



ROYAUME DU MAROC
Université Mohammed V -
Faculté de Médecine et de Pharmacie
RABAT



Année 2021

MM0262021

MEMOIRE DE MASTER
MASTER DE « BIOTECHNOLOGIE MÉDICALE »
OPTION : « BIOMÉDICALE »

Intitulé

**Exploration de nouveaux inhibiteurs de la
mycobacterium tuberculosis par ciblage de la DprE1**

Soutenue par :

Sara EL YAGOUBI

Devant le jury composé de :

Pr. OUADGHIRI Mouna Faculté de Médecine et de Pharmacie-RABAT, Présidente

Pr. Ilham Kandoussi Faculté de Médecine et Pharmacie de Rabat, Encadrante

Pr. Tarik Aanniz Faculté de Médecine et Pharmacie de Rabat, Examineur

Remerciements

En tout premier lieu, je remercie Allah, tout puissant, de m'avoir donné la force, la patience et le courage pour mener à terme ma formation et pouvoir réaliser ce travail, ainsi que l'audace pour dépasser toutes les difficultés.

J'adresse ensuite mes vifs remerciements au **corps professoral du master Biotechnologie Médical** pour leurs efforts et leur patience afin de réussir notre formation durant ces deux années d'études.

Je tiens, également, à exprimer ma profonde gratitude à mon Maître **Pr. IBRAHIMI Azeddine**, directeur du laboratoire de Biotechnologie Médicale à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat pour sa contribution à notre formation et ses encouragements. Sa bonté, sa modestie et son dévouement au travail nous ont énormément marqué et nous servent d'exemple. Veuillez trouver ici l'expression de notre respectueuse considération et notre profonde admiration pour toutes vos qualités scientifiques et humaines.

J'adresse de chaleureux remerciements à mon encadrante **Pr. KANDOUSSI Ilham**. Merci, pour votre suivi tout au long de l'élaboration de ce travail et de m'avoir aidé avec patience et bienveillance malgré vos grandes occupations, vos orientations ont permis à ce travail de voir le jour et vos remarques judicieuses ont permis de le valoriser. Veuillez trouver ici, Madame, l'expression de ma sincère gratitude, et l'assurance de ma très haute reconnaissance.

Je remercie sincèrement **Pr. OUADGHIRI Mouna**, coordinatrice du Master Biotechnologie Médicale d'avoir bien voulu présider le jury. Veuillez accepter Madame, l'assurance de mon estime et de mon profond respect.

Mes sincères remerciements **Pr. AANNIZ Tarik**, professeur à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, qui a fait l'honneur d'accepter de juger ce modeste travail, pour le temps apporté à la lecture et à l'évaluation de ce mémoire. Veuillez trouver ici l'expression de mes sincères gratitudes et mon grand respect.

Mes vifs remerciements vont à mon ami **JAOUID Oussama** pour le temps qu'il m'a consacré et pour les précieuses informations qu'il m'a données avec intérêt et compréhension. Soyez assuré de ma plus sincère reconnaissance.

Dédicaces

Je dédie ce travail :

À mes chers parents

À qui je dois tout, et pour qui aucun mot et aucune dédicace ne saurait exprimer ma considération, ma gratitude et mon profond amour pour les sacrifices que vous avez endurés pour mon éducation et mon bien-être. Vous n'avez jamais cessé de lutter. Je souhaite que vous trouviez dans ce travail le témoignage de ma vive reconnaissance. J'espère vous combler à mon tour.

À mes chers frères et sœurs

Votre amour et votre soutien m'ont donné force et encouragement. J'implore Dieu qu'il vous apporte tout le bonheur et toute la réussite et vous aide à réaliser tous vos rêves. Veuillez accepter cette dédicace comme l'expression de mon fort et inlassable attachement.

Dédicace spéciale à ma chère amie, Soukayna JABLI

Ma conseillère, et amie fidèle, qui m'a assisté dans les moments difficiles...et m'a pris par la main pour passer ensemble des épreuves pénibles.

Je te suis très reconnaissante, et je ne te remercierai jamais assez pour ton amabilité, ta générosité et surtout ton aide précieuse.

À mes chères amies

En souvenir des moments agréables passés ensemble et pour l'amitié inconditionnelle qui nous réunit. Je suis vraiment chanceuse de vous avoir à mes côtés.

Résumé

La tuberculose reste un fléau de la santé mondiale avec une diminution des options de traitement en raison de l'émergence de différentes variantes de *Mycobacterium tuberculosis* résistantes aux médicaments et qui nécessite essentiellement de nouvelles molécules médicamenteuses plus efficaces sans effets secondaires majeurs. Dans *Mtb*, la flavoenzyme de synthèse de la paroi cellulaire décaprenylphosphoryl - β -D-ribose 2'-épimérase (DprE1) joue un rôle crucial dans la pathogénèse de l'hôte, la virulence, la létalité et la survie sous stress.

Le présent travail vise à identifier de nouveaux inhibiteurs potentiels de la DprE1 en utilisant le criblage virtuel.

Dans la présente étude nous avons effectué un criblage virtuel de 111 molécules obtenues de la base de données BindingDB connues pour leur activité antituberculeuse ; ciblant DprE1. Un filtrage approfondi du docking, de l'affinité de liaison et pharmacocinétique aboutit à la sélection de trois composés, **ID :51375647**, **ID : 51375646** et **ID : 51268405** qui pourraient être explorés comme candidats-médicaments potentiels. Les résultats obtenus ont été validés en comparaison avec quatre inhibiteurs connus de DprE1 qui font actuellement l'objet d'essais cliniques BTZ043, TBA-7371, PBTZ169 et OPC-167832. Collectivement, après le docking et les tests de toxicité. Les résultats obtenus nous ont permis de sélectionner 3 molécules candidates : 51375647, 51375646 et 51268405 ayant une meilleure affinité moléculaire avec la DpE1 ; par rapport à l'**OPC-167832** qui est un inhibiteur non covalent de la DprE1 et qui est entré en phase II pour le traitement de la tuberculose pulmonaire. Fait intéressant, nous constatons que 51375647 montre les scores les plus élevés (-9,6 kcal/mol).

Mots-clés: *Mycobacterium tuberculosis*, DprE1, BindingDB, criblage virtuel.

Abstract

Tuberculosis remains a global health scourge with decreasing treatment options due to the emergence of different drug-resistant variants of *Mycobacterium tuberculosis* and essentially requires new and more effective drug molecules without major side effects. In *Mtb*, the cell wall synthesis flavoenzyme decaprenylphosphoryl - β -D-ribose 2'-epimerase (DprE1) plays a crucial role in host pathogenesis, virulence, lethality and survival under stress.

The present work aims to identify new potential inhibitors of DprE1 using virtual screening.

In the present study we performed a virtual screening of 111 molecules obtained from the BindingDB database known for their antitubercular activity; targeting DprE1. A thorough screening of docking, binding affinity and pharmacokinetics resulted in the selection of three compounds, ID: 51375647, ID: 51375646 and ID: 51268405 that could be explored as potential drug candidates. The results obtained were validated against four known DprE1 inhibitors currently in clinical trials BTZ043, TBA-7371, PBTZ169 and OPC-167832.

Collectively, after docking and toxicity testing. The results obtained allowed us to select 3 candidate molecules: 51375647, 51375646 and 51268405 with better molecular affinity to DprE1; compared to OPC-167832 which is a non-covalent inhibitor of DprE1 and has entered phase II for the treatment of pulmonary TB. Interestingly, we find that 51375647 shows the highest scores (-9.6 kcal/mol).

Keywords: *Mycobacterium tuberculosis*, DprE1, BindingDB, virtual screening.

ملخص

لا يزال السل كارثة صحية عالمية مع تساؤل خيارات العلاج بسبب ظهور أنواع مختلفة من المتفطرة السلية المقاومة للأدوية والتي تتطلب بشكل أساسي جزيئات دوائية جديدة أكثر فاعلية بدون آثار جانبية كبيرة

يلعب جدار الخلية (DprE1) flavoenzyme decaprenylphosphoryl- β -D-ribose 2'-epimerase، المصطنع دورًا مهمًا في التسبب في المرض، والفوعة، والفتك، والبقاء تحت الضغط

باستخدام الفحص الافتراضي يهدف العمل الحالي إلى تحديد مثبطات محتملة جديدة لـ DprE1

في هذه الدراسة، أجرينا فحصًا افتراضيًا لـ 111 جزيء تم الحصول عليها من قاعدة بيانات

BindingDB المعروفة بنشاطها المضاد للسل

يؤدي الفحص الشامل إلى اختيار ثلاثة مركبات، المعرف: 51375647، المعرف: 51375646 والمعرف: 51268405 التي يمكن استكشافها كمرشحين محتملين للعقاقير

معروفة حاليًا في التجارب السريرية تم التحقق من صحة النتائج التي تم الحصول عليها مقابل أربعة مثبطات بشكل جماعي، بعد الالتحام واختبار السمية. BTZ043TBA-7371 PBTZ169 OPC-167832

سمحت لنا النتائج التي تم الحصول عليها باختيار 3 جزيئات مرشحة: 51375647 ، 51375646 و 51268405 لها غير تساهمي ودخل المرحلة الثانية DprE1 وهو مثبط OPC-167832 ؛ مقارنةً بـ DpE1 تقارب جزيئي أفضل مع لعلاج السل الرئوي. ومن المثير للاهتمام ، نجد أن 51375647 تظهر أعلى الدرجات (-9.6 كيلو كالوري / مول)

الكلمات المفتاحية: المتفطرة السلية، الفحص الافتراضي، BindingDB ، DprE1

Liste des figures

Figure 1: Une chronologie des événements majeurs de l'histoire jusqu'à ce jour, définissant la progression de la tuberculose	19
Figure 2: Épidémiologie de la Tuberculose dans le monde, OMS 2015.....	20
Figure 3: Classification des mycobactéries	22
Figure 4: Carte circulaire du chromosome de <i>M. tuberculosis</i> H37Rv	26
Figure 5: Structure de l'enveloppe cellulaire <i>Mtb</i>	28
Figure 6 : Cycle infectueux de <i>Mtb</i>	30
Figure 7: Illustration d'une coloration de Ziehl-Neelsen d'un frottis.....	33
Figure 8: Aperçu des cibles mycobactériennes émergentes et des thérapies dirigées par l'hôte abordées	43
Figure 9: Vue d'ensemble du processus CADD	51
Figure 10: Flux de travail de la conception de médicaments basée sur la structure (SBDD) dans le processus de découverte de médicaments	53
Figure 11: Aperçu du processus d'amarrage moléculaire.....	54
Figure 12: Mécanisme d'action des inhibiteurs de la DprE1	64
Figure 13: DprE1 du <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	66
Figure 14: Structures d'inhibiteurs covalents et non covalents représentatifs de DprE1.....	68
Figure 15: Le fichier de configuration	69
Figure 16 : Workflow pour rechercher des inhibiteurs pour la DprE1.....	71
Figure 17: Structures 2D des inhibiteurs potentiels et leurs affinités vis-à-vis la DprE1	73
Figure 18: Visualisation des résultats.....	75

Liste des tableaux

Tableau I: Un aperçu des caractéristiques des membres du MTBC	24
Tableau II: Schéma thérapeutique recommandé par l'OMS pour la tuberculose sensible aux médicaments	41
Tableau III: Composés thérapeutiques potentiels contre la tuberculose ciblant le recyclage des cellules hôtes et les réactions de mort	43
Tableau IV : Nouveaux exemples de cibles mycobactériennes et leurs composés ou classes de composés pertinents	45
Tableau V: Logiciels et outils Web sélectionnés pour la prédiction de la toxicité chimique	62
Tableau VI: Les interactions entre les différents inhibiteurs et la DprE1.....	74

Liste des abréviations

- **AG** : Arabinogalactane
- **ATB** : Tuberculose Active
- **BAAR** : Bacille Acido-Alcool Résistant
- **BCG** : Bacille de Calmette et Guérin
- **BK** : Bacille de Koch
- **BTB** : la tuberculose bovine
- **CD** : Cellules dendritiques
- **CM** : la membrane cytoplasmique
- **CMI** : Cencentration Minimale inhibitrice
- **CP** : gélule
- **DEL** : Diodes Electroluminescentes
- **DOTS** : Directly Observed Treatment Short-course
- **DST** : Test de sensibilité aux médicaments
- **ETM**: Ethambutol
- **ETH** : Ethionamide
- **FAD** : Flavine Adénine Dinucléotide
- **FQ** : Fluoroquinolone
- **HDT** : Thérapies dirigées par l'hôte
- **HPLC** : chromatographie liquide à haute performance
- **IDR** : Intradermoréaction à la tuberculine
- **IFN- γ** : Interféron gamma
- **IL** : Interleukine
- **INH** : Isoniazide
- **ITL** : Infection Tuberculeuse Latente
- **LAM** : Lipoarabinomannane
- **LCR** : Liquide céphalo rachidien

- **Maf** : *Mycobacterium africanum*
- **MDR** : Multi-Drug Resistance
- **MDR-TB** : Tuberculose Multirésistante
- **MIRU** : Unités Répétitives Intercalées Mycobactériennes
- **MNT** : Mycobacterium non tuberculosis
- **MOM** : la membrane externe mycobactérienne
- **Mtb**: *Mycobacterium tuberculosis*
- **MTBC** : Complexe *Mycobacterium tuberculosis*
- **NPA** : Aspiration Nasopharyngée
- **OMS** : Organisation Mondiale de la Santé
- **PCR** : Polymerase Chain Reaction
- **PG** : peptidoglycane
- **PNT** : Programme national marocain de lutte contre la tuberculose
- **PZA** : Pyrazinamide
- **QFT-GIT**: QuantiFERON TB-Gold In-Tube
- **RIF**: Rifampicine
- **ROS** : Reactive Oxygen Species, en français : dérivé réactif de l'oxygène
- **RTC** : Réaction cutanée à la tuberculine
- **STR**: Streptomycine
- **TAAN** : Test d'Amplification des Acides Nucléiques Mycobactériens
- **TB**: Tuberculose
- **TBEP** : Tuberculose Extrapulmonaire
- **TB-TDR** : Tuberculose totalement résistante aux antibiotiques
- **TB-UR** : Tuberculose a ultra résistante aux antibiotiques
- **TCT** : Test Cutané à la Tuberculine
- **TDR** : Totally Drug Resistant – Résistant à tous les antituberculeux disponibles actuellement
- **TNF α** : Facteur de névrose tumorale de type α

- **VIH/SIDA** : virus de l'immunodéficience humaine/Syndrome d'Immuno-déficience Acquise
- **VNTR** : Nombres Variables de Répétitions en Tandem
- **WGS** : Whole Genome Sequencing
- **XDR-TB** : Extensively Drug-Resistant Tuberculosis
- **ZN** : Ziehl-Neelsen

Table des matières

Résumé	4
Abstract	5
Introduction	14
I. Généralités sur <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	17
1 Qu'est-ce que la tuberculose/MT ?	17
2 Historique du <i>Mtb</i> /Tuberculose	17
3 Epidémiologie du <i>Mtb</i>	19
3.1 Epidémiologie au niveau Mondial	19
3.2 Epidémiologie au Maroc	20
4 Les mycobactéries et le COMPLEXE <i>M. TUBERCULOSIS</i>	22
4.1 Classification et taxonomie	22
4.2 Caractéristiques du genre <i>Mycobacterium</i>	22
4.3 Caractéristiques du génome de <i>M. tuberculosis</i>	24
4.4 Caractères bactériologiques	27
4.5 Pathogenèse de la TB : Le cercle de vie des mycobactéries	29
4.6 Facteurs influençant la transmission de la TB	30
5 Modes de transmission	31
6 Le diagnostic de la TB et l'identification des mycobactéries	32
6.1 Aspects cliniques	32
6.2 Méthodes de diagnostic établies	33
6.2.1 L'examen direct par microscopie	33
6.2.2 La radiographie	34
6.2.3 L'intradermo-réaction a la tuberculine	34
6.2.4 Immunodiagnostic	35
6.2.5 La culture	35
6.3 Méthodes utilisées pour le typage moléculaire des souches MDR/XDR de <i>Mtb</i> : Méthodes de génotypage	36
6.3.1 Le spoligotypage	36
6.3.2 Les MIRU-VNTR	37
6.4 Diagnostic de la TB pharmacorésistante : Méthodes moléculaires	37
6.4.1 Le Xpert® MTB/RIF	38
6.4.2 Le test GenoType® MTBDRplus	38
6.4.3 Le test Genotype® MTBDRs/	39
6.5 Biomarqueurs dérivés de mycobactéries pour le diagnostic de la TB	39
7 Traitement	40

7.1	Thérapies dirigées par l'hôte	41
7.2	Traitements de la TB résistante.....	44
7.3	Nouvelles cibles médicamenteuses mycobactériennes	44
7.4	Homéostasie Bacillaire Redox	48
8	Prophylaxie et vaccinations.....	48
II.	<i>Découverte et développement de médicaments assistés par ordinateur (CADD)</i>	49
1	Définition.....	49
2	Conception de médicaments basé sur la structure (SBDD)	52
2.1	Docking	53
2.2	La conception de novo	55
3	Conception de médicaments basé sur le ligand (LBDD).....	55
III.	<i>Matériel et Méthodes</i>	58
1	Bases de données.....	58
1.1	Banque de données sur les protéines (PDB)	58
1.2	PubChem	58
1.3	Mcule.....	59
2	Logiciels	59
2.1	ADT	59
2.2	Autodock Vina	60
2.3	PyMol.....	60
2.4	Open Babel	61
2.5	Outils de prédiction de la toxicité : Toxicity checker-Mcule	62
IV.	<i>Méthodes</i>	64
1	Sélection et préparation de la cible.....	64
2	Construction de bases de données de ligands	66
3	Evaluation de la toxicité	68
4	Préparation des ligands.....	69
5	Docking.....	69
6	Visualisation des interactions.....	70
V.	<i>Résultats</i>	72
1	Base de données.....	72
2	Docking.....	72
2.1	Résultats du Criblage virtuel basé sur le ligand (LBVS)	72
	<i>Conclusion</i>	78

Introduction

Il est profondément troublant de constater que les moyens de lutte contre la tuberculose - une maladie qui tue une personne toutes les 16 secondes - sont un test de diagnostic vieux de 100 ans, un vaccin mis au point il y a 80 ans et des médicaments qui sont restés fondamentalement inchangés au cours des 40 dernières années. Ces faits sont à l'origine de l'appel à la mise au point de nouveaux outils lancé dans le Plan mondial Halte à la tuberculose 2006-2015. Malgré un demi-siècle de chimiothérapie antituberculeuse, un tiers de la population mondiale continue d'héberger de manière asymptomatique une forme dormante ou latente de la bactérie, avec un risque de réactivation de la maladie tout au long de la vie (Gagneux & Small, 2007). *Mycobacterium tuberculosis*, l'agent étiologique de la TB, reste un fardeau important pour la santé publique mondiale. En 2016, 10,4 millions de nouveaux cas de TB ont été signalés dans le monde et près de 1,7 million de décès liés à la TB. *Mtb* a développé une myriade de stratégies pour échapper et renverser les réponses immunitaires afin de persister chez un hôte. Cette maladie qui potentiellement mortelles peuvent encore être guéries par un traitement antibiotique, mais la gamme d'options thérapeutiques offertes par les antibiotiques diminue en raison de l'apparition de nombreuses souches résistantes aux médicaments, allant de la multirésistance (MDR) à l'ultrarésistance (XDR), ce qui rend le traitement conventionnel encore plus difficile. Les chercheurs utilisent les informations obtenues à partir de la séquence complète du génome de *Mtb* et de nouvelles méthodes génétiques et physiologiques pour identifier des cibles dans *Mtb* qui aideront au développement de ces agents antituberculeux dont on a cruellement besoin (Mishra & Surolia, 2018 ; Huang, Nazarova, et Russell 2019 ; Cole, 2016 ; Smith, 2003 ; Sia & Rengarajan, 2019).

Vu que la recherche et le développement classique de médicaments est un processus extrêmement long (jusqu'à 15 ans), complexe et coûteux (plus d'un milliard de dollars). Actuellement, le processus de conception des médicaments assisté par ordinateur permet de prédire des résultats possibles avant même que le processus soit en cours, ainsi permettant de réduire le temps et l'argent parce qu'un échec à n'importe quelle étape de développement des médicaments signifiait une perte énorme pour l'industrie. Deux approches de criblage virtuel sont actuellement utilisées : le criblage virtuel basé sur la structure (CVBS) et le criblage virtuel basé sur le ligand (CVBL).

Il est devenu de plus en plus claire que l'émergence de souches résistantes aux médicaments se produit avec une fréquence inquiétante dans de nombreux pays. Pour cela, notre objectif est

d'explorer par approche *in silico*, de nouvelles molécules inhibitrices de la DprE1, l'enzyme clé dans la biosynthèse de la paroi des mycobactéries, afin de lutter efficacement contre la résistance aux médicaments antituberculeux et améliorer le contrôle général de la tuberculose dans un avenir proche.

Partie A : Revue Bibliographique

I. Généralités sur *Mycobacterium tuberculosis*

1 Qu'est-ce que la tuberculose/MT ?

La tuberculose (TB) est une maladie infectieuse redoutable qui reste aujourd'hui une cause majeure de décès dans le monde. C'est une maladie transmise par voie aérienne, causée par les membres de l'espèce *Mycobacterium tuberculosis complex (MTBC)*, qui comprend : *M. tuberculosis*, l'agent pathogène bactérien responsable de la majorité des cas de TB humaine ; *M. africanum*, qui ne provoque la TB chez l'homme que dans certaines régions d'Afrique ; *M. bovis*, *M. caprae* et *M. pinnipedii*, qui provoquent la TB chez les mammifères sauvages et domestiques et *M. microti*, qui ne provoque la TB que chez les campagnols. *Mycobacterium tuberculosis (Mtb)* est une mycobactérie aérobie obligatoire appelée bacille de Koch, qui appartient à la classe des actinobactéries. C'est un agent pathogène intracellulaire facultatif capable d'infecter et de persister chez l'homme pendant des décennies malgré la présence d'un système immunitaire parfaitement fonctionnel. Pourtant, cet agent n'a pas la capacité de survivre ou de se répliquer en dehors du corps humain, par conséquent, l'homme est le seul hôte et réservoir naturel connu de *Mtb*. La capacité de *Mtb* à survivre et à provoquer des maladies est fortement corrélée à sa capacité à échapper aux mécanismes de défense immunitaire. En particulier, *Mtb* a la capacité remarquable de résider à l'intérieur des cellules du système immunitaire et principalement de survivre dans l'environnement hostile du macrophage. *Mtb* a évolué aux côtés de son hôte humain, vraisemblablement depuis plus de 70 000 ans. Cette adaptation de longue date de la bactérie à son hôte humain lui a permis de devenir un agent pathogène très efficace, classé encore aujourd'hui au premier rang des causes de décès chez l'homme pendant des siècles, dus à une maladie infectieuse, la principale cause de décès dus à une maladie transmissible et la principale cause de décès dus à la résistance aux médicaments (Ehrt, Schnappinger, et Rhee 2018 ; Dookie et al. 2018 ; Rens et al. 2021 ; Pieters 2008 ; Mekonnen et al. 2021 ; Sun, Champion, et Bigi 2019 ; Kanabalan et al. 2021 ; Mishra et Surolia 2018).

2 Historique du *Mtb*/Tuberculose

M. tuberculosis est l'un des agents pathogènes les plus anciens et les plus efficaces de l'histoire humaine qui a probablement coïncidait avec l'expansion géographique de l'homme, renforçant la preuve que *Mtb* a évolué avec son hôte, ce qui entraîne une adaptation exquise de la bactérie à son hôte et qui implique que la tuberculose ne peut être pleinement comprise qu'à la lumière des origines, des migrations et de la démographie de l'*Homo sapiens*. Au fil des siècles, l'origine

de *Mtb* a fait l'objet de nombreuses recherches, et on pense que les bactéries du genre *Mycobacterium* ont été initialement trouvées dans le sol. La domestication du bétail, que l'on pense avoir eu lieu il y a entre 10 000 et 25 000 ans, aurait permis le passage d'un agent pathogène mycobactérien du bétail domestiqué à l'homme, et dans cette adaptation à un nouvel hôte, la bactérie aurait évolué vers le *Mtb* (Smith 2003 ; Keiser et Purdy 2017 ; Barberis et al. s. d.).

La tuberculose a été décrite pour la première fois par Hippocrate en 400 avant Jésus-Christ ; il a décrit la phtisie comme une maladie mortelle, définissant avec précision ses symptômes qui sont un dépérissement associé à des douleurs thoraciques et à la toux, souvent avec sang dans les crachats et on pensait que la maladie était en grande partie héréditaire ; une reconnaissance notable de la TB remonte aux années 1020 (figure 1), lorsque le médecin Ibn Sina (Avicenne) a identifié pour la première fois la tuberculose pulmonaire comme une maladie contagieuse. Il a reconnu son association avec le diabète et a suggéré qu'elle pouvait se propager par le contact avec le sol et l'eau. En 1689, le Dr Richard Morton a établi que la forme pulmonaire de la TB était associée aux "tubercules" en raison de la variété de ses symptômes. À la fin de l'année 1839, la TB a été définie et acceptée comme une maladie unique et a été appelée tuberculose par un médecin allemand, J. L. Schönlein. En 1882, Robert Koch, médecin et microbiologiste allemand, a montré de manière concluante que la TB était bien causée par une bactérie et a décrit le bacille responsable de la TB, *M. tuberculosis* (Mishra et Surolia 2018 ; Smith 2003).

L'agent épidémiologique de la phtisie, également connue sous le nom de "consommation", a atteint son apogée épidémique au cours des 18^e et 19^e siècles. Plus tard, les découvertes de la tuberculine en 1890, du vaccin Bacille-Calmette-Guérin (BCG) en 1908, de la streptomycine (STR) en 1944 et de l'isoniazide (INH) en 1952 étaient tous perçus comme des révolutions scientifiques qui pourraient enfin conduire à l'éradication de cette maladie mortelle. Cette tendance à la baisse a pris fin et le nombre de nouveaux cas a commencé à augmenter au milieu des années 1980, en raison l'émergence de la résistance aux médicaments ainsi que de l'infection et de la transmission du virus de l'immunodéficience humaine (VIH). Peu de temps après, les chercheurs ont réalisé que des investigations plus avancées seraient nécessaires pour développer des outils de diagnostic rapide et une chimiothérapie efficace afin de réduire la morbidité, la mortalité et le risque de transmission de la tuberculose résistante aux médicaments (Smith 2003 ; Barbier et Wirth 2016 ; Hameed et al. 2018).

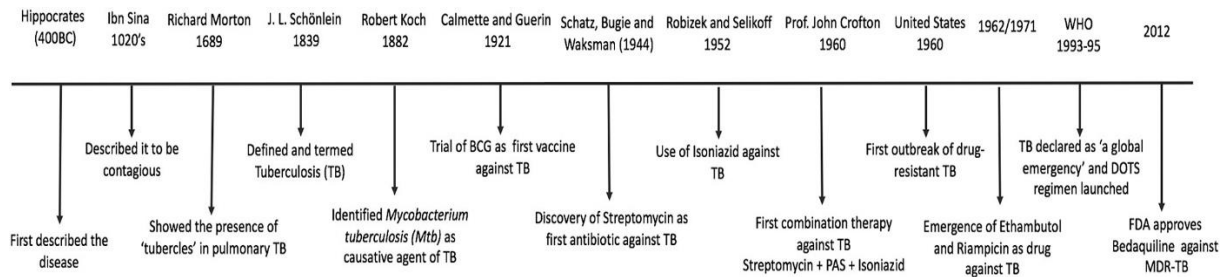


Figure 1: Une chronologie des événements majeurs de l'histoire jusqu'à ce jour, définissant la progression de la tuberculose

(Mishra & Surolia, 2018).

3 Epidémiologie du *Mtb*

3.1 Epidémiologie au niveau Mondial

Plus d'un siècle s'est écoulé depuis l'identification de *Mtb* comme agent causal de la tuberculose. Le rapport mondial sur la TB 2019 a montré que le monde n'a pas atteint l'objectif de 2019 en matière d'arrêt de la TB. De plus, la TB, comme d'autres maladies bactériennes, est confrontée à des problèmes d'émergence de résistances aux médicaments, qui mettent à rude épreuve le système de santé publique. On estime qu'elle a causé environ 1 milliard de décès au cours des 200 dernières années. Selon le rapport mondial sur la TB de 2019 de l'OMS les données de 202 pays ont estimé 10 millions de nouveaux cas, dont seulement 6,4 millions ont été diagnostiqués et officiellement signalés, avec 1,5 million de décès ainsi 1,7 milliard de personnes sont infectées de manière latente par *Mtb* (LTBI) sans symptômes évidents de la maladie en 2018 ce qui rend la TB difficile à contrôler. Parmi les personnes infectées par le VIH, 400 000 décès ont été attribués à la co-infection tuberculeuse. L'étendue du fardeau de la TB est plus élevée chez les hommes (57 %) que chez les femmes (32 %) (Awasthi et Freundlich 2017 ; Arora et al. 2020 ; Novoa-Aponte et Soto Ospina 2014 ; Abramovitch 2018 ; Torfs et al. 2019 ; Gopaldaswamy et al. 2020). La TB touche des personnes de tous âges, quel que soit leur sexe. De plus, le fardeau de la maladie varie considérablement d'un pays à l'autre. Géographiquement, la plupart des cas en 2018 sont survenus dans la région de l'Asie du Sud-Est (44 %), suivie de la région de l'Afrique (24 %) et de la région du Pacifique occidental (18 %), avec une proportion plus faible de cas dans la région de la Méditerranée orientale (8,1 %), les Amériques (2,9 %) et la région européenne (2,6 %) (Figure 2) (Kanabalan et al. 2021 ; Martini, Barberis, et Icardi 2020). En effet, l'incidence de la tuberculose varie de moins de 10 pour 100 000 en Amérique du Nord à 100 à 300 pour 100 000 en Asie et en Russie occidentale, à plus de 300 pour 100 000 en Afrique australe et centrale (Smith, 2003).

La résurgence mondiale de la TB est attribuée à l'augmentation des migrations internationales, aux défaillances des systèmes de santé publique, à l'inefficacité du vaccin BCG, au manque de conditions de vie saines et de soins médicaux adéquats. De plus, les impacts sociaux et économiques de la TB dans le monde sont dévastateurs, notamment la pauvreté dans certains pays d'Afrique, d'Asie et d'Amérique latine, la stigmatisation et la discrimination. Cette crise mondiale est aggravée par l'émergence de la multirésistance, où certains antibiotiques sont disponibles mais de qualité inférieure ou ne sont pas utilisés pendant une durée suffisante pour contrôler la maladie conformément aux recommandations. De 2000 à 2016, environ 53 millions de personnes ont été sauvées, également grâce à un grand effort organisé et réalisé dans le monde entier, qui a permis de réduire le taux de mortalité de 42 %. (Martini, Barberis, et Icardi 2020 ; Smith 2003 ; Maulén, 2011)

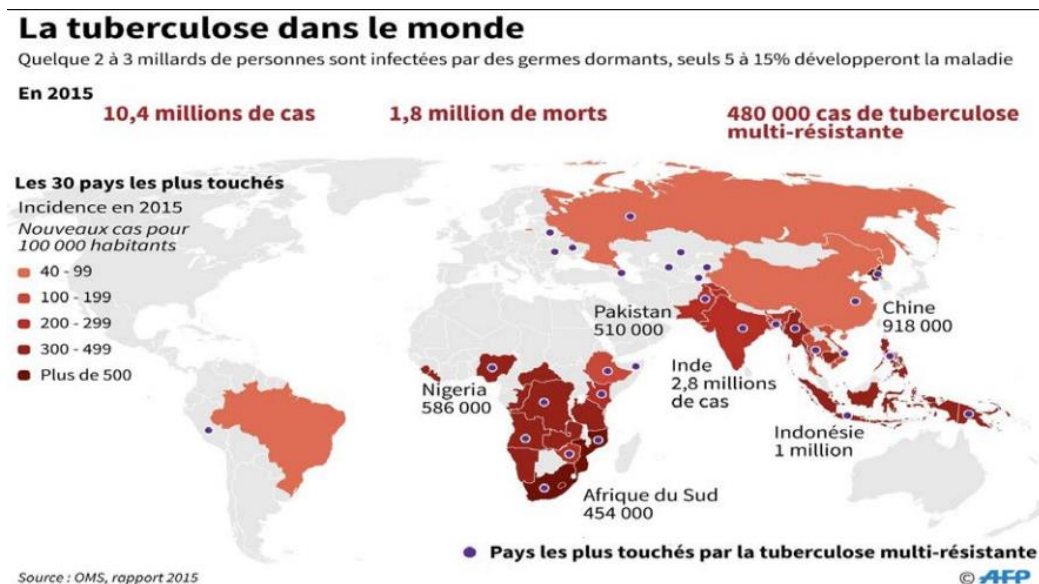


Figure 2: Épidémiologie de la Tuberculose dans le monde, OMS 2015.

3.2 Epidémiologie au Maroc

Le Maroc a réalisé des progrès significatifs dans le contrôle et la prise en charge de la tuberculose au cours des 30 dernières années grâce au soutien continu des partenaires nationaux et internationaux et grâce au Plan national de prévention et de contrôle de la TB qui est en vigueur depuis plus de trois décennies. Le gouvernement marocain a fourni et soutenu le PNT depuis son apogée et offre des services, des conseils et des traitements gratuits aux patients. Le Maroc a pu réduire de 80 % le nombre de primo-infections tuberculeuses entre 1980 et 2018. Le taux de réussite thérapeutique a également atteint 85 % en 1995 et est resté au-dessus 86 %

depuis 2002, dépassant la moyenne mondiale. En 1991, le Maroc a introduit la stratégie DOTS conformément aux recommandations de l'OMS, qui a permis au pays de fournir gratuitement un régime standardisé de traitement de la TB, de renforcer ses structures de soins de santé primaires dans la détection des cas, le traitement et le suivi des patients, d'assurer un approvisionnement régulier et ininterrompu, de tous les antituberculeux essentiels et augmenter la capacité des laboratoires. En 2006, le pays a également rejoint la stratégie STOP TB pour consolider ses efforts antérieurs et concevoir de nouvelles interventions visant à lutter contre la tuberculose résistante aux médicaments et les co-infections avec le VIH. Le plan 2006-2015 a entraîné une diminution de 59 % des mortalités liées à la TB et une diminution de 27 % de la prévalence de la TB (Bouaddi et al., 2021).

En 2019, l'incidence de la TB au Maroc était de 97 cas pour 100 000 habitants, contre 99 cas pour 100 000 habitants l'année précédente, soit une diminution de seulement 2,02 %. Au Maroc, la répartition spatiale de la TB n'est pas fortuite. Un regroupement spatial soutenu des taux d'incidence élevés de la TB a été observé dans la partie nord-ouest du pays par rapport aux parties sud et est (Bouaddi et al., 2021).

4 Les mycobactéries et le COMPLEXE *M. TUBERCULOSIS*

4.1 Classification et taxonomie

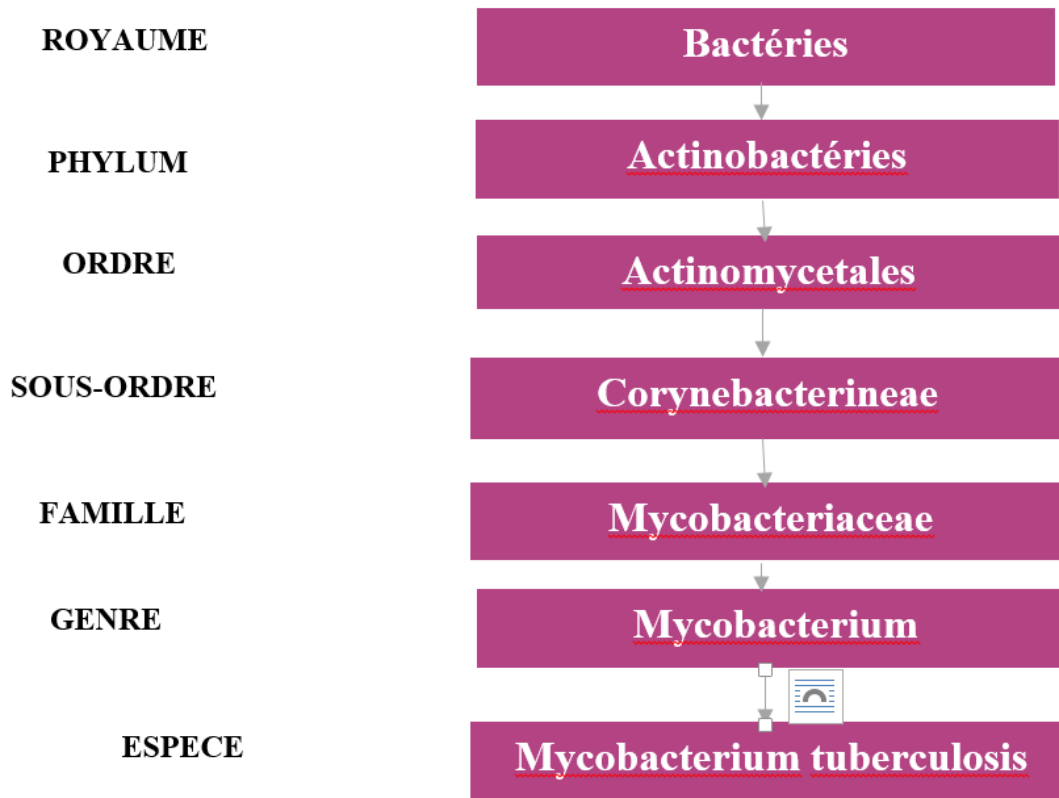


Figure 3: Classification des mycobactéries

(Koch & Mizrahi, 2018)

4.2 Caractéristiques du genre *Mycobacterium*

La famille des Mycobacteriaceae englobe un groupe diversifié de bactéries qui présentent différents traits de pathogénicité chez les animaux et les humains et présentent divers réservoirs hôtes et dynamiques de croissance en culture. Ce groupe de bactéries sont généralement des espèces de bacilles acido-résistants non sporulés, aérobies, non mobiles, à Gram positif, de forme légèrement incurvée, qui peuvent présenter des ramifications à partir de leur paroi cellulaire d'acide mycolique. Les membres du genre *Mycobacterium* possèdent une enveloppe de paroi cellulaire compliquée qui se traduit par une faible perméabilité des cellules. En outre, le genre peut être distingué des autres genres bactériens grâce à la méthode de coloration différentielle de la coloration acido-résistante de Zhiel-Neelsen (Kanabalan et al., 2021). Le genre *Mycobacterium* comprenait plus de 170 espèces et les espèces pathogènes sont classées en trois grands groupes, à savoir le complexe *Mycobacterium tuberculosis* qui est un groupe de mycobactéries comprenant *M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis*, *M. microti*, *M. canettii*, *M. caprae* qui sont génétiquement apparentés, *M. leprae* et *M. ulcerans*. De plus, deux

nouvelles espèces (*M. orygis* et *M. mungi*) sont appelées MTBC en plus des sept espèces communes. Certaines des espèces pathogènes sont des souches adaptées aux animaux qui s'étendent sur différentes espèces de mammifères. Ceux-ci incluent *M. bovis* (bovins), *M. caprae* (chèvres et moutons), *M. pinipedii* (otaries ou phoques), *M. microti* (campagnols) et *M. orygis* (oryx). Ainsi les mycobactéries autres que MTBC et *M. leprae*, collectivement appelées non tuberculeuses mycobactéries (NTM). Un aperçu des caractéristiques des membres du MTBC est présenté dans le tableau I. Parmi les espèces du MTBC, *Mtb* est le membre le plus important du MTBC qui constitue le principal agent étiologique de la TB et est un pathogène intracellulaire qui ravage l'humanité depuis des siècles (Mekonnen et al. 2021 ; Bald et al. 2017 ; Kanabalan et al. 2021). A l'inverse de *Mtb*, pour lequel il n'existe aucun réservoir environnemental, les MNT sont des organismes omniprésents et sont facilement isolés des sources environnementales, y compris le sol et les systèmes d'eau naturels et artificiels. Malgré la faible virulence rapportée des MNT pour les hôtes humains immunocompétents, une augmentation de leur fréquence d'isolement a été observée au cours de la dernière décennie, en particulier dans les pays où l'incidence de la TB est en baisse (Bald et al., 2017). Le genre des mycobactéries peuvent être classées en deux groupes principaux, qui comprennent les mycobactéries à croissance lente et à croissance rapide en fonction de leur taux de croissance. Par exemple, les mycobactéries à croissance lente comprennent *M. bovis*, *M. tuberculosis* et *M. leprae* qui sont respectivement responsables de la tuberculose bovine (BTB), de la tuberculose humaine (TB) et de la lèpre, tandis que le groupe à croissance rapide tel que *M. smegmatis*, est considéré comme une bactérie opportuniste ou non pathogène en général (Kanabalan et al., 2021). Le succès évolutif du *Mtb* est attribuée à sa capacité à basculer entre différents états métaboliques/phénotypiques, à s'adapter à divers microenvironnements, à inhiber la fusion des phagolysosomes et à former un granulome nécrotique. Plus de 24,8 % de la population humaine mondiale peut héberger *Mtb* dans différents tissus adipeux sous forme de tuberculose latente. Les expectorations riches en lipides et son microenvironnement de granulome pulmonaire source portent une population phénotypiquement hétérogène de *Mtb* (Mekonnen et al., 2021).

Tableau I: Un aperçu des caractéristiques des membres du MTBC
(Kanabalan et al., 2021).

Espèces MTBC	Descriptions générales
	- Espèce la plus connue.
<i>M. tuberculosis</i>	- Infectant plus de 1/3 de la population humaine mondiale.
	- Capable d'infecter les animaux qui sont en contact avec l'homme.
<i>M. canettii</i> et <i>M. africanum</i>	- Relation étroite avec <i>M. tuberculosis</i> .
	- Peut aussi causer la tuberculose humaine.
	- Généralement isolé des patients africains.
<i>M.bovis</i>	- Affiche le plus large spectre d'infection de l'hôte.
	- Affectant les chèvres domestiques ou sauvages, les bovins et l'homme.
<i>M. caprae</i>	- Isolé uniquement des chèvres.
<i>M. microti</i>	- Agent pathogène des rongeurs.
	- Isolé de campagnols généralement (rongeurs du genre <i>Microtus</i> ou genres apparentés).
	- Peut entraîner des maladies, en particulier chez les patients humains immunodéprimés.
<i>M. pinnipèdes</i>	- Infecte les joints.
* <i>M. mungi</i>	- L'agent causal de la tuberculose chez la mangouste rayée (<i>Mungos Mungo</i>).

4.3 Caractéristiques du génome de *M. tuberculosis*

Le séquençage complet du génome de la souche de *Mtb* la mieux caractérisée, H37Rv, a permis d'identifier ses caractéristiques microbiennes uniques. Cet agent pathogène a un chromosome circulaire avec 4 411 532 pb avec une teneur élevée en GC (65,9 %). *Mtb* a un génome réduit, il doit donc compter sur l'hôte pour la plupart de ses besoins nutritionnels, utilisant ainsi de nombreuses stratégies pour conquérir l'hôte. Bien que le génome de *Mtb* soit plus petit que *Escherichia coli*, il est très polyvalent, codant pour la plupart des voies anaboliques et cataboliques bactériennes typiques et la synthèse/dégradation des acides aminés. Cependant, il

est important de souligner qu'une caractéristique qui différencie *Mtb* de toute autre bactérie est la présence d'un génome avec environ 4 000 gènes, codant principalement pour des enzymes impliquées dans la lipolyse (pour la survie bactérienne à l'intérieur de son hôte) et la lipogénèse (pour l'enveloppe cellulaire). De même, ce microbe possède environ 250 enzymes impliquées dans le métabolisme des acides gras. Le génome est riche en ADN répétitif, notamment en séquences d'insertion, insérées dans des régions intergéniques ou non codantes, fréquemment proches des gènes ARNt. Le codage de treize facteurs sigma alternatifs putatifs et de plus d'une centaine de protéines régulatrices de type répresseur/activateur de transcription, systèmes de signalisation à deux composants, sérine-thréonine kinases (STPK) et autres gènes régulateurs a également été détecté. Il est possible de coder onze systèmes complets de transduction du signal à deux composants, associés de manière récurrente à la pathogénèse et à la virulence des micro-organismes pathogènes. Ils traitent les stimuli environnementaux, tels que le pH, la température, l'osmolarité, la disponibilité de l'oxygène, la phase de croissance, le stress oxydatif des macrophages ou la dénutrition, ce qui entraîne l'activation ou la répression coordonnée des gènes de virulence bactériens (Maulén, 2011 ; Smith, 2003 ; Mishra & Surolia, 2018 ; Hameed et al., 2018).

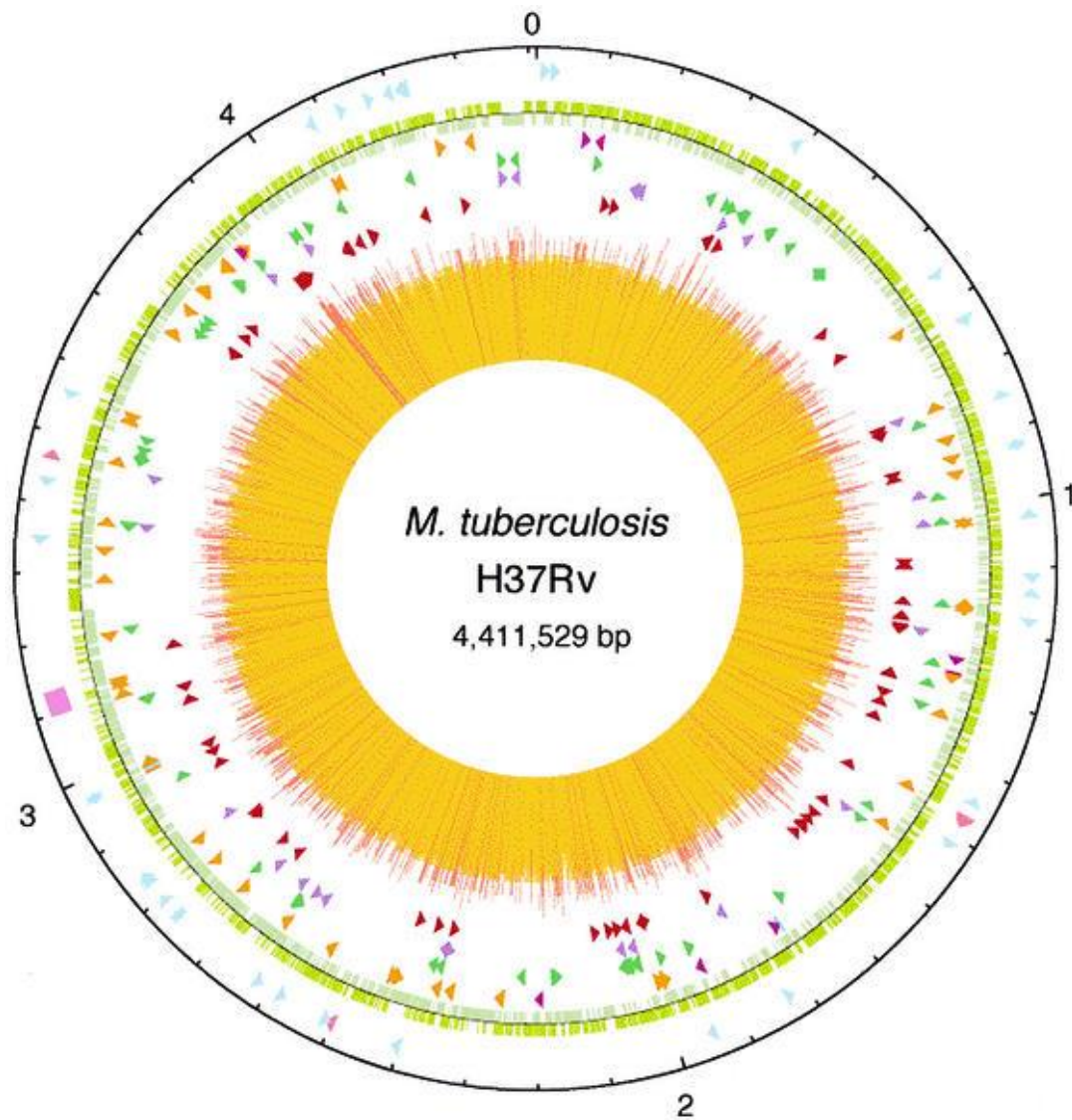


Figure 4: Carte circulaire du chromosome de *M. tuberculosis* H37Rv

Le cercle extérieur montre l'échelle en mégabases, avec 0 représentant l'origine de la réplication. Le premier anneau à partir de l'extérieur indique les positions des gènes d'ARN stables (les ARNt sont bleus, et les autres sont roses) et la région de répétition directe (cube rose) ; le deuxième anneau montre la séquence codante par brin (dans le sens des aiguilles d'une montre, vert foncé ; dans le sens inverse, vert clair) ; le troisième anneau représente l'ADN répétitif (séquences d'insertion, orange) ; le quatrième anneau montre les positions des membres de la famille PPE (vert) ; le cinquième anneau montre les positions des membres de la famille PE (violet) ; et le sixième anneau montre les positions des séquences PGRS (rouge foncé) (Smith, 2003)

4.4 Caractères bactériologiques

- **Caractéristique principale : la paroi**

Mtb présente une large gamme d'effecteurs essentiels à son cycle infectieux ; cependant, sa caractéristique majeure est la structure particulière de la paroi cellulaire riche en lipides (Figure 5), qui fournit une barrière imperméable exceptionnellement forte et joue un rôle fondamental dans sa pathogénèse. En outre, l'enveloppe mycobactérienne pose des défis uniques au développement de médicaments. L'un des défis supplémentaires consiste à ce que les médicaments atteignent les bacilles intracellulaires de *Mtb*, qui peuvent se trouver dans les granulomes. Environ 40 % du poids sec de sa paroi cellulaire est composé de lipides et, à ce titre, une grande partie de la capacité de codage du génome bactérien est consacrée à la biosynthèse et à la dégradation des lipides. Les espèces bactériennes sont identifiées par une coloration microscopique, la coloration de Gram, qui détecte la composition en peptidoglycane présente dans la paroi cellulaire des bactéries Gram-positives. Cependant, *Mtb* a un revêtement cireux inhabituel sur sa surface cellulaire principalement en raison de la présence d'acides mycoliques, ce qui rend les cellules imperméables à la coloration de Gram. Au lieu de cela, certaines colorations acido-résistantes telles que la coloration de Ziehl-Neelsen ou des colorations fluorescentes comme l'Auramine sont utilisées pour détecter *Mtb*. Cette enveloppe cellulaire atypique est caractérisée par un noyau de paroi cellulaire composé de peptidoglycane qui est lié de manière covalente par des liaisons phosphodiester à l'arabinogalactane, qui est à son tour attaché aux acides mycoliques à longue chaîne, signature des mycobactéries. Les acides mycoliques, ainsi que les lipides libres intercalés, forment une membrane externe mycobactérienne, qui a été récemment visualisée pour la première fois par microscopie cryoélectronique. De plus, la membrane externe mycobactérienne est entourée d'une capsule épaisse composée de glycanes, de glycolipides et de protéines. La couche la plus interne de l'enveloppe cellulaire de *Mtb* est la membrane cytoplasmique (CM). Les lipides PDIM forment une barrière naturelle, protégeant les bactéries des composés antimicrobiens, et permettent à *Mtb* d'échapper à la détection par la réponse immunitaire précoce de l'hôte. De plus, ce composant de l'enveloppe cellulaire bactérienne est impliqué dans des étapes essentielles de l'infection, telles que l'entrée bactérienne dans le macrophage, le contrôle de l'acidification du phagosome, l'échappement du phagosome et l'utilisation du cholestérol de l'hôte comme source de carbone. Il est donc postulé qu'il contribue à la survie bactérienne à long terme chez un hôte humain infecté. De plus en plus de preuves suggèrent que *Mtb* remodèle la composition

lipidique de la paroi cellulaire en tant que mécanisme adaptatif contre le stress imposé par l'hôte. Certaines de ces espèces lipidiques déclenchent une réponse immunopathologique, tandis que d'autres semblent atténuer les réponses immunitaires. Ces lipides semblent être exprimés de manière coordonnée dans la paroi cellulaire de *Mtb* au cours des différentes phases de l'infection, déterminant finalement le devenir clinique de l'infection. L'enveloppe cellulaire complexe des mycobactéries représente donc une barrière importante à l'administration de médicaments (Uren et al., 2021 ; Queiroz & Riley, 2017 ; Mishra & Surolia, 2018 ; Feltcher et al., 2010 ; Kalscheuer et al., 2019).

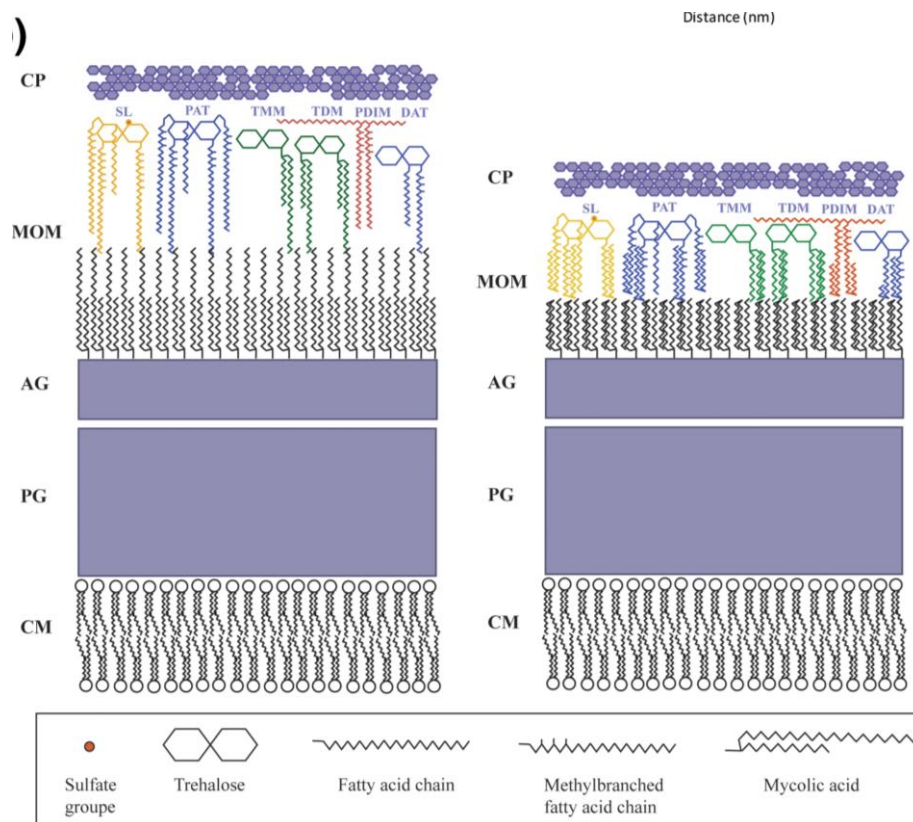


Figure 5: Structure de l'enveloppe cellulaire *Mtb*

(Uren et al., 2021).

Deux modèles montrant l'emballage lipidique dans le MOM de *Mtb*. L'ancien modèle (à gauche) suggère que les lipides du MOM sont dans une conformation étendue. Sur la base de données cryo-ET récentes, un nouveau modèle (à droite) suggère que les longues chaînes des acides mycoliques sont pliées et étroitement emballées avec les lipides de la membrane externe mycobactérienne (MOM) complexes. CM : membrane cytoplasmique ; PG : peptidoglycane ; AG : arabinogalactane ; CP : gélule. (Uren et al., 2021)

4.5 Pathogenèse de la TB : Le cercle de vie des mycobactéries

Nous comprenons maintenant que dans un contexte clinique, l'infection à *Mtb* se présente comme un continuum d'états malades/infectés allant de l'infection tuberculeuse latente asymptomatique (ITBL) à la maladie ATB. Cette complexité, combinée à une hétérogénéité remarquable des lésions chez un même patient, a présenté des défis uniques pour l'éradication de la TB. Alors que la majorité des personnes exposées à *Mtb* sont capables de contrôler l'infection sous forme d'ITL, on estime que 5 à 10 % des personnes exposées à *Mtb* développent une ATB, qui se caractérise par une toux persistante accompagnée de production d'expectorations, une perte de poids, faiblesse et sueurs nocturnes (Ehrt et al., 2018).

M. tuberculosis a un cycle de vie erratique, bien que très répétitif qui couvre une gamme variée et hétérogène de niches et d'états physiologiques (Ehrt et al., 2018)

Dans de nombreux cas, la TB suit un schéma général, qui a divisé la progression et la résolution de la maladie en quatre étapes. Au premier stade, datant de 3 à 8 semaines après *Mtb* contenues dans les aérosols inhalés s'implantent dans les alvéoles, les bactéries sont disséminées par la circulation lymphatique vers les ganglions lymphatiques régionaux du poumon, formant le complexe dit primaire ou de Ghon. À ce moment, la conversion en réactivité à la tuberculine se produit. La deuxième étape, d'une durée d'environ 3 mois, est marquée par une circulation hématogène de bactéries vers de nombreux organes dont d'autres parties du poumon ; à ce stade, chez certains individus, une maladie aiguë et parfois mortelle peut survenir sous la forme d'une méningite tuberculeuse ou d'une tuberculose miliaire. La pleurésie peut survenir au cours du troisième stade, durant 3 à 7 mois et provoquant de fortes douleurs thoraciques, mais ce stade peut être retardé jusqu'à 2 ans. La dernière étape ou la résolution du complexe primaire, où la maladie ne progresse pas, peut prendre jusqu'à 3 ans. À ce stade, des lésions extrapulmonaires se développant plus lentement, par exemple celles des os et des articulations, se présentant fréquemment comme des maux de dos chroniques. Personnes séropositives infectées par *Mtb* ont 50 % de chances de développer une réactivation de la TB (post-primaire) à un moment donné de leur vie. Ces personnes et d'autres personnes immunodéprimées peuvent également être nouvellement infectées par *Mtb* et, dans de nombreux cas, présentent une progression rapide vers une maladie active. La TB chez l'adulte, qu'elle résulte d'une activation ou d'une nouvelle infection chez des patients infectés par le VIH, est presque toujours pulmonaire et est

associée à différents degrés d'atteinte et de lésions pulmonaires, notamment une nécrose, une cavitation et des saignements. La caractéristique de la tuberculose pulmonaire chez l'homme est la formation de granulomes (figure : 6) entourés par l'afflux de macrophages et d'autres cellules (cellules dendritiques, neutrophiles, fibroblastes, lymphocytes T et lymphocytes B), qui débute peu de temps après l'infection (Ostrik et al., 2021 ; Rens et al., 2021).

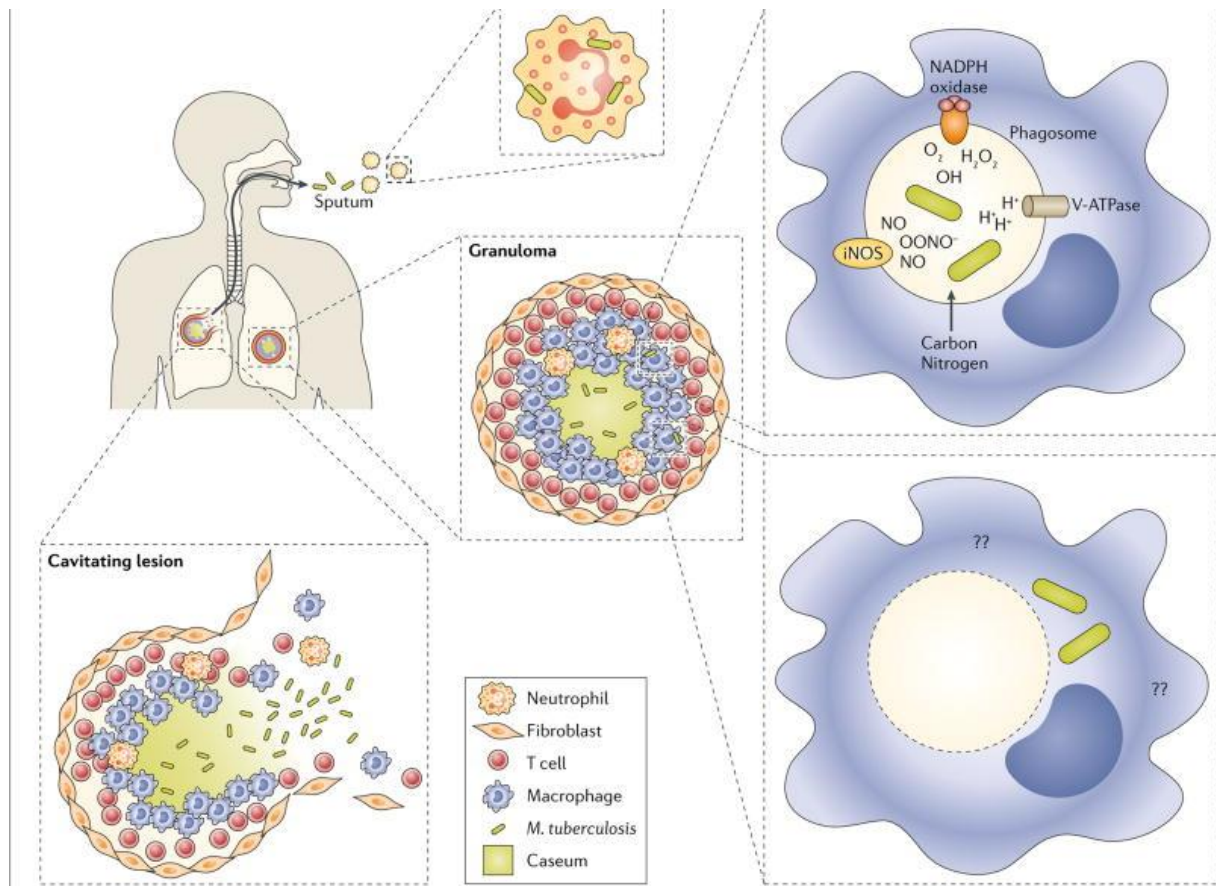


Figure 6 : Cycle infectieux de *Mtb*

(Ehrt et al., 2018)

4.6 Facteurs influençant la transmission de la TB.

La probabilité qu'un individu atteint de TB transmette *Mtb* à d'autres est déterminée par de nombreux facteurs. Premièrement, les personnes atteintes de tuberculose pulmonaire plus grave peuvent émettre un plus grand nombre de noyaux de gouttelettes infectieuses en produisant des gouttelettes à un rythme élevé. Le taux de production de gouttelettes peut être affecté par la fréquence et la vigueur de la toux. Une proximité plus étroite et une durée de contact plus longue

entre un cas source infectieux et des personnes sensibles augmentent le risque de transmission. Les retards dans le diagnostic de la TB ou l'initiation d'un traitement adéquat augmentent la prévalence de la TB infectieuse, augmentant ainsi également la probabilité de transmission ultérieure. Les contributions au retard de traitement comprennent le comportement individuel de recherche de soins de santé, les obstacles structurels à l'accès aux soins de santé et la rapidité du diagnostic et de l'initiation du traitement au sein du système de santé (Mathema et al., 2017).

Deuxièmement, les facteurs environnementaux qui peuvent augmenter le risque d'infection comprennent les espaces intérieurs fermés avec une circulation d'air limitée et une exposition minimale aux rayons UV, qui offrent un environnement idéal pour que les particules en suspension dans l'air contenant *Mtb* restent viables et infectieuses. L'humidité affecte également la sédimentation et l'évaporation des noyaux de gouttelettes et affecte donc probablement le risque d'infection (Mathema et al., 2017).

Troisièmement, les facteurs liés à l'hôte peuvent augmenter le risque de progression d'un individu vers une maladie pulmonaire active après l'infection. Les déterminants du risque de maladie liés à l'hôte comprennent l'infection par le VIH, le diabète, le tabagisme, la consommation excessive d'alcool et la malnutrition. Les jeunes enfants et les nourrissons, ayant à la fois une exposition récente par nature et un risque plus élevé de progression rapide, peuvent servir de populations sentinelles pour la transmission continue (Mathema et al., 2017).

5 Modes de transmission

M. tuberculosis affecte principalement les poumons et se transmet de personne à personne via des gouttelettes aérosolisées produits lors de la toux ou les éternuements des personnes atteintes d'une maladie active, et n'infecte naturellement que les humains. La toux, expulsion brutale d'air par les voies respiratoires, est un réflexe de protection essentiel qui permet l'expulsion de corps étrangers, de mucus, d'irritants et de particules infectieuses. Bien que l'on puisse supposer que *Mtb* n'a pas à s'adapter à des conditions externes très variables comme les autres microbes de l'environnement, le corps humain présente de nombreux défis auxquels *Mtb* doit s'adapter. Une transmission réussie est influencée par diverses conditions, notamment la proximité et la durée du contact avec une personne atteinte de tuberculose active (ATB) et l'immunocompétence de la personne infectée par *Mtb* (Darwin 2015 ; Becker et Sander 2016 ; Sia et Rengarajan 2019 ; Behr, Edelstein, et Ramakrishnan 2020)

6 Le diagnostic de la TB et l'identification des mycobactéries

Le diagnostic de la TB repose sur l'évaluation des symptômes cliniques et des antécédents du patient, associé à un examen radiographique et à la détection de bactéries dans les expectorations. La présence de bacilles acido-résistants (BAAR) dans les frottis d'expectoration au microscope n'indique pas spécifiquement une infection à *Mtb* ; une culture microbiologique et des tests basés sur l'amplification des acides nucléiques sont nécessaires pour confirmer la présence d'une infection à *Mtb* (Dookie et al., 2018).

6.1 Aspects cliniques

La tuberculose pulmonaire a été diversement décrite comme la consommation et la phtisie, les deux termes indiquant l'émaciation sévère et la toux de sang associées aux stades ultérieurs de la maladie. Le mal de Pott ou tuberculose vertébrale, marqué par une déformation de la colonne vertébrale et d'autres défauts osseux, a été nommé d'après un médecin anglais du XVIII^e siècle, mais Hippocrate pensait qu'il y avait une grande similitude entre cette maladie osseuse et la tuberculose pulmonaire et peut-être une origine commune. La scrofule, ou lymphadénite cervicale qui se présentait par un gonflement des ganglions lymphatiques du cou. On l'appelait aussi "Le mal du roi" à cause du mythe selon lequel il pouvait être guéri par le toucher d'un monarque régnant. Villemin a montré dans les années 1860 que la scrofule et la tuberculose pulmonaire avaient une cause identique. La TB peut également se développer dans le système nerveux central, auquel cas la méningite est la forme prédominante de la maladie, ainsi que dans le tractus urogénital, le système digestif et cutanée sous la forme appelée lupus vulgaris. La pathogénèse de la TB humaine causée par *Mtb*, est un processus compliqué qui implique une interaction complexe entre le système immunitaire de l'hôte et des facteurs bactériens. La TB chez l'adulte peut se présenter de diverses façons. Le poumon est le site prédominant de la TB, car l'infection par *Mtb* résulte presque exclusivement de l'inhalation de gouttelettes contenant les bacilles. La TB pulmonaire est définie comme la TB du parenchyme pulmonaire et de l'arbre trachéobronchique uniquement. Les caractéristiques cliniques classiques de la TB pulmonaire comprennent la toux chronique, la production d'expectorations, la perte d'appétit, la perte de poids, la fièvre, les sueurs nocturnes et l'hémoptysie. Une personne présentant l'un de ces symptômes doit être suspectée d'avoir la TB (Loddenkemper et al., 2016 ; Kanabalan et al., 2021 ; Kalscheuer et al., 2019).

6.2 Méthodes de diagnostic établies

6.2.1 L'examen direct par microscopie

L'examen microscopique d'échantillons respiratoires pour les bacilles acido-résistants à l'aide des colorants de Ziehl-Neelsen (Figure 7) et de fluorochrome, tels que l'auramine et la rhodamine, ont été les outils de diagnostic standard et rapides pour la détection de *Mtb* dans les échantillons d'expectoration. Les progrès récents de la technologie des diodes électroluminescentes (DEL) ont élargi l'applicabilité de la microscopie à fluorescence. Chez les adultes et les enfants plus âgés, les échantillons primaires sont des échantillons d'expectorations, des aspirations de lavage bronchique ou bronchioalvéolaire ou des aspirations trachéales qui sont souvent obtenus avec une sensibilité de 34 % à 80 %. Chez les enfants plus jeunes, qui sont incapables de produire des échantillons d'expectoration, d'autres méthodes d'obtention d'échantillons respiratoires, comme les aspirations gastriques, sont souvent utilisées. Cependant, les rendements microscopiques peuvent être inférieurs à 20 % chez les enfants atteints de TB probable. Les taux de détection à la microscopie d'autres échantillons extrapulmonaires, tels que le liquide céphalo-rachidien, sont encore plus faibles en raison de la nature paucibacillaire de la maladie à ces sites (Shingadia, 2012 ; Gopaldaswamy et al., 2020).

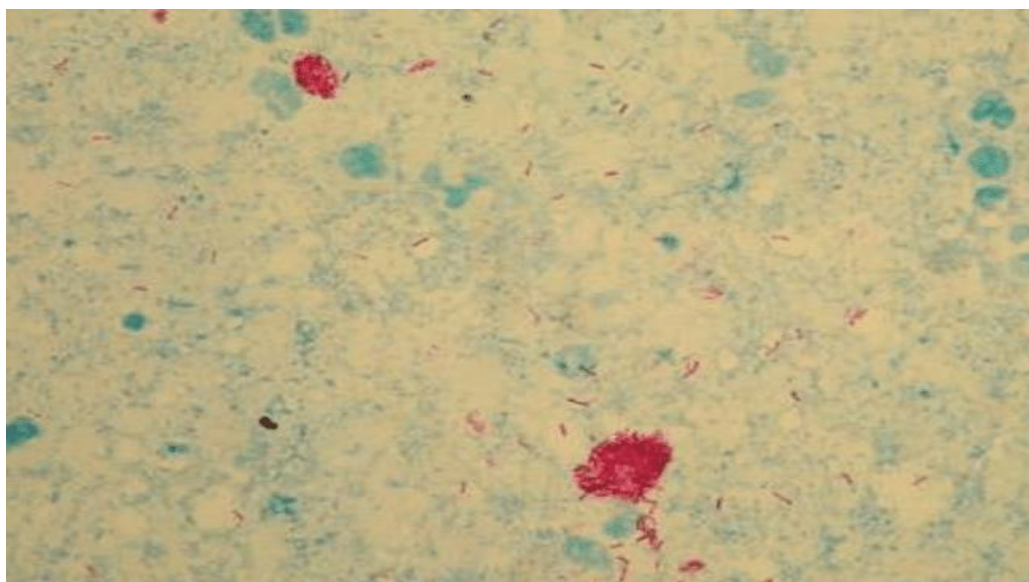


Figure 7: Illustration d'une coloration de Ziehl-Neelsen d'un frottis.

Les BAAR extracellulaires apparaissent en rouge sur fond bleu (Issaka Maman, 2019)

6.2.2 La radiographie

Les observations cliniques de la TB pulmonaire peuvent également être confirmées par les résultats d'une radiographie pulmonaire, qui est une pratique courante dans de nombreux pays où la TB est endémique. Il est également rapporté que la radiographie thoracique est largement utilisée pour la détection de la TB pulmonaire active, y compris la détection de la lymphadénopathie hilare, des modifications du parenchyme pulmonaire, une infiltration alvéolaire, une cavitation, un épanchement pleural et de la TB miliaire. L'imagerie par tomodensitométrie a été utile pour mettre en évidence une maladie pulmonaire précoce, telle que la cavitation et la lymphadénopathie hilare intrathoracique. Les maladies du système nerveux central, telles que la méningite tuberculeuse ou le tuberculome, peuvent également être identifiées sur l'imagerie par tomodensitométrie. L'imagerie par résonance magnétique s'est avérée utile pour la TB musculo-squelettique, impliquant en particulier les os et les articulations. Il est essentiel de tenir compte que la radiographie du thorax s'avère trop souvent indécise et n'a pu être détectée qu'aux stades avancés de la maladie. Cependant, l'avènement des procédures de tomodensitométrie à haute résolution a permis d'améliorer le diagnostic de la TB (Mishra et Surolia 2018 ; Shingadia 2012 ; Gopaldaswamy et al. 2020).

6.2.3 L'intradermo-réaction à la tuberculine

Le principe de tout test cutané tuberculinique est de rechercher une réaction d'hypersensibilité retardée induite par des antigènes mycobactériens. Une réaction positive au test cutané à la tuberculine (TCT) a été utilisée comme signe distinctif d'une infection par *Mtb*, survenant dans les 3 à 6 semaines, mais parfois jusqu'à 3 mois, et restant positive à vie, même après le traitement. Le test de Mantoux est le TCT standard actuellement utilisé et implique l'injection intradermique de 2 unités de tuberculine standardisées d'une solution de dérivé protéique purifié. L'induration ultérieure, plutôt que l'érythème, est mesurée en millimètres après 48 à 72 heures. Dans certains pays, comme le Royaume-Uni, où l'incidence de la TB est faible, un TCT est considéré comme positif avec une induration > 5 mm chez ceux qui n'ont pas été vaccinés auparavant par le BCG et > 15 mm chez ceux qui ont reçu le vaccin BCG. Les directives de l'OMS diffèrent légèrement en ce sens qu'un TCT positif est considéré comme positif avec une induration > 10 mm pour les personnes n'ayant pas été vaccinées auparavant par le BCG et > 15 mm pour celles ayant des antécédents de vaccination par le BCG. Le TCT est sujet à des résultats faux négatifs et faux positifs. Jusqu'à 10 à 15 % des enfants par ailleurs immunocompétents atteints de TB documentée par culture ne présentent pas initialement de réactivité au TCT. Les facteurs liés à l'hôte, tels que le jeune âge, une mauvaise nutrition,

l'immunosuppression, d'autres infections virales (telles que la rougeole, la varicelle et la grippe) et une infection tuberculeuse récente, peuvent réduire davantage la réactivité au TCT. Des résultats faussement positifs au TCT peuvent également survenir après une vaccination par le BCG et une exposition à des mycobactéries non tuberculeuses environnementales (Shingadia, 2012 ; Gajdos & Delacourt, s. d.).

6.2.4 Immunodiagnostic

En raison des limites du TCT, en particulier de la réactivité croisée avec l'immunisation par le BCG et les mycobactéries environnementales, de nouveaux tests de diagnostic ont été développés sur la base d'essais de libération d'interféron- γ in vitro (TLIG), qui mesurent la production d'interféron- γ dans réponse à la stimulation aux antigènes spécifiques de la TB. Ces antigènes sont présents dans le complexe *Mtb* mais absents de toutes les souches de *Mycobacterium bovis* BCG, et presque toutes les mycobactéries environnementales. Deux TLIG – le test QuantiFERON-TB Gold et le test T SPOT-TB – sont actuellement disponibles. Les deux tests mesurent la libération d'interféron- γ par les lymphocytes T à l'aide d'un dosage immuno-enzymatique. La haute spécificité des TLIG peut être utile pour réduire le nombre d'enfants à faible risque qui reçoivent un traitement préventif (Shingadia, 2012).

6.2.5 La culture

Actuellement, la méthode la plus rapide pour confirmer l'infection à *Mtb* est un test de frottis d'expectoration, coloré pour les bacilles acido-résistants, qui peut être effectué en quelques heures seulement. Cependant, une charge bactérienne de 10 000 cellules/mL dans un échantillon d'expectoration est nécessaire pour la détection à l'aide de cette méthode, et plus de 50 % des patients « à frottis négatif » se révèlent par la suite positifs à la culture (Feltcher et al., 2010). La culture mycobactérienne d'échantillons respiratoires a fourni une méthode de diagnostic plus utile chez les enfants suspects de TB pulmonaire. Trois aspirations gastriques matinales consécutives donnent *Mtb* dans 30 à 50 % des cas et peuvent atteindre 70 % chez les nourrissons. Récemment, l'induction d'expectorations à l'aide d'une solution saline hypertonique nébulisée (3 % à 5 %) a été utilisée de manière sûre et efficace chez les jeunes enfants. Il existe cependant certaines préoccupations concernant le risque de transmission nosocomiale après l'induction de l'expectoration si des procédures adéquates de contrôle des infections ne sont pas en place. L'aspiration nasopharyngée (NPA) a également été utilisée pour obtenir des échantillons respiratoires, car le passage d'une canule nasale peut provoquer un réflexe de toux. Cependant, des études ont montré des rendements relativement faibles à partir

d'échantillons de NPA par rapport à l'aspiration gastrique. Les jeunes enfants ayant tendance à avaler leurs crachats plutôt qu'à les expectorer, la culture mycobactérienne des selles a été considérée comme une voie indirecte d'analyse des sécrétions respiratoires. Cependant, des études chez les enfants ont montré une récupération relativement faible des selles, ce qui en fait une méthode insensible pour la culture mycobactérienne. En outre, l'inconvénient majeur de la culture des selles est la nécessité de procédures de décontamination strictes pour empêcher la prolifération de la flore intestinale normale, qui peut également tuer ou inhiber la croissance des mycobactéries, réduisant encore la sensibilité (Gopaldaswamy et al., 2020).

Une autre nouvelle méthode d'échantillonnage des sécrétions respiratoires avalées est le test de la ficelle. Le test de corde a été développé pour le diagnostic des parasites intestinaux tels que la giardiase. Ce test consiste à avaler une capsule de gélatine contenant une ficelle de nylon enroulée, qui se déroule au fur et à mesure que la capsule descend dans l'estomac. Après 4 heures, la chaîne est retirée et cultivée pour les mycobactéries. Bien que ce test semble avoir un meilleur rendement de culture que l'induction d'expectoration chez les adultes infectés par le VIH (9 % contre 5 %), il n'a pas été étudié chez l'enfant en dehors d'une étude de faisabilité où il semble avoir été bien toléré. En outre, il peut être d'une utilité limitée chez les jeunes enfants qui seront incapables d'avaler la capsule en premier lieu (Gopaldaswamy et al., 2020).

6.3 Méthodes utilisées pour le typage moléculaire des souches MDR/XDR de *Mtb* : Méthodes de génotypage

6.3.1 Le spoligotypage

Le spoligotypage est actuellement l'une des approches basées sur la PCR les plus fréquemment utilisées pour étudier la phylogéographie du complexe *Mtb*. Techniquement, la méthode est basée sur l'amplification et la détection de la présence ou de l'absence de séquences non répétitives appelées espaceurs trouvées entre des éléments répétés directs dans la région CRISPR. C'est une méthode relativement simple, rentable et à haut débit, dont les résultats sont précis et reproductibles et sont obtenus en 2 jours maximum. Il convient de mentionner que l'avantage important du spoligotypage est lié principalement à sa réelle sensibilité, permettant à la méthode d'être appliquée directement dans des échantillons cliniques, sans avoir besoin d'une culture préalable. De plus, le spoligotypage s'est avéré utile pour le typage sur des cultures non viables, des lames de frottis de Ziehl-Neelsen ou des coupes de tissus inclus en paraffine. Il est important d'ajouter que le spoligotypage, qui est basé sur les polymorphismes dans les répétitions palindromiques courtes régulièrement espacées (CRISPR), peut être utilisé

à la fois pour l'épidémiologie et l'analyse évolutive de *Mtb*. Parce qu'il est basé sur l'amplification par PCR, le spoligotypage peut être effectué avec de très petites quantités d'ADN, de sorte que la méthode ne nécessite pas la manipulation de grandes quantités d'isolats résistants. Par rapport aux autres méthodes moléculaires, la principale limitation du spoligotypage est son pouvoir discriminant inférieur, notamment dans certaines lignées comme les souches de Pékin, qui partagent presque toutes un seul spoligotype (Jagielski et al. 2014 ; Sougakoff 2011).

6.3.2 Les MIRU-VNTR

L'analyse des nombres variables de répétitions en tandem (VNTR) est une méthode puissante qui peut fournir une discrimination adéquate des souches de *Mtb*, en termes à la fois d'identification des lignées génétiques et d'estimation de la transmission de *Mtb*. La méthode, basée sur la PCR, repose sur l'analyse de répétitions en tandem présentes dans 41 éléments génétiques (appelés unités répétitives intercalées mycobactériennes (MIRU)) dispersés dans tout le génome de *Mtb*, avec un nombre variable de copies de l'unité répétée dans chaque lieu.

L'analyse MIRU-VNTR est relativement sûre lorsqu'elle est appliquée aux souches MDR et génère des valeurs numériques qui peuvent facilement être comparées dans des études interlaboratoires. Cette méthode présente d'autres avantages majeurs, comme son utilisation pour l'analyse phylogénétique. Du fait de son pouvoir discriminant acceptable et du format échangeable des données générées par la méthode, le typage MIRU-VNTR est considéré comme le nouveau standard de référence pour les études d'épidémiologie moléculaire (Shingadia, 2012).

6.4 Diagnostic de la TB pharmacorésistante : Méthodes moléculaires

Étant donné que les techniques de diagnostic basées sur la culture et la microscopie prennent plus de temps pour obtenir des résultats, les méthodes de biologie moléculaire sont devenues une plate-forme de diagnostic rapide pour la TB. L'introduction du test d'amplification des acides nucléiques mycobactériens (TAAN) a considérablement réduit le délai d'exécution du diagnostic clinique de la TB, par rapport aux méthodes traditionnelles de culture et de frottis. *Mtb* est une mycobactérie à croissance lente, ce qui entraîne une durée prolongée du test de sensibilité aux médicaments (DST) sur les milieux solides de 4 à 6 semaines alors que dans les milieux liquides de 1 à 2 semaines. Le manque d'outils de diagnostic rapide peut être proposé comme un facteur de risque pour la prévalence de la TB multirésistante, ultrarésistante et TDR, car l'utilisation de médicaments inefficaces pendant la phase initiale de traitement peut favoriser l'apparition de profils résistants aux médicaments. Dans ce contexte, l'OMS recommande la méthode d'amplification des acides nucléiques, Xpert MTB/RIF pour le diagnostic précoce de

la TB résistante au PZA et résistante au RIF, respectivement. D'autres dispositifs utilisant la technologie de test par sonde en ligne (LPA) sont maintenant disponibles, comme Genotype MTBDRplus pour l'analyse rapide de la TB-MR et sa version avancée Genotype MTBDRsl pour diagnostiquer la XDR- TB (Hameed et al., 2018 ; Gopaldaswamy et al., 2020).

6.4.1 Le Xpert® MTB/RIF

La mise en œuvre de techniques moléculaires rapides pour le diagnostic de la TB est considérée par l'OMS comme un atout important dans les stratégies de lutte antituberculeuse. Actuellement, le test de diagnostic moléculaire de première ligne pour la détection de la résistance aux médicaments est le Cepheid Xpert MTB/RIF (GeneXpert), qui détecte la présence du génome du complexe *Mtb* dans les échantillons de patients et la présence de séquences génomiques des principales mutations responsables de la résistance au médicament de première ligne, la rifampicine. Ce test est basé sur une PCR en temps réel nichée amplifiant le *rpoB*gène de *Mtb*, qui est la cible la plus importante pour la résistance à la rifampicine, avec une sensibilité élevée (> 90%). Xpert MTB/RIF, un test moléculaire de diagnostic proche du patient automatisé basé sur une cartouche, rapide et simple à utiliser et qui a correctement identifié 98 % des bactéries résistantes à la rifampicine dans une vaste étude chez l'adulte. En décembre 2010, l'OMS a approuvé l'utilisation du GeneXpert MTB/RIF (GX) dans les pays d'endémie tuberculeuse pour le diagnostic de première intention de la TB pulmonaire chez les patients vivants avec le VIH ou suspectés de développer une TB multi résistant. Le délai de communication du résultat est de 2 h. GeneXpert MTB/RIF comme test de choix pour le diagnostic de la TB extrapulmonaire (TBEP) en raison de ses hautes performances de sensibilité et de spécificité (une sensibilité et une spécificité respectivement de 81,3% et 99,8%). Cependant peu d'études recommandent son utilisation en cas de suspicion de TBEP. Son intérêt est également mis en évidence dans les cas de TB à examen microscopique négatif où il augmente considérablement la sensibilité du diagnostic et la prise en charge médicale précoce des patients conformément aux recommandations de l'OMS. Les résultats encouragent l'intégration de GeneXpert MTB/RIF dans les programmes de lutte contre la TB (Mechal et al. 2019 ; Gopaldaswamy et al. 2020 ; Dookie et al. 2018 ; Diallo et al. 2016 ; Sia et Rengarajan 2019).

6.4.2 Le test GenoType® MTBDRplus

MTBDRplus est un test d'amplification d'ADN multiplex couplé à une hybridation sur bandelettes pour l'identification de routine des mycobactéries et la détection de séquences

génomiques de résistance aux médicaments antituberculeux. Le résultat peut être rapporté en quelques heures et permet de détecter en un seul test le complexe *Mycobacterium tuberculosis* et le statut de résistance à la Rifampicine et à l'Isoniazide. Ce test consistait en trois étapes : extraction de l'ADN, amplification par PCR multiplex à l'aide d'amorces biotinylées et hybridation inverse. Les publications scientifiques sur les performances de Genotype MTBDRplus dans la détection de la résistance à la rifampicine rapportent des résultats variables selon les régions dans lesquelles ces études ont été menées et l'endémicité de TB correspondante (Mechal et al., 2019).

6.4.3 Le test Genotype® MTBDR sl

En plus du GeneXpert, l'OMS a approuvé l'utilisation du test de sonde de la ligne Hain. Les versions actuelles incluent le Genotype MTBDR sl -v2.0, qui détecte collectivement la résistance à l'isoniazide, à la rifampicine, aux fluoroquinolones et aux agents injectables de deuxième intention. Ainsi, le WGS reste la plate-forme la plus souhaitable pour effectuer des tests de suivi sur la TB résistante à la rifampicine, ce qui peut accélérer l'initiation d'un traitement efficace (Dookie et al., 2018).

6.5 Biomarqueurs dérivés de mycobactéries pour le diagnostic de la TB

- Lipoarabinomannane (LAM)

Une approche innovante récente qui a été explorée est la détection urinaire du lipoarabinomannane (LAM). Beaucoup des composants de la paroi cellulaire de *Mtb* sont hautement immunogènes et sont considérés comme des entités clés dans l'interaction des mycobactéries avec le système immunitaire de l'hôte. L'un des principaux composants de la paroi cellulaire - le lipoarabinomannane (LAM) - est un glycolipide de 17,5 kD de la paroi cellulaire externe des mycobactéries ancré au phosphatidylinositol avec diverses activités biologiques. C'est un lipide omniprésent des mycobactéries et est considéré comme l'un des antigènes non protéiques les plus puissants pour modifier la réponse immunitaire de l'hôte. L'immunogénicité et la thermostabilité de LAM soutiennent l'utilisation de cet antigène dans le diagnostic de la TB (Druszczyńska et al., 2017).

- Acides mycoliques

Les lipides constituent environ 60 % de la masse sèche de la paroi cellulaire mycobactérienne. Ceux-ci forment une barrière de perméabilité constituant la première ligne de défense contre le système immunitaire de l'hôte. Les acides mycoliques, acides gras à longue chaîne estérifiés à l'arabinogalactane, sont l'un des composants lipidiques de base de la paroi cellulaire mycobactérienne. Ceux-ci contribuent à l'intégrité structurelle de la paroi cellulaire, protègent les mycobactéries des dommages chimiques ou de la déshydratation et leur permettent de se développer en toute sécurité à l'intérieur des macrophages. Les acides mycoliques semblent être des indicateurs diagnostiques appropriés des infections mycobactériennes pour de nombreuses raisons. Premièrement, les composés sont présents à une concentration élevée dans la paroi cellulaire bactérienne quelles que soient les conditions de croissance. Deuxièmement, ils sont spécifiques aux bactéries et ne sont pas produits dans le corps humain. Troisièmement, la stabilité chimique des acides mycoliques et leur extraction relativement facile permettent l'utilisation de techniques d'analyse chimique pour leurs études. L'une des méthodes les plus recommandées pour l'identification des acides mycoliques mycobactériens est la chromatographie liquide à haute performance (HPLC). Une méthode potentiellement rapide pour l'identification des lipides de *Mtb* est la spectroscopie Raman à surface améliorée. Cependant, malgré sa grande valeur diagnostique dans la différenciation des mycobactéries tuberculeuses et non tuberculeuses, elle est rarement utilisée car la technique est coûteuse et sophistiquée (Druszczynska et al., 2017).

7 Traitement

La découverte de médicaments contre la TB a connu son âge d'or au milieu du XXe siècle. De nos jours, le schéma thérapeutique, recommandé par l'OMS, comprend une phase d'initiation de 2 mois avec un cocktail de quatre agents antituberculeux de première intention, à savoir l'isoniazide (INH), la rifampicine (RIF), l'éthambutol (EMB) et le pyrazinamide (PZA), suivi d'une phase de continuation de 4 mois avec l'INH et du RIF. La durée de ce traitement défie l'adhésion du patient et limite par conséquent son efficacité globale. Encore plus difficile est le traitement des cas de TB multirésistante (MDR), qui sont définis comme ayant une résistance au RIF ou à l'INH, et des cas de tuberculose ultrarésistante (XDR), définis comme ayant une résistance MDR plus une résistance à au moins une fluoroquinolone et 1 médicament injectable de deuxième intention. Le traitement de l'infection par les souches MDR/XDR nécessite 9 à 20 mois, voire plus, et le taux de succès tombe en dessous de 50 % au niveau mondial. Les

médicaments existants, bien qu'ils soient d'une valeur énorme pour contrôler la propagation de la maladie dans une mesure considérable, présentent plusieurs insuffisances (tableau II). Un effet secondaire majeur de ce traitement est l'hépatotoxicité, qui force souvent l'arrêt prématuré du traitement. Un dilemme important avec la plupart des anti-mycobactériens existants est leur incapacité à inhiber la croissance des formes latentes de bacille. En plus de ces problèmes, les synergies entre le VIH et la TB ont entraîné de nouveaux défis pour le développement de médicaments antituberculeux. Dans l'ensemble, pour relever le défi évolutif de la TB aujourd'hui, de nouveaux médicaments et vaccins antituberculeux capables de cibler les souches MDR et XDR sont nécessaires de toute urgence. De plus, une stratégie d'immunisation fiable pour prévenir la TB active ou même l'infection latente est donc fortement requise pour contrôler la maladie, ainsi qu'une réduction de la durée du traitement conventionnel de MDR/XDR est considérée comme un objectif primordial dans le développement de futurs schémas thérapeutiques afin de mieux prévenir l'émergence d'une résistance et d'augmenter le taux de réussite du traitement (Vergne et al. 2003 ; Becker et Sander 2016 ; Mishra et Surolia 2018 ; Hameed et al. 2018 ; Bald et al. 2017 ; Torfs et al. 2019).

Tableau II: Schéma thérapeutique recommandé par l'OMS pour la tuberculose sensible aux médicaments (Mishra & Surolia, 2018).

Médicament	Posologie quotidienne	Effets indésirables
Isoniazide (INH)	5mg/kg	Hépatite, neuropathie périphérique, syndrome pseudo-lupique
Rifampicine (Rif)	10mg/kg	Coloration orange des sécrétions, hépatite, troubles gastro-intestinaux, fièvre
Pyrazinamide (PZA)	25mg/kg	Hépatite, arthrite, hyperuricémie
Éthambutol (EMB)	15mg/kg	Névrite optique

7.1 Thérapies dirigées par l'hôte

L'augmentation rapide de la résistance aux antibiotiques a rendu nécessaire la recherche de moyens nouveaux et innovants pour lutter contre la tuberculose. Récemment, le développement des HDT est passé au premier plan de la recherche contre de nombreux pathogènes intracellulaires. HDT utilise de petites molécules qui ciblent les réponses de l'hôte au lieu de

l'agent pathogène lui-même, et présente de nombreux avantages, notamment une mémoire humorale améliorée et une synergie avec les antibiotiques actuels. En plus d'éliminer les infections, les HDT sont également capables de moduler la réponse immunitaire pour limiter l'inflammation et les lésions tissulaires associées aux infections chroniques. En effet, les dommages à médiation cellulaire au cours de la chimiothérapie prolongée et intensive nécessaire pour traiter la TB sont souvent tout aussi dommageables que la maladie évolutive elle-même. Les HDT deviennent une voie de plus en plus attrayante pour le traitement antituberculeux d'appoint, car il est peu probable que la résistance de la bactérie se produise pour un médicament agissant sur l'hôte (Rankine-Wilson et al., 2021).

La chlorpromazine, un médicament antipsychotique utilisé pour traiter les patients schizophrènes, est un autre candidat pour le HDT. Il montre une inhibition de la survie de *Mtb* dans les macrophages en synergie avec les antibiotiques de première ligne, bien qu'à des concentrations assez élevées. Il a été démontré que le lopéramide, un autre candidat HDT prometteur, restreignait la croissance intracellulaire de *Mtb* dans les macrophages pulmonaires via l'activation de l'IFN de type I et des voies autophagiques, et était associé à la dégradation de la protéine d'enveloppe nucléaire p62 (Rankine-Wilson et al., 2021).

L'imatinib s'est avéré avoir un effet synergique en réduisant à la fois le nombre de lésions granulomateuses et la charge bactérienne dans les organes infectés lorsqu'il est co-administré avec le médicament de première ligne RIF. La metformine, par exemple, un médicament largement utilisé pour traiter le diabète de type 2, est un excellent exemple de médicament qui s'est récemment révélé prometteur pour réduire l'incidence de la TB. Après un défi avec *Mtb*, la metformine régule à la hausse les gènes impliqués à la fois dans la phagocytose et la production de ROS. Il est important de noter que la somme de ces fonctions conduit à l'amélioration intrinsèque de la réponse des lymphocytes T et à une meilleure mémoire humorale (Rankine-Wilson et al., 2021).

À l'heure actuelle, de nombreuses voies sont reconnues comme prometteuses et pertinentes pour les cibles médicamenteuses (figure 8). Ceux-ci incluent ceux impliqués dans le métabolisme classique de la paroi cellulaire, la respiration cellulaire et la synthèse des protéines, bien que plusieurs autres points d'engagement, tels que l'homéostasie bacillaire redox et les systèmes toxine-antitoxine, pourraient probablement fournir des cibles médicamenteuses mycobactériennes intéressantes. Au niveau de l'hôte, le ciblage de

processus importants tels que l'autophagie, la formation de granulomes et les réponses pro- et anti-inflammatoires est revigoré pour traiter et surmonter la résistance aux médicaments (Torfs et al., 2019a).

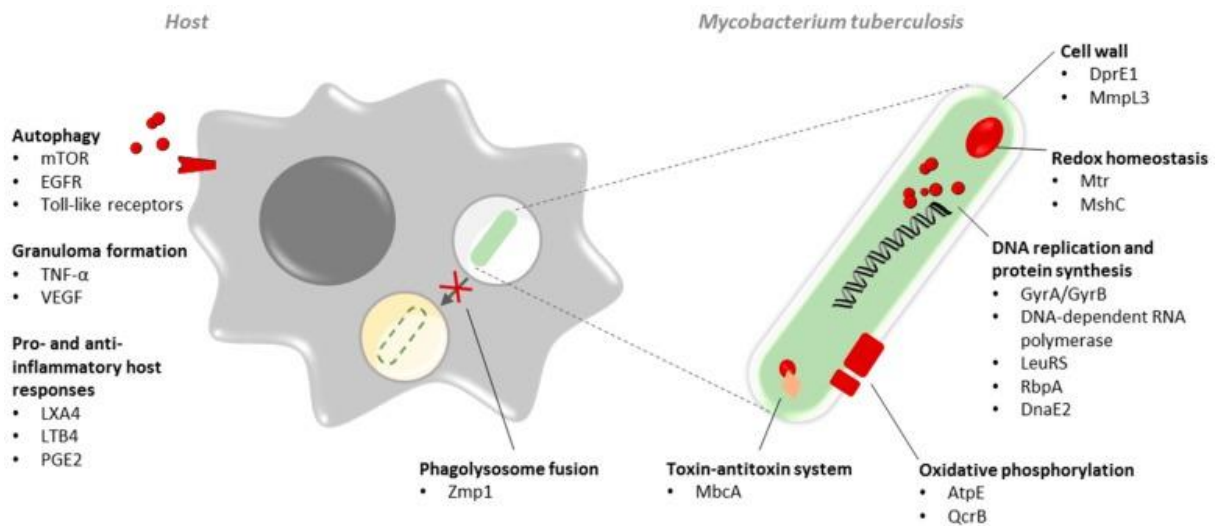


Figure 8: Aperçu des cibles mycobactériennes émergentes et des thérapies dirigées par l'hôte abordées

(Torfs et al., 2019a)

Tableau III: Composés thérapeutiques potentiels contre la tuberculose ciblant le recyclage des cellules hôtes et les réactions de mort (Rankine-Wilson et al., 2021)

Nom du médicament	Classe de drogue	Réponse affectée (réponse pos/nég)
Lévofloxacine	Antibiotique fluoroquinolone	Apoptose (+)
Rapamycine	Antibiotique macrolide	Apoptose (+)
Carbamazépine	Anti-convulsif	Autophagie (+)
Isoniazide	Antibiotique antituberculeux	Autophagie (+)
Lopéramide	Anti-diarrhéique	Autophagie (+)
Nitazoxanide	Anti-parasitaire	Autophagie (+)
Pyrazinamide	Antibiotique antituberculeux	Autophagie (+)
Streptomycine	Antibiotique aminoside	Nécrose (-)

L'autophagie, comme l'apoptose et la nécrose, détermine également en grande partie le type de réponse immunitaire et les signaux inflammatoires émis à la fois par la cellule hôte infectée et les cellules environnantes (Rankine-Wilson et al., 2021).

7.2 Traitements de la TB résistante

Le prétomanide (PA-824) en association avec la bédaquiline (BDQ) et le linézolide (LZD) a récemment été approuvé pour le traitement de la tuberculose ultrarésistante et de la tuberculose multirésistante intolérante au traitement ou ne répondant pas. Le traitement a été approuvé par la FDA en août 2019 en tant que régime entièrement oral de 6 mois. Le taux de réussite du traitement de la tuberculose ultrarésistante est passé de 20 % avant 2014 à 65 % après 2014 en raison de l'inclusion du BDQ et du LZD. Cependant, des preuves suggèrent que ces traitements sont associés à des toxicités telles que des effets cardiaques indésirables et des neuropathies périphériques (Arora et al. 2020).

7.3 Nouvelles cibles médicamenteuses mycobactériennes

- **Biosynthèse de la paroi cellulaire**

La paroi cellulaire mycobactérienne unique est composée de trois macromolécules majeures liées par covalence : le peptidoglycane, l'arabinogalactane et les acides mycoliques. Les voies responsables de la biosynthèse de ces macromolécules majeures constituent notamment une source importante de cibles mycobactériennes puisque les enzymes impliquées dans ces voies n'ont pas d'homologues chez l'hôte humain (Torfs et al., 2019a).

Tableau IV : Nouveaux exemples de cibles mycobactériennes et leurs composés ou classes de composés pertinents (Torfs et al., 2019a).

Parcours ciblé	Cible	Composé pertinent (Classe)
Biosynthèse de la paroi cellulaire	DprE1	BTZ043 (BTZ)
	DprE1	PBTZ169 (PBTZ)
	DprE1	TBA7371 (1,4-azaindole)
	DprE1	OPC167832 (1,3-dihydrocarbostyryle)
	MmpL3	SQ109 (1,2-éthylènediamine)
Biosynthèse de la paroi cellulaire et synthèse des protéines	-	Prétomanide/PA-824 (nitroimidazole)
	-	Délamanide (nitroimidazole)
La phosphorylation oxydative	AtpE	BDQ (DARQ)
	ATP synthétase	Squaramides
	QcrB	Q203 (imidazopyridine)
	QcrB	Pyrrolo[3,4-c]pyridine-1,3(2 <i>H</i>)-diones
	QcrB	2-(quinolin-4-yloxy)acétamides
	QcrB	AX-35 (amide d'arylvinylpipérazine)
Synthèse des protéines	GyrA	Thiophènes
	GyrB	SPR720 (aminobenzimidazole)
	ARN polymérase dépendante de l'ADN	AAP
	LeuRS	GSK656 (oxaborol)
Homéostasie redox bacillaire	MshC	Déqualinum
	Mtr	Benzo[<i>g</i>]isoquinoline-5,10-diones
	Mtr	Benzo[<i>j</i>]phénanthridine-7,12-diones

- **DprE1**

Ces cibles comprennent l'enzyme essentielle associée à la membrane, la décaprenylphosphoryl- β -D-ribose-2'-oxydase (DprE1), qui est codée par *dprE1* (*Rv3790*) et désignée comme cible médicamenteuse mycobactérienne d'une nouvelle classe d'agents antituberculeux, c'est-à-dire les 1,3-benzothiazine-4-ones (BTZ). DprE1 appartient à la famille des vanillyl alcool oxydases,

une famille d'oxydoréductases FAD-dépendantes. Des études biochimiques montrent que la DprE1 et la décaprenylphosphoryl-2-céto-β-D-érythro-pentose réductase (DprE2), codées par le gène voisin *dprE2* de *dprE1* (*Rv3791*), catalysent l'épimérisation en deux étapes du décaprenylphosphoryl-β-D-ribofuranose (DPR) en décaprenylphosphoryl-β-D-arabinofuranose (DPA), un précurseur clé qui sert de seul donneur d'arabinosyle nécessaire à la synthèse des composants de la paroi cellulaire arabinogalactane et le lipoarabinomannane. Au cours du développement des BTZ, BTZ043 s'est avéré être le candidat médicament antituberculeux le plus prometteur de ce groupe de composés nitroaromatiques, avec une concentration minimale d'inhibition 20 fois inférieure à celle de l'isoniazide, agent de première ligne (Torfs et al., 2019b).

- **Rôles de Décaprénylphosphoryl-β-D-Ribose-2'-Epimérase-1 (DprE1)**

Le DprE1, une flavoenzyme, est l'une des principales cibles vitales pour le traitement de la tuberculose. Elle est impliquée dans la conversion du décaprénylphosphoryl-β-D ribose (DPR) en décaprénylphosphoryl-2-cétoβ-D-erythro pentofuranose (DPX). Ce DPX est converti en décaprénylphosphoryl-β-D-arabinofuranose (DPA) par DprE2. Le DPA est un précurseur de l'arabinogalactane et du lipoarabinomannane de la paroi cellulaire mycobactérienne. Par conséquent, le DprE1 est essentiel à la croissance de la paroi cellulaire mycobactérienne et, en fin de compte, à sa survie. Le rôle crucial de la DprE1 dans la biosynthèse de la paroi cellulaire des mycobactéries, son renouvellement métabolique important, la présence de nucléophiles sur ses sites actifs et sa localisation extracellulaire sur la membrane cytoplasmique qui ne nécessite pas son transport à l'intérieur de la mycobactérie en font une excellente cible pour les médicaments antituberculeux. Trefzer et ses collaborateurs ont montré que DprE1 se présente comme une oxydase et DprE2 comme une réductase. Pour l'activité épimérase, une articulation synchrone des deux polypeptides est nécessaire (Gawad & Bonde, 2018 ; Imran et al., 2021).

- **Inhibiteurs de DprE1 en essai clinique**

BTZ-043 La principale classe de dérivés se concentrant sur DprE1 est celle des BTZ. Le BTZ-043, le composé principal de la série des benzothiazinones (BTZ), était le principal inhibiteur covalent de la DprE1 décrit et est particulièrement puissant avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) *in vitro* ou *in vivo* de l'ordre du nanomolaire. En effet, c'est le premier inhibiteur de la DprE1 rapporté (CMI = 1 ng/ml). Cette benzothiazinone parrainée par Michael Hoelscher a terminé l'étude de phase I (sécurité, tolérance et activité bactéricide précoce) et est

entrée en phase II pour traiter la tuberculose pulmonaire. Il a montré une activité *in vivo* supérieure à celle de l'isoniazide dans un modèle de souris. Les premiers tests ont démontré son profil de sécurité BTZ043 est bactéricide, diminuant la faisabilité *in vitro* de plus de 1000 fois en moins de 72 h (Imran et al. 2021 ; Gawad et Bonde 2018).

Macozinone (PBTZ-169) : possède l'une des CMI les plus minimales contre *M. tuberculosis* (0,6 nM). La macozinone est un inhibiteur covalent de la DprE1. Ce dérivé de la pipérazinobenzothiazinone a terminé les essais cliniques de phase I (sécurité, tolérance, pharmacocinétique et interactions alimentaires) chez des sujets sains et est passé en phase II. Le PBTZ-169 a été obtenu après avoir optimisé la structure chimique du BTZ043 pour en améliorer la solubilité aqueuse (Gawad & Bonde, 2018).

L'OPC-167,832 (est un inhibiteur non covalent de la DprE1. Ce dérivé du carbostyryle sponsorisé par Otsuka Pharmaceuticals est entré en phase II pour le traitement de la tuberculose pulmonaire. Sa valeur CMI varie de 0,24 ng/ml à 2 ng/ml contre différentes souches de *Mtb*. Il n'antagonise pas l'effet des autres médicaments antituberculeux (Imran et al., 2021)

Le TBA-7371 est un inhibiteur non covalent de la DprE1. Cet inhibiteur de la DprE1 à base d'azaindole (IC₅₀ = 10 nM) est parrainé par le Bill & Melinda Gates Medical Research Institute. Il a montré une excellente activité contre différentes souches de *Mtb* et une efficacité dans un modèle de TB chez les rongeurs. Il est entré en phase II pour traiter la tuberculose pulmonaire (Imran et al., 2021).

- **La phosphorylation oxydative**

Mtb étant un pathogène aérobie obligatoire, le processus de phosphorylation oxydative est essentiel à la survie et à la croissance des mycobactéries puisqu'il est considéré comme le mécanisme central de production d'énergie pour les mycobactéries. En raison de son caractère essentiel, la phosphorylation oxydative constitue une source intéressante de nouvelles cibles pour la découverte de médicaments antituberculeux (Tableau IV). (Torfs et al., 2019a)

- **Synthèse des protéines**

La biosynthèse des protéines est une exigence fondamentale pour la survie et la réplication de toutes les cellules, y compris *Mtb*, bien que les processus biologiques responsables puissent différer entre les organismes, indiquant qu'ils fournissent une source importante de (nouvelles)

cibles mycobactériennes. L'expression des gènes mycobactériens et la biosynthèse éventuelle des protéines se sont déjà avérées vulnérables à l'intervention chimiothérapeutique. Les médicaments antituberculeux actuellement utilisés comprennent les inhibiteurs du processus de déroulement de l'ADN nécessaire à la réplication et à la synthèse des protéines (fluoroquinolones), la transcription génique par l'ARN polymérase dépendante de l'ADN (rifampicine) et la traduction ribosomique (streptomycine, amikacine, kanamycine et capréomycine) (Tableau IV) (Torfs et al., 2019a).

7.4 Homéostasie Bacillaire Redox

Outre le métabolisme de la paroi cellulaire, la respiration cellulaire et la synthèse des protéines mycobactériennes, l'homéostasie redox constitue également une cible intéressante pour le développement de nouveaux candidats antituberculeux. *Mtb* n'est pas seulement soumis à des espèces réactives endogènes de l'oxygène (ROS) dans le cadre de la respiration aérobie normale, il est également continuellement exposé à des ROS exogènes nocifs et à des espèces réactives de l'azote (RNS) générés par le système immunitaire de l'hôte afin d'éliminer les agents pathogènes envahisseurs. En outre, *Mtb* rencontre également une gamme d'oxydants et de réducteurs environnementaux, présents dans les différents microenvironnements au cours de son évolution. Ceux-ci pourraient tous perturber l'équilibre intracellulaire d'oxydo-réduction qui est important pour *Mtb* survie, persistance et réactivation. Afin de surveiller les altérations redox et de maintenir son équilibre redox souhaité, *Mtb* a développé diverses voies (Tableau IV) (Torfs et al., 2019a).

8 Prophylaxie et vaccinations

Le seul vaccin actuellement homologué, disponible dans le monde contre la tuberculose est le bacille Calmette-Guérin (BCG), une souche atténuée de *M. bovis*. Le BCG confère une protection des enfants avec plus de 80% d'efficacité contre les formes disséminées sévères de tuberculose, y compris la tuberculose miliaire et la méningite tuberculeuse, mais ne montre qu'une efficacité limitée varie de 0 à 80% contre la tuberculose pulmonaire chez les adolescents ou les adultes. Cette variation est probablement en fonction de la souche vaccinale spécifique, de la voie d'administration du vaccin, de la co-infection de l'hôte par des parasites, de l'exposition de l'hôte à des mycobactéries environnementales et de facteurs génétiques de l'hôte. Il est important de noter que les méta-analyses ont montré qu'une grande partie de la variation de l'efficacité est liée à des différences géographiques et des différences dans la génétique des

souches. Sur la base de ces antécédents, l'OMS a recommandé en 2007 de ne pas vacciner un enfant séropositif, car le risque de dissémination du BCG est plus important que la protection potentielle contre plusieurs formes de tuberculose. Dans ces conditions, dans les pays où la charge du VIH/SIDA est élevée, la meilleure option semble être la vaccination après sélection spécifique de la souche de BCG la moins virulente dans cette région géographique (Becker et Sander 2016 ; Gagneux et Small 2007 ; Maulén 2011).

En 2017, il y avait 14 candidats vaccins antituberculeux à différentes phases de développement clinique représentant trois grandes stratégies : les vaccins sous-unitaires associant des antigènes de *M. tuberculosis* à des adjuvants ; des vaccins à vecteur viral utilisant un virus atténué pour la délivrance d'antigènes ; vaccins à cellules entières utilisant *Mtb* atténué ou des espèces mycobactériennes apparentées (Sia & Rengarajan, 2019).

II. Découverte et développement de médicaments assistés par ordinateur (CADD)

1 Définition

Le processus de découverte, de développement et de l'introduction d'un nouveau médicament sur le marché est une affaire difficile et coûteuse qui demande beaucoup de temps et d'argent. Le temps moyen nécessaire pour découvrir/développer un médicament est d'environ 10 à 15 ans et le coût s'élève à environ 800 millions de dollars américains. Sans surprise, les sociétés pharmaceutiques se concentrent sur la réduction des délais et des budgets de développement sans nuire à la qualité. Une combinaison de techniques informatiques avancées, de sciences biologiques et de synthèse chimique a été introduite pour faciliter le processus de découverte, et cette approche combinatoire a amélioré l'échelle de la découverte. Finalement, le terme conception de médicaments assistée par ordinateur (CADD) a été adopté pour l'utilisation des ordinateurs dans la découverte de médicaments. Les outils de découverte de médicaments assistés par ordinateur (CADD) peuvent agir comme un raccourci virtuel, aidant à l'expédition de ce long processus et réduisant potentiellement le coût de la recherche et du développement. Les technologies CADD sont des outils puissants qui peuvent réduire le nombre de ligands qui doivent être criblés dans des essais expérimentaux. Ils réduisent non seulement les coûts associés à la découverte de médicaments en garantissant que le meilleur composé principal possible entre dans les études sur les animaux, mais cela peut également réduire le temps nécessaire pour qu'un médicament atteigne le marché de consommation. Il est apparu donc comme un moyen efficace d'identifier les composés potentiels et d'aider au

développement de médicaments possibles pour un large éventail de maladies (Liao & Nicklaus, 2010).

CADD est une discipline spécialisée, dans lesquelles différentes méthodes de calcul sont utilisées pour identifier les principales molécules médicamenteuses à tester, prédire l'efficacité et les effets secondaires possibles, et aider à améliorer la biodisponibilité des molécules médicamenteuses possibles. CADD a joué un rôle important dans la découverte de nombreux médicaments pharmaceutiques disponibles qui ont obtenu l'approbation de la FDA et ont atteint le marché de consommation (Leelananda et Lindert 2016 ; Baig et al. 2018 ; Liao et Nicklaus 2010).

En fonction du type et de la quantité d'informations disponibles sur la structure cible, et de la stratégie employée, les approches CADD peuvent généralement être divisées en conception de médicaments basée sur la structure (SBDD), qui est utilisée, par exemple, lorsque quelque chose sur la structure cible macromoléculaire est connu. ; Le ligand-based drug design (LBDD) (Figure 9), qui est utilisé par exemple lorsque certains inhibiteurs (ou, le cas échéant, activateurs) sont connus ; ou une combinaison des deux. (Liao & Nicklaus, 2010) Un aperçu de CADD est fourni dans Figure 9.

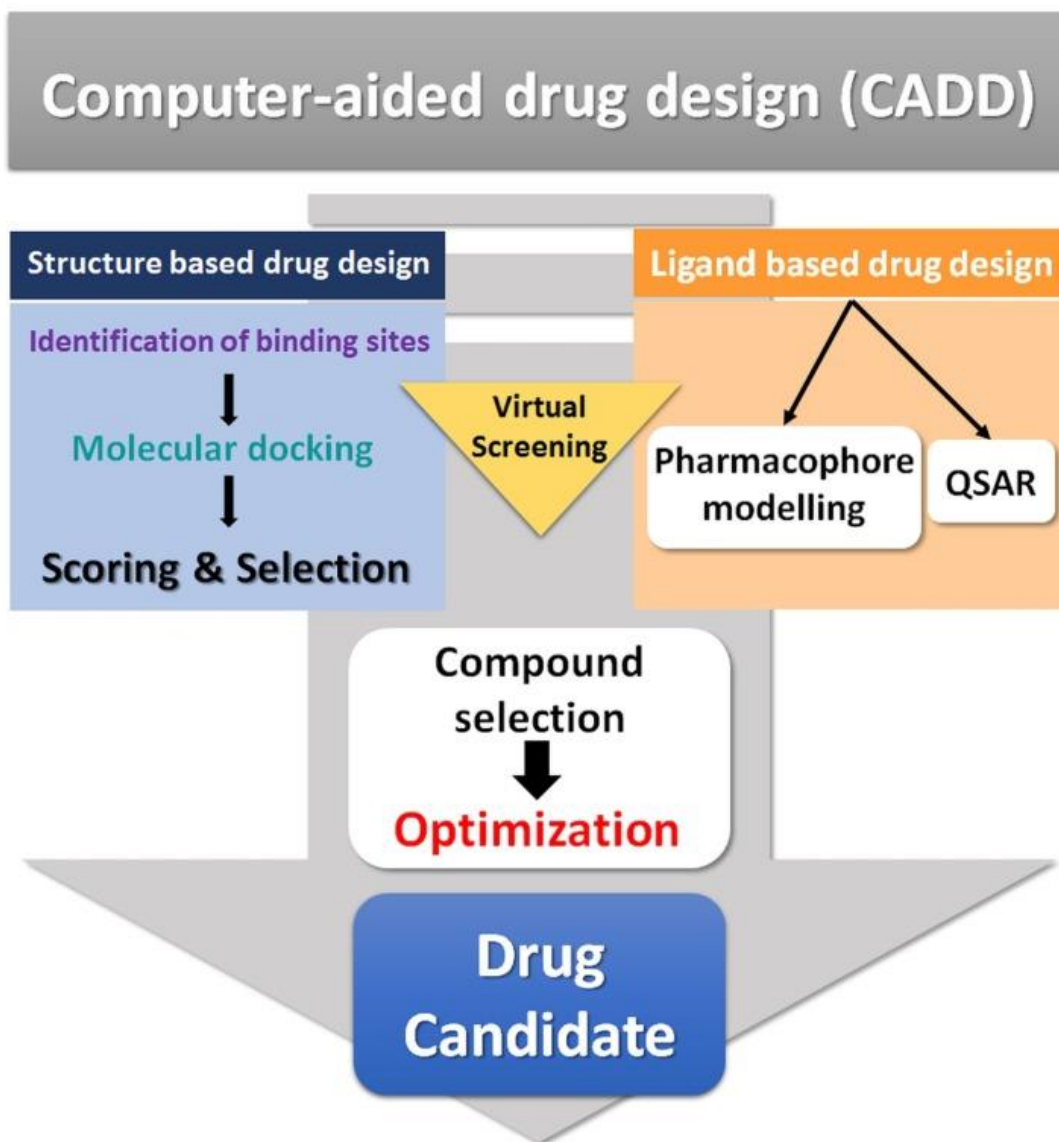


Figure 9: Vue d'ensemble du processus CADD

(Baig et al., 2018)

Les méthodes CADD sont largement classées en méthodes basées sur la structure et basées sur les ligands. Les méthodes basées sur la structure nécessitent que les informations 3D de la cible soient connues. Les méthodes basées sur les ligands sont utilisées lorsque la structure 3D de la cible n'est pas connue. Ils utilisent des informations sur les molécules qui se lient à la cible d'intérêt. Les hits sont identifiés, filtrés et optimisés pour obtenir des candidats-médicaments potentiels qui seront testés expérimentalement in vitro.

2 Conception de médicaments basé sur la structure (SBDD)

Si la structure tridimensionnelle d'une cible médicamenteuse liée à une maladie est connue, les techniques CADD les plus couramment utilisées sont basées sur la structure. Dans la SBDD, la thérapeutique est conçue sur la base de la connaissance de la structure cible. Deux méthodes couramment utilisées dans la SBDD sont les approches d'amarrage moléculaire et la conception de ligand de novo (Baig et al., 2018).

La SBDD peut donner un aperçu non seulement de la manière dont les ligands se lient aux protéines cibles, mais également des voies d'interaction et pour tenir compte de la flexibilité de la cible. Ceci est particulièrement important lorsque les cibles des médicaments sont des protéines membranaires où la perméabilité membranaire est considérée comme importante pour que les médicaments soient utiles (Figure 10). La conception de médicaments basée sur la structure utilise les informations structurelles tridimensionnelles (3D) des protéines pour concevoir de nouvelles molécules biologiquement actives. Ainsi, l'identification d'une molécule cible et la détermination de sa structure est la principale étape initiale de la SBDD (Leelananda & Lindert, 2016).

Les méthodes SBDD reposent sur la structure tridimensionnelle de la protéine. La façon la plus courante de déterminer une structure protéique est la cristallographie aux rayons X et la résonance magnétique nucléaire (RMN). Ces méthodes expérimentales sont associées à des contraintes de coût et de temps, et sont également limitées par des défis expérimentaux. En effet, la cristallographie aux rayons X n'est possible que si la protéine cible peut être cristallisée. Certaines protéines, par exemple les protéines membranaires qui représentent environ 60 % des cibles médicamenteuses approuvées aujourd'hui, sont généralement difficiles à cristalliser. L'un des inconvénients de la spectroscopie RMN est qu'elle est généralement limitée aux protéines plus petites. Des tentatives sont continuellement faites pour surmonter ces défis et les limites des méthodes expérimentales. Récemment, la cryo-microscopie électronique (cryoEM) a connu une « révolution de la résolution », conduisant à un nombre croissant de structures à résolution quasi-atomique. Lorsque ni l'un ni l'autre n'est disponible, des méthodes de calcul telles que la modélisation par homologie et la dynamique moléculaire. (MD) peuvent combler le fossé séquence-structure et prédire donc les structures tridimensionnelles des cibles. Sur la base des déterminations d'affinité de liaison, des composés potentiels sont déterminés qui atténuent l'activité de la cible par son inhibition (Baig et al. 2018 ; Leelananda et Lindert 2016).

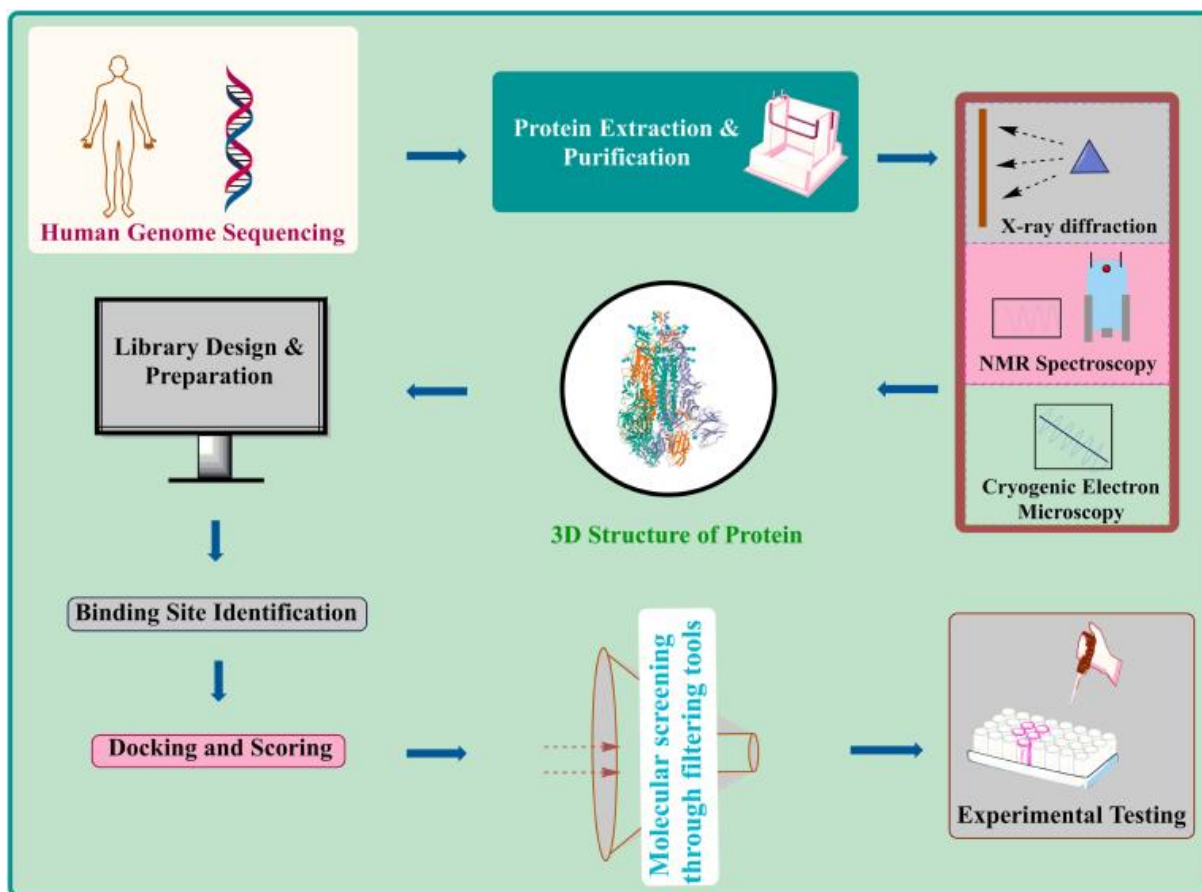


Figure 10: Flux de travail de la conception de médicaments basée sur la structure (SBDD) dans le processus de découverte de médicaments

(Bajad et al., 2021).

2.1 Docking

L'amarrage moléculaire est un processus de calcul largement utilisé pour prédire rapidement les modes de liaison et les affinités de petites molécules contre leurs molécules cibles (généralement des protéines). L'amarrage moléculaire a été grandement facilité par la croissance spectaculaire de la puissance des ordinateurs et la disponibilité croissante de bases de données sur les petites molécules et les protéines. Il est bien compris que l'amarrage moléculaire est l'une des méthodes les plus fréquemment utilisées dans la SBDD en raison de sa capacité à prédire, avec un degré de précision substantiel, la conformation des ligands de petites molécules dans le site de liaison cible approprié (Figure 11). Suite au développement des premiers algorithmes dans les années 1980, ce processus *in silico* a atteint une position de grande importance dans le domaine de la découverte de médicaments. Par exemple, les modes de liaison des ligands et les interactions intermoléculaires correspondantes qui stabilisent le

complexe ligand-récepteur, peuvent être effectués de manière pratique. De plus, les algorithmes d'amarrage moléculaire exécutent des prédictions quantitatives de l'énergétique de liaison, fournissant un classement des composés ancrés en fonction de l'affinité de liaison des complexes ligand-récepteur. En règle générale, l'objectif principal de l'amarrage moléculaire est d'identifier les ligands qui se lient le plus favorablement dans les sites de liaison des récepteurs et de déterminer ses orientations de liaison les plus énergétiquement favorisées (poses). Le terme « pose de liaison » est l'orientation/confirmation d'un ligand par rapport à son récepteur. L'algorithme de recherche est responsable de la recherche de différentes poses et conformations d'un ligand au sein d'une protéine cible donnée et la fonction de notation estime les affinités de liaison des poses générées, les classe et identifie les modes de liaison récepteur/ligand les plus favorables. Divers programmes d'amarrage sont disponibles, tels que AutoDoc, Dock, FlexX, Glide, Gold, Surflex, ICM et LigandFit. Par conséquent, les techniques de dépistage virtuel basées sur l'amarrage ont gagné en popularité et ont mis sur le marché des médicaments ces dernières années pour toutes sortes de maladies, notamment le cancer, le sida, le glaucome et l'hypertension (Yu et MacKerell 2017 ; Ferreira et al. 2015 ; Baig et al. 2018).

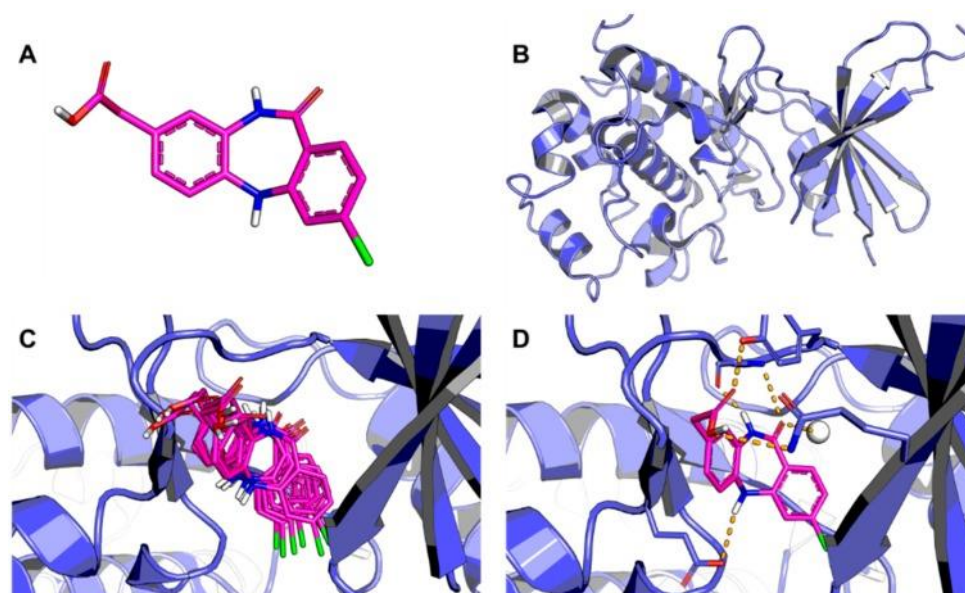


Figure 11: Aperçu du processus d'amarrage moléculaire

(Ferreira et al., 2015). (A) Structure tridimensionnelle du ligand; (B) Structure tridimensionnelle du récepteur ; (C) Le ligand est amarré dans la cavité de liaison du récepteur et les conformations putatives sont explorées ; (D) La conformation de liaison la plus probable et les interactions intermoléculaires correspondantes sont identifiées. La protéine est représentée sous forme de dessin animé. Le ligand et les résidus de site actif sont représentés

en bâton. L'eau est représentée par une sphère blanche et les liaisons hydrogène sont indiquées par des lignes pointillées. (Ferreira et al., 2015)

2.2 La conception de novo

La conception de novo, un autre outil de la SBDD, tente d'automatiser le processus de la SBDD pour générer de nouvelles molécules actives "à partir de rien". De tels programmes tentent de concevoir des composés pour s'adapter à un site actif particulier, ou se conformer à un modèle de pharmacophore particulier, ce qui est un objectif valable mais une tâche extrêmement complexe. Ainsi, ils sont moins couramment utilisés que l'amarrage dans des projets de développement de médicaments « réels » (Liao & Nicklaus, 2010).

3 Conception de médicaments basé sur le ligand (LBDD)

La principale alternative au SBDD est le LBDD. En effet, dans le cas où les informations structurales 3D d'une protéine cible sont inconnues et que la prédiction de cette structure est difficile ou indésirable, le protocole alternatif à appliquer est la conception de médicaments à base de ligand. Mais surtout, cette méthode repose sur la connaissance de petites molécules qui se lient à la cible d'intérêt. Dans ce processus, les informations disponibles sur les ligands et leur activité biologique sont utilisées pour le développement de nouveaux candidats-médicaments potentiels. Le LBDD est largement utilisé dans la recherche pharmaceutique, car plus de 50 % des médicaments approuvés ciblent les protéines membranaires (pour lesquelles les structures 3D ne sont souvent pas disponibles). LBDD est basé sur l'hypothèse que des composés ayant des caractéristiques structurales similaires partagent des activités biologiques communes et interagissent/inhibent des molécules cibles communes. La représentation des molécules est la base de l'approche LBDD. Par conséquent, la recherche de similarité est un aspect clé de la méthode LBDD. Cette technique utilise un composé actif connu comme composé de requête pour trouver des composés similaires, puis classer les composés identifiés dans une base de données. Sur la base de cette croyance, des molécules structurellement similaires présentent des activités biologiques et des propriétés physicochimiques similaires. La conception de médicaments à base de ligand dépend de la connaissance des composés ayant des effets biologiques connus mais sans informations structurales pour la cible fonctionnelle. La modélisation des pharmacophores, les approches de similarité moléculaire et la modélisation QSAR (relation quantitative structure-activité) sont des approches LBDD populaires. (Leelananda et Lindert 2016 ; Baig et al. 2018 ; Liao et Nicklaus 2010)

Dans la modélisation des pharmacophores à base de ligands, les caractéristiques structurelles communes des ligands qui se lient à une cible sont utilisées pour effectuer le criblage. QSAR est une méthode de calcul qui modélise la relation entre les caractéristiques structurelles des ligands qui se lient à une cible et l'effet d'activité biologique correspondant. (Leelananda & Lindert, 2016)

Les méthodes utilisées pour le LBDD comprennent l'identification des pharmacophores et le QSAR. Un pharmacophore est fondamentalement une représentation statique des relations spatiales entre des caractéristiques chimiques distinctes du ou des composés essentiels à l'activité biologique. Les méthodes QSAR peuvent être divisées en quatre classes différentes en fonction du type de descripteurs moléculaires utilisés pour établir une corrélation avec l'activité. Les pharmacophores construits et les modèles QSAR peuvent également être utilisés pour optimiser des pistes déjà connues ou cribler virtuellement des bibliothèques chimiques pour identifier de nouvelles pistes. (Liao & Nicklaus, 2010)

Materiel et Methodes

III. Matériel et Méthodes

Afin de proposer des inhibiteurs potentiels du DprE1, des criblages virtuels basés sur les ligands et basés sur la structure ont été réalisés. De nombreux inhibiteurs ont été nouvellement proposés contre notre cible.

1 Bases de données

1.1 Banque de données sur les protéines (PDB)

La Protein Data Bank (PDB) - le référentiel mondial unique de structures 3D déterminées expérimentalement de macromolécules biologiques et de leurs complexes - a été créée en 1971, devenant la première ressource de données numériques en libre accès dans les sciences biologiques et est géré par le partenariat Worldwide Protein Data Bank (wwPDB; wwpdb.org). À l'heure actuelle, la PDB archive les données expérimentales, les métadonnées associées et les modèles structurels 3D au niveau atomique dérivé de trois méthodes bien établies : la cristallographie, la spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (RMN) et la microscopie électronique (3DEM). Le RCSB PDB agit actuellement en tant que gardien des archives, assurant la reprise après sinistre des données PDB et coordonnant les mises à jour hebdomadaires. Aujourd'hui, la (PDB) est l'une des deux principales ressources d'archives pour les données expérimentales qui sont au cœur de la recherche et à l'éducation biologiques et biomédicales dans le monde (l'autre archive de données primaires clé en biologie étant l'International Nucleotide Sequence Database Collaboration). Le PDB abrite actuellement plus de 134 000 structures biomoléculaires au niveau atomique déterminées par cristallographie, spectroscopie RMN et microscopie électronique 3D (Burley et al. 2018 ; Burley et al. 2017).

1.2 PubChem

PubChem, hébergé par le National Center for Biotechnology Information (NCBI), National Institutes of Health, est un référentiel public pour les structures chimiques et leurs bioactivités. PubChem recueille des descriptions de substances chimiques et leurs activités biologiques à partir de centaines de sources de données et les met gratuitement à la disposition du public. PubChem constitue une ressource clé pour les communautés des sciences biomédicales dans de nombreux domaines, notamment la chimie informatique, la biologie chimique, la chimie médicinale et la découverte de médicaments. Il y a eu un grand intérêt à utiliser PubChem pour le dépistage virtuel (VS). Dans certaines études, structures 3D de composés téléchargées à partir de PubChem ont été utilisées pour l'amarrage moléculaire. Fait

important, de nombreuses études utilisent des données de bioactivité archivées dans PubChem pour développer des modèles de prédiction de bioactivité ou de toxicité. De plus, les données de PubChem ont été utilisées pour construire des modèles informatiques pour prédire les effets indésirables des médicaments. PubChem se développe rapidement et est maintenant sans doute la plus grande base de données de biologie chimique accessible au public, qui offre un accès libre à plus de 50 000 utilisateurs par jour via le système NCBI Entrez, ainsi que des outils en ligne et programmatiques. De plus, PubChem est étroitement intégré à d'autres bases de données de littérature et biomédicales telles que PubMed, Protein, Gene, Structure et Taxonomy (Cheng et al. 2014 ; Kim 2016).

1.3 Mcule

Mcule.com est une plateforme en ligne qui fournit une collection d'outils de découverte de médicaments en ligne et des bases de données chimiques bien organisées. MCULE contient plus de 42 millions de composés chimiques. Cette plateforme occupe une place particulière parmi les autres plates-formes connexes, car en plus de fournir des outils de modélisation moléculaire de la plus haute qualité, il offre une solution unique aux entreprises pharmaceutiques et biotechnologiques en fournissant une base de données de composés acheteables, ainsi la possibilité de commander l'achat du candidat-médicament éliminé. (Shakil, Rizvi, et Greig 2021 ; Odhar et al. 2019)

2 **Logiciels**

2.1 ADT

AutoDock a été présenté il y a 30 ans comme la première méthode d'amarrage des ligands flexibles aux protéines. À l'époque, les méthodes de prédiction de la structure biomoléculaire étaient souvent strictement limitées par l'état naissant de l'infrastructure informatique, qui était limitée à la fois en espace de stockage et en vitesse de calcul. Au fil des ans, il a été modifié et amélioré pour ajouter de nouvelles fonctionnalités, notamment des champs de force d'énergie libre empiriques, des moteurs d'amarrage, des méthodes de prédiction de site et des outils interactifs de visualisation et d'analyse. Il est conçu pour prédire comment de petites molécules, telles que des candidats-médicaments, se lient à un récepteur de structure 3D connue. Le programme auto dock tools (ADT) publié en tant que suite d'extension du visualiseur moléculaire python a été utilisé pour préparer les protéines et les ligands. AutoDock fournit un ensemble d'outils complet pour l'amarrage informatique des ligands et la conception et le développement de médicaments. La version actuelle d'AutoDock, AutoDock4 (AD4), conserve

une grande partie des concepts originaux d'évaluation énergétique et a nettement amélioré les capacités de recherche, augmentant la complexité des ligands pouvant être ancrés. Il fournit des outils graphiques pour ajouter des hydrogènes et définir l'articulation des ligands, préparer des portions flexibles et rigides de récepteurs, créer des fichiers de commande et enfin analyser les résultats des simulations d'amarrage. ADT est cependant un outil largement conçu pour les utilisateurs ayant une connaissance approfondie de la modélisation moléculaire et des méthodes d'amarrage (Goodsell et al. 2021 ; Mandal et al. 2015).

2.2 Autodock Vina

AutoDockVina (ADVina) est un programme open-source qui est constant et authentique pour effectuer des simulations de docking. Il est l'un des logiciels appropriés et fiables disponibles pour la découverte de médicaments, l'amarrage moléculaire et le criblage virtuel qui a été conçu et mis en œuvre par le Dr Oleg Trott. Par le fait, il s'agit d'un logiciel de docking, qui améliore considérablement la précision moyenne des prédictions de mode de liaison des composés, mieux que d'autres outils de docking. Il met en œuvre un algorithme d'optimisation compétent pour estimer l'affinité des interactions protéine-ligand et prédire les modes de liaison plausibles des composés. Ensuite, les interactions ligand-protéine ont été visualisées par exemple par Maestro 10 (Schrödinger). Vina offre une capacité à multiples facettes, un taux de performance élevé et une précision améliorée pour faciliter une utilisation sans effort. Ce logiciel peut être utilisé à l'aide d'AutoDockTools (ADT) ou d'instructions en ligne de commande. Trois étapes clés sont impliquées dans les simulations d'amarrage :

- 1) Préparation de protéines
- 2) Définition du site actif (Grid)
- 3) Préparation des ligands.

Vina ne nécessite pas de fichiers récepteurs et de fichiers GRID en entrée, le docking d'une seule molécule est facilité avec les instructions de ligne de commande, mais le criblage virtuel de bases de données plus volumineuses n'est possible que si l'utilisateur est familiarisé avec les scripts shell. (Sandeep et al. 2011 ; Alexandri et al. 2020)

2.3 PyMol

De nombreux biologistes moléculaires aspirent à créer de superbes œuvres d'art moléculaires. Ces illustrations aident le lecteur à comprendre l'importance de la structure

moléculaire qui est présentée. Les illustrations moléculaires sont généralement réalisées avec un ou plusieurs programmes d'infographie moléculaire tels que *UCSF Chimera*, *UCSF ChimeraX*, *CCP4mg*, *VMD*, *YASARA*, *JMOL*, *RasMOL*, et *PyMOL*. *PyMOL* est populaire pour créer des images de protéines car il offre à l'utilisateur un contrôle exquis sur l'apparence de l'image finale. Ce contrôle provient d'un vaste ensemble de paramètres qui peuvent être personnalisés avec une grande précision. *PyMOL* a été largement utilisé dans la visualisation de macromolécules et souvent utilisé pour générer des images de structures biomoléculaires. Des centaines de paramètres dans *PyMOL* permettent un contrôle précis de l'apparence des structures. *PyMOL* est un outil convivial qui fonctionne sur toutes les plateformes, y compris Linux, MacOS et Windows. *PyMOL* est un outil basé sur Python, et de nombreux plugins Python ont été développés pour améliorer la visualisation et même la modélisation moléculaire. Ces fonctionnalités facilitent le traitement par lots de plusieurs travaux simultanément. Les utilisateurs pourraient également tirer parti de Python, le langage de script le plus populaire, pour rendre leur système de manière plus sophistiquée. De plus, le rendu de haute qualité dans *PyMOL* est pris en charge par un traitement parallèle avec plusieurs processeurs, ce qui augmente considérablement les performances de génération d'images de haute qualité. De plus, *PyMOL* prend en charge une ligne de commande, ce qui est d'une grande aide pour gérer plusieurs objets (Yuan et al. 2016 ; Mooers et Brown 2021 ; Mooers 2020).

2.4 Open Babel

Open Babel, une boîte à outils chimique open source qui parle les nombreux langages des données chimiques. Open Babel, présente une solution à la prolifération de plusieurs formats de fichiers chimiques. En outre, il fournit une variété d'utilitaires utiles allant de la recherche de conformateurs et de la représentation 2D au filtrage, à la conversion par lots et à la recherche de sous-structures et de similarités. Pour les développeurs, il peut être utilisé comme une bibliothèque de programmation pour gérer des données chimiques dans des domaines tels que la chimie organique, la conception de médicaments, la science des matériaux et la chimie computationnelle. Il permet à quiconque de rechercher, convertir, analyser ou stocker des données issues de la modélisation moléculaire, de la chimie, des matériaux à l'état solide, de la biochimie ou de domaines connexes. Il fournit à la fois des programmes prêts à l'emploi ainsi qu'une boîte à outils de programmeur complète et extensible pour le développement de logiciels de chiminformatique. Il peut gérer la lecture, l'écriture et l'interconversion de plus de 110 formats de fichiers chimiques, prend en charge le filtrage et la recherche de fichiers de molécules à l'aide de la correspondance de modèles Daylight SMARTS et d'autres méthodes,

et fournit des cadres extensibles d'empreintes digitales et de mécanique moléculaire. Depuis 2001, a été développé et considérablement étendu en tant que projet collaboratif international utilisant un modèle de développement open source. Il compte plus de 160 000 téléchargements, plus de 400 citations, est utilisé par plus de 40 projets logiciels et est disponible gratuitement sous une licence open-source sur <http://openbabel.org> (O'Boyle et al., 2011).

2.5 Outils de prédiction de la toxicité : Toxicity checker-Mcule

Une grande variété d'outils ont été développés pour la prédiction de la toxicité moléculaire, y compris des logiciels prédictifs, des serveurs et des bases de données. Une sélection représentative est discutée ici, avec une liste plus complète, y compris la classification du système et l'adresse Web indiquée dans Tableau V (Hevener, 2018).

Tableau V: Logiciels et outils Web sélectionnés pour la prédiction de la toxicité chimique (Hevener, 2018)

Logiciel/Outil	Classification	Site Web ou référence Web
ACD/Percepta	Logiciel	http://www.acdlabs.com/products/percepta/predictors.php
Prédicteur ADMET™	Logiciel	http://www.simulations-plus.com/software/admet-property-prediction-qsar/
Studio Découverte BIOVIA	Logiciel	http://accelrys.com/products/collaborative-science/biovia-discovery-studio/
CompuDrug/HazardExpertPro	Logiciel	http://www.compudrug.com/?q=node/35
Derek Nexus	Logiciel	https://www.lhasalimited.org/products/derek-nexus.htm
Leadscope® -	Logiciel	http://www.leadscope.com/model_appliers/
MultiCASE/CASE Ultra	Logiciel	http://www.multicase.com/case-ultra

Schrodinger/QikProp	Logiciel	https://www.schrödinger.com/qikprop
Way2Drug GUSAR	Logiciel	http://www.way2drug.com/mg/about.php
FAF-Médicaments4	Serveur	http://mobylerpbs.univ-paris-diderot.fr/cgi-bin/portal.py?form=admetox#forms::FAF-Drugs4
eTOXsys	Serveur	https://etoxsys.eu/etoxsys.v3-demo-bk/dashboard/
Vérificateur de molécule/toxicité	Serveur	https://mcule.com/apps/toxicity-checker/
PASSE en ligne	Serveur	http://pharmaexpert.ru/Passonline/index.php
OpenTox/ToxPredict	Serveur	http://www.opentox.net/library/toxicity-prediction
Alerte toxicologique	Serveur	https://ochem.eu/home/show.do
ToxiPred	Serveur	http://crdd.osdd.net/oscadd/toxipred/
VirtualToxLab™	Serveur	http://www.biograf.ch/index.php?id=projects&subid=virtualtoxlab
Lazar	Serveur	https://lazar.in-silico.de/predict
Leadscope® -	Base de données	http://www.leadscope.com/product_info.php?products_id=78
NIH/NLM TOXNET	Base de données	https://toxnet.nlm.nih.gov/
Super toxique	Base de données	http://bioinformatics.charite.de/supertoxic/index.php?site=home

IV. Méthodes

Pour réaliser notre criblage virtuel, les étapes suivantes ont été effectuées :

- Sélection et préparation de la cible
- Sélection et / ou construction de bases de données de ligands
- Docking
- Analyse post-docking

1 Sélection et préparation de la cible

L'enzyme essentielle associée à la membrane, la décaprenylphosphoryl- β -D-ribose-2'-oxydase (DprE1), qui est codée par *dprE1* (*Rv3790*) et désignée comme cible médicamenteuse mycobactérienne d'une nouvelle classe d'agents antituberculeux. DprE1 appartient à la famille des vanillyl alcool oxydases, une famille d'oxydoréductases FAD-dépendantes. Des études biochimiques montrent que la DprE1 et la décaprenylphosphoryl-2-céto- β -D-érythro-pentose réductase (DprE2), codées par le gène voisin *dprE2* de *dprE1* (*Rv3791*), catalysent l'épimérisation en deux étapes du décaprenylphosphoryl- β -D-ribofuranose (DPR) en décaprenylphosphoryl- β -D-arabinofuranose (DPA), un précurseur clé qui sert de seul donneur d'arabinosyle nécessaire à la synthèse des composants de la paroi cellulaire arabinogalactane et le lipoarabinomannane (figure 12) (Torfs et al., 2019a).

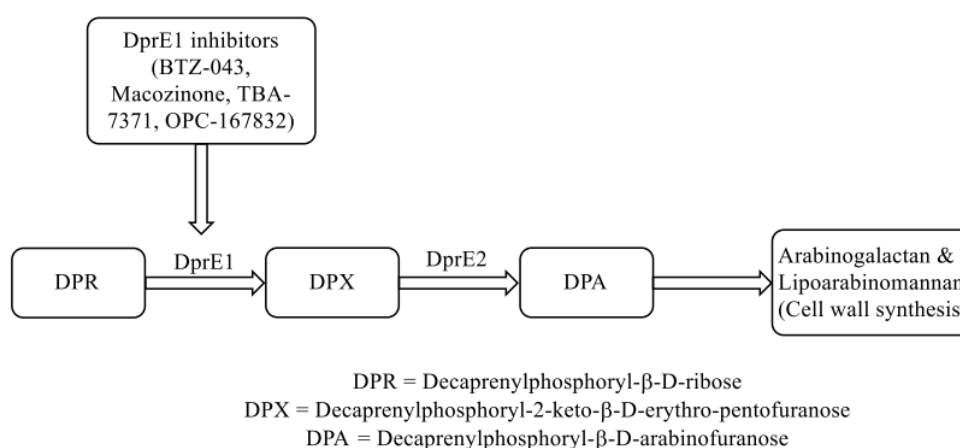


Figure 12: Mécanisme d'action des inhibiteurs de la DprE1

(Imran et al., 2021).

Cette étape mérite beaucoup d'attention. Une structure cristalline est le point de départ habituel. Cependant, une structure cristalline téléchargée à partir de la Protein Data Bank (PDB) peut nécessiter une modification substantielle avant d'être soumise au criblage virtuel.

La structure cristallographique de notre protéine d'intérêt (DprE1 ID : 6HEZ) a été récupérée sous format « .pdb » auprès de la base de données Protein Data Bank (PDB) (<https://www.rcsb.org/structure/6HEZ>) sous la référence PDB : 6HEZ (figure 13). On choisit généralement une structure à la plus haute résolution s'il y en a plusieurs disponibles. La structure cristalline de plus haute résolution du flavoenzyme est PDB ID 6HEZ. Il est désormais connu que la structure tridimensionnelle du DprE1 a été déterminée par la méthode de cristallographie aux rayons X avec une résolution de 2,4 Å.

Il est important d'ajouter que si plusieurs structures cristallines sont disponibles pour la protéine cible, il est conseillé aux utilisateurs de sélectionner l'entrée pour les simulations de docking non seulement en comparant les structures en termes de résolution, mais également d'exhaustivité du domaine et de la chaîne latérale, de la présence de mutations et d'erreurs annotées dans le fichier de structure.

Les différentes conformations 3D sont téléchargeables sous extension pdb lisibles par les logiciels de Docking. Des informations sur la structure primaire, les hétéroatomes (ligand, métaux, résidus modifiés... etc.), la structure secondaire et les coordonnées atomiques X, Y, Z qui déterminent la position exacte de chaque atome dans une conformation sont disponibles.

Dans un premier temps, on a choisi la structure et la chaîne de la protéine pour le docking. Des outils de visualisation moléculaire comme PyMol permettent également à l'utilisateur d'ajouter des hydrogènes manquants et d'optimiser leurs positions, de supprimer des ligands de structures complexes et d'appliquer une minimisation de l'énergie

La structure 3D de DprE1 a été visualisée avec PyMol qui permet de pivoter et redimensionner en temps réel. Cette visualisation nous a montré que DprE1 est un hétérodimère formé de deux chaînes, la première chaîne constituée de 461 résidus d'acides aminés et la deuxième chaîne comprenant 459 résidus. Il existe également une petite molécule FLAVIN-ADENINE DINUCLEOTIDE (FAD) lié par des liaisons hydrogènes à la première chaîne protéique de l'enzyme forment son site actif, par ailleurs DprE1 est en complexe avec BTZ043 via des liaisons Cation- π . Dans ce contexte, pour supprimer des ligands de structures complexes et

d'appliquer une minimisation de l'énergie ; ces deux molécules ont été enlevées grâce à ce logiciel.

De plus, plusieurs molécules d'eau, ont été éliminées grâce à l'interface graphique Auto Dock Tools (ADT) qui nous a permis également d'ajouter des hydrogènes manquants et d'optimiser leurs positions et d'attribuer des charges atomiques partielles à notre macromolécule (charges Kollman United Atom). Puis la molécule modifiée a été enregistrée sous format « pdbqt ».

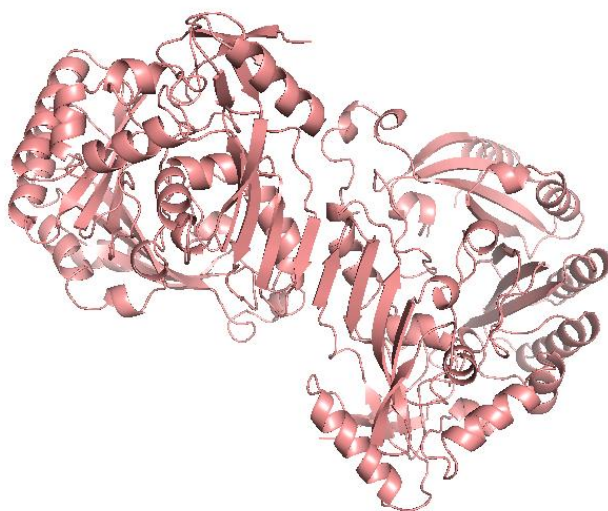


Figure 13: DprE1 (ID : 6HEZ) du *Mycobacterium tuberculosis*

2 Construction de bases de données de ligands

Les projets de criblage virtuel visant à identifier de nouveaux inhibiteurs sélectifs et puissants d'une protéine cible en utilisant généralement des banques de composés à grande échelle contenant plusieurs milliers, voire des millions, de petites molécules pour lancer le processus de filtrage. En fonction du but et le type d'étude.

Nous avons recherché des ligands qui ont une complémentarité structurelle avec le site actif de la cible en effectuant la recherche par le fichier de la protéine sous format 'DprE1.pdb.qt' dans la base de données BindingDB. Une bibliothèque de 111 molécules a été collectée. A cet égard, ces composés collectés peuvent être pré-filtrés en fonction de leurs propriétés de « ressemblance à un médicament », en termes de similarité structurelle et chimique avec des molécules de liaison déjà connues pour la cible et en utilisant la « règle des cinq de Lipinski » et la règle de Veber. Les calculs de similarité de ligand peuvent également aider à supprimer des structures très similaires d'une bibliothèque, la rendant plus compacte tout en conservant une large couverture de molécules diverses. Enfin, des méthodes rapides pour prédire les propriétés de

biodisponibilité et de toxicité des petites molécules peuvent également être appliquées à ce stade pour filtrer les composés ayant des propriétés indésirables au début du processus de criblage.

La règle des cinq de Lipinski décrit les propriétés moléculaires importantes pour la pharmacocinétique d'un médicament dans le corps humain, y compris son absorption, distribution, métabolisme et excrétion (ADME). Cependant, la règle ne permet pas de prédire si un composé est pharmacologiquement actif. La règle de Lipinski prédit qu'en général, un médicament oralement actif ne présente pas plus d'une violation des critères suivants:

- Pas plus de 5 donneurs de liaisons hydrogène (le nombre total de liaisons azote-hydrogène et oxygène-hydrogène)
- Pas plus de 10 accepteurs de liaison hydrogène (tous les atomes d'azote ou d'oxygène)
- Une masse moléculaire inférieure à 500 daltons
- Un coefficient de partage octanol-eau (logP) qui ne dépasse pas 5

La règle de Veber remet en cause un seuil de 500 poids moléculaire. La surface polaire et le nombre de liaisons rotatives se sont avérés mieux faire la distinction entre les composés qui sont actifs par voie orale et ceux qui ne le sont pas. En particulier, les composés qui répondent uniquement aux deux critères de :

- 10 liaisons rotatives ou moins et
- Surface polaire non supérieure à 140²

devraient avoir une bonne biodisponibilité orale.

Sur la base des règles mentionnées, certains composés ont été sélectionnés pour le docking avec la décaprenylphosphoryl- β -D-ribose-2'-oxydase (DprE1). Plus précisément, nous avons sélectionnés 88 molécules qui respectent la règle de Lipinski et de Veber, respectivement.

Parallèlement, nous avons également collecté par étude de la littérature des composés reconnues pour avoir une activité antituberculeuse. Par le biais des recherches récentes, un certain nombre de petites molécules en tant qu'agents antituberculeux ont jusqu'à présent été signalées, les benzothiazinones (BTZ) étant les inhibiteurs de DprE1 les mieux développés et les plus étudiés.

Deux composés, **BTZ043** et son analogue de nouvelle génération **PBTZ169** (Macozinone), affichent une puissante activité antimycobactérienne, et ils sont actuellement en cours de développement clinique. Ces deux petites molécules transmettent probablement leur activité biologique par la formation d'une liaison covalente avec Cys387 dans le site actif de DprE1.

Récemment, plusieurs inhibiteurs non covalents structurellement divers de DprE1 ont été décrits dans la littérature, notamment **TBA-7371**, **TCA1** et **OPC-167832** (Wang et al., 2021). A la lumière des données susmentionnées, quatre composés avancés font actuellement l'objet d'essais cliniques : BTZ-043,10 PBTZ-169,19 TBA-737120 et OPC16783217. La DprE1 est donc une cible hautement validée, et les inhibiteurs représentent des médicaments potentiellement transformateurs pour le traitement de la tuberculose (Whitehurst et al., 2020). Il convient de noter que l'un de ces quatre médicaments potentiels de la TB vont servir comme des inhibiteurs de référence dans notre étude.

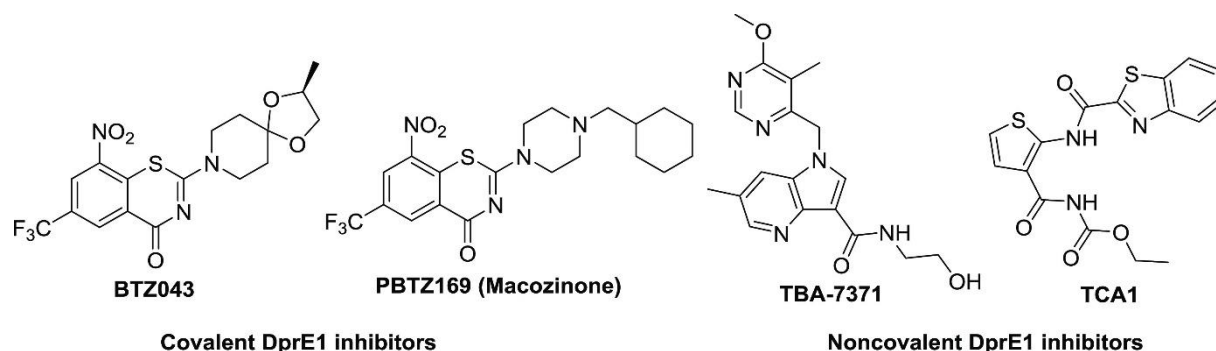


Figure 14: Structures d'inhibiteurs covalents et non covalents représentatifs de DprE1

(Wang et al., 2021).

3 Évaluation de la toxicité

La prédiction de la toxicité des composés est une partie importante du processus de développement et la conception des médicaments. L'évaluation de la toxicité des molécules utilisées dans notre étude a été réalisée à l'aide de Mcule Toxicity Checker. Sur la base de cette évaluation, 14 molécules parmi les 111 molécules obtenues de Mcule ont été choisies comme inhibiteurs potentiels de la décaprenylphosphoryl-β-D-ribose-2'-oxydase (DprE1).

4 Préparation des ligands

Les structures tridimensionnelles des 14 molécules qui ont été choisies après l'évaluation de la toxicité parmi les 111 molécules acquises à la base de données BindingDB ; ont été téléchargées sous format SDF et ont été converties au format PDB à l'aide de l'outil Open Babel, ces composés ont été préparés ultérieurement pour le docking à l'aide du logiciel Auto-Dock Tools en attribuant des charges atomiques partielles (charges Gasteiger) aux ligands, puis le fichier a été téléchargé sous format pdbqt.

5 Docking

Le docking des ligands préparés précédemment avec la cible a été effectué par le logiciel Auto Dock Vina. Ce dernier nécessite un fichier de configuration d'entrée qui contient tous les paramètres utilisés pour configurer le docking, y compris le nom de la protéine et le ligand. Vina dispose d'un paramètre appelé 'exhaustiveness' qui contrôle la durée de sa recherche. Un autre paramètre est la plage d'énergie représentée la différence d'énergie entre le score le plus élevé et le plus bas, par défaut, il est fixé à 4. La configuration est la suivante :

```
receptor = DprE1.pdbqt
ligand = Ligand.pdbqt

center_x = 3.946
center_y = 24.735
center_z = 8.656

size_x = 18
size_y = 18
size_z = 18

energy_range = 4

exhaustiveness = 8
```

Figure 15: Le fichier de configuration

A partir du fichier « grid.txt », nous avons écrit les coordonnées center x, y et z, ainsi que les sizes x, y et z de la boîte de grille. Enregistrer ce fichier sous le nom de « conf.txt ».

Après avoir mis les fichiers suivants dans le même dossier :

- 6HEZ.pdbqt
- Ligand.pdbqt

- Config.txt
- Tous les fichiers d'installation d'Autodock Tools et Autodock Vina.

Nous ouvrons l'invite de commandes et entrons dans le dossier où tous les fichiers de docking sont des lieux. Et puis nous tapons la commande suivante :

```
"C : \ Program Files (x86) \ The Scripps Research Institute \ Vina \ vina.exe" --receptor  
6HEZ.pdbqt --ligand ligand. Pdbqt --config config.txt --log log.txt --out output. Pdbqt
```

NB : Le mot ligand dans la commande est modifié avec le nom exact de chaque ligand pour chaque exécution d'amarrage.

6 Visualisation des interactions

La visualisation 2D et 3D des résultats d'amarrage ont été réalisées à l'aide de PyMol.

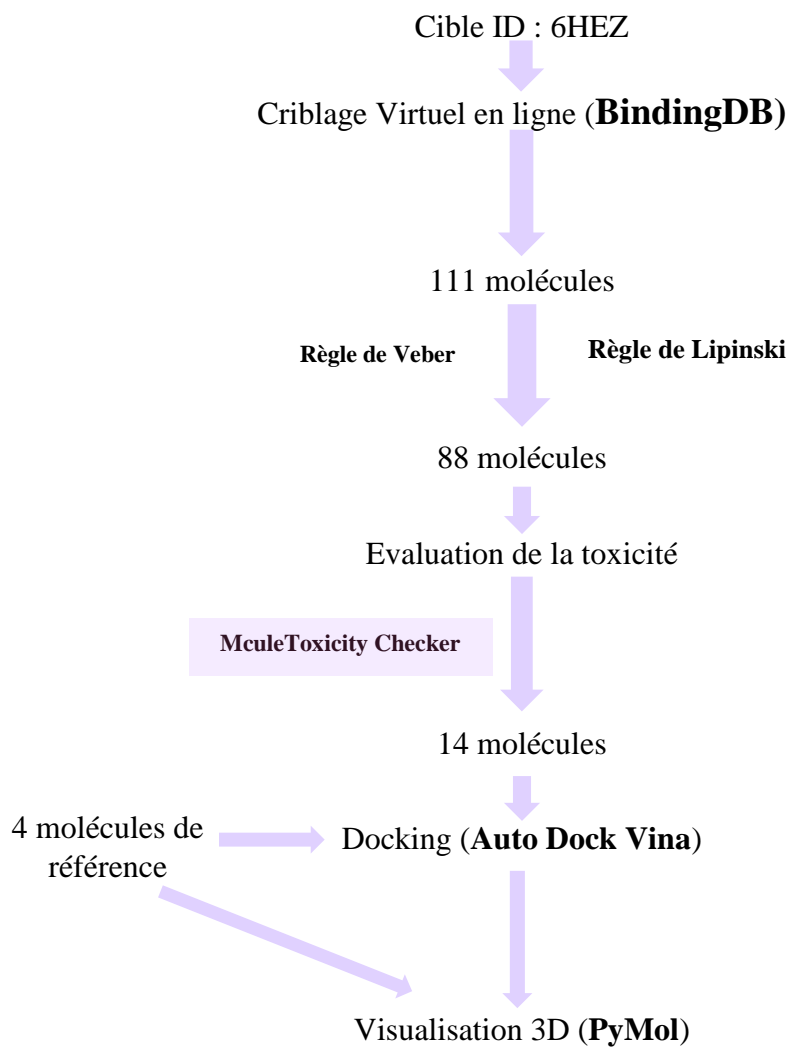


Figure 16 : Workflow pour rechercher des inhibiteurs pour la DprE1

V. Résultats et Discussion

La présente étude consiste cibler une vaste bibliothèque de petite molécules en utilisant le criblage virtuel basé sur la structure et le criblage virtuel basé sur le ligand pour identifier des nouveaux inhibiteurs potentiel de DprE1.

1 Base de données

La présente étude visait à cribler un ensemble de molécules chimique contre le *Mtb* en utilisant le criblage virtuel afin d'identifier des inhibiteurs potentiels de l'enzyme cible. En utilisant Auto Dock Vina, un ensemble de 14 molécules ayant une activité antituberuleuse, ils ont été criblés contre la décaprenylphosphoryl- β - D -ribose-2'-oxydase (DprE1), en plus de quatre candidats-médicaments ciblant l'enzyme DprE1 qui font actuellement l'objet d'essais cliniques en cours d'évaluation de leur innocuité et de leur efficacité. Il s'agit de BTZ043, macozinone (MCZ; PBTZ169), TBA-7371 et OPC-167832, en utilisant Auto Dock Vina.

Le nombre total de composés sélectionnés était de 18 (Tableau 4). Le logiciel Autodock Vina a été utilisé dans toutes les expériences de docking, PyMOL a été utilisé pour visualiser les interactions du ligand avec le site actif.

La toxicité de l'ensemble des composés a été évaluée à l'aide du vérificateur de toxicité Mcule.

2 Docking

2.1 Résultats du Criblage virtuel basé sur le ligand (SBVS)

Après l'amarrage moléculaire à l'aide de Auto Dock Vina nous avons constaté que les 14 molécules présentent une affinité élevée vis-à-vis la décaprenylphosphoryl- β - D -ribose-2'-oxydase (DprE1), variaient de -9,6 Kcal/mol à -5 Kcal/mol (Figure17).

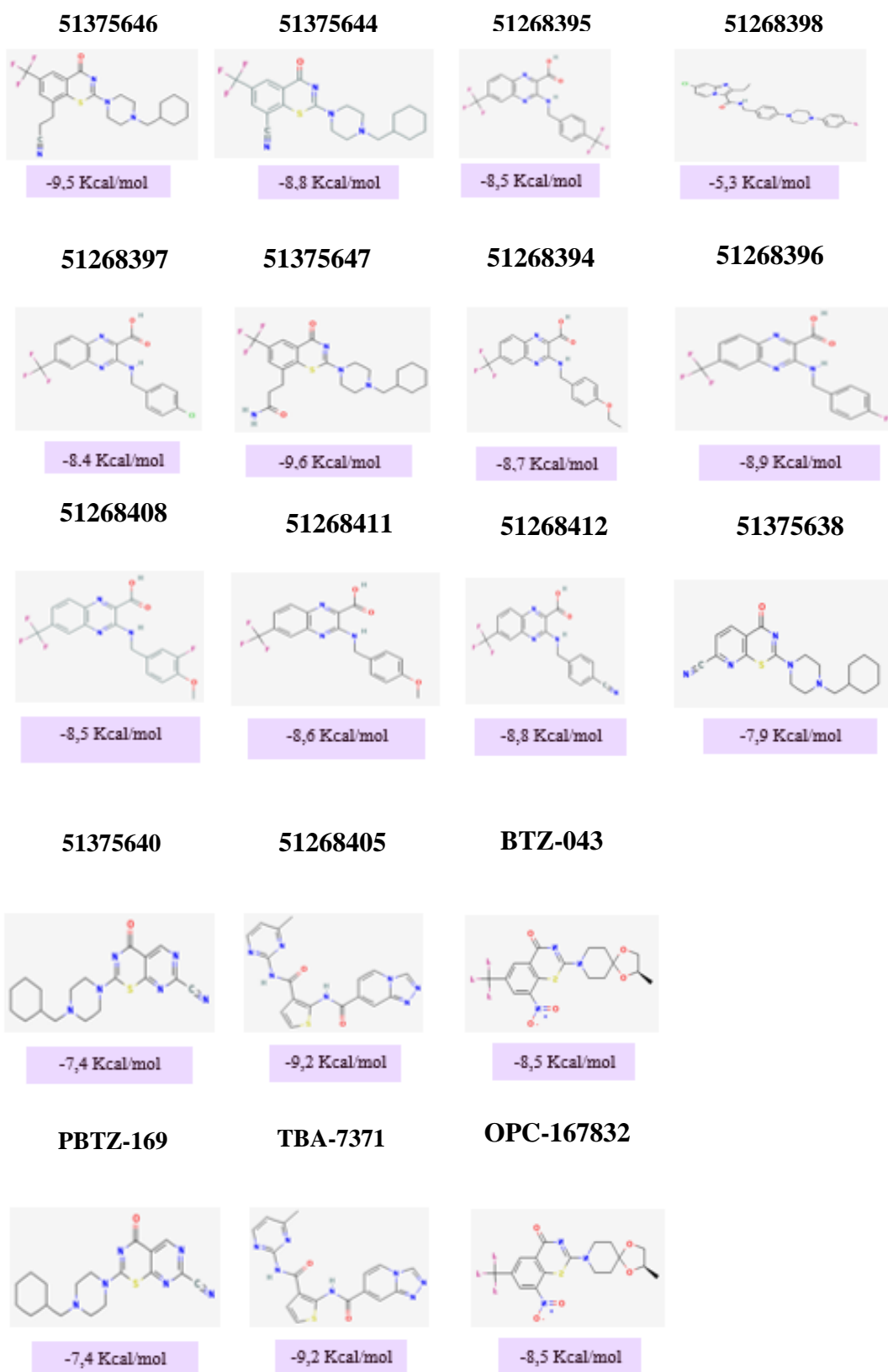
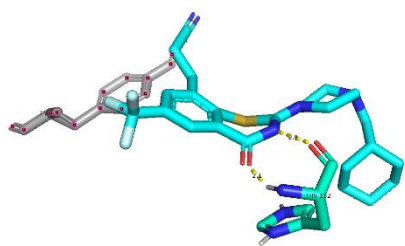


Figure 17 : Structures 2D des inhibiteurs potentiels et leurs affinités vis-à-vis la DprE1

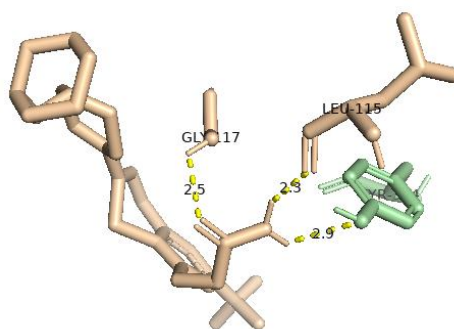
Tableau VI: Les interactions entre les différents inhibiteurs et la DprE1.

Molécules (IUPAC)	ID	Affinité en Kcal/mol	Pose	Nombre de liaison Hydrogène	H-Bonds/Distance (Å)
3-[2-[4-(cyclohexylmethyl)piperazin-1-yl]-4-oxo-6-(trifluorométhyl)-1,3-benzothiazin-8-yl]propanamide	51375647	-9,6	1	3	- 2.9 Å° TYR-314 - 2.5 Å° GLY-117 - 2.3 Å° LEU-115
3-[2-[4-(cyclohexylmethyl)piperazin-1-yl]-4-oxo-6-(trifluorométhyl)-1,3-benzothiazin-8-yl]propanenitrile	51375646	-9,5	1	3	- 3.4 Å° TYR-60 - 2.9-2.1 Å° HIS-132
N-[3-[(4-méthylpyrimidin-2-yl)carbamoyl]thiophen-2-yl]-[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyridine-7-carboxamide	51268405	-9,2	1	3	- 2.6 Å° HIS-132 - 2.3-2.3 Å° LYS-418
3-[(4-fluorophenyl)méthylamino]-6-(trifluorométhyl)quinoxaline-2-carboxylic acid	51268396	-8,9	1	3	- 2.4 Å° LYS-418 - 2.6-2.7 Å° HIS-132
3-[(4-cyanophenyl)méthylamino]-6-(trifluorométhyl)quinoxaline-2-carboxylic acid	51268412	-8,8	2	3	- 2.4-2.6 Å° HIS-132 - 2.5 Å° LYS-418
2-[4-(cyclohexylmethyl)piperazin-1-yl]-4-oxo-6-(trifluorométhyl)-1,3-benzothiazine-8-carbonitrile	51375644	-8,8	1	1	- 2.4 Å° HIS-132
3-[(4-éthoxyphényl)méthylamino]-6-(trifluorométhyl)quinoxaline-2-carboxylic acid	51268394	-8,7	1	3	- 2.6 Å° LYS-134 - 2.1 Å° HIS-132 - 2.8 Å° GLN-336
3-[(4-méthoxyphényl)méthylamino]-6-(trifluorométhyl)quinoxaline-2-carboxylic acid	51268411	-8,6	2	4	- 2.6 Å° LYS-134 - 2.0-2.6 Å° HIS-132 - 2.7 Å° GLN-336
6-(trifluorométhyl)-3-[[4-(trifluorométhyl)phényl]méthylamino]quinoxaline-2-carboxylic acid	51268395	-8,5	5	3	- 2.7 Å° GLN-336 - 2.0-2.6 Å° HIS-132
3-[(3-fluoro-4-méthoxyphényl)méthylamino]-6-(trifluorométhyl)quinoxaline-2-carboxylic acid	51268408	-8,5	2	3	- 2.6 Å° GLY-117 - 2.3 Å° TYR-60 - 2.6 Å° LYS-418
3-[(4-chlorophényl)méthylamino]-6-(trifluorométhyl)quinoxaline-2-carboxylic acid	51268397	-8,4	4	3	- 2.5 Å° GLY-117 - 2.9 Å° TYR-314 - 2.3 Å° LEU-115
7-chloro-2-éthyl-N-[[4-[4-(4-fluorophényl)piperazin-1-yl]phényl]méthyl]imidazo[1,2-a]pyridine-3-carboxamide	51268398	-5,3	1	1	- 1.9 Å° LYS-134
2-[4-(cyclohexylmethyl)piperazin-1-yl]-4-oxopyrido[3,2-e][1,3]thiazine-7-carbonitrile	51375638	-7,9	5	1	- 2.3 Å° HIS-132
2-[4-(cyclohexylmethyl)piperazin-1-yl]-4-oxopyrimido[5,4-e][1,3]thiazine-7-carbonitrile	51375640	-7,4	6	3	- 2.1 Å° HIS-132 - 3.1-3.5 Å° TYR-60
2-[(3S)-3-méthyl-1,4-dioxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-yl]-8-nitro-6-(trifluorométhyl)-1,3-benzothiazin-4-one	BTZ-043	-8,5	5	3	- 2.5 Å° HIS-132 - 2.1 Å° LYS-418 - 2.7 Å° TYR-60
2-[4-(cyclohexylmethyl)piperazin-1-yl]-8-nitro-6-(trifluorométhyl)-1,3-benzothiazin-4-one	PBTZ-169	-7,2	8	3	- 2.2 Å° HIS-132 - 2.3 Å° LYS-418 - 3.3 Å° TYR-60
N-(2-hydroxyéthyl)-1-[(6-méthoxy-5-méthylpyrimidin-4-yl)méthyl]-6-méthylpyrrolo[3,2-b]pyridine-3-carboxamide	TBA-7371	-7,7	1	3	- 2.0 Å° HIS-132 - 2.2 Å° LYS-415 - 2.1 Å° GLY-117
: 5-[[[(3R,4R)-1-(4-chloro-2,6-difluorophényl)-3,4-dihydroxypiperidin-4-yl]méthoxy]-8-fluoro-3,4-dihydro-1H-quinolin-2-one	OPC-167832	-9,0	8	5	- 2.4 Å° TYR-60 - 2.8 Å° LYS-418 - 2.3 Å° LYS-134 - 2.4 Å° HIS-315 - 2.4 Å° TYR-314

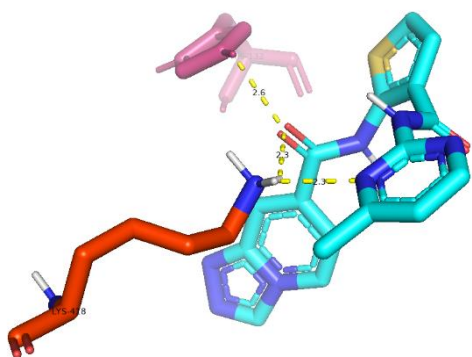
51375646



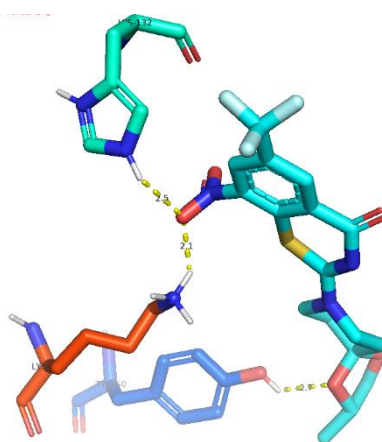
51375647



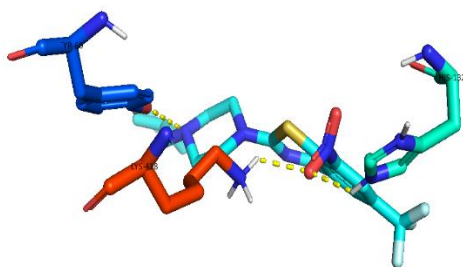
51268405



BTZ-043



TBA-7371



OPC-167832

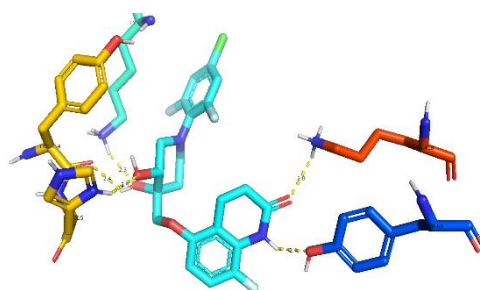


Figure 18: Visualisation des résultats

Discussion

L'infection à la TB représente un immense défi mondial pour les soins de santé. Par conséquent, il est fondamental de concevoir de nouveaux schémas thérapeutiques puissants et efficaces contre *M. tuberculosis*, qui doit lutter contre l'émergence de la tuberculose pharmacorésistante. L'emplacement périplasmique, la grande promiscuité et la caractérisation biochimique et génétique complète démontrent que DprE1 est une cible médicamenteuse innovante se prêtant à la thérapeutique des petites molécules. Avec quatre inhibiteurs de DprE1 déjà en cours d'essais cliniques, le champ est grand ouvert avec un potentiel important pour développer de nouveaux inhibiteurs de DprE1 avec une spécificité plus élevée et une pharmacocinétique améliorée. Alors que la découverte de la majorité des échafaudages ciblant DprE1 de *Mtb* a été facilitée par un criblage à haut débit, il serait avantageux d'intégrer la chimioinformatique et l'apprentissage automatique pour accélérer et guider la conception de médicaments. Nous prévoyons que les résultats rapportés ici aideront à l'optimisation de l'échafaudage et à la conception de médicaments basés sur la structure pour former de nouveaux agents antituberculeux.

Ce travail s'est concentré sur la recherche des inhibiteurs potentiels de la décaprenylphosphoryl- β -D-ribose-2'-oxydase (DprE1) en tant que nouvelle cible thérapeutique pour le traitement de la TB.

Tout d'abord, nous avons construit une base de données de 111 ligands. Ensuite un docking a été effectué pour identifier les molécules qui sont capables d'inhiber la DprE1. Une approche de criblage virtuel a été utilisée pour identifier de petites molécules ayant une forte affinité pour la DprE1. Pour cela, nous avons utilisé la base de données BindingDB contenant 111 molécules après nous avons obtenu 88 molécules qui respectent les règles de lipinski et celui de Veber. Après le test de la toxicité nous avons eu au final 14 molécules. Ensuite, nous avons effectué le docking à l'aide d'Autodock Vina pour confirmer et valider les résultats obtenus.

Il est intéressant de noter que l'**OPC16783217** qui est un inhibiteur non covalent de la DprE1 et qui est entré en phase II pour le traitement de la TB pulmonaire présente la meilleure affinité (de l'ordre de -9,0 Kcal/mol) pour la DprE1 par rapport aux autres inhibiteurs BTZ-043,10 PBTZ-169,19 TBA-737120. Dans ce sens, l'OPC16783217 sera l'inhibiteur de référence.

Les 3 molécules présentaient de bonne affinité pour DprE1, allant de -9,6 Kcal/mol à -9,2 Kcal/mol ont été sélectionnées :

Le ligand 1 (**51375647**: 3-[2-[4-(cyclohexylmethyl)piperazin-1-yl]-4-oxo-6-(trifluorométhyl)-1,3-benzothiazin-8-yl]propanamide) présentait le meilleur score d'amarrage (-9,6 Kcal / mol) avec la DprE1.

Le ligand 2 (**51375646** : 3-[2-[4-(cyclohexylmethyl)piperazin-1-yl]-4-oxo-6-(trifluorométhyl)-1,3-benzothiazin-8-yl]propanenitrile) et Le ligand 3 (**51268405** : N-[3-[(4-méthylpyrimidin-2-yl)carbamoyl]thiophen-2-yl]-[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyridine-7-carboxamide) ont montré des bons scores de docking -9,2 Kcal/mol et -9.0 Kcal/mol respectivement contre notre cible par rapport à l'OPC16783217 un inhibiteur qui fait actuellement l'objet d'essais cliniques

Il est fascinant de constater qu'on a trouvé des composés avec une affinité plus importante, alors que le nombre de liaisons hydrogène est réduit. Ceci peut être dû à la présence d'autres types de liaisons comme par exemple, liaisons hydrophobes et Van Der Waals.

A la lumière des données susmentionnées les trois composés **51375647**, **51375646** et **51268405** pourraient être proposés comme des nouveaux médicaments antituberculeux de la tuberculose en inhibant DprE1 l'enzyme clé dans la biosynthèse de la paroi cellulaire des mycobactéries, qui est la signature des mycobactéries.

Conclusion

La présente étude a été menée pour suggérer des inhibiteurs potentiels du la DprE1 en criblant une vaste bibliothèque de base de données de 111 molécules.

Le criblage virtuel nous a permis de récupérer à partir de la bibliothèque BindingDB 111 molécules susceptibles de se lier à la DprE1. Après avoir effectué l'amarrage moléculaire, les règles de Lipinski et de celui de Veber et l'évaluation de la toxicité, 14 molécules ont été identifiées. Trois parmi les 14 molécules pourraient être proposées pour la première fois comme inhibiteurs potentiels du DprE1.

La tuberculose résistante aux médicaments représente un défi important pour le contrôle et l'élimination de la TB dans de nombreuses régions du monde. Afin de contrôler efficacement l'épidémie de TB, le développement de nouvelles options de traitement pour la TB sensible et résistante aux médicaments est de la plus haute importance. Après presque quatre décennies de négligence, des avancées significatives dans le domaine de la découverte et du développement de médicaments sont en cours. En raison des mécanismes de financement et d'incitation du marché qui promeuvent et soutiennent le développement de médicaments antituberculeux, plusieurs nouveaux candidats antituberculeux prometteurs pour le traitement de la TB pharmacorésistante sont en cours de développement clinique.

L'identification de plusieurs cibles adjuvantes prometteuses, notamment DprE1, a ouvert la voie à l'identification d'autres candidats antituberculeux non létaux. Enfin, le HDT constitue également une stratégie attrayante pour le traitement de la TB résistante aux médicaments, car il pourrait favoriser une élimination plus rapide et plus efficace de *Mtb* lorsqu'il est associé à des médicaments antituberculeux de deuxième ligne moins efficaces et améliore le résultat clinique général. Bien que des progrès significatifs aient été réalisés, le défi de la lutte contre la tuberculose multirésistante et ultrarésistante doit encore être relevé efficacement.

Bibliographies

- Awasthi, D., & Freundlich, J. S. (2017). Antimycobacterial Metabolism : Illuminating Mycobacterium tuberculosis Biology and Drug Discovery. *Trends in Microbiology*, 25(9), 756-767.
<https://doi.org/10.1016/j.tim.2017.05.007>
- Baig, M. H., Ahmad, K., Rabbani, G., Danishuddin, M., & Choi, I. (2018). Computer Aided Drug Design and its Application to the Development of Potential Drugs for Neurodegenerative Disorders. *Current Neuropharmacology*, 16(6), 740-748. <https://doi.org/10.2174/1570159X15666171016163510>
- Bajad, N. G., Rayala, S., Gutti, G., Sharma, A., Singh, M., Kumar, A., & Singh, S. K. (2021). Systematic review on role of structure based drug design (SBDD) in the identification of anti-viral leads against SARS-Cov-2. *Current Research in Pharmacology and Drug Discovery*, 2, 100026.
<https://doi.org/10.1016/j.crphar.2021.100026>
- Bald, D., Vilellas, C., Lu, P., & Koul, A. (2017). Targeting Energy Metabolism in *Mycobacterium tuberculosis* , a New Paradigm in Antimycobacterial Drug Discovery. *MBio*, 8(2), e00272-17.
<https://doi.org/10.1128/mBio.00272-17>
- Becker, K., & Sander, P. (2016). *Mycobacterium tuberculosis* lipoproteins in virulence and immunity—Fighting with a double-edged sword. *FEBS Letters*, 590(21), 3800-3819.
<https://doi.org/10.1002/1873-3468.12273>
- Bouaddi, O., Hasan, M. M., Sahito, A. M., Shah, P. A., Mohammed, A. Z. A., & Essar, M. Y. (2021). Tuberculosis in the middle of COVID-19 in Morocco : Efforts, challenges and recommendations. *Tropical Medicine and Health*, 49(1), 98. <https://doi.org/10.1186/s41182-021-00388-y>
- Burley, S. K., Berman, H. M., Christie, C., Duarte, J. M., Feng, Z., Westbrook, J., Young, J., & Zardecki, C. (2018). RCSB Protein Data Bank : Sustaining a living digital data resource that enables breakthroughs in scientific research and biomedical education. *Protein Science*, 27(1), 316-330.
<https://doi.org/10.1002/pro.3331>
- Cheng, T., Pan, Y., Hao, M., Wang, Y., & Bryant, S. H. (2014). PubChem applications in drug discovery : A bibliometric analysis. *Drug Discovery Today*, 19(11), 1751-1756.
<https://doi.org/10.1016/j.drudis.2014.08.008>
- Darwin, K. H. (2015). Mycobacterium tuberculosis and Copper : A Newly Appreciated Defense against an Old Foe? *Journal of Biological Chemistry*, 290(31), 18962-18966.
<https://doi.org/10.1074/jbc.R115.640193>
- Dookie, N., Rambaran, S., Padayatchi, N., Mahomed, S., & Naidoo, K. (2018). Evolution of drug resistance in Mycobacterium tuberculosis : A review on the molecular determinants of resistance and implications for personalized care. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 73(5), 1138-1151.
<https://doi.org/10.1093/jac/dkx506>
- Druszczynska, M., Wawrocki, S., Szewczyk, R., & Rudnicka, W. (2017). Mycobacteria-derived biomarkers for tuberculosis diagnosis. *Indian Journal of Medical Research*, 146(6), 700.
https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_1441_16

- Ehrt, S., Schnappinger, D., & Rhee, K. Y. (2018). Metabolic principles of persistence and pathogenicity in *Mycobacterium tuberculosis*. *Nature Reviews Microbiology*, 16(8), 496-507.
<https://doi.org/10.1038/s41579-018-0013-4>
- Feltcher, M. E., Sullivan, J. T., & Braunstein, M. (2010). Protein export systems of *Mycobacterium tuberculosis* : Novel targets for drug development? *Future Microbiology*, 5(10), 1581-1597.
<https://doi.org/10.2217/fmb.10.112>
- Ferreira, L., dos Santos, R., Oliva, G., & Andricopulo, A. (2015). Molecular Docking and Structure-Based Drug Design Strategies. *Molecules*, 20(7), 13384-13421.
<https://doi.org/10.3390/molecules200713384>
- Gagneux, S., & Small, P. M. (2007). Global phylogeography of *Mycobacterium tuberculosis* and implications for tuberculosis product development. *The Lancet Infectious Diseases*, 7(5), 328-337.
[https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(07\)70108-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(07)70108-1)
- Gawad, J., & Bonde, C. (2018). Decaprenyl-phosphoryl-ribose 2'-epimerase (DprE1) : Challenging target for antitubercular drug discovery. *Chemistry Central Journal*, 12(1), 72.
<https://doi.org/10.1186/s13065-018-0441-2>
- Goodsell, D. S., Sanner, M. F., Olson, A. J., & Forli, S. (2021). The AUTODOCK suite at 30. *Protein Science*, 30(1), 31-43. <https://doi.org/10.1002/pro.3934>
- Gopaldaswamy, R., Shanmugam, S., Mondal, R., & Subbian, S. (2020). Of tuberculosis and non-tuberculous mycobacterial infections – a comparative analysis of epidemiology, diagnosis and treatment. *Journal of Biomedical Science*, 27(1), 74. <https://doi.org/10.1186/s12929-020-00667-6>
- Hameed, H. M. A., Islam, M. M., Chhotaray, C., Wang, C., Liu, Y., Tan, Y., Li, X., Tan, S., Delorme, V., Yew, W. W., Liu, J., & Zhang, T. (2018). Molecular Targets Related Drug Resistance Mechanisms in MDR-, XDR-, and TDR-*Mycobacterium tuberculosis* Strains. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 8, 114. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00114>
- Hevener, K. E. (2018). Computational Toxicology Methods in Chemical Library Design and High-Throughput Screening Hit Validation. In O. Nicolotti (Éd.), *Computational Toxicology* (Vol. 1800, p. 275-285). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7899-1_13
- Imran, Mohd., A.S., A., Thabet, H. Kh., Abida, & Afroz Bakht, Md. (2021). Synthetic molecules as DprE1 inhibitors : A patent review. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 31(8), 759-772.
<https://doi.org/10.1080/13543776.2021.1902990>
- Issaka Maman. (2019). *RISQUES D'INFECTION A MYCOBACTERIUM ULCERANS DANS LA REGION MARITIME AU SUD TOGO : FACTEURS ENVIRONNEMENTAUX, MOLECULAIRES ET PHYSIOPATHOLOGIQUES EN RELATION AVEC LA FREQUENCE DE L'ULCERE*.
<https://doi.org/10.13140/RG.2.2.35022.31046>
- Kanabalan, R. D., Lee, L. J., Lee, T. Y., Chong, P. P., Hassan, L., Ismail, R., & Chin, V. K. (2021). Human tuberculosis and *Mycobacterium tuberculosis* complex : A review on genetic diversity, pathogenesis and omics approaches in host biomarkers discovery. *Microbiological Research*, 246, 126674.
<https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126674>
- Koch, A., & Mizrahi, V. (2018). *Mycobacterium tuberculosis*. *Trends in Microbiology*, 26(6), 555-556.
<https://doi.org/10.1016/j.tim.2018.02.012>

- Leelananda, S. P., & Lindert, S. (2016). Computational methods in drug discovery. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 12, 2694-2718. <https://doi.org/10.3762/bjoc.12.267>
- Liao, C., & Nicklaus, M. C. (2010). Computer tools in the discovery of HIV-1 integrase inhibitors. *Future Medicinal Chemistry*, 2(7), 1123-1140. <https://doi.org/10.4155/fmc.10.193>
- Loddenkemper, R., Lipman, M., & Zumla, A. (2016). Clinical Aspects of Adult Tuberculosis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 6(1), a017848. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a017848>
- Martini, M., Barberis, I., & Icardi, G. (2020). The fight to end tuberculosis : A global challenge in strong partnership. *Journal of Preventive Medicine and Hygiene*, Vol. 61 No. 1s1, E1 Pages. <https://doi.org/10.15167/2421-4248/JPMH2020.61.1S1.1489>
- Mathema, B., Andrews, J. R., Cohen, T., Borgdorff, M. W., Behr, M., Glynn, J. R., Rustomjee, R., Silk, B. J., & Wood, R. (2017). Drivers of Tuberculosis Transmission. *The Journal of Infectious Diseases*, 216(suppl_6), S644-S653. <https://doi.org/10.1093/infdis/jix354>
- Maulén, N. P. (2011). Factores de virulencia de Mycobacterium tuberculosis. *Revista médica de Chile*, 139(12), 1605-1610. <https://doi.org/10.4067/S0034-98872011001200012>
- Mechal, Y., Benaissa, E., El mrimar, N., Benlahlou, Y., Bssaibis, F., Zegmout, A., Chadli, M., Malik, Y. S., Touil, N., Abid, A., Maleb, A., & Elouennass, M. (2019). Evaluation of GeneXpert MTB/RIF system performances in the diagnosis of extrapulmonary tuberculosis. *BMC Infectious Diseases*, 19(1), 1069. <https://doi.org/10.1186/s12879-019-4687-7>
- Mekonnen, D., Derbie, A., Mihret, A., Yimer, S. A., Tønjum, T., Gelaw, B., Nibret, E., Munshae, A., Waddell, S. J., & Aseffa, A. (2021). Lipid droplets and the transcriptome of Mycobacterium tuberculosis from direct sputa : A literature review. *Lipids in Health and Disease*, 20(1), 129. <https://doi.org/10.1186/s12944-021-01550-5>
- Mishra, A., & Surolia, A. (2018). *Mycobacterium tuberculosis* : Surviving and Indulging in an Unwelcoming Host: HISTORY OF TUBERCULOSIS IN MANKIND. *IUBMB Life*, 70(9), 917-925. <https://doi.org/10.1002/iub.1882>
- O'Boyle, N. M., Banck, M., James, C. A., Morley, C., Vandermeersch, T., & Hutchison, G. R. (2011). Open Babel : An open chemical toolbox. *Journal of Cheminformatics*, 3(1), 33. <https://doi.org/10.1186/1758-2946-3-33>
- Ostrik, A. A., Azhikina, T. L., & Salina, E. G. (2021). Small Noncoding RNAs and Their Role in the Pathogenesis of Mycobacterium tuberculosis Infection. *Biochemistry (Moscow)*, 86(S1), S109-S119. <https://doi.org/10.1134/S000629792114008X>
- Rankine-Wilson, L. I., Shapira, T., Sao Emani, C., & Av-Gay, Y. (2021). From infection niche to therapeutic target : The intracellular lifestyle of Mycobacterium tuberculosis. *Microbiology*, 167(4). <https://doi.org/10.1099/mic.0.001041>
- Sandeep, G., Nagasree, K. P., Hanisha, M., & Kumar, M. M. K. (2011). AUDocker LE : A GUI for virtual screening with AUTODOCK Vina. *BMC Research Notes*, 4(1), 445. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-4-445>
- Shakil, S., Rizvi, S. M. D., & Greig, N. H. (2021). High Throughput Virtual Screening and Molecular Dynamics Simulation for Identifying a Putative Inhibitor of Bacterial CTX-M-15. *Antibiotics*, 10(5), 474. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10050474>

- Shingadia, D. (2012). The Diagnosis of Tuberculosis. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 31(3), 302-305. <https://doi.org/10.1097/INF.0b013e318249f26d>
- Sia, J. K., & Rengarajan, J. (2019). Immunology of *Mycobacterium tuberculosis* Infections. *Microbiology Spectrum*, 7(4), 7.4.6. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0022-2018>
- Smith, I. (2003). *Mycobacterium tuberculosis* Pathogenesis and Molecular Determinants of Virulence. *Clinical Microbiology Reviews*, 16(3), 463-496. <https://doi.org/10.1128/CMR.16.3.463-496.2003>
- Sougakoff, W. (2011). Molecular epidemiology of multidrug-resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis*. *Clinical Microbiology and Infection*, 17(6), 800-805. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03577.x>
- The FEBS Journal—2020—Arora—Role of post-translational modifications in the acquisition of drug resistance in.pdf.* (s. d.).
- Torfs, E., Piller, T., Cos, P., & Cappoen, D. (2019a). Opportunities for Overcoming *Mycobacterium tuberculosis* Drug Resistance : Emerging Mycobacterial Targets and Host-Directed Therapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(12), 2868. <https://doi.org/10.3390/ijms20122868>
- Torfs, E., Piller, T., Cos, P., & Cappoen, D. (2019b). Opportunities for Overcoming *Mycobacterium tuberculosis* Drug Resistance : Emerging Mycobacterial Targets and Host-Directed Therapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(12), 2868. <https://doi.org/10.3390/ijms20122868>
- Traffic—2003—Vergne—Mycobacterium tuberculosis Phagosome Maturation Arrest Selective Targeting of PI3P-Dependent.pdf.* (s. d.).
- Uren, C., Hoal, E. G., & Möller, M. (2021). *Mycobacterium tuberculosis* complex and human coadaptation : A two-way street complicating host susceptibility to TB. *Human Molecular Genetics*, 30(R1), R146-R153. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddaa254>
- Wang, P., Batt, S. M., Wang, B., Fu, L., Qin, R., Lu, Y., Li, G., Besra, G. S., & Huang, H. (2021). Discovery of Novel Thiophene-arylamide Derivatives as DprE1 Inhibitors with Potent Antimycobacterial Activities. *Journal of Medicinal Chemistry*, 64(9), 6241-6261. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.1c00263>
- Whitehurst, B. C., Young, R. J., Burley, G. A., Cacho, M., Torres, P., & Vela-Gonzalez del Peral, L. (2020). Identification of 2-((2,3-dihydrobenzo[b][1,4]dioxin-6-yl)amino)-N-phenylpropanamides as a novel class of potent DprE1 inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 30(12), 127192. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2020.127192>
- Yu, W., & MacKerell, A. D. (2017). Computer-Aided Drug Design Methods. In P. Sass (Éd.), *Antibiotics* (Vol. 1520, p. 85-106). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6634-9_5
- Yuan, S., Chan, H. C. S., Filipek, S., & Vogel, H. (2016). PyMOL and Inkscape Bridge the Data and the Data Visualization. *Structure*, 24(12), 2041-2042. <https://doi.org/10.1016/j.str.2016.11.012>