

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

المدرسة الوطنية العليا للبيطرة – الجزائر
ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE – ALGER

**PROJET DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLOME DE DOCTEUR VETERINAIRE**

**Intérêt des peptides antimicrobiens en
Médecine Vétérinaire**

Présenté par : M^{elle} BENMAAROUF Daouia Keltoum

Jury :

Président :	Dr MOHAMMEDI. D	Maître assistant classe A, ENSV
Promoteur :	Pr BEN-MAHDI M.H.	Professeur, ENSV
Examinatrice :	Dr AZZAG. N	Maître assistante classe A, ENSV
Examineur :	Dr MOUZALI. L	Maître assistante classe A, ENSV

Année universitaire : 2010-2011

REMERCIEMENTS

Tous mes remerciements et ma reconnaissance vont à Madame *BENMEHDI Meriem Hind*, Professeur à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger.

Elle m'a donné le courage de réaliser ce travail. Elle a surtout cru en moi malgré mon état, qu'elle soit remerciée pour tout l'espoir de vivre et la force de combattre qu'elle a su m'insuffler en plus de tout l'apport et l'assistance qu'elle m'a procurés. J'espère que je pourrais lui donner en retour un peu de satisfaction et avoir été à la hauteur de la confiance qu'elle a placée en moi. Merci encore

A Monsieur le *Dr MOHAMMEDI. D* de l'école Normale Supérieure Vétérinaire pour avoir bien voulu accepter la Présidence du jury.

A Madame le *Dr AZZAG.N* pour avoir bien voulu accepter d'être membre examinateur du jury

A Mademoiselle le *Dr MOUZALI. L* pour avoir bien voulu accepter d'être membre examinateur du jury.

A mes Parents

A ma *Mère* qui se réveillait tous les jours à quatre du matin pour me donner mes médicaments, qui me prenait sur son dos chaque fois que je ne pouvais marcher, qui a supporté mes humeurs. Quel amour ! Je t'aime Maman.

A mon *Père* : l'homme parfait, mon modèle de volonté, de courage, de réussite, je lui exprime ma vive gratitude et ma reconnaissance infinie pour tout son amour, sa patience, son soutien et pour m'avoir tout donné. Je t'aime Papa.

A mon *frère Fouad*, tu me reprochais souvent de me surmener, je sais que tu le faisais par amour pour moi.

A *OUSSAMA*, mon plus grand soutien, merci.

A mon *Oncle* pour son aide

A ma *Grand-mère*

Merci *Tata Safou* pour ta joie de vivre

Merci tata ZINA pour ta présence et ta gentillesse

A toute ma famille

Merci à *NASSIMA* de t'être si bien occupée de moi à l'hôpital

A *Fatima YAHIAOUI*, ton stress m'a aidé à supporter le mien, merci pour ta disponibilité et ton aide. Quelle patience tu as eu avec moi.

A *Amína LAIB*, malgré ta petite taille, tu as pu me soutenir dans mes déplacements, merci pour ta disponibilité et ta patience.

A *Hadjira KSOURI*, merci à toi pour ton soutien et l'aide que tu m'as apportés.

A *Nesrine MEROUCHE* pour ton soutien moral.

A tous mes Collègues et Amis.

Mes remerciements à *Dr Khatima AIT AOUDIA*, pour le soutien et la patience qu'il m'a prodigué.

A Madame *DJALLOUT .B*, Madame le professeur *AISSI.M*; Monsieur *ZOUANI.M* qui m'ont été d'une aide précieuse dans la réalisation de mon travail.

Merci à tonton *Abdelkrim AIT MOHAMMED*, pour son amour et soutien.

Merci à Tonton *Madjid BOUHAHA* pour toutes les surprises qu'il m'a faites

Merci à tonton *RAHMOUNE* pour son soutien.

Merci à tonton *DJEMAI* et Tontons *BOUMEDIENE et KOURDALI*,

Sans oublier BRAHIMI Saïd, GUEDOUARI Khaled et OGET Robert

Merci Mademoiselle *MANSOURI Myriam* pour le réconfort, l'aide et l'amour que vous m'avez apportés.

Merci Madame *LERARI Zineb* pour votre aide et patience.

Mes remerciements Messieurs *Rachid KOUICI, AISSAOUI Oussama, Hamid*

Merci d'aimer les animaux et moi avec.

LISTE DES ABBREVIATIONS

°C : Degré Celsius

µg: Microgramme

µl : microlitre

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ARN: Acide Ribonucléique

ATP: Adénosine triphosphate

APD: Antimicrobial peptide Database

AMSDb : Antimicrobial Séquence Database

UI: Unité Internationale

ATB : Antibiotique

PAMs : Peptides antimicrobiens

BHIB : Brain Heart Infusion Broth

CBM : Centre Bio-Médical

CHU : Centre Hospitalo-universitaire

CNRS : Centre National de Recherche Scientifique

INSERM : Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale

IP : Indice d'irritation Primaire

KDA : Kilo Dalton

Mm : Millimètre

OIE : Organisation Internationale des Epizooties

NRPS : Non Ribosomiale Peptide Synthétase

HIV : Human Immunodéficience Virus

PH : potentiel Hydrogène

E. coli : Escherichia coli

C. albicans : Candida albicans

LPS : Lypopolysaccharide

FDA : Food, Drug and Alimentation

SA : Société anonyme

Ltd : Limited

EU : Etats Unis d'Amérique

TABLE DES ILLUSTRATIONS (1)

Partie Bibliographique

Liste des tableaux

Tableau I :	Exemples de peptides linéaires en hélice α identifiés chez les arthropodes, poissons, amphibiens et mammifères.....	6
Tableau II :	Exemples de peptides cycliques contenant trois ou quatre ponts disulfures identifiés chez les arthropodes, les crustacés, les nématodes, les oiseaux, les mammifères et poissons.....	11
Tableau III :	Exemples de peptides riches en certains acides aminés identifiés chez les arthropodes et les mammifères.....	12
Tableau IV :	Mécanismes d'action de quelques peptides antimicrobiens.....	20
Tableau V :	Peptides antimicrobiens cationiques en développement clinique.....	24

Liste des figures

Figure 1 :	Schéma des relations spécifiques entre peptide antimicrobien et les membranes d'organismes pluricellulaires animaux et des bactéries.....	14
Figure 2 :	Le modèle « Barrel Stave ».....	16
Figure 3 :	Le modèle « Carpet ».....	17
Figure 4 :	Le modèle « Toroidal-pore_».....	18
Figure 5 :	Différents mécanismes d'action des antimicrobiens sans interaction avec la membrane bactérienne.....	19

TABLE DES ILLUSTRATIONS (2)

Partie Expérimentale

Liste des tableaux

Tableau I :	Souches étudiées et antibiotiques testés.....	26
Tableau II :	Milieus et Matériels utilisés.....	27
Tableau III :	Evaluation de l'apparition d'œdème et d'érythème selon une échelle numérique	32
Tableau IV :	Résultats de l'antibiogramme de <i>Staphylocoque aureus</i>	33
Tableau V :	Résultats de l'antibiogramme de <i>Salmonella sp.</i>	34
Tableau VI :	Résultats de l'antibiogramme d' <i>Enterobacter sp.</i>	35
Tableau VII :	Résultats de l'antibiogramme d' <i>E.coli</i>	36
Tableau VIII :	Tableau de détermination de l'indice d'irritation primaire cutanée (IP)	38
Tableau IX :	Tableau des résultats obtenus pour le test de tolérance cutanée	39

Liste des figures

Figure 1 :	Procédure générale de réensemencement des souches bactériennes	28
Figure 2 :	Disposition des disques d'antibiotiques et de peptides.....	30
Figure 3 :	Résultats de l'Antibiogramme de <i>Staphylococcus aureus</i>	34
Figure 4 :	Résultats de l'antibiogramme de <i>Salmonella sp.</i>	35
Figure 5 :	Résultats de l'antibiogramme d' <i>Entérobacter sp.</i>	36
Figure 6 :	Résultats de l'antibiogramme d' <i>E.coli</i>	37
Figure 7 :	Résultats de l'application des PAMs sur <i>C. albicans</i>	38
Figure 8 :	Résultats de l'application des peptides sur les lapins	39

SOMMAIRE

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Les peptides antimicrobiens acteurs clé de l'immunité innée	3
II. Présentation générale des peptides antimicrobiens.....	4
III. Classification des peptides antimicrobiens.....	5
III.1. Les peptides antimicrobiens cationiques.....	6
III .1.1. Peptides cationiques linéaires formant une hélice α	6
III.1.2. Les peptides cycliques riches en cystines à points disulfure.....	8
III.1.2.a. Peptides contenant un seul pont disulfure.....	8
III.1.2.b. Peptides contenant deux ponts disulfure.....	9
III.1.2.c. Peptides contenant trois ou quatre ponts disulfure	9
III.1.3. Les peptides riches en acides aminés spécifiques.....	10
III.1.4 Les peptides contenant des acides aminés rares	13
III.2. Les peptides antimicrobiens non cationiques.....	14
IV- MECANISMES D'ACTION	14
IV.1. Mécanismes d'action membranaire.....	
IV.1.1. Le Modèle « Barrel Stave » ou « Douve de tonneaux ».....	16
IV.1.2. Le Modèle « Carpet » ou « Tapis ».....	17

IV.1.3. Le Modèle « Pores toroïdaux » ou « Toroidal-pore ».....	17
IV.2. Mécanisme d'action intra- cellulaire.....	18
V. Les mécanismes de la résistance bactérienne aux PAMs.....	21
VI. Peptides antimicrobiens en développement clinique.....	22

ETUDE EXPERIMENTALE

I. Objectifs.....	25
II. Etude de l'efficacité des PAMs <i>in vitro</i>	25
II.1. Matériels et méthodes.....	25
II.1.1. Microorganismes étudiés	25
II.1.2. Anti-infectieux étudiés.....	25
a. PAMs.....	25
b. Antibiotiques.....	26
II.1.3. Matériels et instruments.....	27
II.1.4. Préparation des souches étudiées.....	27
a. <i>Staphylococcus aureus</i>	28
b. Entérobactéries.....	29
c. <i>Candida albicans</i>	29
II.2. Antibiogramme.....	29
II.2.1. Préparation des disques d'antibiotiques.....	29
II.2.2. Réalisation de l'antibiogramme.....	30
II.3. Lecture des résultats.....	31
III. Etudes de l'évaluation de la tolérance cutanée des peptides <i>in vivo</i>	31

III.1. Matériels et méthodes.....	31
a. Matériels	31
b. Méthodes	31
c. Lecture et interprétation de l'essai.....	32
IV. Résultats.....	33
IV.1. Résultats de l'antibiogramme.....	33
a. <i>Staphylococcus aureus</i>	33
b. <i>Salmonella sp</i>	34
c. <i>Enterobacter sp</i>	35
d. <i>E. coli</i>	36
e. <i>Candida albicans</i>	37
IV.2. Résultats du test de la tolérance cutanée.....	38
Discussion	40
Conclusion	44
Références Bibliographiques	
Annexes	

Partie Bibliographique

INTRODUCTION

L'utilisation souvent abusive et inconsidérée des antibiotiques (ATB) à titre curatif, prophylactique ou encore zootechnique a fortement contribué à l'apparition de germes pathogènes résistants aux antibiotiques conventionnels **(Hoffmann et al, 1999)**.

Le développement constant de ces résistances pose un problème majeur dans la lutte contre les agents infectieux, et compromet l'avenir de ces substances en thérapeutique. La nécessité de trouver de nouveaux agents anti-infectieux est devenue par conséquent l'un des enjeux majeurs de la recherche et de l'industrie pharmaceutique **(Zasloff, 2002)**.

Une des voies d'avenir est sans aucun doute celle qui s'appuie sur le séquençage des génomes microbiens et sur leur analyse fonctionnelle. Une autre voie plus classique et toujours aussi prometteuse et celle de la caractérisation de molécules naturelles douées de propriétés anti-infectieuses **(Dimarcq et al, 2007)**.

Dans cette optique, la découverte chez les animaux de peptides endogènes présentant des propriétés antibactériennes avec des structures très différentes des ATB classiques offre des perspectives nouvelles **(Brogden et al, 2003)**. Ces peptides antimicrobiens synthétisés par l'organisme lui-même, sont des effecteurs de l'immunité innée contribuant à la première ligne de défense de l'organisme, ils se profilent comme étant des candidats particulièrement originaux avec lesquels il faudra compter à l'avenir **(Reddy et al, 2004)**. Les caractéristiques de leurs structures et modes d'action peuvent servir de modèle et conduire à terme à la production de nouvelles classes d'antibiotiques originaux, utilisables en thérapeutique **(Hancock et al, 2002)**.

Le présent manuscrit a eu par conséquent pour principal objectif l'étude de l'intérêt des peptides antimicrobiens en médecine vétérinaire, pour ce faire il a été scindé en deux parties :

- Une première partie bibliographique qui se veut une synthèse des données actuelles sur les peptides antimicrobiens (origine, synthèse, modes d'actions, différentes utilisations...)
- La seconde partie consacrée à l'étude expérimentale, a porté d'une part sur l'évaluation de l'efficacité de deux peptides antimicrobiens isolés de peau d'amphibiens sur le souche bactérienne *Staphylococcus aureus*, et sur les genres *Salmonella sp.*, *Enterobacter sp.*, *E.coli* , ainsi que sur le champignon *Candida albicans* et d'autre part sur l'évaluation de leur toxicité cutanée sur des lapins albinos. Les matériels utilisés et les méthodes adoptées lors de notre étude expérimentale y seront détaillés et les résultats obtenus présentés et discutés.

I. LES PEPTIDES ANTIMICROBIENS ACTEURS CLE DE L'IMMUNITE INNEE

Tout organisme vivant est constamment exposé à des agents potentiellement pathogènes à travers le contact, l'injection et l'inhalation (**Reddy et al, 2004**). La survie de ces organismes dans un milieu hostile dépend de leurs moyens de défense (**Bals, 2000**).

Au cours de l'évolution, deux systèmes de défenses immunitaires ont été sélectionnés : l'immunité innée et l'immunité adaptative ou acquise (**Hoffmann et al, 1999**).

L'immunité adaptative n'existe que chez les vertébrés et présente deux caractéristiques essentielles : la spécificité de reconnaissance et la mémoire (**Kindt et al, 2008**).

La différence entre les réponses immunitaires innées et adaptatives est principalement liée aux mécanismes de reconnaissance des microorganismes. Dans le processus d'immunité innée, la reconnaissance est médiée par des récepteurs dont la spécificité est génétiquement déterminée dès la naissance, d'où le terme « innée » et n'est pas modifiable (**Male et al, 2007**).

Le spectre de reconnaissance de ces récepteurs est dirigé contre des motifs structuraux microbiens largement répandus chez les micro-organismes, mais absents des cellules de l'hôte (**Dziarski, 2003**).

L'immunité adaptative est le type de défense qui est stimulée par les microbes qui envahissent le tissu, c'est-à-dire qu'elle s'adapte à la présence de micro organisme invasifs (**Abul et al, 2005**). Le problème inhérent à la réponse immunitaire acquise est celui de la durée de la réaction de défense. En effet, il faut compter trois à cinq jours pour que le système acquiert sa pleine efficacité, ce qui donne largement le temps aux pathogènes de nuire à l'hôte. Là encore l'immunité innée joue un rôle crucial par ses mécanismes effecteurs (phagocytose, peptide antimicrobiens, voies alterne et lectine du complément, par exemple) qui sont activés dès le début de l'infection et contrôlent de façon quasi immédiate la prolifération des pathogènes. La réponse adaptative devient en mesure de prendre le relais chez les vertébrés à l'issue de cette période (**Male et al, 2007**).

Tous les organismes dépourvus d'un système immunitaire adaptatif (invertébrés) disposent pour survivre d'un système inné efficace contre un grand nombre de microorganismes, basé sur la production rapide de peptides pourvus d'une forte activité antimicrobienne et

antifongique. Ce système de défense sans mémoire, mais peu sélectif, a d'abord été découvert chez les insectes et les amphibiens (**Zazloff, 2002**).

Le système immunitaire inné est apparu au fil des études beaucoup plus complexe qu'il n'y paraissait au début, mais on peut affirmer que, de la bactérie aux mammifères supérieurs, chaque espèce possède dans son patrimoine génétique les moyens de se protéger en produisant ses propres antibiotiques (**Lehrer et al, 1999**).

II. PRESENTATION GENERALE DES PEPTIDES ANTIMICROBIENS

Les peptides antimicrobiens sont considérés comme des éléments clefs du système immunitaire inné des organismes multicellulaires (**Reddy, 2004 ; Zampa et al, 2009 ; Zazloff, 2002**), animaux et végétaux (**Dimarcq et al, 2007**).

Conventionnellement, les peptides antimicrobiens sont décrits comme des molécules de petite taille (6-50 résidus acides aminées) avec une masse moléculaire inférieure à 10 KDA (**Chinchar et al, 2004 ; Male et al, 2007**).

Au cours des deux dernières décennies, plusieurs peptides antimicrobiens ont été isolés à partir d'une grande variété d'animaux invertébrés et vertébrés, de plantes ainsi qu'à partir de champignons et de bactéries (**Sugiarto et al, 2004 ; Reddy et al, 2004**).

Les peptides anti microbiens sont largement distribués dans certaines zones stratégiques, plus particulièrement exposées à l'environnement extérieur, comme la peau, les voies respiratoires, le tractus gastro-intestinal et l'appareil urogénital (**Devine, 2003**). Ils sont également retrouvés dans la circulation (lymphe, sérum), le corps gras des insectes et dans les sécrétions telles que le liquide séminal, le lait et la sueur (**Reddy et al, 2004**).

Au niveau cellulaire, ces molécules sont produites principalement par les cellules immuno-inflammatoires, (notamment les neutrophiles monocytes, macrophage, lymphocytes et les cellules dendritiques) et par les cellules épithéliales des muqueuses comme les cellules de Paneth intestinales et les kératinocytes cutanés (**Brogden et al, 2003**).

Selon les organismes considérés, l'expression des gènes codant pour les peptides antimicrobiens se fait soit de manière constitutive dans des cellules sécrétrices (la plupart des cas), soit de façon inductible par des infections ou des stimuli inflammatoires (**Schroder et al,**

2006 ; *Dimarcq et al, 2004*). Les insectes font exception à la règle puisqu'ils sont les seuls à produire des peptides antimicrobiens dans le cadre d'une réponse systémique inductible (*Hoffmann et al, 1999*).

De manière générale, les peptides antimicrobiens sont synthétisés comme des protéines, au travers du cycle classique de la transcription de l'information génétique, on parlera dans ce cas de peptides ribosomiaux (*Karp, 1996*). Il est à noter toutefois que certaines bactéries et certains champignons produisent des peptides par voie non ribosomiale en faisant appel à de gros complexes multi enzyme de type non ribosomal peptide synthétase (NRPS) (*Finking & Marahiel, 1996 ; Sieber & Marahiel, 2003*).

Les peptides antimicrobiens sont connus par leur fonction antimicrobienne, qui consiste en l'élimination des pathogènes qui envahissent l'organisme. Ils sont actifs contre les bactéries Gram⁺ et Gram⁻, les champignons, les levures, les parasites et certains virus enveloppés (*Zasloff, 2002 ; Dimarcq et al, 2007*). Par ailleurs certains peptides présentent une cytotoxicité envers les cellules cancéreuses (*Brogden, 2005*).

En plus de ces fonctions ; ils jouent des rôles multiples en tant que médiateurs de l'inflammation (*Yang et al, 2002 ; Salz et, 2002*). Ils influencent divers processus comme la libération de cytokines (*Cole, et al, 2005*), la prolifération cellulaire, l'angiogénèse, la cicatrisation, le chimiotactisme, l'induction immune ou encore l'équilibre entre l'activité des protéases et celles de leurs inhibiteurs (*Beisswenger & Bals, 2005*).

La grande diversité des peptides antimicrobiens reflète probablement l'adaptation des espèces aux pathogènes présents dans les niches écologiques très diverses qu'elles occupent associés aux microbes contenus dans leur alimentation (*Simmaco et al, 1998 ; Boman, 2000*).

III. CLASSIFICATION DES PEPTIDES ANTIMICROBIENS

A l'heure actuelle, plus de 1200 peptides à activité antimicrobienne d'origines diverses ont été identifiés (*Lai & Gallo, 2009*). Ils présentent une grande diversité structurale et la majorité d'entre eux a été répertoriée dans des bases de données comme :

- Antimicrobial séquence Database (AMSDb) ;
<http://www.bbcm.univ.trieste.it/~tossi/amsdb.html>
- Antimicrobial Peptide Database (APD) ; <http://aps.unmc.edu/AP/main.php>
- Antimic ; <http://research.i2r.a-star.edu.sg/Templar/DB/ANTIMIC/>

(*Brahmachary et al. 2004*)

Ces peptides sont actuellement classés selon leurs caractéristiques structurales et leur richesse remarquable en certains acides aminés (**Bulet et al, 2004**).

Il est ainsi possible de distinguer deux grandes familles de peptides :

- **Des peptides antimicrobiens cationiques, classés en quatre grands groupes :**
 - Peptides cationiques linéaires formant une hélice α , amphiphiles ;
 - Peptides cycliques riches en cystéines, à ponts disulfure ;
 - Peptides riches en acides aminés spécifiques ;
 - Peptides contenant des acides aminés rares modifiés ;
- **Des peptides non cationiques**
 - Anioniques
 - Aromatiques
 - Dérivés des protéines liées à l'oxygène.

III.1. Les peptides antimicrobiens cationiques

Ils sont constitués principalement de molécules de petite taille dont un grand nombre d'entre elles ont des séquences riches en résidus arginine et/ou lysine leur permettant d'acquérir une charge globale positive d'où leur nom de peptides cationiques (**Lehrer et al, 1999**). Ils se retrouvent surtout chez les animaux domestiques et ils varient beaucoup dans leur composition, structure et distribution selon les espèces (**Nicolas et al, 1995**).

III.1.1. Peptides cationiques linéaires formant une hélice α

Cette famille regroupe plusieurs centaines de peptides, qui ont été isolés chez une grande variété d'espèces allant des invertébrés aux mammifères (**Park et al, 2000**). Ils sont les plus étudiés du fait de leur découverte précoce par rapport aux autres peptides antimicrobiens, mais aussi en raison de leur structure simple qui facilite leur synthèse et leur mode d'action (**Dimarcq et al, 2007**).

Leur spectre d'activité est très large et s'étend aux bactéries, champignons et protozoaires. Certains sont hémolytiques ou cytotoxiques (**Bulet et al, 2004**).

Le tableau I présente quelques peptides en hélice α identifiés chez les arthropodes, poissons, amphibiens et mammifères.

TABLEAU I : Exemples de peptides linéaires en hélice α identifiés chez les arthropodes, poissons, amphibiens et mammifères

		ORIGINE	ORGANISME	NOM	ACTIVITE
Linéaires	Hélice- α	Arthropodes	. Mite de la soie Hyalophora cecropia	Cécropine A	B, V, F, P, M, T
			. Abeille Api mellifera	Mélistine	B, V, F, H, T
			. Araignée Cupiennus salei	Cupiennine	B, I, H
		Poissons	. Sole Pardachirus marmeratus	Pardaxine	B
			. Poisson chat Parasiburus asotus	Parasime	B, L**
		Amphibiens	. Xenope Xenopus Laevis	Magainime	B, P, T, contraceptive
			. Rainette Phyllomedusa	Dermaceptine	B, V, P, L
			. Crapaud sonneur à ventre jaune Bombina variegata	Bombinine	B
			. Grenouille verte Rana esculenta	Temporine	B, H, F
			. Crapaud Bufo bufo	Buforine	B, F
		Mammifères	. Animaux Domestiques Lapin → Bovin → Ovin → Equin → Porc → . Homme Homo Sapiens	*Cathélicidines CAP 18 BMAP 28 SMAP 29 e.CATH cecropine P1 *Cathélicidine LL-37	B, F

B : Antibactérienne

I : Insecticide

M : Anti métazoaire

F : Antifongique

H : Hémostatique

T : Anti tumorale

V : Antivirale

P : Anti protozoaire

L : Anti levure

(D'après Zasloff, 2002 ; Reedy et al, 2004 ; Dimarcq & Andrés, 2007 ; Schroder et al, 2006 ; Chinchar et al, 2004 ; Brogden et al, 2003)

III.1.2. Les peptides cycliques riches en cystines à ponts disulfure

Ces peptides cycliques riches en cystéines représentent le 2^{ème} grand groupe de peptides antimicrobiens. Ils sont généralement plus longs que les peptides en hélice α et peuvent ainsi adopter une grande variété de formes (**Brogden, 2005**).

Selon le nombre de résidus cystéines, ces peptides adoptent une structure en feuillet β , une conformation en «épingle à cheveux» rigide (β -hairpin-like) maintenue par des ponts disulfure, ou encore des structures mixtes contenant à la fois des hélices α et des feuillets β (**Reddy et al, 2004**).

Les représentants de cette famille ont été identifiés dans tout le règne animal à la fois chez les vertébrés, et chez les invertébrés, mais aussi dans le règne végétal (**Bulet et al, 2004 ;Dimarcq et al, 2004**).

NB : Les défensines sont le groupe le plus représentatif de cette catégorie de peptides.

En fonction du nombre de ponts disulfure, de leur forme, ces peptides sont répartis en plusieurs sous-groupes :

III.1.2.a. Peptides contenant un seul pont disulfure

Les peptides de ce sous-groupe sont composés des plus petits peptides présentant des structures β -hairpin-like rigides. Le **tableau II** présente plusieurs exemples de peptides cycliques contenant un pont disulfure identifié chez les insectes, amphibiens et mammifères.

On peut citer à titre d'exemple:

- La thanatine isolée chez une punaise, seul représentant de cette famille chez les insectes, montrant le plus large spectre d'activité chez les arthropodes avec une activité antibactérienne, à la fois sur les bactéries à Gram⁺ et à Gram⁻ ainsi qu'une activité antifongique et anti levure (**Bulet et al, 2004**).
- La bactinicine est le seul peptide de ce sous-groupe identifié chez les mammifères. Il est actif à la fois sur les bactéries à Gram⁺ et à Gram⁻ (**Bulet et al, 2004 ; Ganz & Lehrer, 1998**).

III.1.2.b. Peptides contenant deux ponts disulfure

Ces peptides contiennent quatre résidus cystéines engagés dans deux ponts disulfure internes engendrant une forme β -hairpin-like (*Bulet et al, 2004*).

Le tableau II : illustre plusieurs exemples de peptides cycliques contenant deux ponts disulfure identifiés chez les arthropodes et les mammifères.

Nous pouvons citer à titre d'exemple :

- L'androctonine isolée chez le scorpion *Androctonus australis* qui est active sur les bactéries Gram⁺ et Gram⁻, les levures et les champignons (*Ehret-Sabatier et al, 1996*).
- La gomésine a été isolée de l'araignée *Acanthoscuria gomesina* (*Silva et al, 2000*). C'est un puissant antibactérien, anti levure, antifongique et actif contre *leishmania* (*Yasin et al, 2000*).
- Les Protégrines : seuls représentants de ce sous-groupe chez les mammifères isolés dans les leucocytes du porc. Elles sont actives sur les bactéries Gram⁺ et Gram⁻, les champignons, levures (*C.albicans*) et certaines virus enveloppés (HIV) (*Yasin et al, 2000*).

III.1.2.c. Peptides contenant trois ou quatre ponts disulfure

Ces peptides sont constitués principalement de la famille des défensines qui ont été isolées pour la 1^{ère} fois en 1983 à partir de macrophages présents dans les poumons du lapin (*Selested et al, 1983*). Leur structure tridimensionnelle est constituée d'un domaine en hélice α et de deux feuillets β antiparallèles stabilisés par les ponts disulfures (*Sugiarto et al, 2004*). Plus de soixante dix (70) défensines ont été isolés aussi bien chez les insectes, les crustacés, les tiques, les scorpions, les araignées, les mollusques et les nématodes. Elle constitue la famille la plus représentée chez les invertébrés (*Bulet et al, 1999 ; Dimarcq et al, 2007*).

Les défensines d'invertébrés sont principalement actives contre les bactéries à Gram⁺, leur activité est nettement plus limitée contre les bactéries à Gram⁻ et les champignons. Seules quatre défensines d'insectes sont strictement antifongiques: la drosomycine chez *Drosophila mélanogaster* (*Fehlbaum et al, 1999*), l'héliomicine chez *Heliothis virescens* (*Lamberty et al, 1999*), la termicine de *Pseudacanthotheses spiniger* et la gallérimicyne chez *Gralleria mellonella* (*Schuhman et al, 2003*).

Chez les vertébrés, les défensines sont classées en deux sous-familles de type α ou β ; Les défensines α sont présentes chez de nombreux vertébrés comme l'homme, le singe et les rongeurs. Elles sont abondantes dans les granules azurophiles des neutrophiles, dans les cellules intestinales de Paneth, dans le vagin et les trompes de Fallope. Les défensines β existent chez les oiseaux, reptiles et marsupiaux, on les trouve dans les tissus épithéliaux comme le tractus génito-urinaire, la peau, le tractus respiratoire, les granulocytes et dans l'estomac du pingouin royal (**Brogden et al, 2003**).

Le tableau II présente plusieurs exemples de peptides cycliques contenant trois ou quatre ponts disulfure identifiés chez les arthropodes, les crustacés, les nématodes, les oiseaux, les mammifères et poissons.

On peut citer notamment la pénaeidine isolée du plasma et des hématies des crevettes *Penaeus vannamei* qui présente une activité antibactérienne (Gram⁺, Gram⁻) et antifongique (**Destoumieux et al, 1997**).

III.1.3. Les peptides riches en acides aminés spécifiques

Ce troisième grand groupe de peptides rassemble des peptides linéaires dont les séquences primaires sont particulièrement riches en un ou deux acides aminés, tel que l'arginine, le tryptophane, la phénylalanine, l'histidine, la glycine ou la *proline* (**Brogden et al, 2003**).

Le tableau III illustre plusieurs exemples de peptides riches en certains acides aminés identifiés chez les arthropodes et les mammifères.

On peut citer parmi ces peptides : l'abaécine qui est riche en proline, isolé à partir de l'abeille *Apis mellifera* (**Casteels et al, 1990**).

Chez les mammifères certains peptides riches en tryptophane comme l'indolicidine isolée à partir des neutrophiles de bovins a une activité antibactérienne Gram⁺ et Gram⁻, antifongique et antivirale (**Selsted et al, 1992**).

TABEAU II : Exemples de peptides cycliques contenant un, deux et trois ou quatre ponts disulfure identifiés chez les arthropodes, les crustacés, les nématodes, les oiseaux, les mammifères et poissons.

		ORIGINE	ORGANISME	NOM	ACTIVITE
Peptides Cycliques	1 pont disulfure	insectes	. Punaise : Podisus maculiventris	Thanatine	B, F, L
		Amphibiens	.Rana esculenta : Grenouille verte	Esculentine	B, F, H
		Mammifères	.Bovin : Bos torus (neutrophiles)	Bactenecine	B
	2 ponts disulfure	Arthropodes	. Limule : Tachypleus Tridentatus	Tachypliesine	B, L, V, H
			. Scorpion : Androctonus australis	Androctonine	B, F
			. Araignée : Acanthoscuria gomesiana	Gomesine	B, F, L, P, H
		Mammifères	. Porc : Sus Scrofa	Protégrine	B, F, L, V
	3 ou 4 ponts disulfure	Arthropodes	. Glossina morsitans : Mouche	Défensime	B, F, P
			. Ornithodoros moubata : Tique	Défensime	B, F, P
			. Héliothis virescens : mite	Heliomicine	F
			. Drosophila melanogaster : Drosophile	Drosomycine	F
			. Anopheles gambiae : Anophèle	Gambicine	B, F, P
		Crustacés	. Penaeus Vannamei : crevette	Pénaeidine	B, F
		Nématodes	. Ascaris suum : Ascaris	ASABF	B
		Oiseaux	. Aptenodyte patagonicus : pingouin	pBD –2, sphe–2	B
		Mammifères	. Oryctolagus cuniculus : lapin	Défensine (NP-5)	B
			. Homo Sapiens : Homme	-Défensine	B, F, V
			. Macaca mulatta : Macaque	Défensine	B
		Poissons	. Morone chrysops : Bars	Hepcidine	B

B : Antibactérienne

H : Hémolitique

T : Anti tumorale

F : Antifongique

P : Anti protozoaire

L : Anti levure

V : Antivirale

(D'après Zasloff, 2002 ; Reedy et al, 2004 ; Dimarcq & Andrés, 2007 ;
Schroder et al, 2006 ; Chinchar et al, 2004 ; Brogden et al, 2003)

TABLEAU III : Exemples de peptides riches en certains acides aminés identifiés chez les arthropodes et les mammifères.

			ORIGINE	ORGANISME	NOM	ACTIVIT E
Peptides Linéaires	Riches en certains acides aminés	Arthropodes	Riches en proline (P)	. Abeille Apis mellifera	Abaecine	B
				Mouche Drosophila melanogaster	Droscine	B
				Punaise : Pyrhocorus apterus	Pyrhocoricine	B
			Riches en Glycine (G)	. Diptères . Lépidoptères . Hyménoptères . Coléoptères . Hémiptères	Diptéricine	B
				. Hyalophora gloveri Mite	Glovérine	B
		Mammifères	Riches en histidine (H)	. Homme homo sapiens	Histatine	B, F
			Riches en proline (P)	. Neutrophiles Bovin	Bacténécine	B
			Riches en tryptophane (T)	. Bovins	Indolicidine	B, F, V
			Riches en proline et en Arginine	. Porc	PR- 39	B

*B : Antibactérienne**F : Antifongique**V : Antivirale*

(D'après Zasloff, 2002 ; Reedy et al, 2004 ; Dimarcq & Andrés, 2007 ; Schroder et al, 2006 ; Chinchar et al, 2004 ; Brogden et al, 2003)

III.1.4 Les peptides contenant des acides aminés rares modifiés

Ces peptides sont considérés comme non communs dans la mesure où ils sont composés d'acides aminés modifiés. Ce groupe est représenté par les lantibiotiques (classe I des bactériocines) et les microcines (bactériocines de bactérie à Gram⁻) (*Jack & Jung, 2000 ; Gillor et al, 2004*).

Les lantibiotiques sont des peptides antimicrobiens produits par des bactéries à Gram⁺. Ces peptides diffèrent des autres bactériocines par la présence de résidus lanthionines (*Willey & Van Der Douk, 2007*).

Ces résidus originaux résultent de modifications post traductionnelles de peptides précurseurs codés par des gènes structuraux. La molécule la plus représentative de cette classe est la nisine découverte en 1927. Elle est produite par la bactérie à Gram⁺ *Lactococcus lactis* et est utilisée à l'heure actuelle comme conservateur alimentaire (E234) (*Cotter et al, 2005 ; Ross et al, 2002*). La nisine est active sur les bactéries à Gram⁺ uniquement (*Wiedemann et al, 2001*).

Les microcines sont des peptides antimicrobiens issus de la classe des bactériocines produits par des bactéries à Gram⁻. Ce sont des peptides généralement hydrophobes présentant une grande stabilité à la chaleur, aux pH extrêmes et aux protéases (*Duquesne et al, 2007*).

Les microcines subissent des modifications post-traductionnelles durant leur biosynthèse. Nous citerons à titre d'exemple la microcine B17 produite par *E.Coli* (*Parks et al, 2007*).

III.2. Les peptides antimicrobiens non cationiques

Leur activité antimicrobienne est beaucoup plus faible que celle des peptides cationiques et ni leur rôle physiologique ni leur mode d'action n'ont été élucidés, sans doute différents de celui des peptides cationiques. Ils intéressent cependant les chercheurs car ils pourraient servir de base de recherche pour développer de nouveaux dérivés synthétiques (*Boman, 2003*).

Les peptides non cationiques regroupent :

- Les peptides anioniques ;
- Les peptides aromatiques ;
- Les peptides dérivés des protéines liant l'oxygène.

IV- Mécanismes d'action

Les peptides antimicrobiens possèdent un très large spectre d'activité et une rapidité d'action remarquable (**Reddy et al, 2004**). La plus part d'entre eux agissent directement sur la membrane des microorganismes, tandis que d'autres ont une action sur des éléments intracytoplasmiques comme l'ADN, l'ARN et les protéines cytoplasmiques afin d'inhiber leur synthèse (**Park et al, 2000**).

IV.1. Mécanismes d'action membranaire

L'action des peptides antimicrobiens requiert une reconnaissance spécifique des cellules microbiennes, ce qui leur permet la distinction entre les cellules infectieuses et les cellules de l'hôte (**Zazloff, 2002**).

En effet, les membranes des microorganismes sont organisées de telle façon que, le feuillet externe de leur bicouche soit fortement occupé par des lipides dont les têtes polaires sont chargées négativement (**Figure 1**). En revanche, le feuillet externe des membranes des organismes multicellulaires est composé, principalement, de lipides et de cholestérol sans aucune charge nette (**Matsugaki, 1999**).

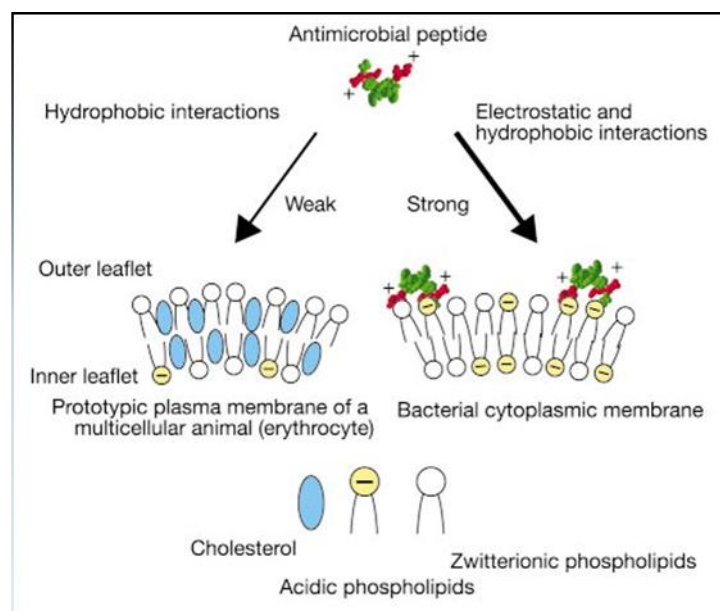


Figure 1 : Schéma des relations spécifiques entre peptide antimicrobien et les membranes d'organismes pluricellulaires animaux et des bactéries (**Zasloff, 2002**)

Plusieurs étapes peuvent être distinguées dans le mécanisme d'action des PAMs sur les membranes.

1^{ère} étape : Attraction

C'est l'étape préalable à toute interaction. C'est aussi au cours de celle-ci qu'a lieu la sélectivité des PAMs pour les cellules cibles (**Brogden, 2005**).

La majorité des PAMs sont attirés de façon électrostatique par les phospholipides chargés négativement des membranes des microorganismes (**Silvestro et al, 1997**). On peut citer à titre d'exemple, les PAMs cationiques qui sont attirés par les charges négatives des phospholipides anioniques et des groupes phosphates des lipopolysaccharides des bactéries Gram négatives et par les acides teichoïques des bactéries Gram positives (**Scott et al, 1999**).

2^{ème} étape: Attachement

Une fois à proximité de la membrane, les PAMs doivent traverser la capsule polysaccharidique qui contient des lipopolysaccharides dans le cas des bactéries Gram négatives et des polysaccharides, des acides teichoïques et des acides lipotéichoïques dans le cas des bactéries Gram positives avant de pouvoir interagir avec la membrane externe. Après avoir franchi cette première barrière, les peptides peuvent interagir avec la membrane (**Brogden, 2005**).

Des études ont montré que les PAMs, en interaction avec différents types de lipides, ont deux états de fixation à la membrane ; un état de surface, appelé « état S » et un état de formation de pore appelé « état I » (**Huang, 2004**).

Pour de faibles ratios peptides/lipides, les peptides sont à plat sur la membrane, cette configuration correspond à l'« état S » qui est un état inactif et qui provoque un amincissement de la membrane (**Chen et al, 2003**). Le degré d'amincissement de la membrane est étroitement lié à la concentration en peptide et à la valeur de la constante élastique de la membrane (**Ludtke et al, 1995**).

3^{ème} étape: Insertion

A faible ratios peptides/lipides, les peptides sont dans l'« état S » orientés parallèlement à la membrane (**Yang et al, 2001**). Pour des ratios peptides/lipides élevés, les peptides sont orientés perpendiculairement à la membrane et s'insèrent dans la membrane. Ils forment alors des pores transmembranaires, c'est l'« état I » similairement à l'« état S », l'« état I » varie en

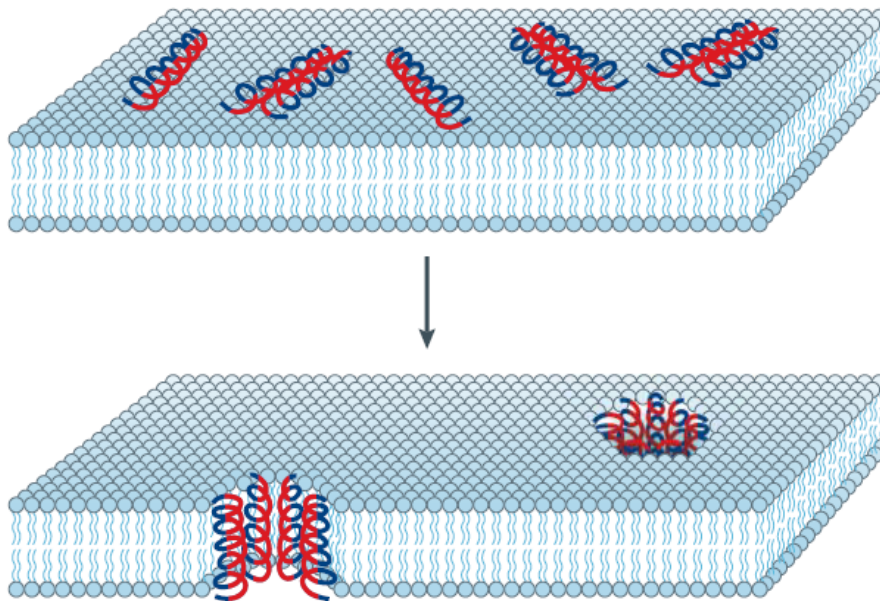
fonction du peptide et de la composition lipidique de la membrane cible (**Brogden, 2005**). Pour expliquer la perméabilisation de la membrane par les PAMs, trois modèles ont été proposés :

IV.1.1. Le Modèle « Barrel Stave » ou « Douve de tonneaux »

Dans ce modèle les hélices des peptides s'insèrent dans la bicouche par « paquet » en formant des pores transmembranaires (**Figure 2**). Ces pores ont la forme de tonneaux dont les douelles seraient constituées d'hélices (**yang et al, 2001**).

Dans ces pores, les régions hydrophobes des hélices sont en contact avec le cœur hydrophobe de la membrane et les régions hydrophiles du peptide constituent la lumière du pore (**Huang, 2004**).

L'addition progressive d'autres peptides induit une augmentation du diamètre du pore, ce qui conduit à la fuite du contenu cytoplasmique et la mort de la cellule (**Brogden, 2005**).

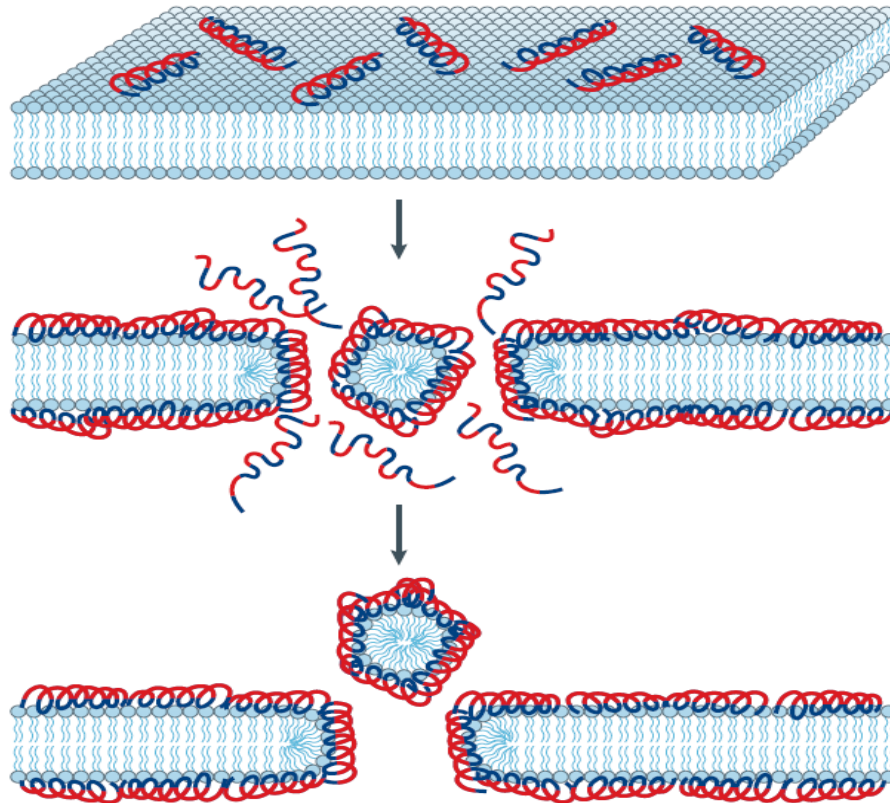


*Les régions hydrophiles des peptides sont colorées en rouge
Les régions hydrophobes en bleu*

Figure 2 : Le modèle « Barrel Stave » (**Brogden, 2005**).

IV.1.2. Le Modèle « Carpet » ou « Tapis »

Dans ce modèle, les peptides se fixent à forte concentration à la surface de la membrane et la couvrent comme un tapis. Les peptides ne sont pas insérés à l'intérieur de la membrane et ne forment pas de pores (**Shai, Y, 1999**). Après leur fixation sur les phospholipides, les peptides s'alignent sur la surface de la membrane et s'accumulent induisant une perturbation de la membrane qui finit par être perforée et son contenu cytoplasmique déversé (**Huang, 2004**).



*Les régions hydrophiles des peptides sont colorées en rouge
Les régions hydrophobes en bleu*

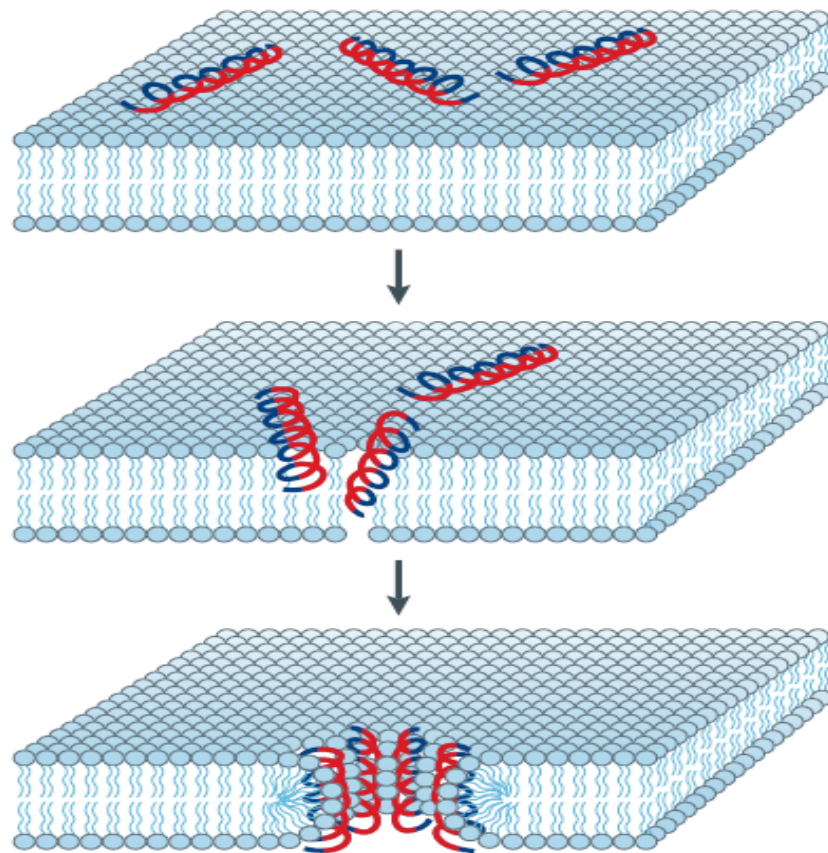
Figure 3 : Le modèle « Carpet » (Brogden, 2005**).**

IV.1.3. Le Modèle « Pores toroïaux » ou « Toroidal-pore »

Dans ce cas, le mécanisme est proche du modèle des pores en « douve de tonneaux », mais cette fois ci les lipides font partie intégrante du pore. En effet, les peptides forment des structures amphiphiles au contact de la membrane, puis y enfouissent leur partie hydrophobe.

Cette insertion des têtes hydrophiles des phospholipides induit ainsi une courbure de la membrane (**Yang et al, 2001**).

Lorsqu'un certain ratio peptides/lipides est atteint, la tension engendrée provoque le basculement des peptides perpendiculairement à la membrane et ainsi la formation du pore mixte, composé à la fois de phospholipides (têtes hydrophiles vers l'intérieur du pore) et de peptides amphiphiles (**Huang H.W, 2004**). La présence des têtes hydrophiles des phospholipides, chargées négativement, à l'intérieur des pores, contribuent à les stabiliser en limitant les phénomènes de répulsion électrostatique (**Matsuzaki et al, 1998**).



*Les régions hydrophiles des peptides sont colorées en rouge
Les régions hydrophobes en bleu*

Figure 4 : Le modèle « Toroidal-pore » (**Brogden, 2005**).

IV.2. Mécanisme d'action intra- cellulaire

Même si les modes d'actions les plus connus des PAMs sont ceux qui font intervenir des ruptures des membranes et des pores, certains travaux ont montré qu'il existait des modes d'action alternatifs impliquant des mécanismes d'actions intracellulaires (**Brogden ,2005**).

Par des analyses de translocation, il a été montré que les peptides riches en arginine étaient capables, à la fois d'être transportés à travers la membrane plasmique mais également à travers l'enveloppe nucléaire (**Power & Hancock, 2003**). Après leur passage à travers la membrane cellulaire, ces peptides agissent, en inhibant la synthèse de la membrane cellulaire, de l'ARN ou des protéines. D'autres peptides comme les histatines agissent plutôt en inhibant l'activité enzymatique. Ces différents mécanismes sont résumés dans la figure 5 et le tableau IV.

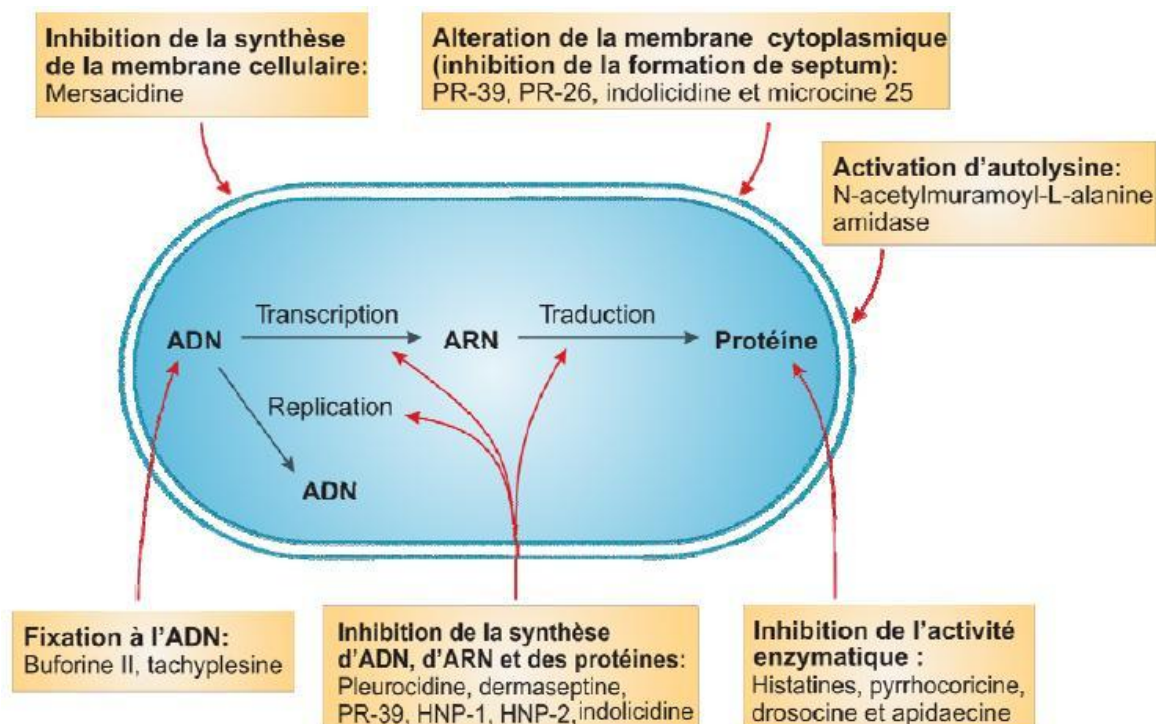


Figure 5 : Différents mécanismes d'action des antimicrobiens sans interaction avec la membrane bactérienne (**Brogden, 2005**).

Tableau IV : Mécanismes d'action de quelques peptides antimicrobiens

Mécanismes d'action membranaire	MODE D'ACTION	EXEMPLES DE PEPTIDES
	Pores toroïdaux	Maganine 2, protégrine -1, mélittine, LL37
	Mécanisme « carpet »	Dermaseptine S, cécropine, mélittine, ovispirine
	Mécanisme « barrel Stave »	Alaméthicine
Mécanismes d'action intracellulaire	Floculation du contenu intracellulaire	Peptides anioniques
	Altération de la formation du septum de la membrane cytoplasmique	PR 39, indilicidine, microcine 25
	Inhibition de la formation de la paroi cellulaire	Mersacidine
	Fixation aux acides nucléiques	Buforine II, tachyplesine
	Inhibition de la synthèse des acides nucléiques et des protéines	Pleurocidine, dermaseptine, PR – 39, indolicidine
	Inhibition de l'activité enzymatique	Histatine, pyrrhocoricine, drosocine, apidaecine

(D'après Brogden, 2005)

V. LES MECANISMES DE LA RESISTANCE BACTERIENNE AUX PAMs

Les études publiées sur l'acquisition de résistance contre les peptides antimicrobiens ont pour la plupart montré que l'absence de certains gènes rendait les organismes plus sensibles à des peptides antimicrobiens particuliers. En effet, ces gènes jouent généralement un rôle dans la virulence (**Zasloff, 2002**). Les microorganismes ont développé un certain nombre de stratégies permettant de contrer l'action des PAMs en s'opposant aux mécanismes d'attachement, d'insertion et de perméabilité membranaire :

- Modification de la charge nette

Chez *Staphylococcus aureus*, les produits de l'opéron *dlt* qui comprennent les gènes *dlt A*, *dlt B*, *dlt C*, *dlt D* réduisent la charge négative à la surface en translocant la D – alanine du cytoplasme à l'acide teichoïque de surface. *S.aureus* modifie aussi sa membrane chargée négativement avec la L –lysine par un intermédiaire du gène *Mprf*. Ceci apporte des charges positives à la membrane et réduit ainsi l'attraction des PAMs du fait de la diminution de la charge négative (**Peschel et al, 1999**).

- Modification de la fluidité

Les bactéries Gram négatives réduisent leur sensibilité au PAMs en entravant la fixation du peptide à la membrane. Pour cela elles opèrent de façon combinée en réduisant la charge nette négative de surface, mais aussi en réduisant la fluidité membranaire en augmentant les interactions hydrophobes entre le nombre plus important de chaînes acyles du lipide A du lipopolysaccharide (LPS) (**Luderitz et al, 1982**).

Ainsi, la présence de capsules polysaccharidiques intervient dans la résistance de *Klebsiella pneumoniae* à de nombreux PAMs. La capsule polysaccharidique limite l'interaction des peptides avec leurs membranes cibles. En effet, une souche mutante de *Klebsiella* dépourvue de capsule, est plus sensible à l'effet des PAMs (**Campos et al, 2004**).

Cette augmentation de l'interaction hydrophobe entraîne l'insertion des peptides et la formation des pores.

- Modification des protéines membranaires

Chez certaines bactéries Gram négative, telles que *Yersinia enterocolitica*, entraînent des altérations de protéines de la membrane extérieure ce qui augmente la résistance aux PAMs.

La résistance aux PAMS serait liée à la présence du plasmide PYve qui code l'adhésine A et la lipoprotéine A de *Yersinia enterocolitica* (**Visser et al, 1996**).

- Rôle des transporteurs.

Certains transporteurs ATP dépendants importent des PAMs et certaines pompes expulsent les PAMS. Ces deux transporteurs sont impliqués dans la résistance aux PAMs (**Parra-Lopez et al, 1993 ; Shafer et al, 1998**).

- Production d'enzymes protéolytiques

De plus en plus de constations montrent que des enzymes protéolytiques seraient impliqués dans la résistance aux PAMs (**Belas et al, 2004 ; Groisman et al, 1994 ; Resnick et al, 1991**).

On peut citer à titre d'exemple le peptide LL-37 qui serait clivé et inactivé par une métalloprotéase de *S.aureus* appelée auréolysine en quantité suffisante et qui serait moins sujet à la mort par LL-37, même si la protéolyse par des PAMs *in vivo* reste à prouver (**Sieprawska-Lupa et al, 2004**).

VI. PEPTIDES ANTIMICROBIENS EN DEVELOPPEMENT CLINIQUE

Le potentiel thérapeutique des PAMs est attribué aux propriétés lytiques de leur membrane. La forte activité des PAMs *in vitro* laisse entrevoir la même efficacité de ces derniers dans le traitement des infections *in vivo*.

A titre d'exemple, un modèle de pneumonie aigüe a été provoqué sur un agneau en utilisant *Mannhemia haemolytica*, pathogène de l'appareil respiratoire des ovins. L'étude a montré qu'une seule instillation bronchiale de 0,5 mg de peptide antimicrobien SMAP 29 réduisait la concentration de la bactérie dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire et consolidait le tissu pulmonaire réduisant ainsi l'infection pulmonaire (**Brogden et al, 2003**).

Plusieurs peptides antimicrobiens ou dérivés sont en cours de développement clinique essentiellement sous forme de topiques (**Dimarcq & Andrès, 2004**).

Le premier peptide antimicrobien, développé dans les années 90 est un dérivé de la magainine, le Péxiganan, (Magainen pharmaceutical, Philadelphie, EU) (**Jacob et al, 1994 ; Lamb et al, 1998**), qui a reçu depuis un avis défavorable pour sa commercialisation par la FDA.

La plupart des peptides activant sur les membranes ont montré des effets antimicrobiens contre un large éventail de bactéries Gram positive et Gram négative (**Hancock, 2000**). Haverson et collaborateurs (**2000**) ont démontré que l'administration orale de la lactoferrine B humaine et de ses dérivés sont efficaces dans la réduction de l'inflammation des voies urinaires des souris infectées par *E. Colis*.

Une autre étude menée par Giacometti et collaborateurs (**1993**) a montré l'activité des peptides cationiques (Cécropine, indolicidine et nisine) contre *pseudomonas aeruginosa* et a fait remarquer que cette activité est renforcée lorsqu'ils sont utilisés en association avec des antibiotique tels que la polymyxine E et la clarithromycine.

Le tableau ci-dessous reprend les peptides antimicrobiens cationiques en développement clinique.

Tableau V : Peptides antimicrobiens cationique en développement clinique

Produit(Société)	Structure /extrait	Voie d'administration	Indications en cours de développement
Pexiganan (Magainin Pharmaceutical)	Hélice α /peau du xénope	Crème	Impétigo et ulcération surinfectées chez les diabétiques (études de phase III)
Iseganan(Intrabiotics Pharmaceuticals)	Peptides à ponts disulfure/ leucocytes de porc	-Bains de bouche -Aérosols	-Mucites chimio- induites (études de phase III). -Infections Pulmonaires dans la mucoviscidose et sous ventilations mécanique (études de phase I)
PeptidesMBI (Microlagix Biotech)	Hélice α / non communiqué	Crème	Colonisation et surinfections des cathéters centraux (étude de phase III) ; acné et portage nasale chronique de <i>S. aureus</i> (études de phase I)
Peptides dérivés de l'histatine (Périandotix)	Hélice α /salive humaine	Bains de bouches et gels	Gingivites et affections périodontales (études de phase II-III) ; candidoses buccales et infections chroniques à <i>pseudomonas aeruginosa</i> (études de phase I)
Neuprex (Xama Ltd)	Hélice α /homme	Voie IV	Méningococcémies chez enfants ; maladie de crohn
Mycoprex (Xama Ltd)	Hélice α / Homme	Voies IV	Infections fongiques
Peptides dérivés de l'héliomocine ou de la thanatine (Entomed SA)	Peptides à ponts disulfure/insectes	Voie IV	Infections systémiques fongiques chez l'immunodéprimés et bactériennes à germes multi résistants

(D'après Andrès & Dimarcq, 2004).

Partie expérimentale

I. Objectifs

L'utilisation souvent abusive et irréfléchie des antibiotiques que ce soit à titre curatif, préventif ou encore zootechnique a fortement contribué à l'apparition de souches multi-résistantes aux antibiotiques conventionnels favorisant ainsi la réémergence de certaines maladies infectieuses. Afin de renforcer l'arsenal thérapeutique traditionnel souvent défaillant de nouvelles molécules alternatives, actives contre les microorganismes résistants ont été recherchées et développées.

Notre présente étude a eu ainsi pour objectifs d'évaluer d'une part ; l'efficacité de deux peptides antimicrobiens sur la souche microbienne *Staphylococcus aureus*, et les genres *salmonella sp*, *enterobacter sp*, *E.coli*, ainsi que sur le champignon *Candida albicans in vitro* et d'autre part, de contrôler leur tolérance cutanée *in vivo*.

II. Etude de l'efficacité des PAMs *in vitro*

II.1. Matériels & Méthodes

II.1.1. Microorganismes étudiés

La présente étude a été réalisée sur des genres identifiés d'*E. Coli*, *Salmonella Sp.*, *Enterobacter Sp.*, et sur la souche *Staphylococcus aureus*, conservés en gélose profonde ; fournis gracieusement par le laboratoire central d'analyses de l'hôpital des urgences médico-chirurgicales Selim Zemirli, et sur une culture de *C. albicans* (Laboratoire de microbiologie du CHU Mustapha Pacha).

II.1.2. anti-infectieux étudiés

***α*- PAMs**

Les deux peptides PAM 1 & PAM 2 testés ont été fournis par le Pr. BEN-MAHDI. Il s'agit de peptides extraits de peau d'amphibiens, en cours de développement par l'équipe de recherche « Evaluation de l'efficacité des molécules pharmaceutiques et développement de stratégies

thérapeutiques alternatives » en collaboration avec deux équipes CNRS et INSERM de CBM de Bichat, Paris, France.

b- Antibiotiques

Les antibiotiques utilisés étaient des disques de marque Bio Rad, France et Diagnostics Pasteur et les séries testées adaptées aux bactéries étudiées.

Le tableau ci-dessous présente les différents disques antibiotiques utilisés :

Tableau I : souches étudiées et antibiotiques testés

Souche	Antibiotiques	Abréviation	Concentration
<i>Staphylococcus Aureus</i>	Pénicilline	P	10µg
	Oxacilline	OX	1µg
	Streptomycine	S	10µg
	Spiramycine	SP	100µg
	Tétracycline	TE	30µg
	Bacitracine	B	10µg
<i>Enterobacter Sp</i>	Polymyxine	PB	300 UI
	Amoxicilline	AX	25µg
	Céphaléxine	CL	30µg
	Tétracycline	TE	30µg
	Gentamycine	GM	10µg
	Erythromycine	E	30µg
<i>E. Coli</i>	<i>Polymyxine</i>	<i>PB</i>	<i>300 UI</i>
	Erythromycine	E	30µg
	Céphaléxine	CL	30µg
	Tétracycline	TE	30µg
	Amoxilline	AX	25µg
	Gentamycine	GM	10µg
<i>Salmonella</i>	Gentamycine	GM	10µg
	Amoxilline	AX	25µg
	Tétracycline	TE	30µg
	Polymyxine	PB	300 UI
	Erythromycine	E	30µg
	Céphaléxine	CL	30µg

II.1.3. Matériels et instruments

Tableau II : Milieux et Matériels utilisés

MILIEUX UTILISES	INSTRUMENTS UTILISES	MATERIEL
Gélose Muller Hinton coulée sur boîte de Pétri	Ecouvillon	Incubateur
Gélose enrichie de Chapman	Disques en papier wattman stériles	
Gélose enrichie d'Hektoen	Pince	
Galerie Api Staph	Pipettes pasteur	
Galerie Api E 20	Micropipette et embouts	
	Tubes à essai	
	Portoirs pour tube	
	Eau physiologique stérile	
	Anse de platine	
	Seringue à insuline	

II.1.4. Préparation des souches étudiées

Dans un premier temps, il a été procédé à la revivification des genres et de la souche conservés par ensemencement sur un milieu enrichi. La procédure générale appliquée est décrite brièvement dans la figure 1.

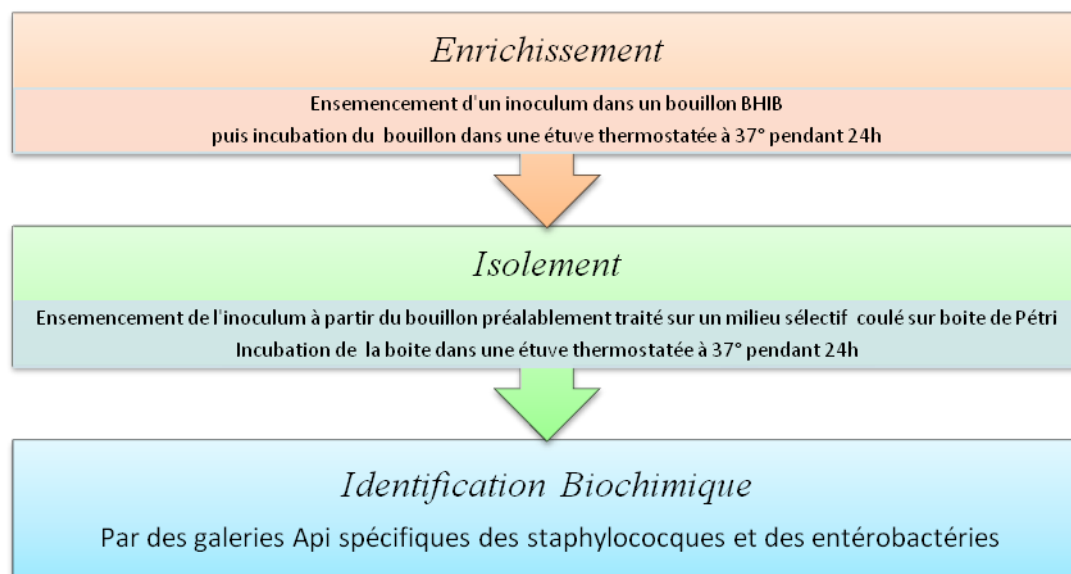


Figure 1 : Procédure générale de réensemencement des souches bactériennes

a- *Staphylococcus aureus*

A l'aide d'une anse de platine, un inoculum est prélevé à partir du tube de conservation puis il est ensemencé sur un bouillon enrichi (BHIB).

Ce dernier est alors incubé dans une étuve thermostatée à 37°C pour une période de 24 heures.

Au terme de la période d'incubation, un inoculum est prélevé à partir du bouillon préalablement ensemencé, et est ensuite repiqué sur une gélose sélective pour les staphylocoques (Gélose Chapman). Cette gélose est mise à incuber dans une étuve thermostatée à 37°C pour une période de 24 heures.

Après la mise en incubation, des colonies pigmentées en jaune et mannitol + ont été obtenues, évoquant des colonies à *Staphylococcus aureus*.

L'identification de l'espèce bactérienne a été confirmée par utilisation de galerie Api staph (Laboratoires Biomerieux).

b- Les entérobactéries (*E.coli*, *Salmonella. Sp*, *Enterobater.sp*)

A l'aide d'une anse de platine, un inoculum est prélevé à partir du tube de conservation puis il est ensemencé sur un bouillon enrichi (BHIB).

Ce dernier est alors incubé dans une étuve thermostatée à 37°C pour une période de 24 heures. Au terme de la période d'incubation, un inoculum est prélevé à partir du bouillon préalablement ensemencé, et est ensuite repiqué sur une gélose sélective pour les entérobactéries (Gélose Hektoen). Cette gélose est mise à incubée dans une étuve thermostatée à 37°C pour une période de 24 heures.

L'identification de l'espèce bactérienne a été confirmée par l'utilisation de galerie Api 20 E (Laboratoires Biomerieux).

c- *Candida albicans*

Des colonies de *Candida* ont été repiquées sur un nouveau milieu de Sabouraut coulé sur tube et additionné de Chloramphénicol.

Les quatre tubes contenant les *Candida* fraîchement repiqués, ont été mis à incuber pour une période de 48h dans une étuve thermostatée à 27°C.

Au terme de cette période, il a été procédé à l'étude des deux peptides (PAM1 et PAM2).

A l'aide d'une pipette Pasteur, un puits a été creusé dans chacun des tubes, nous avons ensuite déposé dans deux tubes 0,2 ml de PAM1 et PAM2 respectivement (dans les puits), les deux tubes restants ont servi de témoins.

II.2. Antibiogramme

II.2.1. Préparation des disques de peptides

La sensibilité des bactéries aux peptides PAM1 et PAM2 a été étudiée en procédant à l'imprégnation de deux disques de papier Wattman stériles de 50 µl des peptides sus cités.

II.2.2. réalisation de l'antibiogramme

L'antibiogramme a été réalisé selon le protocole standard défini par l'OIE. Pour ce faire, les géloses Mueller Hinton, coulée sur des boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4mm ont été utilisées.

A partir du milieu d'enrichissement, 1 ml de bouillon a été dilué dans 9 ml d'eau physiologique stérile. La suspension ainsi obtenue a été soigneusement homogénéisée avant d'y tremper un écouvillon.

A l'aide de cet écouvillon bien essoré, toute la surface de la boîte a été ensemencée (3 passages de l'écouvillon à orientation décalée de 60° par rapport à chaque passage).

Les disques d'antibiotiques présentés antérieurement dans le tableau I, ont été par la suite appliqués à l'aide d'une pince stérile sur chacune des cultures bactériennes. Il en a été de même pour les disques imprégnés de peptides (*figure 2*).

Les boîtes ont été incubées 18 heures à 35°C.

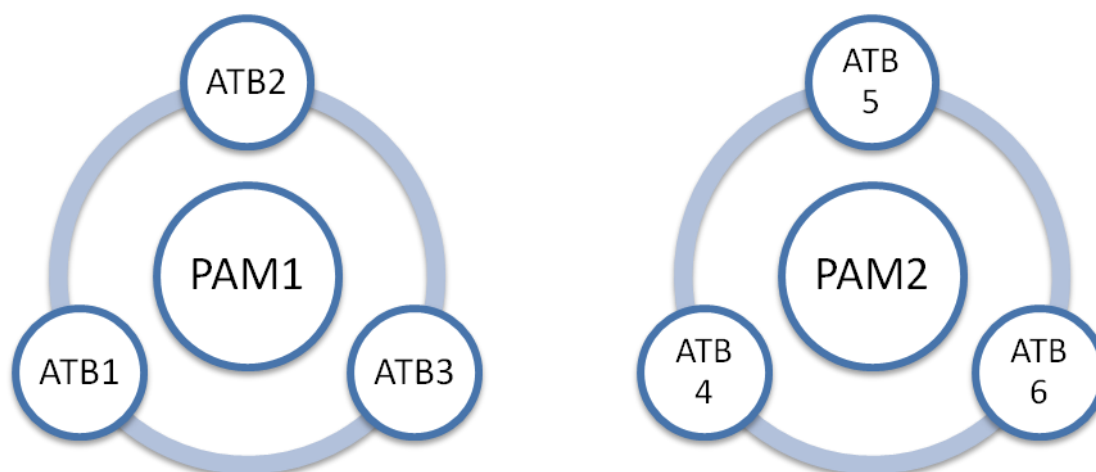


Figure 2 : Disposition des disques d'antibiotiques et de peptides

II.3. Lecture des résultats

La lecture des résultats a été faite après 18 heures d'incubation à 35°C.

Les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés à l'aide d'un pied à coulisse métallique, à l'extérieur de la boîte fermée.

Les valeurs ainsi obtenues pour chaque bactérie ont été comparées aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture (jointes en annexes), et les bactéries sont donc catégorisées en sensible, intermédiaire ou résistante.

III- Etude de l'évaluation de la tolérance cutanée des peptides in vivo :

III-1- MATERIEL ET METHODE :

a- Matériel :

- 3 lapins albinos de 2,5 kg au moins ;
- Balance pour animaux « MU.C.LP.012 » ;
- Balance analytique « MU.C.LA.017 » ;
- Tondeuse électrique munie d'un peigne fin ;
- Aiguilles ou scalpels stériles ;
- Bandes de gaze stériles et sparadrap perforé ;
- Boîtes à contention pour lapins.

b- Méthode :

Les flancs de chaque lapin ont été soigneusement tondu la veille de l'application, au moyen d'une tondeuse électrique. Un flanc servant de côté témoin et l'autre flanc servant de côté test.

L'état de la peau a été rigoureusement vérifié afin de ne retenir que les animaux présentant une peau saine.

Les flancs ont été ensuite scarifiés par 3 incisions parallèles de 3cm de long espacées d'environ 0,5 cm.

Un volume de 0,5 ml des peptides PAM1 et PAM2 a été étalé uniformément sur les surfaces de peau préalablement scarifiées, en frictionnant ces dernières afin d'optimiser la pénétration du topique.

c- Lecture et interprétation de l'essai

Une première lecture a été effectuée 30 mn après l'application ensuite 72 h plus tard, sur les deux zones scarifiée et non scarifiée.

L'évaluation a porté sur la formation de l'érythème et de l'œdème qui ont été notés suivant l'échelle de notation reprise dans le tableau ci après.

Tableau III : Evaluation de l'apparition d'œdème et d'érythème selon une échelle numérique

Erythème et formation d'escarres	Pas d'érythème	0
	Léger érythème (à peine visible)	1
	Erythème bien visible	2
	Erythème modérée à important	3
	Erythème grave (rouge pourpre) avec ou sans escarres (lésions profondes)	4
Evaluation de l'œdème	Pas de d'œdème	0
	Œdème très léger (à peine visible)	1
	Léger œdème (contours bien définis, gonflement apparent)	2
	Œdème moyen (épaisseur 1mm)	3
	Œdème grave (épaisseur supérieure à 1 mm)	4

IV. Résultats

IV.1. Résultats de l'antibiogramme

L'interprétation des résultats de l'antibiogramme s'effectue sur la base de la comparaison des valeurs des diamètres obtenus avec celles des diamètres critiques décrits dans le manuel de standardisation de l'antibiogramme de l'OIE.

Ainsi, une bactérie est considérée comme étant sensible à un antibiotique donné si le diamètre de la zone circulaire d'inhibition translucide, apparue autour du disque imprégné d'antibiotique, est supérieur aux valeurs des diamètres critiques.

NB : les tableaux contenant les valeurs critiques sont joints en annexe

a- Staphylococcus aureus

Les résultats de l'antibiogramme de *staphylococcus aureus* dans le tableau IV ci-dessous, montrent que ce dernier est clairement résistant à quatre antibiotiques (Pénicilline, oxacilline, bacitracine, spiramycine) et manifeste une résistance intermédiaire vis-à-vis de la tétracycline.

Tableau IV : Résultats de l'antibiogramme de *Staphylocoque aureus*

	Antibiotiques	Diamètres (mm)	Peptides	Diamètres (mm)
<i>Staphylococcus aureus</i>	Pénicilline ^{**}	0	PAM 1	31
	Streptomycine	15		
	Oxacilline ^{**}	0		
	Bacitracine ^{**}	0	PAM 2	27
	Spiramycine ^{**}	9		
	Tétracycline [*]	17		

**** :** Résistante

*** :** Intermédiaire

En revanche, la souche présentement testée était sensible aux deux peptides antimicrobiens étudiés, comme l'illustre les diamètres des zones d'inhibition obtenus autour des disques imprégnés des peptides nettement supérieurs à ceux des zones d'inhibition autour des disques antibiotiques (*figure3*),

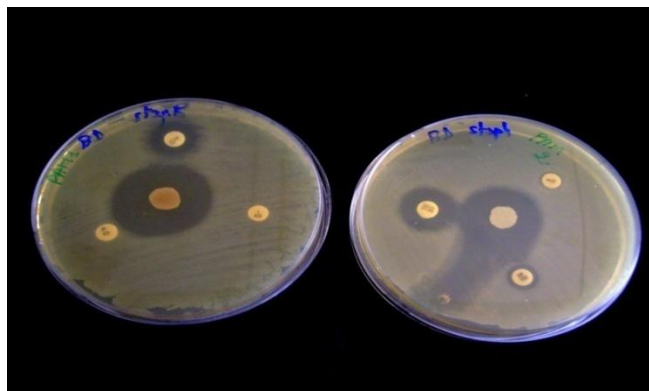


Figure 3 : Résultats de l'Antibiogramme de *Staphylococcus aureus*

b- Salmonella sp

Les résultats de l'antibiogramme de *Salmonella sp.* montrent que cette dernière était sensible à tous les antibiotiques testés à l'exception de la tétracycline (résistance intermédiaire).

Tableau V : Résultats de l'antibiogramme de *Salmonella*

<i>Salmonella sp.</i>	Antibiotiques	Diamètres (mm)	Peptides	Diamètres (mm)
	Gentamicine	20	PAM 1	36
	Amoxicilline	22		
	Tétracycline *	17		
	Erythromycine	8	PAM 2	26
	Polymyxine	17		
	Céphalexine	17		

* : Intermédiaire

En plus des ATB prévus par le protocole de l'OIE, Erythromycine, Polymyxine et Céphalexine ont été inclus dans la réalisation de l'antibiogramme.

Les résultats de l'étude de la sensibilité de *Salmonella* sp aux deux peptides antimicrobiens ont rapporté des diamètres des zones d'inhibition apparus autour des disques imprégnés des peptides nettement supérieurs à ceux des zones d'inhibition autour des antibiotiques (**figure 4**), mettant en évidence encore une fois l'efficacité antibactériennes de nos peptides.



Figure 4 : Résultats de l'antibiogramme de *Salmonella* sp.

c- Enterobacter sp.

Les résultats de l'antibiogramme pour le genre *Entérobacter* sp. laisse constater qu'il était résistant à la céphalexine et l'érythromycine et présentait une résistance intermédiaire aux tétracyclines.

Tableau VI : Résultats de l'antibiogramme d'*Enterobacter* sp.

<i>Enterobacter</i> <i>sp.</i>	Antibiotiques	Diamètres (mm)	Peptides	Diamètres (mm)
	Céphalexine ^{**}	0	PAM 1	31
	Polymyxine	15		
	Amoxicilline ^{**}	0		
	Erythromycine	9	PAM 2	29
	Tétracycline [*]	16		
	Gentamicine ^{**}	0		

^{**} : Résistant

^{*} : Intermédiaire

En plus des ATB prévus par le protocole de l'OIE, Erythromycine, Polymyxine et Céphalexine ont été inclus dans la réalisation de l'antibiogramme.

Encore une fois les diamètres des zones d'inhibition apparus autour des disques imprégnés des peptides étaient nettement supérieurs à ceux des zones d'inhibition autour des antibiotiques (**figure 5**), confirmant l'efficacité antibactériennes des peptides testés.



Figure 5 : Résultats de l'antibiogramme d'*Entérobacter* sp.

d- E. coli

Dans le tableau VII ci-dessus, les résultats de l'antibiogramme pour le genre *E.coli*. montrent encore une fois une résistance à plusieurs antibiotiques (Céphalexine, amoxicilline) et une résistance intermédiaire pour la tétracycline.

Tableau VII : Résultats de l'antibiogramme d' *E.coli*

<i>E. coli</i>	Antibiotiques	Diamètres (mm)	Peptides	Diamètres (mm)
	Céphalexine **	0	PAM 1	29
	Erythromycine	8		
	Polymyxine	16		
	Tétracycline *	15	PAM 2	26
	Amoxicilline **	0		
	Gentamicine	23		

** : Résistant

* : Intermédiaire

L'efficacité des peptides antimicrobiens a été encore une fois observée : les diamètres des zones d'inhibition apparus autour des disques imprégnés des peptides étaient nettement supérieurs à ceux des zones d'inhibition autour des antibiotiques (**figure 6**).



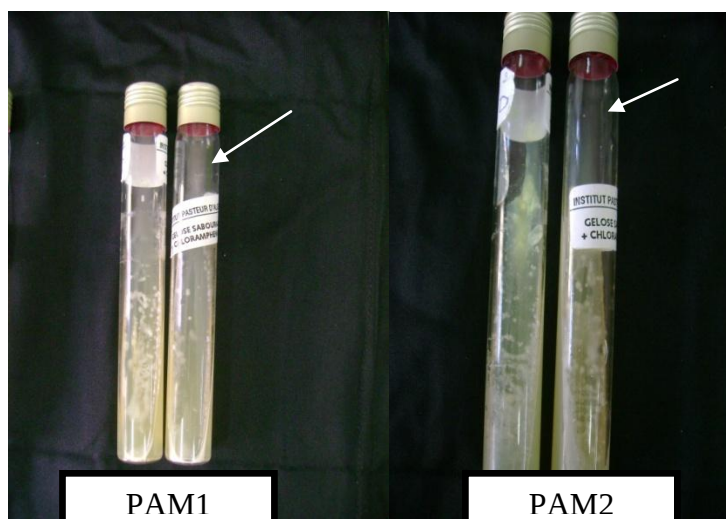
Figure 6 : Résultats de l'antibiogramme d'*E.coli*

e- Candida albicans

Au terme de 48 heures d'incubation des 04 tubes dans une étuve thermostatée à 27°C :

Aucune disparition des colonies n'a été constatée dans le tube contenant le PAM1, comparée avec le tube témoin correspondant (**figure 7**).

Par contre dans le tube dans lequel a été appliqué le PAM 2 une importante disparition des colonies a été constatée de part et d'autre du puits imprégné comparée au tube témoin correspondant (**figure 7**).



La flèche indique le témoin

Figure 7 : Résultats de l'application des PAMs sur *Candida albicans*

IV.2. Résultats du test de tolérance cutanée

La détermination de l'indice d'irritation primaire cutané (IP) est établie par l'addition des chiffres obtenus pour l'érythème et l'œdème à chaque temps de lecture (24h et 72h après l'application et pour chacune des zones)

Ce total a été divisé par 24 et la moyenne obtenue représente l'IP. Ceci a permis de classer le produit en 04 types de réponses (tableau VIII).

Tableau VIII : Tableau de détermination de l'indice d'irritation primaire cutanée (IP)

Non irritant	$IP < 0,5$
Légèrement irritant	$0,5 < IP < 2$
Irritant	$2 < IP < 5$
Très irritant	$5 < IP < 8$

Les résultats du test de tolérance cutanée réalisé par l'application des peptides PAM 1 et PAM2 sur les lapins et compilés dans le tableau IX ci-dessous montrent que l'IP obtenu était égale à 0 donc $< 0,5$, par conséquent ces peptides sont considéré comme non irritants (**figure 8**).

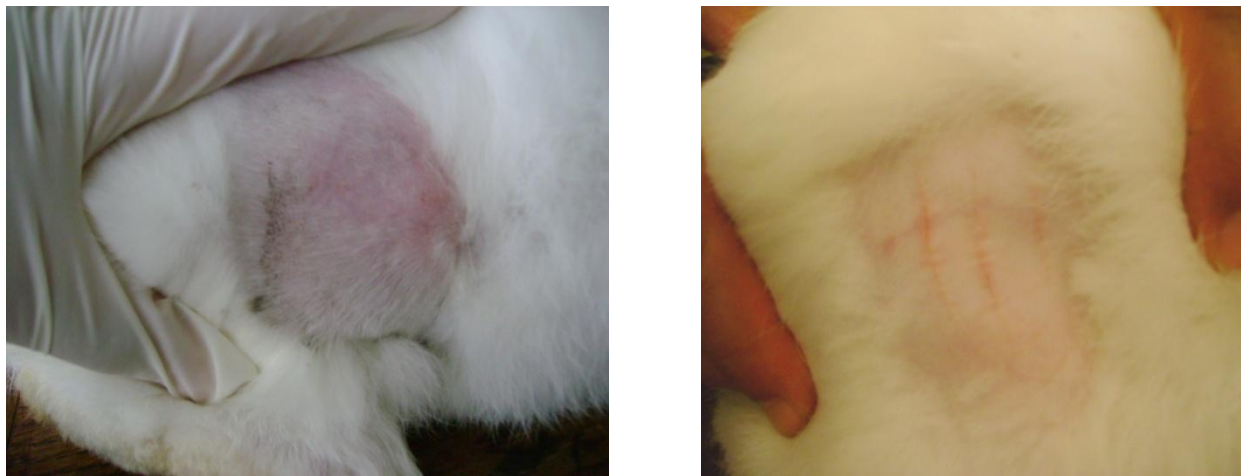


Figure 8 : Résultats de l'application des peptides sur les lapins
(À gauche le coté témoin, à droite le coté traité)

Par ailleurs une meilleure repousse du poil, sur le coté traité aux peptides par rapport au coté témoin a été observée.

Tableau IX : Tableau des résultats obtenus pour le test de tolérance cutanée

Peptides	Lecture à 24h	Lecture à 72h	Echelle numérique	IP
PAM 1	- Absence d'érythème - Absence d'œdème	- Absence d'érythème - Absence d'œdème	0	0
PAM 2	- Absence d'érythème - Absence d'œdème	- Absence d'érythème - Absence d'œdème	0	0

Discussion

Symboles mythologiques, littéraires, artistiques et folkloriques, grenouilles et crapauds ont toujours eu la part belle dans les médecines traditionnelles, les rites sorciers et chamaniques de la préhistoire, la pratique des prêtres-médecins assyriens et des sociétés européennes de l'époque médiévale. Ainsi les chinois puis les romains utilisaient-ils des extraits de la peau d'amphibiens pour soigner des affections aussi variées que l'infertilité et les morsures de chiens. Ainsi, les peptides, au même titre que d'autres médicaments ont été utilisés depuis fort longtemps ; Leur intérêt ou l'intérêt qu'on leur accorde actuellement est de plus en plus important.

En 1971, les travaux du microbiologiste italien ERSPAMER, rapportaient déjà la richesse de la peau des amphibiens en peptides présentant des activités biologiques diverses (hormone like, facteur de croissance, antibiotique...) (**Baret Rouviere, 2007**). Des études ultérieures les ont identifiés dans différents organismes couvrant les procaryotes, les plantes, les insectes et les animaux (**Boman, 2000**). En 2007, plus d'un millier de peptides antimicrobiens avaient été identifiés (**Wong et al, 2007**). Plus généralement, il apparaît que les insectes ont développé un ensemble de peptides antimicrobiens dont la diversité est la plus importante du règne vivant. Plus de la moitié des peptides antimicrobiens ont en effet été identifiés chez les insectes (**Hoffmann et al, 1999**). Les peptides antimicrobiens constituent par voie de conséquence un arsenal thérapeutique offrant un panel d'activité et de diversité fort important.

Chez l'homme, de nombreux peptides fonctionnels endogènes ont été identifiés, il s'agit le plus souvent d'hormones. On peut citer parmi eux l'insuline découverte par Banting et Macleod en 1923 qui leur a valu le prix Nobel de médecine (**Lindahl, 2003**).

L'efficacité des peptides a été démontrée déjà par le fait qu'ils participent à la défense innée des organismes animaux. Chaque espèce, de la bactérie aux mammifères possède dans son patrimoine génétique les moyens de se protéger en produisant des antibiotiques (**Zasloff, 2002**).

Les résultats obtenus dans le cadre de la présente étude, ont ainsi permis de mettre en évidence l'efficacité antibactérienne des deux peptides antimicrobiens testés (PAM₁ et PAM₂). Les quatre bactéries étudiées : *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp.*, *Enterobacter sp.*, *E.coli* se sont ainsi révélées sensibles à ces peptides, alors même que :

- *Staphylococcus aureus* s'est révélé résistant à pénicilline, oxacilline, bacitracine et spirampicine ;
- *Salmonella sp* était intermédiaire aux tétracyclines ;
- *Enterobacter sp* était résistant à l'amoxicilline, la gentamicine et à la céphalexine ;
- *E.Coli* était résistante à la céphalexine et à l'amoxicilline.

De plus, même les zones d'inhibition obtenues avec les deux PAM étaient nettement supérieures à celles des antibiotiques auxquels les bactéries se sont révélées sensibles.

En revanche seul le PAM 2 a montré une activité antifongique et a entraîné une inhibition des colonies de *Candida albicans*.

L'association des PAM dans des topiques constitue actuellement un champ d'application prometteur, nous avons par conséquent entrepris d'étudier leur toxicité cutanée. Leur innocuité a ainsi été démontrée lors du test d'irritation cutanée. En effet la toxicité sélective des peptides antimicrobiens a été mise en évidence par de nombreux auteurs (**Matsuzaki, 1999**). Les peptides sont souvent la plus petite partie fonctionnelle d'une protéine et offrent donc une efficacité, une sélectivité et une spécificité très importantes qu'il est difficile d'atteindre avec de petites molécules (**Hummel & all ,2006**). Les produits de dégradation des peptides sont des acides aminés, ce qui diminue grandement le risque de toxicité. De plus les peptides s'accumulent peu dans les tissus diminuant d'autant les risques de toxicité (**Ioffet, 2002**).

La meilleure repousse pileuse constatée confirmerait leur intérêt dans la stimulation indirecte des processus de cicatrisation.

Le risque d'impact du médicament vétérinaire sur l'environnement est largement pris en compte dans la législation de pratiquement l'ensemble des pays et conditionne souvent l'autorisation de mise sur le marché de ces médicaments (**Imbs-Viallet, 2008**).

Il existe en effet, plusieurs médicaments vétérinaires, notamment ceux à base d'antibiotique synthétique qui sont utilisés aussi bien dans le traitement des infections que dans l'engraissement des animaux. Les denrées alimentaires issues des animaux traités par ces médicaments peuvent contenir des résidus pouvant être dangereux pour le consommateur. Les peptides au même titre que les protéines ou les vitamines ont d'emblée été jugés sans impact pour l'environnement (**Imbs-Viallet, 2008**).

Les antibiotiques d'origine animale sont prometteurs pour un développement thérapeutique. L'activité importante des peptides antimicrobiens *in vitro* laisse entrevoir une activité effective *in vivo* dans le traitement des infections bactériennes ou pour remplir diverses fonctions biologiques **(Boman, 2005)**.

De plus en plus d'entreprises pharmaceutiques concentrent leurs efforts sur le développement des peptides thérapeutiques basé sur des peptides non humains pour résoudre le problème de résistance bactérienne aux antibiotiques traditionnels **(Gordon & al, 2005)**.

Le développement technologique de méthode de séparation et d'extraction et l'avènement de la méthode de synthèse par voie solide en 1963 ont permis d'envisager l'utilisation industrielle des peptides synthétiques **(Merrifield, 1963)**.

Les rapports des analystes financiers montrent que la créativité des entreprises pharmaceutiques s'essouffle et qu'un grand nombre de brevets d'exploitation sont en fin de vie alors qu'un nombre de plus en plus réduit de nouvelles molécules thérapeutiques arrivent sur le marché, bien que les budgets de recherche et développement augmentent de plus en plus. L'innovation dans l'industrie pharmaceutique devient compliquée, longue, risquée et coûteuse **(Surowiecki, 2004)**. Pour contourner ces problèmes, les industries pharmaceutiques se sont tournées vers les peptides ou leurs dérivés (peptidomimétiques) comme agents thérapeutiques **(Lathan et al, 1999)**.

En 2004, plus de 20% des médicaments appartenant aux 200 les plus vendus au monde étaient à base de protéines et de peptides **(Med Ad News, 2005)**. A la même période 600 à 700 peptides étaient au stade de développement **(McGee, 2005)**. Ils sont présents dans différents domaines, tels le traitement de certaines formes de cancer, du sida, de l'ostéoporose et de maladies neurodégénératives **(Lien & Lowman, 2003)**.

Enfin c'est important pour les industriels, les peptides médicaments sont innovants donc il n'y a pas de risque qu'ils soient protégés par un brevet.

Si les peptides présentent des avantages leur conception pour une utilisation thérapeutique se heurte à de nombreux écueils. L'un des problèmes est le coût de production à l'échelle industrielle qui reste encore prohibitif **(Latham, 1999)**.

Ensuite, la fameuse règle des cinq **(Lien & Lowman, 2003)**, qui reste une référence pour les modélisateurs de molécules thérapeutiques, n'est pas respectée pour les peptides notamment

pour ce qui concerne le poids moléculaire. A ce titre on considère que les peptides sont peu administrables par voie orale car ils seraient peu enclins à passer du système digestif vers le système sanguin. C'est la raison pour laquelle l'administration des peptides est à ce jour principalement de type intraveineuse, ce qui n'est pas particulièrement confortable pour le patient et peu pratique pour le praticien **(Lien & Lowman, 2003)**.

Un autre aspect négatif des peptides réside dans le fait qu'ils sont très rapidement dégradables et leur demi-vie dans l'organisme n'excède pas quelques minutes, d'où la difficulté d'atteindre la cible et d'agir de façon optimale **(Latham, 1999)**.

Conclusion

Les peptides anti microbiens représentent sans doute l'une des familles les plus originales d'agents anti-infectieux qui ont été découvertes au cours des 25 dernières années.

Leur large spectre d'activité et leur rapidité d'action ainsi que l'absence de résistance des éléments pathogènes à leur action peuvent en faire des acteurs importants dans la médecine vétérinaire en tant que médicament et complément alimentaire.

Il est vrai qu'actuellement, les recherches concernent beaucoup plus la découverte de traitement pour l'homme, néanmoins certains peptides sont d'ores et déjà utilisés ou testés dans le domaine vétérinaire.

Leur développement restera cependant subordonné à l'avancée des technologies de synthèse de conservation et d'administration pour permettre leur industrialisation à des couts compétitifs.

Ils demeurent malgré ces inconvénients des éléments clés de la recherche et du développement de nouvelles solutions thérapeutiques.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

Abul K. Abbas, Andrew H. Lichetman, MC2005: *les bases de l'immunologie fondamentale et Clinique 2ème edition. SPI publisher services, pondichéry , Inde ?*
Annu.Rev.Micribiol. 58:453-88

Bals R.2000 : Epithelial antimicrobial peptides in host defense against infection. *Resp Res* ;

Beisswenger, C. and Bals, R., 2005: Functions of Antimicrobial Peptides in Host Defense and Immunity. *Current Protein and Peptide Science* 6, 255-264.

Belas, R., Manos, J. & Suvanasuthi, R. *Proteus mirabilis* (2004): ZapA metalloprotease degrades a broad spectrum of substrates, including antimicrobial peptides. *Infect. Immun.* **72**, 5159–5167

Boman, H. G. 2000: Innate immunity and the normal microora. *Immunol. Rev.* 173,

Brahmachary, M., Krishnan, S.P.T., Koh, J.L.Y., Khan, A.M., Seah, S.H., Tan, T.W., Brusic, V., Bajic, V.B., 2004. ANTIMIC: a database of antimicrobial sequences. *Nucleic Acids Research* 32, D586-D589

Bulet, P., Stöcklin, R., Menin, L., 2004. Anti-microbial peptides: from invertebrates vertebrates. *Immunological Reviews* 198, 169-184.

Carlos H. Nery Costa, MD, PhD, José Ribeiro Santos Jr., PhD, Valtencir Zucolotto, PhD, Carla Eiras, PhD, José Roberto S.A. Leite, PhD, 2009: Leishmanicidal Activity and Immobilization of dermaseptin 01 antimicrobial peptides in ultrathin films for nanomedicine applications *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* 5 352–358

Casteels, P., Ampe, C., Riviere, L., Damme, J., Elicone, C., Fleming, M., Jacobs, F., Tempst, P., 1990. Isolation and characterization of abaecin, a major antibacterial response peptide in the honeybee (*Apis mellifera*). *European Journal of Biochemistry* 187, 381-386.

Chen, F. Y., Lee, M. T. & Huang, H. W. Evidence for membrane thinning effect as the mechanism for peptide-induced pore formation. *Biophys. J.* **84**, 3751–3758 (2003).

Cole, A. M. et al 2001 : Cutting edge: IFN-inducible ELR-CXC chemokines display defensin-like antimicrobial activity. *J. Immunol.* **167**, 623–627 ().

Cotter, P.D., Hill, C., Ross, R.P., 2005. Bacteriocins: developing innate immunity for food. *Nature Reviews Microbiology* 3, 777-788

Deirdre A. Devine 2003:Antimicrobial peptides in defence of the oral and respiratory tracts *Molecular Immunology* 40 431 – 443

Destoumieux, D., Bulet, P., Loew, D., Van Dorsselaer, A., Rodriguez, J., Bachere, E., 1997 : Penaeidins, a New Family of Antimicrobial Peptides Isolated from the Shrimp *Penaeus vannamei* (Decapoda). *Journal of Biological Chemistry* 272, 28398-28406

Duquesne, S., Destoumieux-Garzon, D., Peduzzi, J., Rebuffat, S., 2007. Microcins, gene-encoded antibacterial peptides from enterobacteria. *Natural Product Reports* 24, 708-734

Dziarski, R. 2003: "Recognition of bacterial peptidoglycan by the innate immune system." *Cell Mol Life Sci* **60**(9): 1793-804

E. Andrès a,*, J.-L. Dimarcq a,b (2004): Cationic anti-microbial peptides: from innate immunity study to drug development *La revue de médecine interne* 25 629–635

E. Andrès a,b,*, J.-L. Dimarcq b,c 2007 : Peptides antimicrobiens cationiques : de l'étude de l'immunité innée à la production de médicaments. *Mise à jour Médecine et maladies infectieuses* 37 194–199

Ehrenstein, G. & Lecar, H. (1977): Electrically gated ionic channels in lipid bilayers. *Q. Rev. Biophys.* **10**, 1–34

Ehret-Sabatier, L., Loew, D., Goyffon, M., Fehlbaum, P., Hoffmann, J.A., van Dorselaer, A., Bulet, P., 1996. Characterization of Novel Cysteine-rich Antimicrobial Peptides from Scorpion Blood. *Journal of Biological Chemistry* 271, 29537-29544

Fehlbaum, P., Bulet, P., Chernysh, S., Briand, J.P., Roussel, J.P., Letellier, L., Hetru, C., Hoffmann, J.A., 1996: Structure-activity analysis of thanatin, a 21-residue inducible insect defense peptide with sequence homology to frog skin antimicrobial peptides. *Proc Natl Acad Sci USA* 93, 1221-1225

Finking R and Marahiel (2004): Biosynthesis of nonribosomal peptides.

Ganz, T. and Lehrer, R.I., 1998. Antimicrobial peptides of vertebrates. *Current Opinion in Immunology* 10, 41-44.

Gillor, O., Kirkup, B.C., Riley, M.A., Allen I. Laskin, J.W.B.a.G.M.G., 2004. Colicins and Microcins: The Next Generation Antimicrobials, *Advances in Applied Microbiology*. Academic Press, pp. 129-146

Gordon YJ, Romanowski EG, McDermott AM (2005):A review of antimicrobial peptide and their therapeutic potential as anti-infective drugs. *Curr Eye Res.* Jul;30(7):505-15.

Groisman, E. A. (1994): How bacteria resist killing by host-defense peptides. *Trends Microbiol.* 2, 444–448

Hancock REW2000;. Cationic anti-microbial peptides: toward clinical application. *Expert Opin Investig Drugs* 9:1723–9.

Haryadi Sugiarto, Pak-Lam Yu*2004: Avian antimicrobial peptides: the defense role of b-defensins *Biochemical and Biophysical Research Communications* 323. 721

Hoffmann JA, Kafatos FC, Janeway CA, Ezekowitz RA.1999: Phylogenetic perspectives in innate immunity. *Science* 1999;284:1313–8.

Hoffmann, J. A., F. C. Kafatos, C. A. Janeway and R. A. Ezekowitz 1999: "Phylogenetic perspectives in innate immunity." *Science* **284**(5418): 1313-8

Huang, H.W. (2004).: Molecular mechanism of peptide induced pores in membranes. *Phys. Rev. Lett.* **92**, 198304-1 – 198304-4

Hummel G, Reineke U, Reimer U (2006): Translating peptides into small molecules.

Jack, R.W. and Jung, G., 2000. Lantibiotics and microcins: polypeptides with unusual chemical diversity. *Current Opinion in Chemical Biology* **4**, 310-317.

Jacob L, Zasloff M. 1994; Potential therapeutic applications of magainins and other antimicrobial agents of animal origin. *Ciba Found Symp* **186**:197–216 discussion 216-23.

Jens-M. Schroder*, Jurgen Harder 2006: Antimicrobial peptides in skin disease 1740-6773/\$ _ 2006 Elsevier Ltd. All rights reserved.

K.V.R. Reddy, R.D. Yedery, C. Aranha 2004: Antimicrobial peptides: premises and promises *International Journal of Antimicrobial Agents* **24** 536–547

Karp G (1996): Cell and molecular biology, concept and experiments. Ed Willey & Sons

Kim A. Brogden a*, Mark Ackermann b, Paul B. McCray, Jr. c, Brian F. Tack: Antimicrobial peptides in animals and their role in host defences *International Journal of Antimicrobial Agents* **22** (2003) 465_ 478

Kim A. Brogden, 2005: ANTIMICROBIAL PEPTIDES: PORE FORMERS OR METABOLIC INHIBITORS IN BACTERIA *Nature review Microbiol*, **3**, 3 . pp . 238 -50

Kindt T.J., Goldsby A.R., Osborne B.A., 2008 : Immunologie. Le cours de Janis Kuby avec questions de revision. Edition 6. DUNOD. 683p. (484-499).

Lai Y, Gallo RL., 2009: AMPed up immunity: how antimicrobial peptides have multiple roles in immune defense. *Trends Immunol*, **30**:131-41.

Lamb HM, Wiseman LR. 1998: Pexiganan acetate. *Drugs*; **56**:1047–52.

Lamberty, M., Ades, S., Uttenweiler-Joseph, S., Brookhart, G., Bushey, D., Hoffmann, J.A., Bulet, P., 1999. Insect Immunity. Isolation from the lepidopteran *Heliothis virescens* of a novel insect defensin with potent antifungal activity. *Journal of Biological Chemistry* **274**, 9320-9326

Lathan PW (1999) Therapeutic peptides revisited. *Nature Biotech.* 17:755-57

Lehrer RI, Ganz T. 1999: Antimicrobial peptides in mammalian and insect host defense. *Curr Opin Immunol*;11:23–7

Lindahl (2003) S GE: One hundred years of nobel prizes and 150 years of anesthesiology. *J.Anesth.* 17:42-45

Loffet, A (2002). Peptides as drugs: Is there a market? *J.Pept.science* 8 (1): 1-

Luderitz, O. et al, 1982: *Lipopolysaccharides of Gram-negative Bacteria* (Academic Press,). Campos, M. A. et al. Capsule polysaccharide mediates bacterial resistance to antimicrobial peptides. *Infect. Immun.* 72, 7107–7114 (2004).

Ludtke, S., He, K. & Huang, H. (1995): Membrane thinning caused by magainin 2. *Biochemistry* 34, 16764–16769

Male D., Brostoff J., Roth D.B., Roitt I., 2007: Immunologie Edition 7. Elsevier Issy les Moulineaux. 600p.

Matsuzaki, K. et al 1998: Relationship of membrane curvature to the formation of pores by magainin 2. *Biochemistry* 37,11856–11863.

Matsuzaki, K. et al(1998): Relationship of membrane curvature to the formation of pores by magainin 2. *Biochemistry* 37, 11856–11863

May McGee P.(2005). First Successes Turn Tide for Peptide Therapeutics. *Drug Discovery & Development.* Ed April <http://www.dddmag.com>

Maysa F. Zampa, MSc,c, Inês M.S. Araújo, BSc,c, Vladimir Costa, MSCh,
Med Ad News (2005).

Merrifield B. (1963). Solid Phase Peptide Synthesis.I.The Synthesis of a Tetrapeptide. *J.Am.Chem.Soc* 85 .2149-54 Surowiecki (2004). Financial Page. New Yorker: 16-02-2004

Nicolas P, Mor A. 1995;Peptides as weapons against microorganisms in the chemical defense system of vertebrates. *Annu Rev Microbiol* 49:277_ 304.

Park, C. B., Yi, K. S., Matsuzaki, K., Kim, M. S. & Kim, S. C. (2000):Structure–activity analysis of buforin II, a histone H2Aderived antimicrobial peptide: the proline hinge is responsible for the cell-penetrating ability of buforin II. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **97**, 8245–8250

Parks, W.M., Bottrill, A.R., Pierrat, O.A., Durrant, M.C., Maxwell, A., 2007. The action of the bacterial toxin, microcin B17, on DNA gyrase. *Biochimie* 89, 500-507.

Parra-Lopez, C., Baer, M. T. & Groisman, E., A. (1993):Molecular genetic analysis of a locus required for resistance to antimicrobial peptides in *Salmonella typhimurium*. *EMBO J.* **12**, 4053–4062

Peschel, A. et al. (1999): Inactivation of the *dlt* operon in *Staphylococcus aureus* confers sensitivity to defensins, protegrins, and other antimicrobial peptides. *J. Bio l.Chem.* **274**, 8405–8410

Powers, J. P. & Hancock, R. E. 2003: The relationship between peptide structure and antibacterial activity. *Peptides* **24**, 1681–1691 (.

Resnick, N. M., Maloy, W. L., Guy, H. R. & Zasloff, M. A(1991):novel endopeptidase from *Xenopus* that recognizes helical secondary structure. *Cell* **66**, 541–554

Ross, R.P., Morgan, S., Hill, C., 2002. Preservation and fermentation: past, present and future. *International Journal of Food Microbiology* 79, 3-16.

Schuhmann, B., Seitz, V., Vilcinskas, A., Podsiadlowski, L., 2003: Cloning and expression of gallerimycin, an antifungal peptide expressed in immune response of greater wax moth larvae, *Galleria mellonella*. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 53, 125-133.

Scott, M. G., Yan, H. & Hancock, R. E. Biological properties of structurally related -helical cationic antimicrobial peptides. *Infect. Immun.* **67**, 2005–2009 (1999).

Selsted, M.E., Novotny, M.J., Morris, W.L., Tang, Y.Q., Smith, W., Cullor, J.S., 1992: Indolicidin, a novel bactericidal tridecapeptide amide from neutrophils. *Journal of Biological Chemistry* 267,4 292-4295.

Shafer, W. M., Qu, X., Waring, A. J. & Lehrer, R. I. (1998): .Modulation of *Neisseria gonorrhoeae* susceptibility to vertebrate antibacterial peptides due to a member of the resistance/nodulation/division efflux pump family. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **95**, 1829–1833

Shai, Y. 1999: .Mechanism of the binding, insertion and destabilization of phospholipid bilayer membranes by alphahelical antimicrobial and cell non-selective membrane-lytic peptides. *Biochim. Biophys. Acta* **1462**, 55–70 (

Sieber SA et Marahiel MA (2003) : Learning from nature's drug factories: nonribosomal synthesis of macrocyclic peptides. *J.Bac.* Dec: 7036-43.

Sieprawska-Lupa, M. et al. (2004): Degradation of human antimicrobial peptide LL-37 by *Staphylococcus aureus*-derived proteinases. *Antimicrob. Agents Chemother.* **48**, 4673–4679

Silva, P.I., Jr., Daffre, S., Bulet, P., 2000 : Isolation and Characterization of Gomesin, an 18-Residue Cysteine-rich Defense Peptide from the Spider *Acanthoscurria gomesiana* Hemocytes with Sequence Similarities to Horseshoe Crab Antimicrobial Peptides of the Tachyplesin Family. *Journal of Biological Chemistry* 275, 33464-33470.

Silvestro, L., Gupta, K., Weiser, J. N. & Axelsen, P. H. The concentration-dependent membrane activity of cecropin A. *Biochemistry.* **36**, 11452–11460 (1997).

Simmaco, M., Mignogna, G. & Barra, D. 1998: Antimicrobial peptides from amphibian skin: what do they tell us? *Biopolymers* 47, 435-450

V.G. Chinchar,a,* L. Bryan,a U. Silphadaung,b E. Noga,b D. Wade,c and L. Rollins-Smithd,e 2004: Inactivation of viruses infecting ectothermic animals by amphibian and piscine antimicrobial peptides *Virology* 323 () 268–275.

Visser, L. G., Hiemstra, P. S., Van Den Barselaar, M. T., Ballieux, P. A. & Van Furth, R. Role of *yadA*(1996): in resistance to killing of *Yersinia enterocolitica* by antimicrobial polypeptides of human granulocytes. *Infect. Immun.* **64**, 1653–1658

Wiedemann, I., Breukink, E., van Kraaij, C., Kuipers, O.P., Bierbaum, G., de Kruijff, B., Sahl, H.-G., 2001. Specific Binding of Nisin to the Peptidoglycan Precursor Lipid II Combines Pore Formation and Inhibition of Cell Wall Biosynthesis for Potent Antibiotic Activity. *Journal of Biological Chemistry* 276, 1772-1779

Willey, J.M. and van der Donk, W.A., 2007. Lantibiotics: Peptides of Diverse Structure and Function. *Annual Review of Microbiology* 61, 477-501

Yang, L., Harroun, T. A., Weiss, T. M., Ding, L. & Huang, H. W. Barrel-stave (2001): model or toroidal model? A case study on melittin pores. *Biophys. J.* **81**, 1475–1485

Yang, L., Harroun, T.A., Weiss, T.M., Ding, L., Huang, H.W., 2001. Barrel-Stave Model or Toroidal Model A Case Study on Melittin Pores. *Biophysical Journal* 81, 1475-1485.

Yasin, B., Pang, M., Turner, J.S., Cho, Y., Dinh, N.N., Waring, A.J., Lehrer, R.I., Wagar, E.A., 2000: Evaluation of the Inactivation of Infectious Herpes Simplex Virus by Host-Defense Peptides. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 19, 187-194

Wong J.H, Xia L, and Ng T.B. 2007: a review of defensins of diverse origins curr protein pept sci pp 446-59.

Zasloff, M. 2002: "Antimicrobial peptides of multicellular organisms." *Nature* **415**(6870):389-95.

Lien S and Lowman HB (2003). Therapeutic peptides.*Trends Biotechnol.*;21(12):556-62.

Lathan PW (1999) Therapeutic peptides revisited. *Nature Biotech.* 17:755-57

Lien S and Lowman HB (2003). Therapeutic peptides.*Trends Biotechnol.*;21(12):556-62.

Lathan PW (1999) Therapeutic peptides revisited. *Nature Biotech.* 17:755-57

Les annexes

Table de lecture (1 a) * : valeur critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour les Entérobactéries

Antibiotiques Testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI CRITIQUES (µg/ml)	
		Résistant	Intermédiaire	Sensible	Résistant	sensible
<u>β- lactamines</u>						
<u>Ampiciline</u>	10 µg	≤ 13	14 - 16	≥ 17	≥ 32	≤ 8
<u>Amoxicilline+ Acide ciavulanique*</u>	20/10 µg	≤ 13	14 - 17	≥ 18	≥ 32/16	≤ 8/4
<u>Ceftiofur ****</u>	30 µg	≤ 8 17	18- 20	≥ 21	≥ 8	≤ 2
<u>Céphalotine.</u>	30 µg	≤ 14	15- 17	≥ 16	≥ 32	≤ 8
<u>Aminosides</u>						
<u>Néomycine**</u>	30 µg	≤ 12	13 - 16	≥ 17	-	-
<u>Gentamicine</u>	10 µg	≤ 12	13 - 14	≥ 15	≥ 6	≤ 4
<u>Sulfamides</u>						
Triméthoprime / Sulfaméthoxazole	1.25/23 75µg	≤ 10	01 -15	≥ 16	≥ 8/152	≤ 2/38
Sulfamides	250 µg ou 300µg	≤ 12	13 - 16	≥ 17	≥ 350	≤ 100
<u>Tetracyclines</u>						
Tétracycline*	30 µg	≤ 14	15 - 18	≥ 19	≥ 16	≤ 4
<u>Quinolones</u>						
Fluméquine***	30 µg	≤ 21	21- 24	≥ 25		-
Enrofloxacin	05 µg	16	17 - 22	≥ 23	≥ 4	≤ 0,5
<u>Polypeptides</u>						
Colistine**	10 µg	≤ 6	09 - 10	≥ 11	-	-
<u>Furanes</u>						
Nitrofurantoine	300 µg	≤ 14	15 - 16	≥ 17	≥ 125	≤ 32
<u>Phénicolés</u>						
Chloramphénicol	30 µg	≤ 12	13- 17	≥ 18	≥ 32	≤ 8

Table de lecture(1b) * :valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibitions et des CMI pour staphylococcus sp.

Antibiotiques Testés	Charge des disques	Résistant	Intermédiaire	Sensible	Resistant	sensible
<u>β- lactamines :</u> Péniciline Oxacilline → S. Aureus Oxacilline→ S coagulase	10 UL 1 µg 1 µg	≤ 28 ≤ 10 ≤ 17	- 11 - 12 -	≥ 29 ≥ 13 ≥ 18	β- Lactamine ≥ 4 ≥ 0,5	≤ 0,1 ≤ 2 ≤ 0,25
<u>Aminosides :</u> Streptomycine**	10 µg	≤ 13	-	≥ 15	≥ 16	≤ 3
<u>Macrolides</u> Erythromycine : Spiramycine**	15 µg 100 µg	≤ 13 ≤ 19	14-22 -	≥ 23 ≥ 24	≥ 8 ≥ 4	≤ 0,5 ≤ 1
<u>Glycopeptides :</u> Vancomycine	30 µg	-		≥ 15	----	≤ 4
<u>Quinolones</u> Enrofloxacin***	5 µg	≤ 16	17- 22	≥ 23	≥ 4	≤ 0,5
<u>Tétracyclines</u> tétracycline	30 µg	≤ 14	15 - 18	≥ 19	≥ 18	≤ 1
<u>Sulfamides</u> Cotrimoxazole	1,25 /23.75µg	≤ 10	11 - 15	≥ 16	?	≤ 2/38

Polyptides Bacitracine**	130 µg	≤ 15	-	≥ 15	≤ 2	≤ 2
------------------------------------	--------	------	---	------	-----	-----

Résumé

Les peptides antimicrobiens sont considérés comme des éléments clés du système immunitaire inné, système qui assure la première ligne de défense des organismes multicellulaires. Ces peptides présentent un large spectre d'activité antibactérienne et anti fongique, voir antivirale.

Les résultats obtenus dans le cadre de la présente étude, ont ainsi permis de mettre en évidence l'efficacité antibactérienne de deux peptides antimicrobiens (PAM₁ et PAM₂) sur *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp.*, *Enterobacter sp.*, *E.coli*. Seul PAM1 s'est révélé en revanche efficace sur *Candida Albicans*. Leur innocuité cutanée a par ailleurs était démontré lors du test d'irritation cutanée

Leur efficacité sur des souches multi-résistantes laisse entrevoir leur potentielle utilisation en tant que molécules alternatives aux antibiotiques classiques.

Summary

Antimicrobial peptides are considered key elements of the innate immune system, a system that provides the first line of defense multi-cellular organisms. Ces peptides exhibit a broad spectrum of antibacterial and anti fungal, antiviral see. The results obtained in this study, have enabled to demonstrate the antibacterial efficacy of two antimicrobial peptides (PAM1 and PAM2) of *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp.*, *Enterobacter sp.* *E.coli*. However, PAM1 only proved effective against *Candida Albicans*. Their cutaneous safety was also demonstrated in the skin irritation test. Effectiveness of multi-resistant strains suggests their potential use as alternatives to conventional antibiotics molecules.

ملخص

ساهم سوء استخدام المضادات الحيوية في نشوء جراثيم مقاومة مما عزز من عودة ظهور بعض الأمراض المعدية
تعتبر الببتيدات المضادة للميكروبات، عناصر رئيسية في نظام المناعة الذاتية الذي يؤمن الخط الدفاعي الأول للكائنات المتعددة الخلايا. وقد تمثل بدائل فعالة للمضادات الحيوية ضد الجراثيم المقاومة.
تمثل هذه الببتيدات مجموعة واسعة من النشاط المضاد للبكتيريا، مضاد للفطريات و مضاد للفيروسات
تمثل دراستنا تقييم فعالية ببتيدين مضادين للمكروبات PAM1 PAM2 على أربعة (04) بكتيريا و فطر، و من جهة أخرى قمنا باختبار مدى قدرة الاحتمال الجلدي و هذا بتجربته على الأرانب.
إنها تملك الأولوية التي تسمح في أن تصبح دواء لتحل محل المضادات الحيوية التقليدية حيث أن البكتيريا تبدي مقاومة متزايدة في الشدة ضد المضادات للبكتيريا التقليدية.