

# Quinolones et fluoroquinolones: des décennies de développement et d'utilisation. Le point sur les molécules vétérinaires

## Partie 1: le regard du bactériologiste

MUYLAERT A., MAINIL J.G.

Service de Bactériologie, Département des Maladies infectieuses et parasitaires, Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Liège,

20 Boulevard de Colonster, bâtiment 43a, 4000 Liège, Belgique

Correspondance : Adeline Muyaert - Email : amuylaert@ulg.ac.be

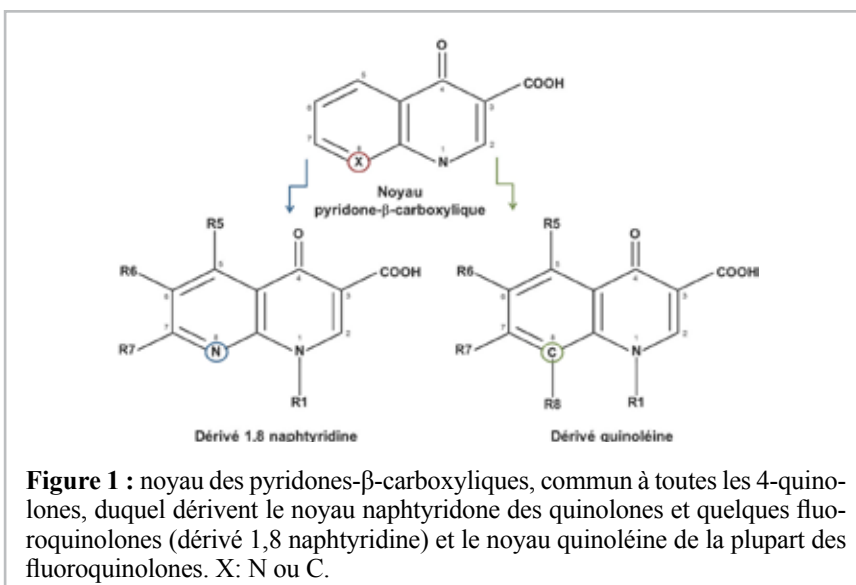
**RÉSUMÉ :** Parmi les agents antimicrobiens, la classe des 4-quinolones suscite un intérêt considérable depuis sa découverte en 1962 avec l'acide nalidixique, et son introduction en usage clinique en 1963, marquant ainsi le début de cinq décennies de développement et d'utilisation. Depuis, des progrès non négligeables ont été accomplis quant à notre compréhension des mécanismes moléculaires d'action des 4-quinolones vis-à-vis des bactéries pathogènes, de l'induction de résistance parmi ces microorganismes, et de la capacité de chacun de ces composés à induire des effets toxiques chez les différents patients traités. Cette revue de la littérature se divisera en deux articles distincts qui aborderont l'état actuel des connaissances pharmacologiques et microbiologiques concernant la famille des 4-quinolones. Ainsi, la première partie de cette revue détaillera les caractéristiques structurales étroitement liées à l'activité de cette famille de composés, leur classification, leur spectre antibactérien ainsi que leurs mécanismes d'action.

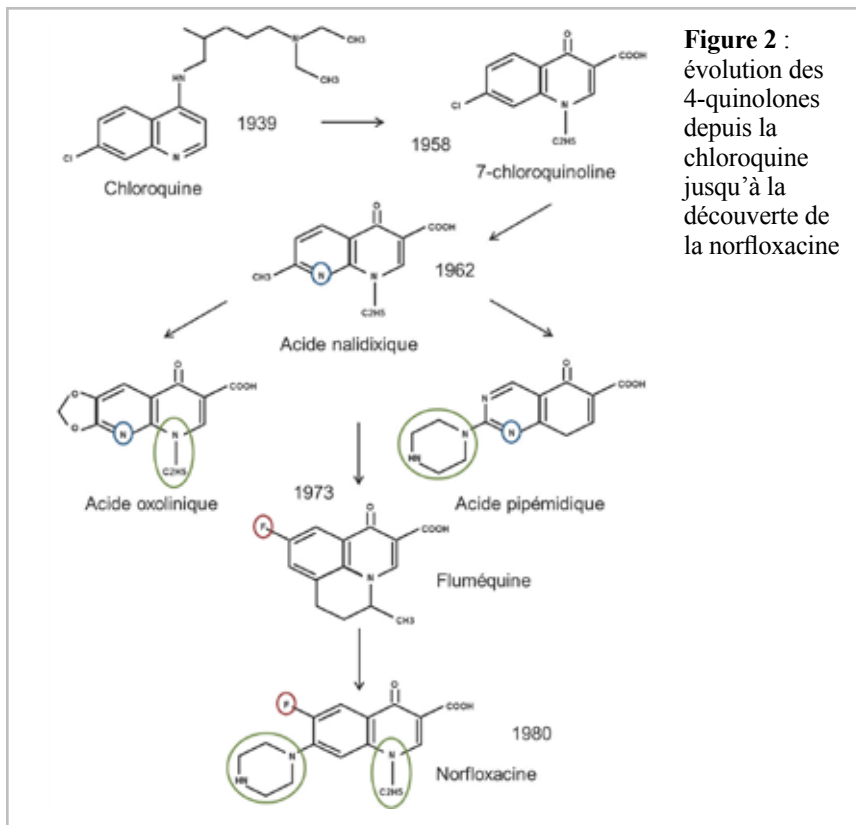
### 1. Introduction

Contrairement aux premiers antibiotiques identifiés au cours du siècle passé, les pyridones- $\beta$ -carboxyliques ou 4-quinolones (figure 1) (grande famille des quinolones et fluoroquinolones) ne furent pas isolées à partir d'organismes

vivants. La découverte en 1962 de l'acide nalidixique, un agent antibactérien contaminant d'un intermédiaire de synthèse de la chloroquine, et sa commercialisation en 1963 pour le traitement des infections urinaires causées par des bactéries Gram négatives entériques, marquent le début de cinq

décennies de développement et d'usage des 4-quinolones. Cependant, l'usage de l'acide nalidixique est resté négligeable du fait d'un spectre très étroit limité aux *Enterobacteriaceae*, d'une forte liaison aux protéines plasmatiques (92-97 %), d'une biodisponibilité limitée après une administration orale, d'une demi-vie courte et d'effets secondaires incompatibles avec une utilisation systémique (Walker et Dowling, 2006). Le développement de la famille des 4-quinolones dans l'arsenal thérapeutique s'est donc déroulé lentement (figure 2). Après l'acide nalidixique, suivra l'acide oxolinique, quatre fois plus actif (« efficace »), mais à spectre identique. Un élargissement modéré du spectre antibactérien, mais non de l'efficacité (en terme de concentration minimale inhibitrice ou CMI), sera ensuite obtenu avec la synthèse de l'acide pipémidique, actif en plus sur *Pseudomonas aeruginosa*, l'acide piroimidique, à la fois actif sur les *Enterobacteriaceae* et sur une bactérie Gram positive, *Staphylococcus aureus*, et enfin la fluméquine, première molécule de la famille à être fluorée en posi-





**Figure 2 :** évolution des 4-quinolones depuis la chloroquine jusqu'à la découverte de la norfloxacine

tion 6, dont le spectre élargi inclut les bactéries Gram négatives au sens large (Bryskier, 2005).

Mais l'étape-clé la plus spectaculaire eut lieu en 1980 avec la synthèse des fluoroquinolones par association d'un noyau aromatique en position 7 et d'un atome de fluor en position 6 du noyau pyridone-β-carboxylique (figures 1 et 2). La première véritable fluoroquinolone fut la norfloxacine qui présente une efficacité 10 à 100 fois supérieure à celle de l'acide nalidixique et un spectre large incluant les bactéries Gram négatives et certaines Gram positives dont les aérobies et les aéro-anaérobies en excluant toutefois les streptocoques et les anaérobies strictes, mais gardant une faible biodisponibilité qui empêche toute utilisation dans le traitement des infections systémiques (Bryskier, 2005). En 1988, aux Etats-Unis, l'enrofloxacin reçoit son enregistrement pour un usage chez les animaux de compagnie et devient ainsi la première fluoroquinolone vétérinaire (Walker et Dowling, 2006). Diverses autres modifications du noyau suivront, mais seulement quelques-unes d'entre elles permettront une amélioration de leurs propriétés pharmacodynamiques et pharmacocinétiques, entre autres, par extension du spectre d'activité aux streptocoques et aux germes anaérobies et par augmentation de leur biodispo-

nibilité et de leur demi-vie, autorisant ainsi une administration quotidienne unique. Les recherches actuelles s'orientent vers des molécules présentant une efficacité *in vivo* et *in vitro* encore augmentée vis-à-vis des coques Gram positifs du genre *Streptococcus*, une bonne tolérance neurologique et cardiologique, et dépourvues d'effet phototoxique.

Le spectre d'activité étendu et les propriétés pharmacocinétiques améliorées des 4-quinolones par rapport aux premiers membres du groupe ont permis à ces agents antibactériens relativement peu connus jusque-là, de se classer aujourd'hui parmi les antibiotiques les plus utilisés au monde, avec des ventes atteignant 3 milliards d'USD en 1997 (Appelbaum et Hunter, 2000 ; Emmerson et Jones, 2003). Citons pour exemple le cas de la Belgique en 2005 où la part des dépenses en soins de santé qu'occupait l'antibiothérapie représentait 122 millions d'euros dont 25 millions pour les fluoroquinolones (Institut national d'Assurance Maladie-Invalidité, 2007). De plus, sur le plan de la recherche et du développement, la famille des 4-quinolones représente encore actuellement, une des classes thérapeutiques les plus dynamiques et prometteuses (Bryskier, 2005).

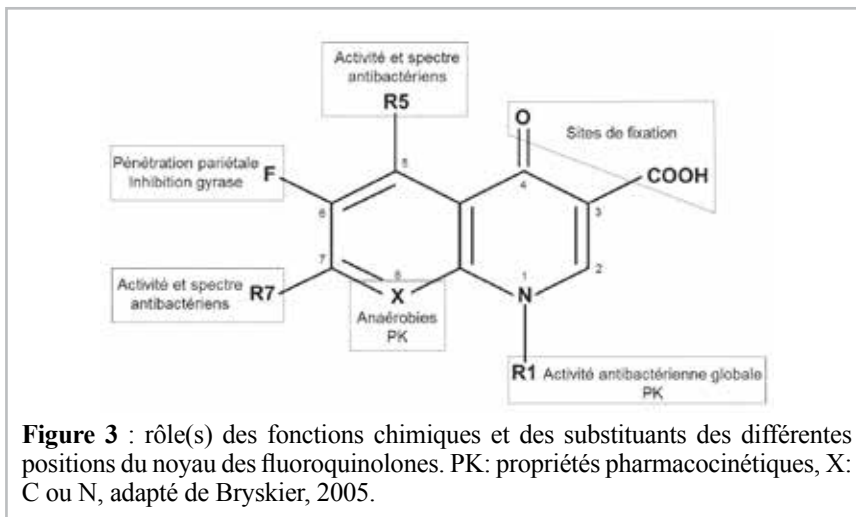
Cette revue de la littérature se divisera en deux articles distincts qui aborderont l'état actuel des connaissances pharmacologiques et microbiologiques concernant la famille des 4-quinolones. La première partie de cette revue détaillera les caractéristiques structurales étroitement liées à l'activité de cette famille de composés, leur classification, leur spectre antibactérien ainsi que leurs mécanismes d'action.

## 2. Relations structure-activité

Il existe une relation complexe entre la structure des 4-quinolones, leur activité antibactérienne, les effets secondaires qu'elles engendrent, et l'émergence de mutants résistants. Depuis la fin des années '60, les scientifiques n'ont cessé de tenter d'améliorer l'efficacité de ces molécules et leurs propriétés pharmacocinétiques, d'élargir leur spectre d'activité et d'en réduire les effets toxiques. La figure 1 représente le noyau des pyridones-β-carboxyliques, commun à toutes les 4-quinolones, au niveau duquel des substitutions atomiques appliquées en diverses positions stratégiques, permettent la création de nouvelles molécules aux propriétés pharmacologiques et antibactériennes distinctes. Cette figure illustre également les deux structures cycliques envisageables : le noyau naphtyridone des quinolones et de quelques fluoroquinolones, avec un atome d'azote en position 1 et 8 (dérivé 1,8 naphtyridine), et le noyau quinoléine de la plupart des fluoroquinolones, avec un atome d'azote en position 1 et un atome de carbone en position 8. Ainsi, toutes les fluoroquinolones ont en commun :

- un atome d'azote variablement substitué en position 1 (R1) ;
- un groupement carboxyle non substitué en position 3 ;
- un groupement cétone non substitué en position 4 ;
- un atome de fluor en position 6 (R6) ;
- un noyau aromatique variable en position 7 (R7).

La figure 3 illustre les influences des différentes fonctions chimiques et de leurs éventuelles substitutions au sein du noyau des fluoroquinolones et la figure 4 présente la structure chimique des différentes quinolones et fluoroquinolones enregistrées pour un usage en médecine vétérinaire en Belgique. Le substituant en position 1 influence



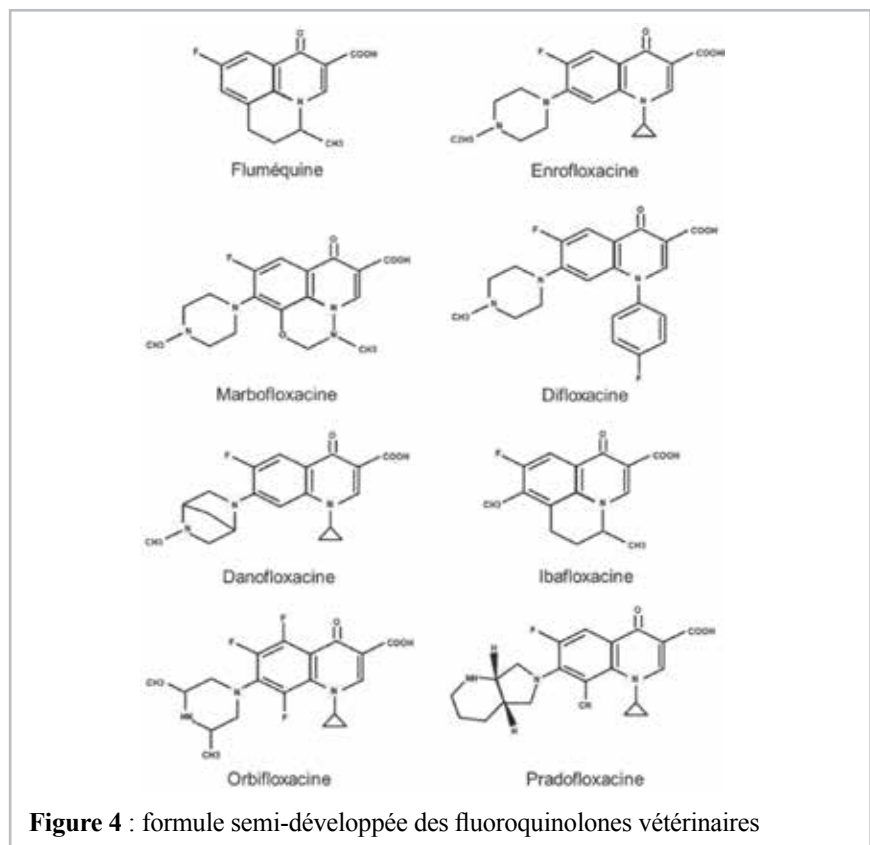
l'activité antibactérienne globale de la molécule, ainsi que ses propriétés pharmacocinétiques, et la présence d'un groupement cyclopropyl au niveau de cette position (comme pour l'enrofloxacin, la danofloxacin, l'orbifloxacin et la pradofloxacin) assure une activité contre les bactéries Gram négatives et Gram positives. Alors que le groupement phényl substituant l'azote en position 1 de la difloxacin améliore l'efficacité de la molécule vis-à-vis des bactéries Gram positives comparativement à l'enrofloxacin (Walker et Dowling, 2006). Les positions 3 et 4 déterminent l'activité antibactérienne de la molécule en influençant l'affinité pour les topoisomérases bactériennes, cibles des fluoroquinolones, alors que la position 2 doit rester libre, étant trop proche du site de fixation sur l'enzyme. La position 5 influence également l'activité antibactérienne et sa substitution par un groupement méthoxy (-O-CH<sub>3</sub>) permet une activité vis-à-vis des bactéries Gram positives. L'atome de fluor en position 6 qui transforme une quinolone en fluoroquinolone, améliore la pénétration intrabactérienne et l'inhibition au niveau de la topoisomérase II (gyrase), ce qui confère un élargissement du spectre en faveur des staphylocoques et des bactéries Gram négatives autres que les entérobactéries. La position 7 influence aussi l'activité antibactérienne, et sa substitution par une sous-unité pipérazine (C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>) augmente l'efficacité vis-à-vis des germes aérobies Gram négatifs, et élargit le spectre aux staphylocoques et à *P. aeruginosa*, alors qu'un groupement pyrrolidine (C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>N) en cette même position élargit le spectre aux bactéries Gram positives en général. La substitution par un atome d'halogène en position 8 (par exemple : un atome de

fluor en R8 pour la loméfloxacin et la sparfloxacin) augmente la demi-vie de la molécule et son efficacité contre les bactéries anaérobies, avec toutefois une phototoxicité résiduelle incompatible avec un usage clinique (Appelbaum et Hunter, 2000 ; Domagala et Hagen, 2003 ; Andriole, 2005 ; Bryskier, 2005 ; Bolon, 2009). La substitution de cette position par un groupement méthoxy élargit le spectre aux pneumocoques et aux bactéries anaérobies, et assure un ciblage simultané des topoisomérases II et IV, réduisant ainsi la possibilité de développement de mutants résistants aux fluoroquinolones (Wetzstein,

2005 ; Stein et Goldstein, 2006 ; Stephan *et al.*, 2007). Parmi les molécules disponibles actuellement, seules la moxifloxacin réservée à la médecine humaine et la pradofloxacin nouvellement introduite en médecine vétérinaire présentent cette conformation (Blondeau *et al.*, 2001 ; Smith *et al.*, 2002 ; Allen *et al.*, 2003 ; Blondeau, 2004 ; Andriole, 2005 ; Malik *et al.*, 2007 ; Silley *et al.*, 2007 ; 2012).

### 3. Classification et spectre antibactérien

Il existe un grand nombre de systèmes de classification des molécules de la famille des 4-quinolones, dont le choix est totalement arbitraire et se base sur la structure chimique (classification chimique), ou sur le spectre antibactérien *in vitro* (classification biologique), ou encore sur les propriétés physicochimiques (classification physicochimique). Celui que nous retiendrons et détaillerons dans la suite de l'article se base sur la classification biologique des molécules en trois groupes (tableau I) en fonction du spectre d'activité antibactérien *in vitro* et de l'efficacité de la molécule vis-à-vis des pneumocoques et autres streptocoques et des bactéries anaérobies. Il s'agit probablement de la classification la plus pratique pour le clinicien.



**Tableau I** : principales caractéristiques de chacun des trois spectres d'activité antibactérienne *in vitro*.

Caractéristiques		Spectre		
		étroit	large	étendu
Gram -	Entérobactéries	X	X	X
	Autres (A, A-An)	Fluméquine	X	X
	Anaérobies			X
	<i>P. aeruginosa</i>	Ac. pipémidique	X	X
Gram +	A, A-An		X	X
	<i>S. aureus</i>	Ac. piromidique	X	X
	<i>Streptococcus</i> spp.			X
	Anaérobies			X
	<i>Mycobacterium</i> spp.		X	X
Intracellulaires	<i>Rickettsia</i> spp.		X	X
	<i>Coxiella</i> spp.		X	X
	<i>Ehrlichia</i> spp.		X	X
	<i>Mycoplasma</i> spp.		X	X

légende : A : aérobie, A-An : aéro-anaérobie.

Les fluoroquinolones ont une excellente activité *in vitro* contre une large variété de micro-organismes aérobies Gram négatifs, incluant les *Enterobacteriaceae* et les *Pasteurellaceae* (par exemple *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Histophilus somni*, *Mannheimia haemolytica* et *Pasteurella* spp. dont notamment *P. multocida*). Elles sont également actives *in vitro* sur *Bordetella bronchiseptica*, *Brucella* spp., *Chlamydomphila* spp., *Mycoplasma* spp., *Ureplasma* spp., *Mycobacterium* spp. et *Rickettsia* spp., avec toutefois une activité inconstante sur le plan clinique pour les brucelles du fait d'une localisation intraphagolysosomiale de la bactérie et d'une localisation intracytoplasmique des fluoroquinolones (Bryskier, 2005 ; Walker et Dowling, 2006).

Les molécules actives principalement sur les entérobactéries Gram négatives, avec comme premiers représentants de cette classe, l'acide nalidixique et l'acide oxolinique appartiennent au spectre étroit ou molécules du premier groupe. En outre, l'acide pipémidique actif en plus sur *P. aeruginosa*, l'acide piromidique actif en plus sur *S. aureus* et la fluméquine active sur les bactéries Gram négatives aérobies au sens large, appartiennent également à ce groupe. On parle de spectre large (ou molécules du deuxième groupe) pour les molécules actives sur les bactéries Gram négatives (avec une diminution de la CMI vis-à-vis de *P. aeruginosa*) et Gram positives aérobies et

aéro-anaérobies, avec toutefois une efficacité limitée (CMI élevée) sur les streptocoques et sur certains *S. aureus* multi-résistants rendant impossible l'utilisation clinique de la molécule pour ces deux indications (Ball, 1994 ; 2000 ; Andriole, 2005 ; Bryskier, 2005). On classe dans ce groupe la norfloxacine, la ciprofloxa-

cine ainsi que l'ensemble des molécules belges à usage vétérinaire à l'exception de la pradofloxacine qui appartient au troisième groupe. Les molécules présentant un large spectre sont également actives sur les microorganismes intracellulaires tels que *Rickettsia* spp., *Coxiella* spp., *Ehrlichia* spp. et *Mycobacterium* spp., et sur *Mycoplasma* spp. Enfin, on parle de spectre étendu (ou molécules du troisième groupe) pour les molécules actives sur les bactéries à développement anaérobie préférentiel telles que les pneumocoques et autres streptocoques et sur les germes anaérobies strictes, avec des CMI plus basses, compatibles avec un usage clinique. Les composés utilisés en Belgique et présentant ce spectre sont la moxifloxacine et la pradofloxacine (Nakamura, 1995 ; Lubasch *et al.*, 2001 ; Paradis *et al.*, 2001 ; Ganière *et al.*, 2004 ; Horspool *et al.*, 2004 ; Sulochana *et al.*, 2005 ; Wetzstein, 2005 ; Scott *et al.*, 2006 ; Silley *et al.*, 2007 ; Stein et Goldstein, 2006 ; Lougheed *et al.*, 2009 ; Restrepo *et al.*, 2010 ; Veziris et Robert, 2010). Le tableau II présente quelques représentants de chaque classe en fonction de la structure de leur noyau, avec une mention particulière pour les molécules disponibles en Belgique pour la médecine humaine et vétérinaire.

Quelques remarques sont également d'un intérêt notable lors d'une thérapie envisagée avec de tels composés.

**Tableau II** : représentants de chaque spectre classés en fonction de la structure de leur noyau.

Spectre	Structure du noyau	
	Quinoléine	Naphtyridine
<b>Étroit</b>	Fluméquine <sup>VT</sup>	Acide nalidixique, acide oxolinique, acide pipémidique, acide piromidique
<b>Large</b>	Norfloxacine <sup>H</sup> , cirpofloxacine <sup>H</sup> , ofloxacine <sup>H</sup> , lévofloxacine <sup>H</sup> Enrofloxacine <sup>VT</sup> , marbofloxacine <sup>VT</sup> , ibafloxacine <sup>VT</sup> , orbifloxacine <sup>VT</sup> , danofloxacine <sup>VT</sup> , difloxacine <sup>VT</sup>	Enoxacine, tosufloxacine
<b>Étendu</b>	Moxifloxacine <sup>H</sup> Pradofloxacine <sup>VT</sup>	Gémifloxacine

légende : disponible en Belgique pour la médecine vétérinaire (Centre belge d'Information pharmaceutique, 2011b), H : disponible en Belgique pour la médecine humaine (Centre belge d'Information pharmaceutique, 2011a). Les autres molécules présentées dans ce tableau sont disponibles pour la médecine humaine dans différents pays du monde.



**Tableau III** : concentration minimale inhibitrice 90 (CMI90) de différentes fluoroquinolones en µg/ml vis-à-vis de différentes bactéries isolées à partir de différents systèmes chez le chien et le chat.

Bactéries	Fluoroquinolones testées					
	ENO	CIP	ORBI	IBA	DI	PRA
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	0,5-2	1		8	2-8	0,25
<i>Staphylococcus intermedius</i>	0,12-0,5	0,25	0,5-1	0,25	0,125-1	0,06
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,12-0,25	0,5	0,5	0,25		0,5
<i>Streptococcus canis</i>			1-2	32	2	
<i>Enterococcus spp.</i>	1-2		16-32	4		
<i>Escherichia coli</i>	0,03-0,125	≤ 0,015-0,06	0,5	0,5	0,125-0,25	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0,06-0,12	0,06	0,25	0,5	0,5	0,25
<i>Proteus spp.</i>	0,12-0,5	0,03-0,06	1-2	0,5	1-4	4
<i>Pseudomonas spp.</i>	1-8	0,12	8-16	16	4	2

légende : ENO : enrofloxacin, CIP : ciprofloxacin, ORBI : orbifloxacin, IBA : ibafloxacin, DI : difloxacin, PRA : pradofloxacin. CMI90 : la plus petite concentration en antibiotique inhibant la croissance de 90 % des souches de l'espèce bactérienne considérée, adapté de Walker et Dowling, 2006.

Ainsi, l'activité de la famille vis-à-vis de *P. aeruginosa* est variable, avec comme composé le plus efficace, la ciprofloxacin, utilisée en médecine humaine et qui est un métabolite de l'enrofloxacin (Blondeau *et al.*, 2012). Les molécules les plus anciennes sont moins actives sur les germes Gram positifs, tels que les streptocoques et ont une efficacité faible vis-à-vis des bactéries anaérobies strictes. Les composés récents, tels que la moxifloxacin dont l'usage est réservé à la médecine humaine, compensent cette déficience en présentant une bonne efficacité *in vitro* sur les germes anaérobies stricts au détriment de l'efficacité vis-à-vis des bactéries Gram négatives dont la CMI est augmentée (Walker et Dowling, 2006). Cependant, les fluoroquinolones enregistrées pour un usage vétérinaire, à l'exception de la pradofloxacin dont la structure est proche de la moxifloxacin, doivent être considérées comme inefficaces sur les bactéries anaérobies strictes (Sillery *et al.*, 2007). Les tableaux III et IV présentent les CMI de différentes fluoroquinolones à usage vétérinaire vis-à-vis de bactéries pathogènes fréquemment rencontrées chez les animaux et le tableau V présente les CMI de la pradofloxacin et de quatre autres fluoroquinolones à usage vétérinaire vis-à-vis de germes anaérobies strictes.

**Tableau IV** : concentration minimale inhibitrice 50 (CMI50) de différentes fluoroquinolones en µg/ml vis-à-vis de différentes bactéries isolées à partir de différents systèmes chez le bovin et le porc.

Bactérie (n)	Systèmes prélevés	Fluoroquinolones testées				
		ENO	CIP	MAR	DAN	DI
<i>Mannheimia haemolytica</i> (49)	respiratoire	0,03	0,008	0,03	0,03	0,12
<i>Pasteurella multocida</i> (75)		0,008	0,008	0,016	0,016	0,016
<i>Escherichia coli</i> (70)	intestinal, mamelle	0,03	0,016	0,016	0,03	0,12
<i>Staphylococcus aureus</i> (47)	mamelle	0,12	0,12	0,25	0,12	0,25
Staphylocoque coagulase négative (24)		0,12	0,12	0,25	0,12	0,25
<i>Streptococcus dysgalactiae</i> (25)		0,5	0,5	1	0,5	2
<i>Streptococcus uberis</i> (24)		0,5	0,5	1	0,5	2
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> (39)	respiratoire	0,016	0,008	0,016	0,03	0,06
<i>Bordetella bronchiseptica</i> (29)		0,25	0,25	0,25	0,5	2
<i>Streptococcus suis</i> (40)	septicémie	0,25	0,5	0,5	0,5	1

légende : n : nombres bactéries testées, ENO : enrofloxacin, CIP : ciprofloxacin, MAR : marbofloxacin, DAN : danofloxacin, DI : difloxacin. CMI50 : la plus petite concentration en antibiotique inhibant la croissance de 50 % des souches de l'espèce bactérienne considérée, adapté de Grobbel et collaborateurs, 2007.

**Tableau V** : concentration minimale inhibitrice 50 (CMI50) de différentes fluoroquinolones en µg/ml vis-à-vis de différentes bactéries anaérobies strictes isolées, chez le chien et le chat, à partir de la cavité buccale, d'abcès, de plaies et de matières fécales.

Genre bactérien (n)	Fluoroquinolones testées				
	PRA	MAR	ENO	DI	IBA
<i>Clostridium</i> (32)	0,25	1	1	2	4
<i>Bacteroides</i> (28)	0,25	1	2	2	8
<i>Fusobacterium</i> (22)	0,5	4	8	2	4
<i>Prevotella</i> (20)	0,25	1	2	1	8
<i>Porphyromonas</i> (6)	0,062	0,5	8	1	16

légende : n : nombre de bactéries testées, PRA : pradofloxacin, MAR : marbofloxacine, ENO : enrofloxacin, DI : difloxacin, IBA : ibafloxacin, adapté de Silley et collaborateurs, 2007.

## 4. Mécanismes d'action

Le mode d'action des 4-quinolones repose sur leur capacité à traverser les membranes bactériennes et à inhiber spécifiquement la synthèse de l'ADN bactérien, en association à d'autres mécanismes bactéricides. Les 4-quinolones possèdent un mode d'action commun, mais les spécificités de structure de chaque molécule sont responsables de mécanismes d'action complémentaires qui expliquent leur différence d'activité *in vitro*.

### 4.1. Passage transpériétal

La pénétration intracellulaire des 4-quinolones est plus complexe chez les bactéries Gram négatives que chez les bactéries Gram positives. En effet, chez les bactéries Gram positives, la paroi est essentiellement composée du peptidoglycan qui ne s'oppose pas à leur passage ; alors que chez les bactéries Gram négatives, la paroi est plus complexe et constitue une barrière importante. Cette dernière est composée de deux couches : (i) la membrane externe, comprenant le lipopolysaccharide (LPS), les porines et une fine couche de peptidoglycan, et (ii) la membrane interne cytoplasmique. Le passage des 4-quinolones s'effectue soit par formation de zones auto-induites hydrophobes dans le LPS déstructuré par la chélation d'ions Mg<sup>2+</sup>, soit par la voie majoritaire des porines qui est un mécanisme non spécifique influencé par la taille de la molécule en présence. La traversée de la membrane cytoplasmique est, quant à elle, un mécanisme

mal élucidé, qui semble faire intervenir un transporteur et être influencé par un gradient de pH (Bryskier, 2005).

### 4.2. Cibles bactériennes

Les cibles des 4-quinolones sont les topoisomérases II (ou gyrase) et IV, qui sont deux enzymes impliquées dans le bon déroulement de la réplication de l'ADN au cours de la croissance bactérienne et qui sont donc essentielles à la survie de la bactérie. En effet, la gyrase intervient au cours du processus de réplication, en assurant le clivage temporaire des deux brins d'ADN ainsi que leur ré-assemblage pour ensuite les surenrouler négativement. La topoisomérase IV, quant à elle, est impliquée dans les processus de décaténation de l'ADN (séparation des ADN nouvellement synthétisés), de partition des chromosomes lors de la division cellulaire et de relaxation de l'ADN. Les deux enzymes interviennent également dans les processus de réparation, transcription et recombinaison de l'ADN (Bryskier, 2005).

La cible privilégiée des 4-quinolones est la topoisomérase IV chez les bactéries Gram positives, alors que la gyrase est plus sensible chez les bactéries Gram négatives. Cependant, il est intéressant de souligner que certaines molécules à spectre étendu possèdent une caractéristique structurale (présence d'une sous-unité méthoxy en position 8) leur permettant de cibler simultanément les deux enzymes et limitant de la sorte la probabilité d'émergence de mutants résistants. (Zhao *et al.*, 1997 ; Blondeau

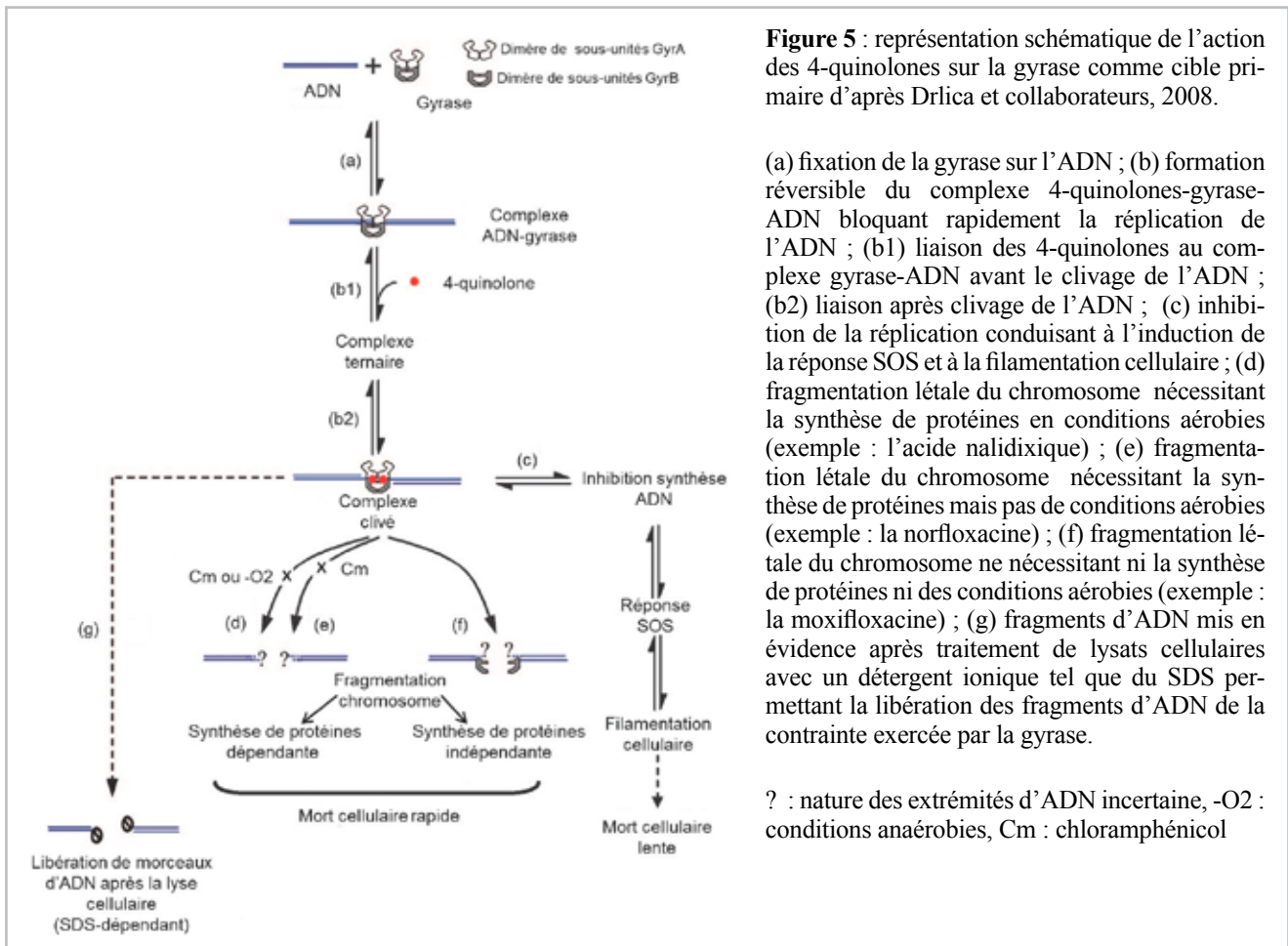
*et al.*, 2001 ; Smith *et al.*, 2002 ; Allen *et al.*, 2003 ; Drlica et Malik, 2003 ; Blondeau, 2004 ; Andriole, 2005 ; Wetzstein, 2005 ; Stephan *et al.*, 2007).

### 4.3. L'effet bactéricide

La figure 5 illustre le mode d'action des 4-quinolones lorsque la cible est la gyrase, bien que le processus décrit puisse être extrapolé pour la topoisomérase IV. La gyrase se compose de deux sous-unités GyrA associées à deux sous-unités GyrB et la topoisomérase IV se compose de deux sous-unités ParC associées à deux sous-unités ParE. Les deux enzymes fonctionnent sur base d'un mécanisme de passage de l'ADN double brin à l'intérieur d'une structure en forme de « porte » délimitée par les sous-unités GyrA ou ParC associées en dimère (figure 5 : étape a). La gyrase, tout comme la topoisomérase IV, induit une cassure en quinconce au niveau de l'ADN double brin qui la traverse et se fixe ensuite de façon covalente sur l'extrémité 5' libérée. Les 4-quinolones se lient rapidement au complexe formé par la gyrase et l'ADN, avant la cassure de l'ADN (figure 5 : étape b1). La cassure une fois produite, les 4-quinolones fixées sur le complexe gyrase-ADN inhibent la ligation des brins d'ADN, piègent l'enzyme sur l'ADN dans un complexe « 4-quinolones-gyrase-ADN » dit clivé (figure 5 : étape b2), et génèrent la formation réversible d'une multitude de complexes clivés tout au long du chromosome bactérien. Cette étape est bactériostatique (Drlica *et al.*, 2008).

#### 4.3.1. L'inhibition de la réplication et de la transcription : la bactéricidie lente

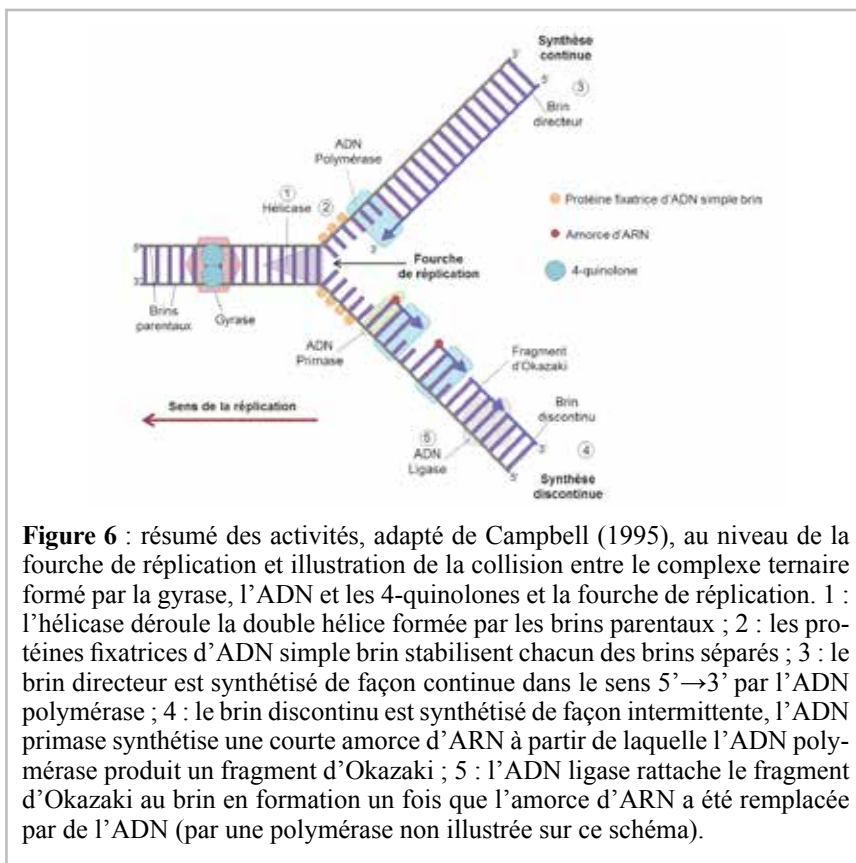
L'inhibition de la réplication de l'ADN est la conséquence d'une « collision » entre les fourches de réplication et les complexes clivés (figure 5 : étape c et figure 6). Cet effet rapide et réversible est bactériostatique et n'explique donc pas la bactéricidie observée en présence des 4-quinolones, mais il est responsable de l'induction d'événements secondaires impliqués dans cette bactéricidie. En outre, l'inhibition de la réplication est 50 à 100 fois plus lente lorsque la topoisomérase IV est la cible primaire des 4-quinolones, car cette dernière est localisée derrière les fourches de réplication, à l'inverse de la gyrase qui est située devant celles-ci (Drlica et Malik, 2003 ; Drlica *et al.*, 2008) (figures 6 et 7).



**Figure 5** : représentation schématique de l'action des 4-quinolones sur la gyrase comme cible primaire d'après Drlica et collaborateurs, 2008.

(a) fixation de la gyrase sur l'ADN ; (b) formation réversible du complexe 4-quinolones-gyrase-ADN bloquant rapidement la réplication de l'ADN ; (b1) liaison des 4-quinolones au complexe gyrase-ADN avant le clivage de l'ADN ; (b2) liaison après clivage de l'ADN ; (c) inhibition de la réplication conduisant à l'induction de la réponse SOS et à la filamentation cellulaire ; (d) fragmentation létale du chromosome nécessitant la synthèse de protéines en conditions aérobies (exemple : l'acide nalidixique) ; (e) fragmentation létale du chromosome nécessitant la synthèse de protéines mais pas de conditions aérobies (exemple : la norfloxacine) ; (f) fragmentation létale du chromosome ne nécessitant ni la synthèse de protéines ni des conditions aérobies (exemple : la moxifloxacine) ; (g) fragments d'ADN mis en évidence après traitement de lysats cellulaires avec un détergent ionique tel que du SDS permettant la libération des fragments d'ADN de la contrainte exercée par la gyrase.

? : nature des extrémités d'ADN incertaine, -O<sub>2</sub> : conditions anaérobies, Cm : chloramphénicol

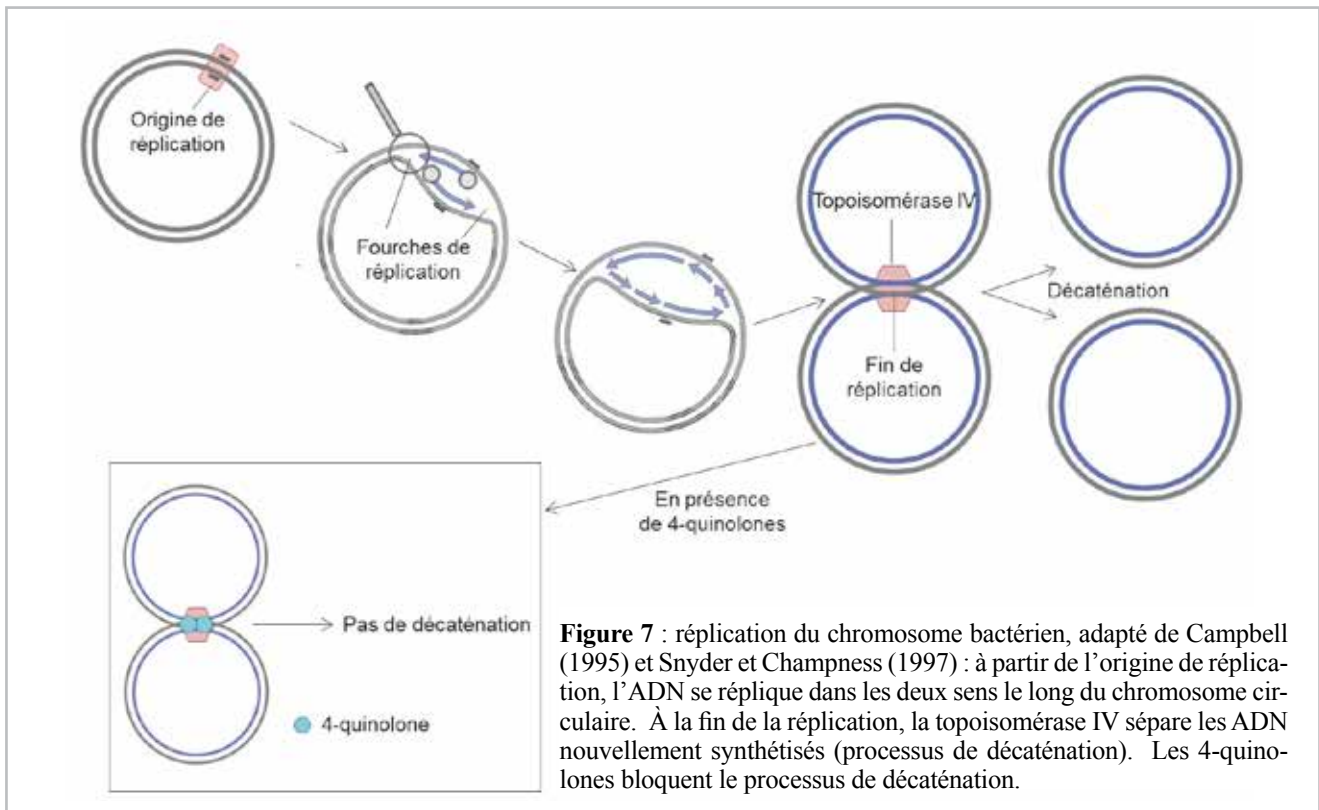


Les 4-quinolones en stabilisant la gyrase sur l'ADN empêchent également la progression de l'ARN-polymérase, bloquant la transcription et *in fine* la synthèse des protéines. Ce phénomène est aussi bactériostatique (Drlica et Hooper, 2003 ; Bryskier, 2005).

Enfin, les 4-quinolones en bloquant de la sorte la synthèse d'acides nucléiques, activent des événements secondaires aux conséquences lentement bactéricides. Parmi ces événements, citons la réponse SOS, mécanisme de défense aux agressions de l'ADN, et l'induction persistante du régulon SOS, dont un des gènes active un inhibiteur de la division cellulaire, ce qui provoque l'apparition de formes bactériennes longues et filamenteuses, en partie responsables de la létalité observée (figure 5 : étape c) (Drlica *et al.*, 2008).

#### 4.3.2. La bactéricidie rapide

La bactéricidie rapide induite par les 4-quinolones serait donc en partie liée à l'expression de protéines particulières dites suicides, non impliquées dans la réponse SOS (Chen *et al.*, 1996 ;



**Figure 7** : répllication du chromosome bactérien, adapté de Campbell (1995) et Snyder et Champness (1997) : à partir de l'origine de répllication, l'ADN se réplique dans les deux sens le long du chromosome circulaire. À la fin de la répllication, la topoisomérase IV sépare les ADN nouvellement synthétisés (processus de décaténation). Les 4-quinolones bloquent le processus de décaténation.

Drlica et Hooper, 2003). De plus, un phénomène de fragmentation du chromosome bactérien, dont la cinétique d'apparition coïncide avec la mort de la bactérie, mais dont la survenue est plus lente que l'inhibition de la répllication, a également été décrit pour expliquer cette bactéricidie rapide. Il peut être induit de deux façons différentes et la contribution relative de chacune de ces deux voies à la mort de la bactérie dépend de la structure de la 4-quinolone impliquée. Alors que des molécules plus anciennes (telles que l'acide nalidixique) nécessitent la synthèse de protéines suicides et des conditions aérobies (figure 5 : étape d), certaines molécules de dernière génération (telles que la moxifloxacine et la pradofloxacine) provoquent une déstabilisation des complexes clivés par dissociation des dimères GyrA (ou ParC) des topoisomérases (figure 5 : étape f). Remarquons par contre, que l'action létale de la norfloxacine qui nécessite la synthèse des protéines suicides peut se dérouler en conditions anaérobies (figure 5 : étape e) (Malik *et al.*, 2006 ; Malik *et al.*, 2007 ; Drlica *et al.*, 2008).

#### 4.3.3. En résumé

Le mode d'action des 4-quinolones est donc un processus en deux étapes. La première, réversible, et qui comprend la formation des complexes cli-

vés « 4-quinolones-gyrase-ADN », bloque la répllication de l'ADN, induit la réponse SOS et conduit à la filamentation de la bactérie par inhibition de la division. La seconde étape, irréversible et responsable de la bactéricide rapide, nécessite des concentrations en 4-quinolones plus élevées et induit la libération de fragments d'ADN dépendante ou non de la synthèse de protéines.

La seconde partie de cette revue de la littérature sur les 4-quinolones, en s'inscrivant dans la continuité du présent article, abordera le thème du point de vue du vétérinaire et de l'usage qu'il fait de ces composés, en focalisant son attention sur les propriétés pharmacodynamiques et pharmacocinétiques de ces antibiotiques, leur toxicité et les principaux effets secondaires rapportés ainsi que leurs principales indications en médecine vétérinaire.

### Quinolones and fluoroquinolones: decades of development and use. The veterinary molecules. Part 1: the viewpoint of the bacteriologist

#### Abstract

Among the antimicrobial agents, the 4-quinolone class generates a considerable interest since its discovery in 1962 with nalidixic acid,

and its introduction for clinical use in 1963, so marking the beginning of five decades of quinolone development and use. Ever since, significant progress has been made in our understanding of the molecular mechanisms of action of quinolones against pathogenic bacteria, the selection of resistance among these microorganisms, and the potency of each of these compounds to induce toxic and side effects in different treated patients. This literature review will be divided into two articles that will present the current state of pharmacological and antimicrobial activity on this antibiotic family. The first part of this review will detail the relation between the structure and the activity of these drugs, the classification, the activity spectrum and the mechanisms of action.



## BIBLIOGRAPHIE

- ALLEN G.P., KAATZ G.W., RYBAK M.J. Activities of mutant prevention concentration-targeted moxifloxacin and levofloxacin against *Streptococcus pneumoniae* in an in vitro pharmacodynamic model. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2003, **47**, 2606-2614.
- ANDRIOLE V.T. The quinolones: past, present, and future. *Clin. Infect. Dis.*, 2005, **41** : Suppl 2, S113-119.
- APPELBAUM P.C., HUNTER P.A. The fluoroquinolone antibacterials: past, present and future perspectives. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2000, **16**, 5-15.
- BALL P. Bacterial resistance to fluoroquinolones: lessons to be learned. *Infection*, 1994, **22** : Suppl 2, S140-147.
- BALL P. Quinolone generations: natural history or natural selection? *J. Antimicrob. Chemother.*, 2000, **46** : Suppl T1, 17-24.
- BLONDEAU J.M., ZHAO X., HANSEN G., DRLICA K. Mutant prevention concentrations of fluoroquinolones for clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2001, **45**, 433-438.
- BLONDEAU J.M. Fluoroquinolones: mechanism of action, classification, and development of resistance. *Surv. Ophthalmol.*, 2004, **49** : Suppl 2, S73-78.
- BLONDEAU J.M., BORSOS S., BLONDEAU L.D., BLONDEAU B.J. In vitro killing of *Escherichia coli*, *Staphylococcus pseudintermedius* and *Pseudomonas aeruginosa* by enrofloxacin in combination with its active metabolite ciprofloxacin using clinically relevant drug concentrations in the dog and cat. *Vet. Microbiol.*, 2012, **155**, 284-290.
- BOLON M.K. The newer fluoroquinolones. *Infect. Dis. Clin. N. Am.*, 2009, **23**, 1027-1051.
- BRYSKIER A. Fluoroquinolones. In : Bryskier A. (Ed.), *Antimicrobial agents: antibacterials and antifungals*. ASM Press : Washington, 2005, 668-788.
- CAMPBELL N.A. *Biology*. 3<sup>th</sup> edition. De Boeck Université : Bruxelles, 1995, 1190 p.
- CENTRE BELGE D'INFORMATION PHARMACOTHERAPEUTIQUE Répertoire commenté des médicaments. (2011a) [en ligne] Adresse URL : [http://www.cbip.be/ggr/index.cfm?ggrWelk=/GGR/MPG/MPG\\_K.cfm](http://www.cbip.be/ggr/index.cfm?ggrWelk=/GGR/MPG/MPG_K.cfm), consulté le 25/10/2011.
- CENTRE BELGE D'INFORMATION PHARMACOTHERAPEUTIQUE Répertoire commenté des médicaments à usage vétérinaire (2011b). [en ligne] Adresse URL : <http://www.cbip-vet.be/fr/texts/FAMOOOL1JL2o.php>, consulté le 25/10/2011.
- CHEN C.R., MALIK M., SNYDER M., DRLICA K. DNA gyrase and topoisomerase IV on the bacterial chromosome: quinolone-induced DNA cleavage. *J. Mol. Biol.*, 1996, **258**, 627-637.
- DOMAGALA J.M., HAGEN S.E. Structure-activity relationships of the quinolone antibacterials in the new millennium: some things change and some do not. In : Hooper D.C., Rubinstein, E. (Eds), *Quinolone antimicrobial agents*. 3<sup>rd</sup> edition. ASM Press : Washington, 2003, 3-18.
- DRLICA K., MALIK M. Fluoroquinolones: action and resistance. *Curr. Topics Med. Chem.*, 2003, **3**, 249-282.
- DRLICA K., HOOPER D.C. Mechanisms of quinolone action. In : Hooper D.C., Rubinstein, E. (Eds), *Quinolone antimicrobial agents*. 3<sup>rd</sup> edition. ASM Press : Washington, 2003, 19-40.
- DRLICA K., MALIK M., KERNS R.J., ZHAO X. Quinolone-mediated bacterial death. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2008, **52**, 385-392.
- EMMERSON A.M., JONES A.M. The quinolones: decades of development and use. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2003, **51** : Suppl 1, 13-20.
- GANIERE J.P., MEDAILLE C., ETORE F. In vitro antimicrobial activity of orbifloxacin against *Staphylococcus intermedius* isolates from canine skin and ear infections. *Res. Vet. Sci.*, 2004, **77**, 67-71.
- GROBBEL M., LUBKE-BECKER A., WIELER L.H., FROYMAN R., FRIEDERICH S., FILIOS S. Comparative quantification of the in vitro activity of veterinary fluoroquinolones. *Vet. Microbiol.*, 2007, **124**, 73-81.
- HORSPOLL J., VANLAARP, VAN DEN BOS R., MAWHINNEY I. Treatment of canine pyoderma with ibafloxacin and marbofloxacin: fluoroquinolones with different pharmacokinetic profiles. *J. Vet. Pharmacol. Ther.*, 2004, **27**, 147-153.
- INSTITUT NATIONAL D'ASSURANCE MALADIE-INVALIDITÉ Quinolones : rapport final E-Project 05/010. (2007) [en ligne] Adresse URL : <http://www.inami.fgov.be/information/fr/studies/study34/pdf/study34.pdf>, consulté le 14/01/2013.

- LOUGHEED K.E., TAYLOR D.L., OSBORNE S.A., BRYANS J.S., BUXTON R.S. New anti-tuberculosis agents amongst known drugs. *Tuberculosis*, 2009, **89**, 364-370.
- LUBASCH A., ERBES R., MAUCH H., LODE H. Sparfloxacin in the treatment of drug resistant tuberculosis or intolerance of first line therapy. *Eur. Respir. J.*, 2001, **17**, 641-646.
- MALIK M., ZHAO X., DRLICA K. Lethal fragmentation of bacterial chromosomes mediated by DNA gyrase and quinolones. *Mol. Microbiol.*, 2006, **61**, 810-825.
- MALIK M., HUSSAIN S., DRLICA K. Effect of anaerobic growth on quinolone lethality with *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2007, **51**, 28-34.
- NAKAMURA S. Veterinary use of new quinolones in Japan. *Drugs*, 1995, **49** : Suppl 2, 152-158.
- PARADIS M., ABBEY L., BAKER B., COYNE M., HANNIGAN M., JOFFE D., PUKAY B., TRETTIEN A., WAISGLASS S., WELLINGTON J. Evaluation of the clinical efficacy of marbofloxacin (Zeniquin) tablets for the treatment of canine pyoderma: an open clinical trial. *Vet. Dermatol.*, 2001, **12**, 163-169.
- RESTREPO C., IHRKE P.J., WHITE S.D., SPIEGEL I.B., AFFOLTER V.K. Evaluation of the clinical efficacy of pradofloxacin tablets for the treatment of canine pyoderma. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, 2010, **46**, 301-311.
- SCOTT D.W., PETERS J., MILLER W.H., JR. Efficacy of orbifloxacin tablets for the treatment of superficial and deep pyoderma due to *Staphylococcus intermedius* infection in dogs. *Can. Vet. J.*, 2006, **47**, 999-1002.
- SILLEY P., STEPHAN B., GREIFE H.A., PRIDMORE A. Comparative activity of pradofloxacin against anaerobic bacteria isolated from dogs and cats. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2007, **60**, 999-1003.
- SILLEY P., STEPHAN B., GREIFE H.A., PRIDMORE A. Bactericidal properties of pradofloxacin against veterinary pathogens. *Vet. Microbiol.*, 2012, **157**, 106-111.
- SMITH H.J., NICHOL K.A., HOBAN D.J., ZHANEL G.G. Dual activity of fluoroquinolones against *Streptococcus pneumoniae*: the facts behind the claims. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2002, **49**, 893-895.
- SNYDER L., CHAMPNESS W. Molecular genetics of bacteria. ASM Press : Washington, 1997, 504 p.
- STEIN G.E., GOLDSTEIN E.J. Fluoroquinolones and anaerobes. *Clin. Infect. Dis.*, 2006, **42**, 1598-1607.
- STEPHAN B., GREIFE H.A., PRIDMORE A., SILLEY P. Mutant prevention concentration of pradofloxacin against *Porphyromonas gingivalis*. *Vet. Microbiol.*, 2007, **121**, 194-195.
- SULOCHANA S., RAHMAN F., PARAMASIVAN C.N. In vitro activity of fluoroquinolones against *Mycobacterium tuberculosis*. *J. Chemother.*, 2005, **17**, 169-173.
- VEZIRIS N., ROBERT J. Anti-tuberculosis drug resistance and therapeutic dead end. *Med. Sci.*, 2010, **26**, 976-980.
- WALKER R.D., DOWLING P.M. Fluoroquinolones. In : Giguère S., Prescott J.F., Baggot J.D., Walker R.D., Dowling P.M. (Eds), *Antimicrobial therapy in veterinary medicine*. 4<sup>th</sup> edition. Blackwell publishing : Ames, 2006, 263-284.
- WETZSTEIN H.G. Comparative mutant prevention concentrations of pradofloxacin and other veterinary fluoroquinolones indicate differing potentials in preventing selection of resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2005, **49**, 4166-4173.
- ZHAO X., XU C., DOMAGALA J., DRLICA K. DNA topoisomerase targets of the fluoroquinolones: a strategy for avoiding bacterial resistance. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 1997, **94**, 13991-13996.