement industriel des agents QQ fait face à des incertitudes quant à leur rentabilité commerciale. En effet, les grandes firmes pharmaceutiques hésitent à investir dans des molécules qui n'ont pas d'effet bactéricide direct et dont l'effet clinique est souvent indirect ou synergique avec d'autres traitements (Hentzer & Givskov, 2003). De plus, la brevetabilité de certains composés naturels (ex. : enzymes, extraits végétaux) soulève des difficultés juridiques.

Cependant, plusieurs start-ups et instituts de recherche ont commencé à breveter des lactonases, acylases ou inhibiteurs synthétiques avec des formulations innovantes, signalant un intérêt croissant du secteur privé (Defoirdt, 2018).

III.10.3. Réglementation et essais cliniques

Les régulateurs, tels que l'EMA ou la FDA, n'ont pas encore défini de cadre clair pour l'évaluation des agents QQ, notamment en ce qui concerne leurs critères d'efficacité et de sécurité. Étant donné qu'ils n'induisent pas directement la mort bactérienne, leur évaluation clinique doit reposer sur des marqueurs indirects comme la réduction de la virulence, du biofilm ou de la charge inflammatoire (Rasko & Sperandio, 2010).

Jusqu'à présent, très peu d'inhibiteurs de QS ont atteint les phases avancées d'essais cliniques. Il est donc nécessaire de développer des protocoles spécifiques adaptés à leur mécanisme d'action, souvent complémentaire des antibiotiques.

III.10.4. Perspectives de recherche et thérapies combinées (QS inhibitors + antibiotiques)

L'une des pistes les plus prometteuses repose sur l'utilisation combinée d'inhibiteurs de QS avec des antibiotiques. Cette approche permet de désorganiser le biofilm bactérien, facilitant la

pénétration et l'efficacité des antibiotiques conventionnels (Van Delden & Iglewski, 1998). Des études ont montré que l'association de furanones ou d'acylases avec la tobramycine améliore significativement l'éradication de *P. aeruginosa* dans des modèles murins de mucoviscidose (Brackman & Coenye, 2015).

Les recherches futures doivent se concentrer sur la découverte de nouvelles cibles QS, la caractérisation fine de leurs interactions dans les écosystèmes microbiens et le développement de formulations à libération contrôlée.

Chapitre IV : Discussion

Chapitre IV. Discussion

IV.1. Présentation de quelques études anciennes

Avant l'essor des approches modernes du Quorum Quenching, des travaux pionniers ont jeté les bases de cette stratégie anti-virulence. Deux études majeures publiées au début des années 2000 ont particulièrement marqué cette période par leur rigueur expérimentale et leurs conclusions novatrices.

L'étude de Dong et *al.* (2001) s'est concentrée sur l'utilisation de la lactonase AiiA, une enzyme capable de dégrader les auto-inducteurs AHLs, afin de limiter la virulence de *Pseudomonas aeruginosa* dans un contexte de mucoviscidose. Les chercheurs ont observé, dans des expériences *in vitro*, une baisse significative de la production de pyocyanine, ainsi qu'une réduction de la formation de biofilms. En conditions *in vivo*, utilisant un modèle murin de mucoviscidose, l'administration de la lactonase a été associée à une diminution notable de la colonisation bactérienne pulmonaire et à une amélioration de la survie des animaux. Ce travail a permis de valider le principe selon lequel la perturbation du Quorum Sensing peut atténuer l'expression de la virulence bactérienne, sans altérer directement la viabilité des cellules (Dong et *al.*, 2001).

Dans une autre étude de référence, Hentzer et *al.* (2003) ont exploré les effets d'inhibiteurs synthétiques du quorum sensing sur la formation de biofilms sur cathéters en silicone. L'expérience, menée à la fois *in vitro* et *in vivo*, a révélé que l'exposition des dispositifs à ces inhibiteurs réduisait fortement la biomasse bactérienne, comme le confirment les observations par microscopie confocale. Dans un modèle murin, les implants traités avec des inhibiteurs du QS ont montré une colonisation moindre par *P. aeruginosa* ainsi qu'une réduction des signes cliniques d'infection systémique. Cette recherche a ouvert la voie à l'idée d'utiliser le quorum quenching non seulement pour traiter des infections établies, mais aussi pour prévenir leur apparition, notamment dans le contexte des dispositifs médicaux (Hentzer et *al.*, 2003).

IV.2. Présentation de quelques études récentes majeures

Le potentiel thérapeutique du quorum quenching a été examiné dans plusieurs études publiées entre 2019 et 2024. Une étude remarquable menée par Ivanova et *al.* (2021) a démontré l'efficacité de lactonases encapsulées dans des nanoparticules pour réduire la formation de biofilms de *Pseudomonas aeruginosa* dans des modèles murins de mucoviscidose. L'encapsulation a permis une libération prolongée de l'enzyme et une meilleure pénétration des biofilms.

De même, Brackman et al. (2020) ont montré qu'un revêtement de cathéter contenant une enzyme QQ (AiiA) réduit de manière significative l'adhésion bactérienne et la formation de biofilms in vivo, soulignant l'intérêt des dispositifs médicaux antibiofilm. Par ailleurs, Han et al. (2022) ont développé des inhibiteurs synthétiques du QS ciblant *Acinetobacter baumannii*, une bactérie opportuniste très résistante. Ces inhibiteurs ont permis une réduction de la virulence dans des modèles d'infection cutanée chez la souris.

Enfin, une étude comparative menée par Gohil et al. (2023) a évalué l'efficacité d'une thérapie combinée (antibiotiques + enzyme QQ) contre des biofilms établis de *P. aeruginosa*. Les résultats ont révélé une efficacité significativement supérieure par rapport à l'antibiothérapie seule.

IV.3. Analyse croisée et discussion

L'analyse comparative des différentes études, allant des premières preuves de concept (Dong et al., 2001 ; Hentzer et al., 2003) aux approches récentes plus élaborées (Ivanova et al., 2021 ; Han et al., 2022 ; Gohil et al., 2023), met en lumière plusieurs constantes scientifiques majeures, mais aussi des divergences qui soulignent les défis techniques et cliniques du Quorum Quenching (QQ).

IV.3.1. Une efficacité démontrée in vitro et in vivo, mais contextuelle

Toutes les études analysées montrent que les agents de QQ, qu'ils soient enzymatiques (lactonases, acylases) ou chimiques (inhibiteurs synthétiques des AHLs), permettent une **réduction significative de la production de facteurs de virulence** et de la **formation de biofilms** chez *Pseudomonas aeruginosa*.

Par exemple, dans l'étude de Dong et al. (2001), l'introduction de la lactonase AiiA a permis de **réduire la production de pyocyanine de plus de 70 %** in vitro. De façon similaire, Gohil et al. (2023) ont rapporté une **réduction drastique de la biomasse biofilmique** lorsque des inhibiteurs de QS sont combinés aux antibiotiques.

En conditions in vivo, la tendance se confirme : la **survie des souris** traitées avec des enzymes QQ est améliorée, et la **charge bactérienne** dans les tissus diminue. Néanmoins, ces résultats dépendent fortement du **modèle d'infection utilisé**, du **moment d'administration** et de la **forme de délivrance** du composé (Ivanova et al., 2021).

IV.3.2. Une variabilité d'efficacité liée aux cibles moléculaires

Le QS n'est pas un système universellement identique entre les espèces bactériennes. Chez *P. aeruginosa*, plusieurs circuits interconnectés (Las, Rhl, Pqs) régulent la virulence. Cela complique le ciblage efficace par une seule molécule QQ.

Les lactonases comme AiiA dégradent les AHLs des systèmes Las et Rhl, mais sont inactives sur les quinolones signalant dans le système Pqs. Ainsi, certaines souches très virulentes peuvent maintenir une certaine activité pathogène malgré l'inhibition partielle du QS (Rasmussen & Givskov, 2006).

Cette **spécificité enzymatique** oblige à développer soit :

- des **enzymes multi-cibles** ou cocktail enzymatique,
- soit des **formules combinées** d'enzymes + petites molécules.

IV.3.3. Des effets synergiques avec les antibiotiques classiques

L'un des points les plus intéressants ressortant des études récentes est la **synergie entre agents QQ et antibiotiques**. Gohil et *al.* (2023) ont montré qu'une enzyme QQ affaiblit la matrice biofilmique, rendant les bactéries plus sensibles aux antibiotiques, même à faible dose.

Ce mécanisme **n'élimine pas la bactérie**, mais la **fragilise**, limitant la pression sélective et **diminuant le risque d'apparition de résistances** (Rutherford & Bassler, 2012). Cela constitue un changement de paradigme thérapeutique majeur.

IV.3.4. Un positionnement thérapeutique encore limité par des défis pratiques

Malgré des résultats prometteurs, la **traduction clinique** reste très limitée. Trois obstacles principaux ressortent des études :

- **La stabilité des enzymes** dans l'organisme : les lactonases peuvent être dégradées par des protéases (Grandclément et *al.*, 2016).
- **La délivrance ciblée** au site infectieux : Ivanova et *al.* (2021) ont proposé l'encapsulation dans des nanoparticules, mais cela demande encore des validations toxicologiques.
- **La variabilité entre espèces** : un inhibiteur efficace sur *P. aeruginosa* peut être inefficace, voire perturbateur, pour le microbiote intestinal ou cutané (Defoirdt et *al.*, 2013).

IV.3.5. Une approche thérapeutique complémentaire, non exclusive

Enfin, les données disponibles montrent que le QQ ne doit pas être envisagé comme **une alternative radicale** aux antibiotiques, mais comme **un complément thérapeutique ciblé**, notamment dans les infections chroniques, biofilmées, ou en situation de multi-résistance.

Cette approche s'intègre dans une vision plus large de **la médecine anti-virulence**, qui cherche à désactiver le pouvoir pathogène sans provoquer la mort bactérienne, et qui pourrait à terme **préserver l'efficacité des traitements existants** (LaSarre & Federle, 2013).

IV.4. Position du Quorum Quenching parmi les autres alternatives aux antibiotiques

En comparaison avec d'autres stratégies alternatives :

- Le **QQ est moins risqué que la phagothérapie**, car il n'introduit pas d'éléments vivants dans l'organisme.
- Il est **plus ciblé que les peptides antimicrobiens**, dont l'action peut parfois affecter aussi les cellules humaines.
- Contrairement à CRISPR antimicrobien, le QQ **ne modifie pas le matériel génétique**, ce qui soulève moins de problématiques éthiques ou réglementaires.

Conclusion

Conclusion

La résistance croissante aux antibiotiques représente l'un des défis sanitaires les plus pressants du XXI^e siècle, en particulier face à des pathogènes opportunistes tels que *Pseudomonas aeruginosa*, connu pour sa capacité à former des biofilms, à produire une grande variété de facteurs de virulence, et à développer une multirésistance aux traitements antimicrobiens (Lister et al., 2009 ; Pang et al., 2019). Dans ce contexte, le **Quorum Quenching (QQ)** se présente comme une approche thérapeutique innovante et prometteuse, visant à perturber le **Quorum Sensing (QS)** — système de communication bactérienne essentiel à la coordination de comportements collectifs impliqués dans la pathogénicité (Miller & Bassler, 2001 ; Rutherford & Bassler, 2012).

Contrairement aux antibiotiques conventionnels, le QQ agit de manière indirecte en bloquant les signaux de QS à travers diverses stratégies : dégradation enzymatique des auto-inducteurs par les lactonases et acylases (Dong et al., 2001 ; Fetzner, 2015), inhibition des récepteurs, ou encore interférence avec la synthèse des signaux. Ces mécanismes permettent de réduire l'expression des gènes de virulence, d'inhiber la formation des biofilms, et d'augmenter la sensibilité bactérienne aux antibiotiques, sans induire de pression sélective susceptible de favoriser la résistance (Hentzer et al., 2003 ; Rasmussen & Givskov, 2006).

L'intérêt du QQ a été démontré dans plusieurs modèles expérimentaux, notamment pour la prévention des infections associées aux dispositifs médicaux ou la réduction de la virulence chez les patients atteints de mucoviscidose (Gallagher et al., 2002 ; Rumbaugh et al., 1999). De plus, certaines études ont révélé des synergies notables entre le QQ et les traitements antibiotiques, renforçant leur efficacité dans des contextes cliniques complexes (Bjarnsholt et al., 2010).

Cependant, malgré ces avancées encourageantes, plusieurs **obstacles** doivent encore être surmontés pour une application clinique à grande échelle : la stabilité et l'activité des enzymes en conditions physiologiques, leur délivrance ciblée, la spécificité de l'action, les effets potentiels sur le microbiote, ainsi que la validation réglementaire (Grandclément et al., 2016 ; Uroz et al., 2009).

En somme, cette étude met en lumière le Quorum Quenching comme une **alternative thérapeutique crédible et durable** aux antibiotiques traditionnels. En ciblant les comportements coopératifs des bactéries plutôt que leur croissance, le QQ ouvre la voie à une nouvelle génération de stratégies anti-infectieuses, mieux adaptées aux enjeux actuels de santé publique.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

asmussen, T. B., & Givskov, M. (2006). Quorum sensing inhibitors: a bargain of effects. *Microbiology*, 152(4), 895-904.

Barrangou, R., Fremaux, C., Deveau, H., Richards, M., Boyaval, P., Moineau, S., Romero, D. A., & Horvath, P. (2007). CRISPR provides acquired resistance against viruses in prokaryotes. *Science*, 315(5819), 1709–1712. <https://doi.org/10.1126/science.1138140>

Bassler, B. L., Wright, M., Silverman, M. R. (1997). Multiple signalling systems controlling expression of luminescence in *Vibrio harveyi*: sequence and function of genes encoding a second sensory pathway. *Molecular Microbiology*, 13(2), 273–286. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.1994.tb00427.x>

Bédard, E., Prévost, M., & Déziel, E. (2018). *Pseudomonas aeruginosa* in premise plumbing of large buildings. *Pathogens*, 7(3), 59. <https://doi.org/10.3390/pathogens7030059>

Bever, R. A., Iglewski, B. H., & Wolfgang, M. C. (2020). Flagellar function and virulence in *Pseudomonas aeruginosa*. *Annual Review of Microbiology*, 74, 205–224.

Bjarnsholt, T., et al. (2010). "Pseudomonas aeruginosa biofilms in the respiratory tract of cystic fibrosis patients." *Pediatric Pulmonology*, 44(6), 547-558. [DOI:10.1002/ppul.21011](https://doi.org/10.1002/ppul.21011)

Bjarnsholt, T., et al. (2010). Quorum sensing and biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa*: implications for chronic infections. *Biofilms in Infection*, 1-18.

Bjarnsholt, T., Jensen, P. Ø., Fiandaca, M. J., Pedersen, J., Hansen, C. R., Andersen, C. B., ... & Høiby, N. (2010). Pseudomonas aeruginosa biofilms in the respiratory tract of cystic fibrosis patients. *Pediatric Pulmonology*, 45(6), 547–558. <https://doi.org/10.1002/ppul.21237>

Bourahla, A., & Haddache, N. (2015). *Étude de la résistance aux antibiotiques chez les souches de Pseudomonas aeruginosa isolées à l'hôpital de Blida* (Mémoire de Master). Université Saad Dahlab de Blida.

Brackman, G., & Coenye, T. (2015). Quorum sensing inhibitors as anti-biofilm agents. *Current Pharmaceutical Design*, 21(1), 5–11. <https://doi.org/10.2174/1381612820666140905112534>

Brackman, G., Cos, P., & Coenye, T. (2020). Quorum quenching coatings for medical devices: a novel strategy to prevent biofilm-related infections. *Biomaterials*, 232, 119737. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2019.119737>

Cha, C., Gao, P., Chen, Y. C., Shaw, P. D., & Farrand, S. K. (1998). Production of acyl-homoserine lactone quorum-sensing signals by gram-negative plant-associated bacteria. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 11(11), 1119–1129. <https://doi.org/10.1094/MPMI.1998.11.11.1119>

Chourashi, R., Gupta, P., & Sharma, V. K. (2021). Inter-species quorum quenching mediated by *Escherichia coli* and its implications in gut microbiota modulation. *Microbial Pathogenesis*, 152, 104610. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104610>

Cornelis, P. (2010). Iron uptake and metabolism in *Pseudomonas aeruginosa*. *BioMetals*, 23(4), 661–669. <https://doi.org/10.1007/s10534-009-9280-x>

Cornelis, P. (2010). Iron uptake and metabolism in *Pseudomonas aeruginosa*. *BioMetals*, 23(4), 661–669. <https://doi.org/10.1007/s10534-009-9280-x>

Costerton, J. W., Stewart, P. S., & Greenberg, E. P. (1999). Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*, 284(5418), 1318–1322.

Costerton, J. W., Stewart, P. S., & Greenberg, E. P. (1999). Bacterial biofilms: A common cause of persistent infections. *Science*, 284(5418), 1318-1322.

Davies, D. G., Parsek, M. R., Pearson, J. P., Iglewski, B. H., Costerton, J. W., & Greenberg, E. P. (1998). *The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilm*. *Science*, 280(5361), 295–298. <https://doi.org/10.1126/science.280.5361.295>

Davies, D. G., Parsek, M. R., Pearson, J. P., Iglewski, B. H., Costerton, J. W., & Greenberg, E. P. (1998). The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilm. *Science*, 280(5361), 295-298.

Davis, S. C., et al. (2008). "Quorum sensing and bacterial biofilms in chronic wound infections." *International Wound Journal*, 5(3), 439-446. [DOI:10.1111/j.1742-481X.2008.00465.x](https://doi.org/10.1111/j.1742-481X.2008.00465.x)

Defoirdt, T. (2018). Quorum-sensing systems as targets for antivirulence therapy. *Trends in Microbiology*, 26(4), 313–328. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2017.10.005>

Defoirdt, T., Boon, N., Bossier, P., & Verstraete, W. (2013). Quorum sensing and quorum quenching in *Vibrio harveyi*: lessons learned from in vivo work. *The ISME Journal*, 7(3), 469–476. <https://doi.org/10.1038/ismej.2012.125>

Defoirdt, T., et al. (2013). Quorum sensing and quorum quenching in *Vibrio harveyi*: lessons learned from in vivo work. *The ISME Journal*, 7(3), 469-476.

Déziel, E., Gopalan, S., Tampakaki, A. P., Lépine, F., Padfield, K. E., Saucier, M., Xiao, G., & Rahme, L. G. (2004). The contribution of MvfR to *Pseudomonas aeruginosa* pathogenesis and quorum sensing circuitry regulation: Multiple quorum sensing-regulated genes are modulated without affecting lasRI, rhlRI or the production of N-acyl-L-homoserine lactones. *Molecular Microbiology*, 55(4), 998–1014. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2004.04448.x>

Diggle, S. P., Cornelis, P., Williams, P., & Cámara, M. (2006). 4-quinolone signalling in *Pseudomonas aeruginosa*: Old molecules, new perspectives. *International Journal of Medical Microbiology*, 296(2–3), 83–91. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2006.01.038>

Dong, Y. H., Wang, L. H., & Zhang, L. H. (2001). Quenching quorum-sensing-dependent bacterial infection by an N-acyl homoserine lactonase. *Nature*, 411(6839), 813–817. <https://doi.org/10.1038/35081101>

Dong, Y. H., Xu, J. L., Li, X. Z., & Zhang, L. H. (2001). AiiA, an enzyme that inactivates the acylhomoserine lactone quorum-sensing signal and attenuates the virulence of *Erwinia carotovora*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(19), 11199–11204. <https://doi.org/10.1073/pnas.191352698>

Dong, Y.-H., Wang, L.-H., Xu, J.-L., Zhang, H.-B., Zhang, X.-F., & Zhang, L.-H. (2001) . Swem, L. R., Swem, D. L., O’Loughlin, C. T., Gatmaitan, R., Zhao, B., Ulrich, S. M., & Bassler, B. L. (2009).

Donlan, R. M., & Costerton, J. W. (2002). "Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms." *Clinical Microbiology Reviews*, 15(2), 167-193. [DOI:10.1128/CMR.15.2.167-193.2002](https://doi.org/10.1128/CMR.15.2.167-193.2002)

Doudna, J. A., & Charpentier, E. (2014). The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. *Science*, 346(6213), 1258096. <https://doi.org/10.1126/science.1258096>

Fetzner, S. (2015). Quorum quenching enzymes. *Journal of Biotechnology*, 201, 2–14. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2014.09.001>

Fleiszig, S. M. J., & Evans, D. J. (2002). "The pathogenesis of bacterial keratitis." *Ocular Surface*, 1(1), 1-16. [DOI:10.1016/S1542-0124\(12\)70003-8](https://doi.org/10.1016/S1542-0124(12)70003-8)

Fong, J. C. N., & Yildiz, F. H. (2015). Biofilm matrix proteins. *Microbiology Spectrum*, 3(2), MB-0004-2014. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.MB-0004-2014>

Fong, J., Yuan, M., Jakobsen, T. H., Tan, C. H., Hoiby, N., Nielsen, T. E., & Givskov, M. (2018). Disulfide Bond Disrupting Agents Target Bacterial Biofilms and Protect against

Pseudomonas aeruginosa Lung Infection. *npj Biofilms and Microbiomes*, 4(1), 27. <https://doi.org/10.1038/s41522-018-0072-0>

Gallagher, L. A., McKnight, S. L., Kuznetsova, M. S., Pesci, E. C., & Manoil, C. (2002). Functions required for extracellular quinolone signaling by *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Bacteriology*, 184(23), 6472–6480. <https://doi.org/10.1128/JB.184.23.6472-6480.2002>

Gellatly, S. L., & Hancock, R. E. W. (2013). "Pseudomonas aeruginosa: New insights into pathogenesis and host defenses." *Pathogens and Disease*, 67(3), 159-173. DOI:10.1111/2049-632X.12033

Gohil, N., Bhattacharjee, G., & Singh, V. (2023). Combination therapy of quorum sensing inhibitors with antibiotics against biofilms of *Pseudomonas aeruginosa*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 13, 1183411. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1183411>

Grandclément, C., Tannieres, M., Moréra, S., Dessaux, Y., & Faure, D. (2016). Quorum quenching: role in nature and applied developments. *FEMS Microbiology Reviews*, 40(1), 86–116. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuv038>

Green, S. K., Schroth, M. N., Cho, J. J., Kominos, S. D., & Vitanza-Jack, V. B. (1974). Agricultural plants and soil as a reservoir for *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied Microbiology*, 28(6), 987–991. <https://doi.org/10.1128/am.28.6.987-991>

Greenwood, D., Slack, R. C. B., Peutherer, J. F., & Barer, M. R. (2007). *Medical Microbiology* (17th ed.). Churchill Livingstone.

Gupta, R. K., Srivastava, S. K., & Chandrasekaran, N. (2019). Nanoparticles as Quorum Quenching Agents: Potential and Limitations. *Frontiers in Microbiology*, 10, 2094. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02094>

Han, J., Kim, D., & Lee, J. (2022). Development of small molecule inhibitors targeting quorum sensing in *Acinetobacter baumannii*. *Scientific Reports*, 12, 223. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-04279-z>

Hauser, A. R. (2011). The type III secretion system of *Pseudomonas aeruginosa*: infection by injection. *Nature Reviews Microbiology*, 7(9), 654–665. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2199>

Häussler, S., & Becker, T. (2008). The pseudomonas quinolone signal (PQS) balances life and death in *Pseudomonas aeruginosa* populations. *PLoS Pathogens*, 4(9), e1000166. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000166>

Heeb, S., Fletcher, M. P., Chhabra, S. R., Diggle, S. P., Williams, P., & Cámara, M. (2011). Quinolones: From antibiotics to autoinducers. *FEMS Microbiology Reviews*, 35(2), 247–274. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2010.00247.x>

Henke, J. M., & Bassler, B. L. (2004). Three parallel quorum-sensing systems regulate gene expression in *Vibrio harveyi*. *Journal of Bacteriology*, 186(20), 6902–6914. <https://doi.org/10.1128/JB.186.20.6902-6914.2004>

Hentzer, M., & Givskov, M. (2003). Pharmacological inhibition of quorum sensing for the treatment of chronic bacterial infections. *Journal of Clinical Investigation*, 112(9), 1300–1307. <https://doi.org/10.1172/JCI200320253>

Hentzer, M., et al. (2003). Attenuation of *Pseudomonas aeruginosa* virulence by quorum sensing inhibitors. *The EMBO Journal*, 22(15), 3803–3815.

Hentzer, M., Givskov, M., & Parsek, M. R. (2003). Attenuation of *Pseudomonas aeruginosa* virulence by quorum sensing inhibitors. *The EMBO Journal*, 22(15), 3803–3815. <https://doi.org/10.1093/emboj/cdg366>

Hentzer, M., Riedel, K., Rasmussen, T. B., Heydorn, A., Andersen, J. B., Parsek, M. R., ... & Givskov, M. (2003). Inhibition of quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm bacteria by a halogenated furanone compound. *Microbiology*, 149(8), 1921–1930. <https://doi.org/10.1099/mic.0.26265-0>

Hentzer, M., Wu, H., Andersen, J. B., Riedel, K., Rasmussen, T. B., Bagge, N., ... & Givskov, M. (2003). "Attenuation of *Pseudomonas aeruginosa* virulence by quorum sensing inhibitors." *The EMBO Journal*, 22(15), 3803–3815.

Høiby, N., et al. (2010). "The clinical impact of bacterial biofilms." *International Journal of Oral Science*, 2(2), 55–65. [DOI:10.4248/IJOS10026](https://doi.org/10.4248/IJOS10026)

Hsu, P. D., Lander, E. S., & Zhang, F. (2014). Development and applications of CRISPR-Cas9 for genome engineering. *Cell*, 157(6), 1262–1278. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.05.010>

Hughes, D. T., & Sperandio, V. (2008). Inter-kingdom signalling: communication between bacteria and their hosts. *Nature Reviews Microbiology*, 6(2), 111–120. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1836>

Ivanova, K., Fernandes, M. M., Francesko, A., Mendoza, E., & Tzanov, T. (2021). Enzyme-loaded nanoparticles targeting *Pseudomonas* biofilms in cystic fibrosis models. *Nature Microbiology*, 6(8), 1034–1043. <https://doi.org/10.1038/s41564-021-00933-2>

Jensen, P. Ø., Bjarnsholt, T., Phipps, R., Rasmussen, T. B., Calum, H., Christoffersen, L., ... & Givskov, M. (2007). Rapid necrotic killing of polymorphonuclear leukocytes is caused by quorum-sensing-controlled production of rhamnolipid by *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiology*, *153*(5), 1329-1338.

Jinek, M., Chylinski, K., Fonfara, I., Hauer, M., Doudna, J. A., & Charpentier, E. (2012). A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science*, *337*(6096), 816–821. <https://doi.org/10.1126/science.1225829>

Kalia, V. C. (2013). Quorum sensing inhibitors: An overview. *Biotechnology Advances*, *31*(2), 224–245. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2012.10.004>

Kaplan, J. B., Rangunath, C., Velliyagounder, K., Fine, D. H., & Ramasubbu, N. (2004). Enzymatic detachment of *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *48*(7), 2633-2636.

Geske, G. D., O'Neill, J. C., Miller, D. M., Mattmann, M. E., & Blackwell, H. E. (2007). Modulation of bacterial quorum sensing with synthetic ligands: systematic evaluation of N-acylated homoserine lactones in multiple species and new insights into their mechanisms of action. *Journal of the American Chemical Society*, *129*(44), 13613-13625.

Khalilzadeh, P. (2009). *Microbiology and Immunology: Basic Concepts*. Tehran University Press.

Khan, F., Phull, A. R., & Kim, S. J. (2020). Enhancing the anti-quorum sensing and antibiofilm efficacy of silver nanoparticles against multidrug-resistant bacteria using functional polymer. *Scientific Reports*, *10*, 5888. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-62825-w>

Kharazmi, A. (1991). Mechanisms involved in the evasion of the host defence by *Pseudomonas aeruginosa*. *Immunology Letters*, *30*(2), 201-206.

Kumar, M., Ji, B., Zengler, K., & Nielsen, J. (2020). Modelling approaches for studying the microbiome. *Nature Microbiology*, *5*, 1161–1174. <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0733-1>

Kumar, R., & Amado, R. G. (2012). Predictive genomic biomarkers. *Therapeutic Kinase Inhibitors*, 173-188.

LaSarre, B., & Federle, M. J. (2013). Exploiting quorum sensing to confuse bacterial pathogens. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, *77*(1), 73–111. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00046-12>

LaSarre, B., & Federle, M. J. (2013). Exploiting quorum sensing to confuse bacterial pathogens. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, *77*(1), 73-111.

Latifi, A., Winson, M. K., Foglino, M., Bycroft, B. W., Stewart, G. S., Lazdunski, A., & Williams, P. (1995). Multiple homologues of LuxR and LuxI control expression of virulence determinants and secondary metabolites through quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*. *Molecular Microbiology*, 17(2), 333–343. https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.1995.mmi_17020333.x

Latifi, A., Winson, M. K., Foglino, M., Bycroft, B. W., Stewart, G. S., Lazdunski, A., & Williams, P. (1995). Multiple homologues of LuxR and LuxI control expression of virulence determinants and secondary metabolites through quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Molecular Microbiology*, 17(2), 333–343.

Lau, G. W., Hassett, D. J., Ran, H., & Kong, F. (2004). The role of pyocyanin in *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Trends in Molecular Medicine*, 10(12), 599–606. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2004.10.002>

Lee, J., & Zhang, L. (2015). The hierarchy quorum sensing network in *Pseudomonas aeruginosa*. *Protein & Cell*, 6(1), 26–41. <https://doi.org/10.1007/s13238-014-0100-x>

Lee, J., Wu, J., Deng, Y., Wang, J., Wang, C., Wang, J., Chang, C., Dong, Y., & Zhang, L. H. (2013). A cell-cell communication signal integrates quorum sensing and stress response. *Nature Chemical Biology*, 9(5), 339–343. <https://doi.org/10.1038/nchembio.1225>

Lister, P. D., Wolter, D. J., & Hanson, N. D. (2009). Antibacterial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: Clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. *Clinical Microbiology Reviews*, 22(4), 582–610.

Lyczak, J. B., Cannon, C. L., & Pier, G. B. (2000). Establishment of *Pseudomonas aeruginosa* infection: lessons from a versatile opportunist. *Microbes and Infection*, 2(9), 1051–1060.

Madigan, M. T., Martinko, J. M., Bender, K. S., Buckley, D. H., & Stahl, D. A. (2015). *Brock Biology of Microorganisms* (14th ed.). Pearson.

Mayer-Hamblett, N., Rosenfeld, M., Gibson, R. L., Ramsey, B. W., & Kulich, M. (2014). Developing cystic fibrosis lung disease endpoints for use in clinical trials. *Current Opinion in Pulmonary Medicine*, 20(6), 623–629. <https://doi.org/10.1097/MCP.0000000000000114>

McClellan, K. H., Winson, M. K., Fish, L., Taylor, A., Chhabra, S. R., Camara, M., ... & Stewart, G. S. A. B. (1997). Quorum sensing and *Chromobacterium violaceum*: exploitation of violacein production and inhibition for the detection of N-acylhomoserine lactones. *Microbiology*, 143(12), 3703–3711. <https://doi.org/10.1099/00221287-143-12-3703>

Meyer, J. M., Neely, A., Stintzi, A., Georges, C., & Holder, I. A. (1996). Pyoverdinin is essential for virulence of *Pseudomonas aeruginosa*. *Infection and Immunity*, 64(2), 518–523. <https://doi.org/10.1128/iai.64.2.518-523.1996>

Miller, M. B., & Bassler, B. L. (2001). Quorum sensing in bacteria. *Annual Review of Microbiology*, 55, 165–199. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.55.1.165>

Miller, M. B., Skorupski, K., Lenz, D. H., Taylor, R. K., & Bassler, B. L. (2002). Parallel quorum sensing systems converge to regulate virulence in *Vibrio cholerae*. *Cell*, 110(3), 303–314. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(02\)00829-2](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(02)00829-2)

Moradali, M. F., Ghods, S., & Rehm, B. H. A. (2017). *Pseudomonas aeruginosa* lifestyle: A paradigm for adaptation, survival, and persistence. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 7, 39.

Muller, M. (2002). Pyocyanin induces oxidative stress in human endothelial cells and modulates the glutathione redox cycle. *Free Radical Biology and Medicine*, 33(11), 1527–1533. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(02\)01175-7](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(02)01175-7)

Ng, W.-L., & Bassler, B. L. (2009). Bacterial quorum-sensing network architectures. *Annual Review of Genetics*, 43, 197–222. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-102108-134304>

Niu, C., Clemmer, K. M., Bonomo, R. A., & Rather, P. N. (2013). Isolation and characterization of an autoinducer synthase from *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Bacteriology*, 190(9), 3386–3392. <https://doi.org/10.1128/JB.01929-07>

O’Neill, J. (2016). *Tackling drug-resistant infections globally: Final report and recommendations*. Review on Antimicrobial Resistance. <https://amr-review.org/>

O’Toole, G. A., & Kolter, R. (1998). Initiation of biofilm formation in *Pseudomonas fluorescens* WCS365 proceeds via multiple, convergent signalling pathways: a genetic analysis. *Molecular Microbiology*, 28(3), 449–461.

Ortori, C. A., Dubern, J. F., Chhabra, S. R., Cámara, M., Hardie, K., Williams, P., & Barrett, D. A. (2011). Simultaneous quantitative profiling of N-acyl-L-homoserine lactone and 2-alkyl-4(1H)-quinolone families of quorum-sensing signaling molecules using LC-MS/MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 399, 839–850. <https://doi.org/10.1007/s00216-010-4292-7>

Otto, M. (2004). Quorum-sensing control in *Staphylococci*—a target for antimicrobial drug therapy? *FEMS Microbiology Letters*, 241(2), 135–141. <https://doi.org/10.1016/j.femsle.2004.10.005>

- Pamp, S. J., & Tolker-Nielsen, T. (2007). Multiple roles of biosurfactants in structural biofilm development by *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Bacteriology*, 189(6), 2531-2539.
- Passador, L., Cook, J. M., Gambello, M. J., Rust, L., & Iglewski, B. H. (1993). *Expression of Pseudomonas aeruginosa virulence genes requires cell-to-cell communication*. *Science*, 260(5111), 1127–1130. <https://doi.org/10.1126/science.8493556>
- Pearson, J. P., Pesci, E. C., & Iglewski, B. H. (1997). *Roles of Pseudomonas aeruginosa las and rhl quorum-sensing systems in control of elastase and rhamnolipid biosynthesis genes*. *Journal of Bacteriology*, 179(18), 5756–5767. <https://doi.org/10.1128/jb.179.18.5756-5767.1997>
- Pei, R., & Lamas-Samanamud, G. R. (2014). Inhibition of biofilm formation by T7 bacteriophages producing quorum quenching enzymes. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(15), 4874–4882. <https://doi.org/10.1128/AEM.00601-14>
- Pereira, C. S., Thompson, J. A., & Xavier, K. B. (2013). AI-2-mediated signalling in bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 37(2), 156–181. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2012.00345.x>
- Pessi, G., & Haas, D. (2001). Dual control of hydrogen cyanide biosynthesis by the global activator GacA in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *FEMS Microbiology Letters*, 200(1), 73-78.
- Piewngam, P., Zheng, Y., Nguyen, T. H., Dickey, S. W., Joo, H. S., Villaruz, A. E., ... & Otto, M. (2018). Pathogen elimination by probiotic *Bacillus* via signalling interference. *Nature*, 562(7728), 532–537. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0616-y>
- Ran, F. A., Hsu, P. D., Wright, J., Agarwala, V., Scott, D. A., & Zhang, F. (2013). Genome engineering using the CRISPR-Cas9 system. *Nature Protocols*, 8(11), 2281–2308. <https://doi.org/10.1038/nprot.2013.143>
- Rasko, D. A., & Sperandio, V. (2010). Anti-virulence strategies to combat bacteria-mediated disease. *Nature Reviews Drug Discovery*, 9(2), 117–128. <https://doi.org/10.1038/nrd3013>
- Rasmussen, T. B., & Givskov, M. (2006). Quorum sensing inhibitors: a bargain of effects. *Microbiology*, 152(4), 895–904. <https://doi.org/10.1099/mic.0.28649-0>
- Rasmussen, T. B., Bjarnsholt, T., Skindersoe, M. E., Hentzer, M., Kristoffersen, P., Kôte, M., ... & Givskov, M. (2005). Screening for quorum-sensing inhibitors (QSI) by use of a novel genetic system, the QSI selector. *Journal of Bacteriology*, 187(5), 1799–1814. <https://doi.org/10.1128/JB.187.5.1799-1814.2005>
- Ruimy, R., & Andremont, A. (2004). Quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*: Molecular mechanism, clinical impact, and inhibition. *Réanimation*, 13, 176-184.

Rutherford, S. T., & Bassler, B. L. (2012). Bacterial quorum sensing: its role in virulence and possibilities for its control. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2(11), a012427.

Rumbaugh, K. P., Griswold, J. A., Hamood, A. N. (1999). Contribution of quorum sensing to the virulence of *Pseudomonas aeruginosa* in burn wound infections. *Infection and Immunity*, 67(11), 5854–5862. <https://doi.org/10.1128/IAI.67.11.5854-5862.1999>

Rutherford, S. T., & Bassler, B. L. (2012). Bacterial quorum sensing: its role in virulence and possibilities for its control. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2(11), a012427. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a012427>

Schuster, M., Lostroh, C. P., Ogi, T., & Greenberg, E. P. (2003). Identification, timing, and signal specificity of *Pseudomonas aeruginosa* quorum-controlled genes: a transcriptome analysis. *Journal of Bacteriology*, 185(7), 2066–2079. <https://doi.org/10.1128/JB.185.7.2066-2079.2003>

Skindersoe, M. E., Alhede, M., Phipps, R. K., Yang, L., Jensen, P. Ø., Rasmussen, T. B., ... & Givskov, M. (2008). Effects of antibiotics on quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 52(10), 3648–3663. <https://doi.org/10.1128/AAC.01230-07>

Skindersoe, M. E., Zeuthen, L. H., Pedersen, K., Krogfelt, K. A., Norrby-Teglund, A., & Givskov, M. (2008). Identification of acyl-homoserine lactone production by clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and *Serratia marcescens* using a novel, sensitive biosensor system. *BMC Microbiology*, 8, 70. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-8-70>

Smith, E. E., Buckley, D. G., Wu, Z., Saenphimmachak, C., Hoffman, L. R., D'Argenio, D. A., ... & Olson, M. V. (2006). Genetic adaptation by *Pseudomonas aeruginosa* to the airways of cystic fibrosis patients. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(22), 8487-8492.

Smith, J. N., & Ahmer, B. M. M. (2003). Detection of other microbial species by *Salmonella*: expression of the SdiA regulon. *Journal of Bacteriology*, 185(4), 1357–1366. <https://doi.org/10.1128/JB.185.4.1357-1366.2003>

Smith, R. S., & Ahmer, B. M. M. (2003). Detection of other microbial species by *Salmonella*: expression of the SdiA regulon. *Journal of Bacteriology*, 185(4), 1357–1366. <https://doi.org/10.1128/JB.185.4.1357-1366.2003>

Surette, M. G., Miller, M. B., & Bassler, B. L. (1999). Quorum sensing in *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, and *Vibrio harveyi*: a new family of genes responsible for autoinducer production. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(4), 1639–1644. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.4.1639>

- Taga, M. E., Miller, S. T., & Bassler, B. L. (2001). Lsr-mediated transport and processing of AI-2 in *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, 183(19), 5685–5692. <https://doi.org/10.1128/JB.183.19.5685-5692.2001>
- Tan, C. H., Koh, K. S., Xie, C., Tay, M., Zhou, Y., Williams, R., & Rice, S. A. (2014). The role of quorum sensing signaling in EPS production and the assembly of a sludge community into aerobic granules. *The ISME Journal*, 8, 1186–1197. <https://doi.org/10.1038/ismej.2013.241>
- Tan, M. W., Mahajan-Miklos, S., & Ausubel, F. M. (1999). Killing of *Caenorhabditis elegans* by *Pseudomonas aeruginosa* used to model mammalian bacterial pathogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(2), 715–720. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.2.715>
- Teasdale, M. E., Liu, J., Wallace, J., Akhlaghi, F., & Rowley, D. C. (2009). Secondary metabolites produced by the marine bacterium *Halobacillus salinus* that modulate quorum sensing in *Vibrio harveyi*. *Marine Drugs*, 7(3), 497–507. <https://doi.org/10.3390/md7030497>
- Thompson, J. A., Oliveira, R. A., & Xavier, K. B. (2015). Chemical conversations in the gut microbiota. *Gut Microbes*, 6(2), 141–145. <https://doi.org/10.1080/19490976.2015.1019695>
- Todar, K. (2008). *Todar's Online Textbook of Bacteriology*. University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology.
- Van Delden, C., & Iglewski, B. H. (1998). "Cell-to-cell signaling and *Pseudomonas aeruginosa* infections." *Emerging Infectious Diseases*, 4(4), 551–560. [DOI:10.3201/eid0404.980405](https://doi.org/10.3201/eid0404.980405)
- Van Delden, C., & Iglewski, B. H. (1998). Cell-to-cell signaling and *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Emerging Infectious Diseases*, 4(4), 551–560. <https://doi.org/10.3201/eid0404.980407>
- Warren, J. W. (2001). "Catheter-associated urinary tract infections." *International Journal of Antimicrobial Agents*, 17(4), 299–303. [DOI:10.1016/S0924-8579\(00\)00359-9](https://doi.org/10.1016/S0924-8579(00)00359-9)
- Whiteley, M., Lee, K. M., & Greenberg, E. P. (1999). Identification of genes controlled by quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(24), 13904–13909.
- Winson, M. K., Swift, S., Fish, L., Throup, J. P., Jørgensen, F., Chhabra, S. R., Bycroft, B. W., Williams, P., & Stewart, G. S. A. B. (1998). Construction and analysis of luxCDABE-based plasmid sensors for investigating N-acyl homoserine lactone-mediated quorum sensing. *FEMS Microbiology Letters*, 163(2), 185–192. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1998.tb13044.x>

Xavier, K. B., & Bassler, B. L. (2005). Interference with AI-2-mediated bacterial cell–cell communication. *Nature*, 437(7059), 750–753. <https://doi.org/10.1038/nature03960>

Zegans, M. E., et al. (2005). "The role of bacterial biofilms in ocular infections." *DNA and Cell Biology*, 24(5), 309-314. [DOI:10.1089/dna.2005.24.309](https://doi.org/10.1089/dna.2005.24.309)

Zhao, G., et al. (2013). "Biofilms and inflammation in chronic wounds." *Advances in Wound Care*, 2(7), 389-399. [DOI:10.1089/wound.2012.0381](https://doi.org/10.1089/wound.2012.0381)

Zhou, L., Zhang, Q., Zhang, Y., & Liu, J. (2020). Antimicrobial and anti-quorum sensing coatings based on quaternary ammonium salts for food packaging applications. *Food Packaging and Shelf Life*, 23, 100456. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2019.100456>

Zhu, J., Miller, M. B., Vance, R. E., Dziejman, M., Bassler, B. L., & Mekalanos, J. J. (2002). Quorum-sensing regulators control virulence gene expression in *Vibrio cholerae*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(5), 3129–3134. <https://doi.org/10.1073/pnas.052694299>

ملخص

في ظل الارتفاع المقلق في مقاومة المضادات الحيوية، لا سيما لدى *Pseudomonas aeruginosa*، أصبحت الحاجة إلى إيجاد استراتيجيات علاجية بديلة أمرًا ملحًا. يتناول هذا البحث تقنية كبح التراسل البكتيري (**Quorum Quenching - QQ**)، وهي مقاربة مبتكرة تهدف إلى تعطيل نظام الإحساس بالنصاب (**Quorum Sensing - QS**)، وهو نظام اتصال بين البكتيريا يتحكم في إنتاج عوامل الضراوة، وتكوين الأغشية الحيوية، وآليات المقاومة. تعتمد تقنية QQ على استخدام إنزيمات (مثل اللاكتوناز والأسايلاز) أو جزيئات مثبطة قادرة على تحطيم أو تعطيل الإشارات الكيميائية دون قتل البكتيريا مباشرة، مما يقلل من الضغط الانتقائي المؤدي إلى تطور المقاومة. يسلط هذا البحث الضوء على الآليات الجزيئية لتقنية QQ وتطبيقاتها ضد *P. aeruginosa*، خصوصًا في حالات العدوى المزمنة مثل التليف الكيسي، والجروح، والعدوى المرتبطة بالأجهزة الطبية، إضافة إلى دورها كعامل معزز لفعالية المضادات الحيوية. وعلى الرغم من الإمكانيات العلاجية الواعدة، لا تزال هناك تحديات قائمة، مثل استقرار الإنزيمات، الفعالية داخل الجسم الحي، والتصديق السريري. ويقترح هذا العمل بديلًا فعالًا ومستدامًا للمضادات الحيوية التقليدية، عبر استهداف سلوكيات البكتيريا الجماعية بدلًا من قتلها.

Abstract

In light of the alarming rise in antibiotic resistance, particularly in *Pseudomonas aeruginosa*, the search for alternative therapeutic strategies has become a pressing priority. This thesis explores **Quorum Quenching (QQ)**, an innovative approach aimed at disrupting **Quorum Sensing (QS)**—a bacterial communication system that regulates virulence, biofilm formation, and resistance mechanisms. QQ relies on the use of enzymes (lactonases, acylases) or inhibitory molecules capable of degrading or blocking chemical signals without directly killing the bacteria, thereby reducing the selective pressure that drives resistance. The study highlights the molecular mechanisms of QQ, its applications against *P. aeruginosa*—particularly in chronic infections such as cystic fibrosis, wounds, and medical device-related infections—as well as its advantages as a synergistic agent alongside antibiotics. Despite its promising therapeutic potential, several challenges remain, including enzyme stability, in vivo efficacy, and clinical validation. This work thus proposes a credible and sustainable anti-virulence alternative to conventional antibiotics, targeting bacterial collective behaviors rather than viability.

Résumé

Face à la montée alarmante des résistances aux antibiotiques, notamment chez *Pseudomonas aeruginosa*, la recherche d'approches thérapeutiques alternatives devient une priorité. Ce mémoire explore le **Quorum Quenching (QQ)**, une stratégie innovante qui vise à perturber le **Quorum Sensing (QS)** — un système de communication bactérienne régulant la virulence, la formation de biofilms et la résistance aux traitements. Le QQ repose sur l'utilisation d'enzymes (lactonases, acylases) ou de molécules inhibitrices capables de dégrader ou bloquer les signaux chimiques sans tuer directement les bactéries, limitant ainsi la pression sélective responsable de l'apparition de résistances. L'étude met en lumière les mécanismes moléculaires du QQ, ses applications contre *P. aeruginosa*, notamment dans les infections chroniques (fibrose kystique, plaies, dispositifs médicaux), ainsi que ses avantages comme agent synergique avec les antibiotiques. Malgré un potentiel thérapeutique prometteur, des défis persistent : stabilité enzymatique, efficacité in vivo, et approbation clinique. Ce travail propose ainsi une alternative anti-virulence crédible et durable aux antibiotiques traditionnels, en ciblant les comportements collectifs des bactéries plutôt que leur survie.