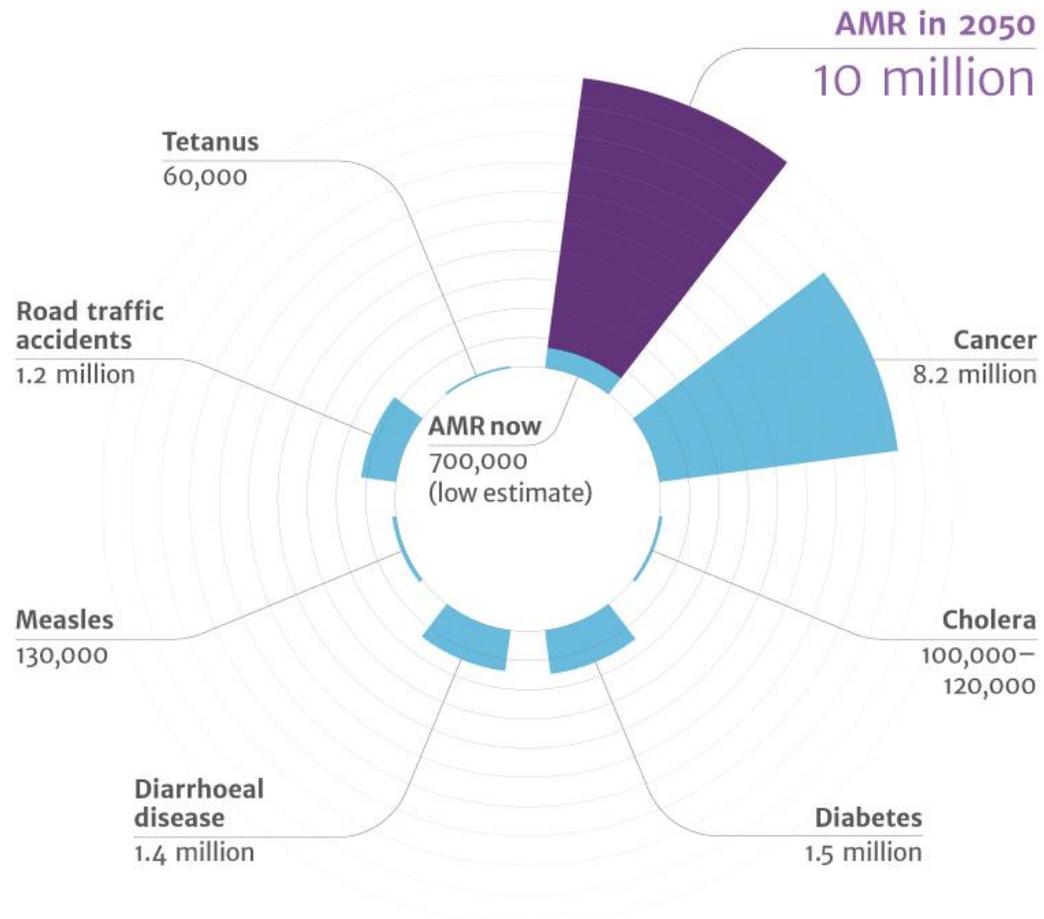


Alternatives aux antibiotiques

Introduction

Pourquoi des alternatives aux antibiotiques ?



By 2050, the death toll could be a staggering **one person every three seconds** if AMR is not tackled now.

Introduction

Pourquoi des alternatives aux antibiotiques ?

- De plus en plus de bactéries développent des résistances aux antibiotiques (2050 : la résistance aux antibiotiques ferait plus de mort que le cancer)
- Des bactéries peuvent devenir tolérantes aux antibiotiques et échapper au système immunitaire grâce à des phénotypes particuliers (persisters, internalisation, biofilm)
- Échecs thérapeutiques

Introduction

Persister :

- Bactérie au phénotype particulier (en dormance)
- SCV (Small Colony Variant) ou non

- Affecte la « résistance » aux antibiotiques et la virulence
- Présents en faible proportion dans n'importe quelle population bactérienne, peut être sélectionnée



Introduction

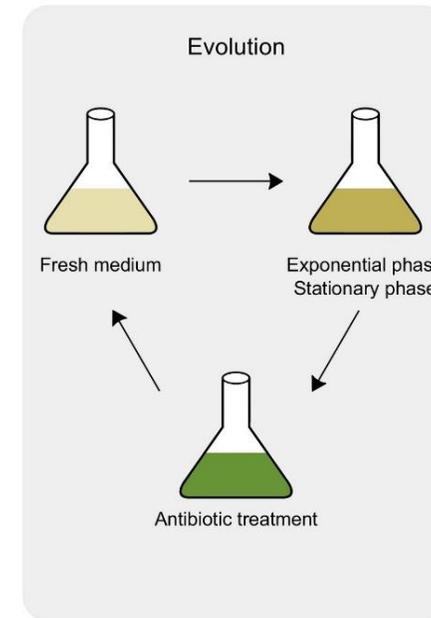
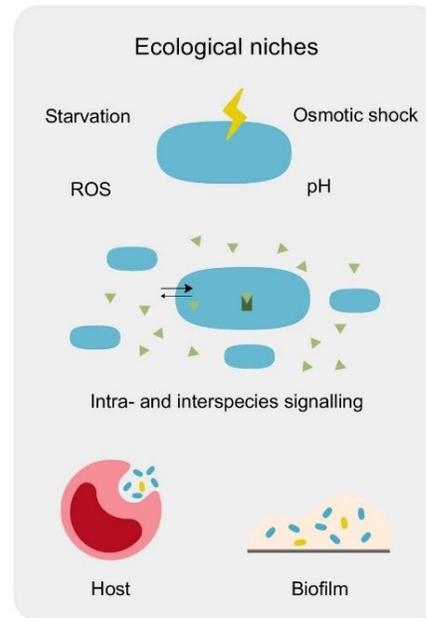
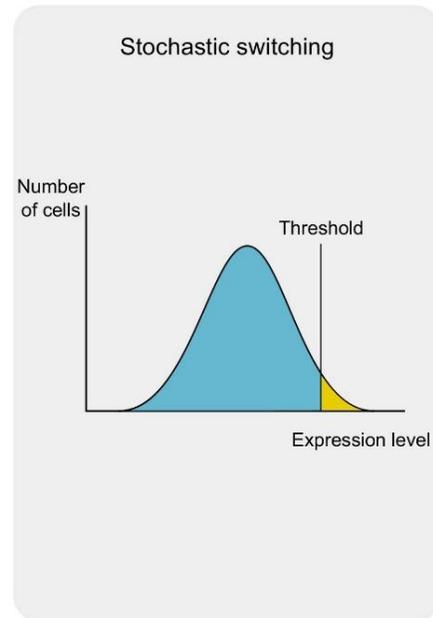
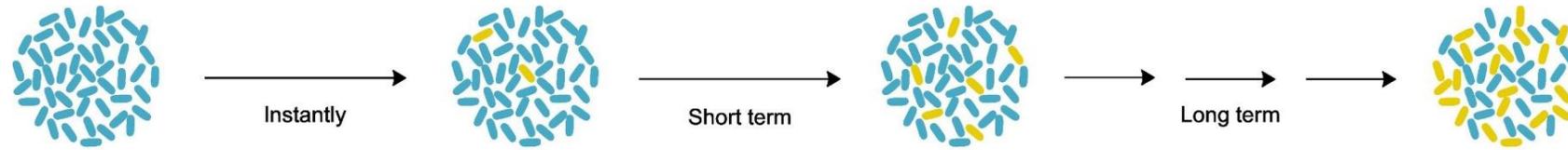


Persister :

- Favorisé par des « stress » : traitement antibiotique, oxygène, pH, stress oxydatif, système immunitaire
- Peut engendrer une présence sur le long terme (chronique)
- Capacité de « reverter » : retourner à un phénotype sauvage « wild-type » pleinement virulent (**rechute d'infection**)
- Enrichissement dans les biofilms et lors de l'internalisation

Introduction

Persister :



● Sensitive cell
● Persister cell

[Verstraete et al., Trends in Microbiology, 2022]

Introduction

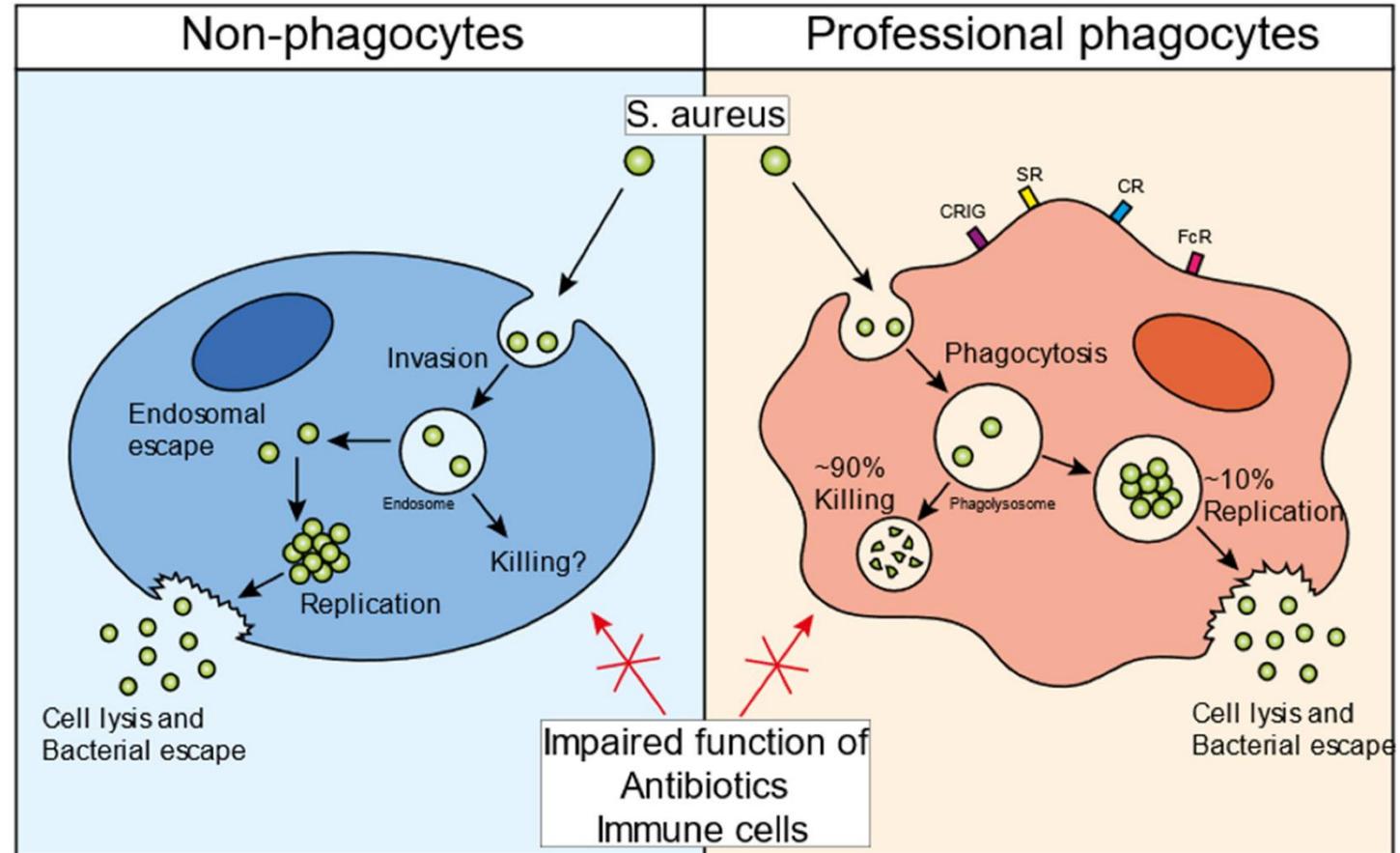
Internalisation :

- Les bactéries peuvent internaliser dans des cellules phagocytaires (macrophages) ou non (cellules épithéliales, endothéliales, fibroblastes, cellules osseuses...)
- Même s'il existe des antibiotiques à pénétration intracellulaire, l'internalisation protège de la plupart des autres antibiotiques (et du système immunitaire !)



Introduction

Internalisation :



[Hommes et al., Biomedicines, 2022]

Introduction

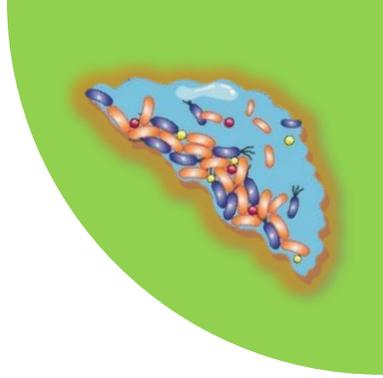
Biofilm :

- Bien défini *in vitro*
- Notion de cycle de vie :

A) Adhérence

B) **Maturation** (production de matrice : ADNe, protéines, polysaccharide, stabilisant la matrice et le biofilm)

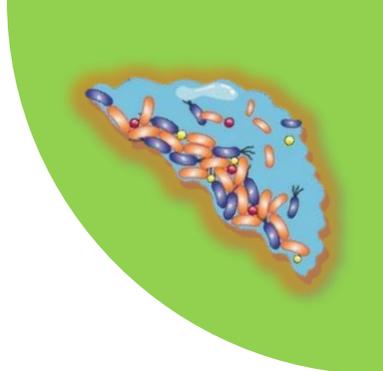
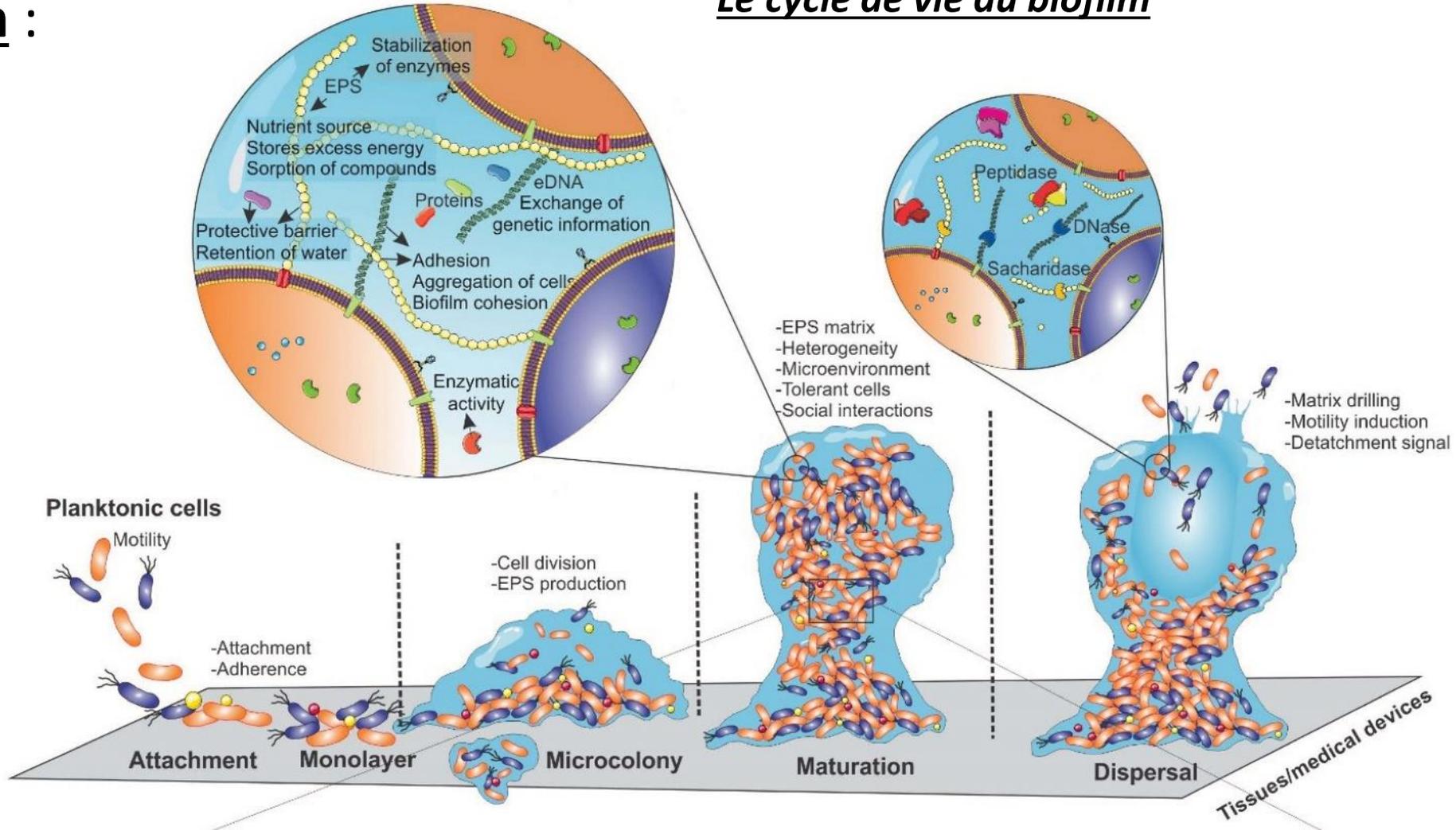
C) **Dispersion** (mécanique ex : *shear stress*, ou chimique par digestion d'un ou de plusieurs composants de la matrice (PSM, nucléase, protéase...))



Introduction

Biofilm :

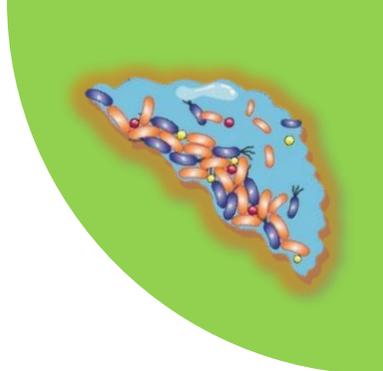
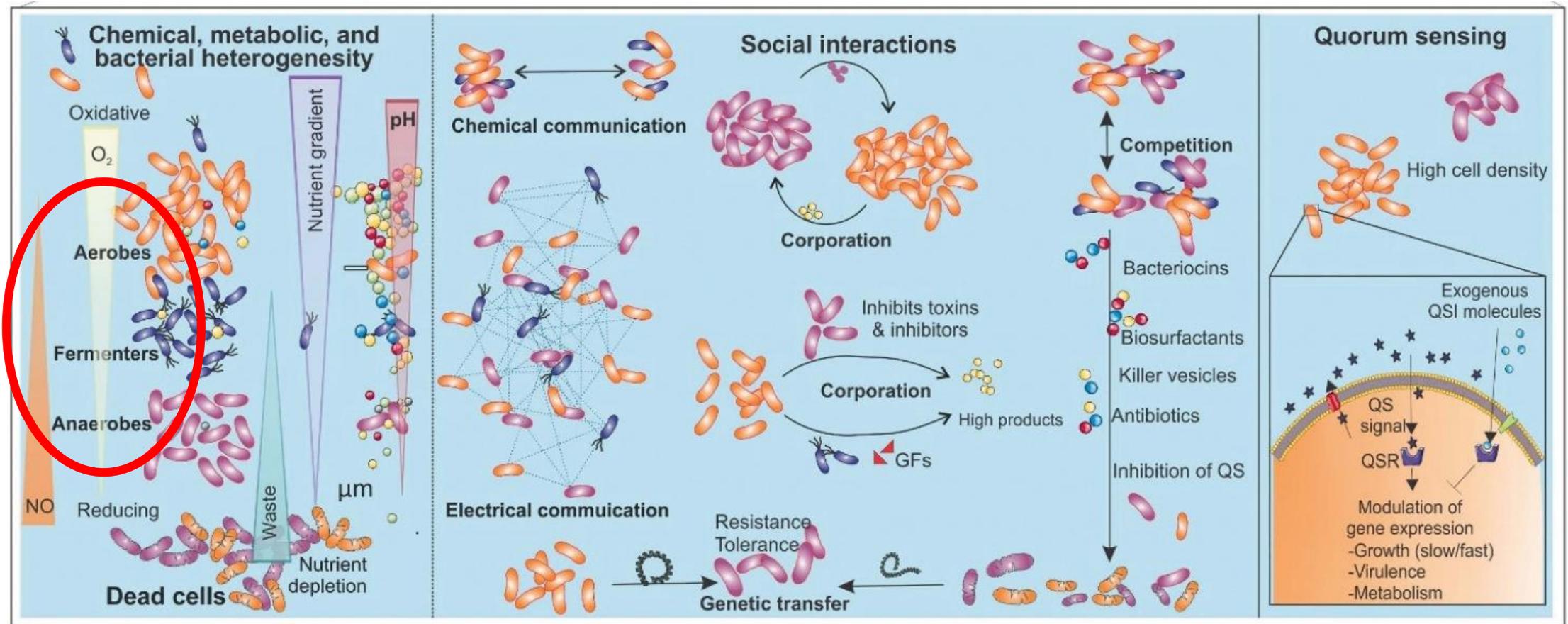
Le cycle de vie du biofilm



Introduction

Biofilm :

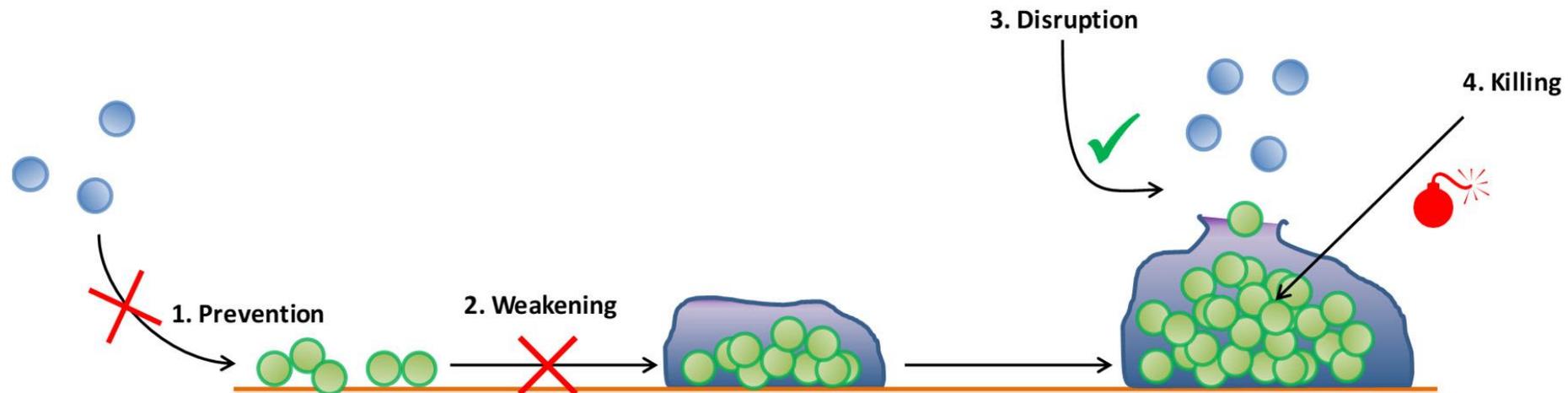
La matrice (ou mucus !) des biofilms



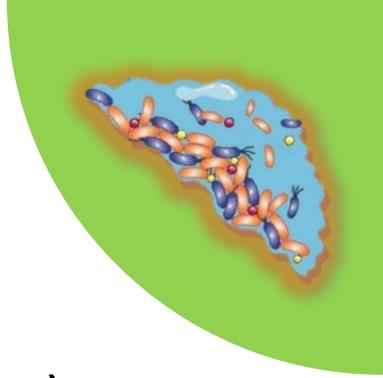
Introduction

Biofilm : les niveaux de lutte

- **Prévention** : empêcher l'adhérence des bactéries
- **Affaiblissement** : empêcher la formation (maturation) du biofilm
- **Perturbation** : provoquer la dispersion du biofilm
- **Destruction** : éradiquer les bactéries/détruire le biofilm

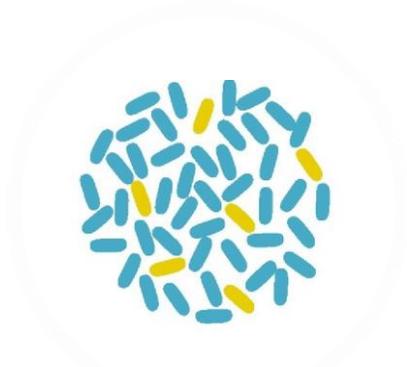


Introduction



Biofilm :

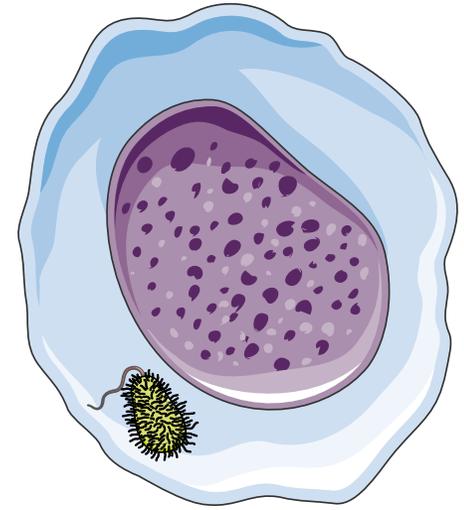
- Notion de **tolérance** aux antibiotiques (matrice, réduction du métabolisme)
- Mais favorisent également la **résistance** aux antibiotiques (ex : proximité des bactéries favorisant les échanges de plasmide par conjugaison)
- Fortement impliqué en cas de matériel étranger (ex : cathéter, prothèse orthopédique, pacemaker...)
- La sensibilité aux antibiotiques des bactéries sous forme de biofilm peut être diminuée de 1000 fois
- Le maître-mot de biofilm est « **hétérogénéité** » (spatial, temporel ; métabolique, matrice, répartition des tâches...)



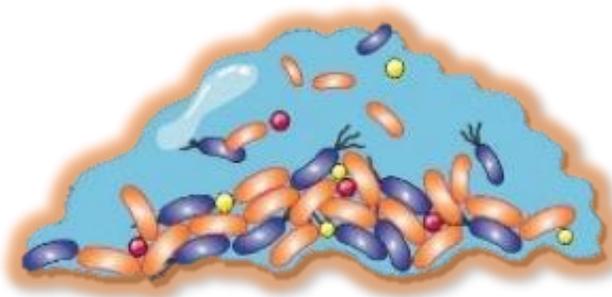
Persister



**RÉSISTANCE &
TOLÉRANCE AUX
ANTIBIOTIQUES**



Internalisation



Biofilm

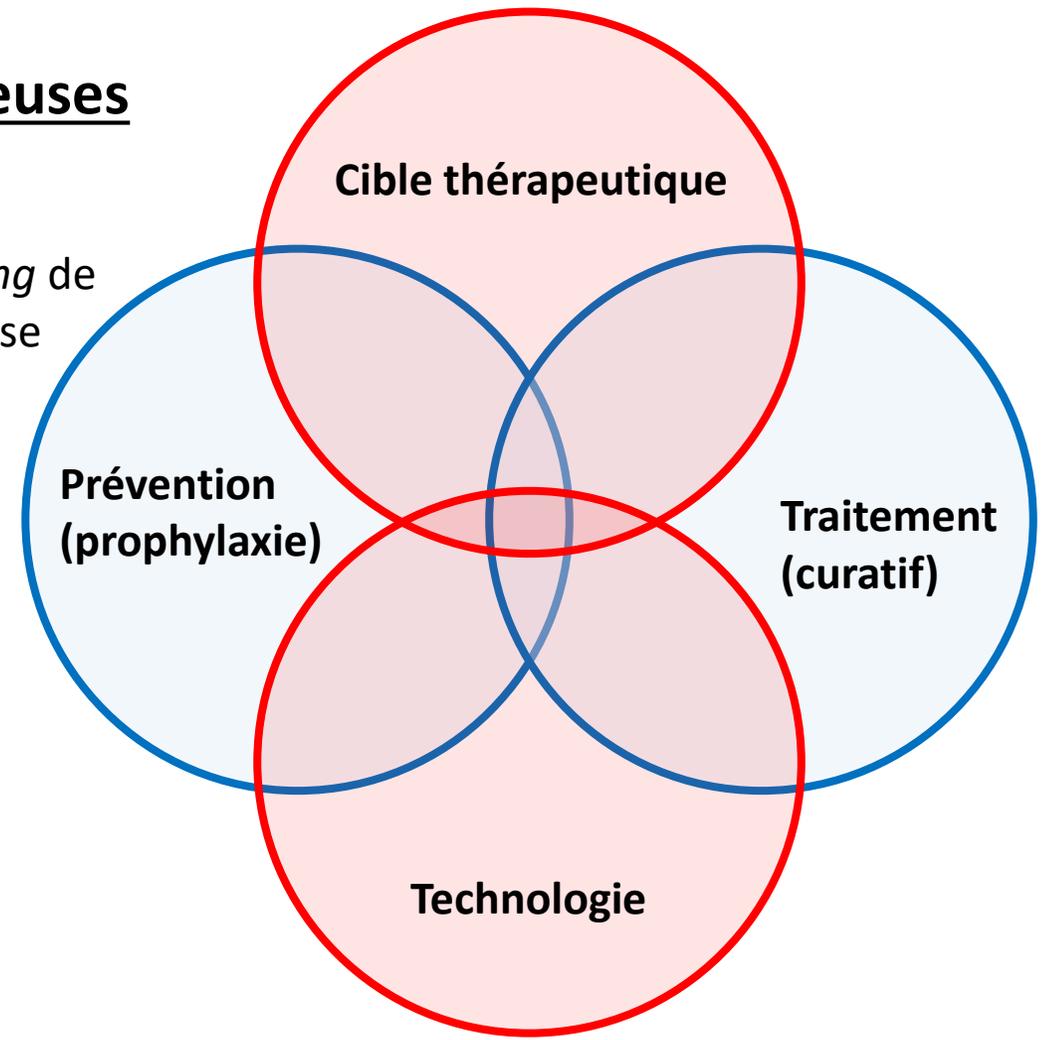
Introduction

Présentation de différentes techniques prometteuses

Intrication de :

- Technologie / cible thérapeutique
- Prévention (prophylaxie) / traitement (curatif)
- Diagnostic qui ne sera pas abordé dans le cadre de ces cours

Ex : *coating* de prothèse



Ex : *persister*

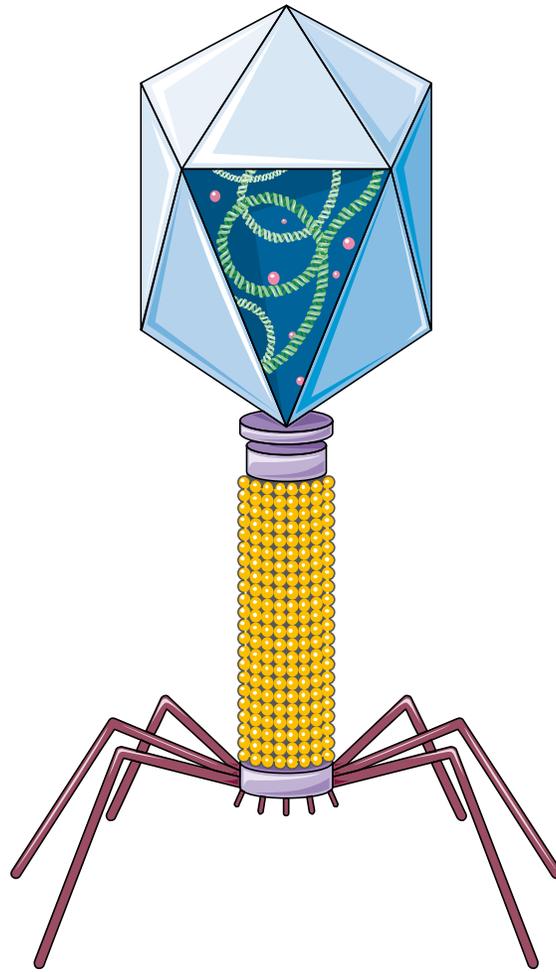
Ex : bactériophage/peptide antimicrobien

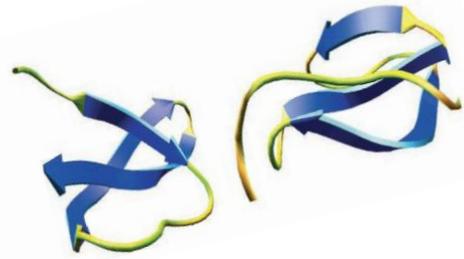
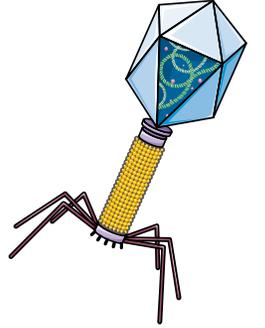
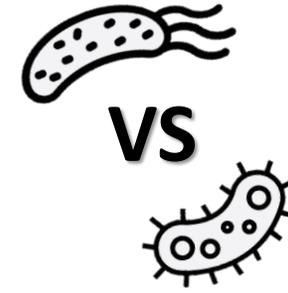
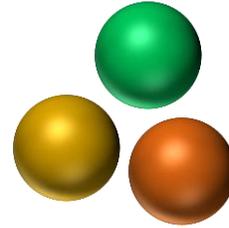
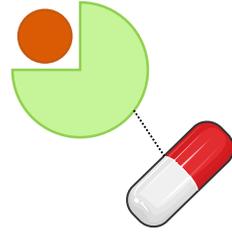
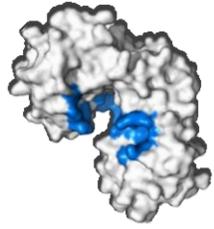
Introduction

Cas concret :

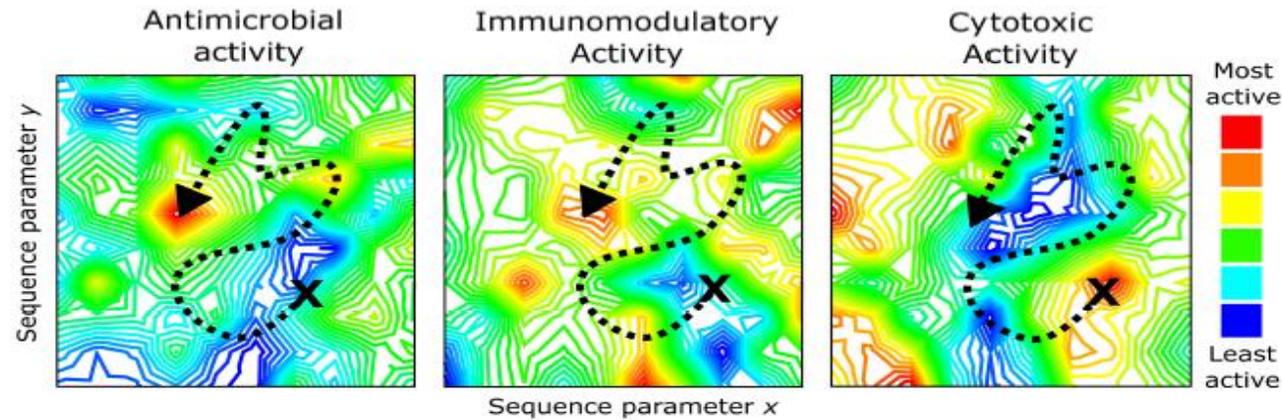
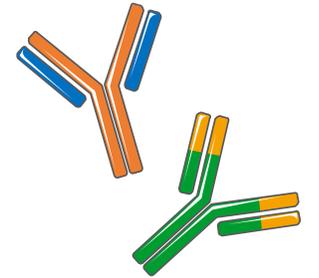
- Infection à biofilm sur prothèse totale articulaire, bactérie multi-résistante impliquée
- Traitement « gold-standard » : antibiothérapie et chirurgie secondaire (changement de prothèse...)
 - Problème de la résistance (ou à défaut d'apparition de résistance)
 - Faire « subir » une deuxième chirurgie
 - Tissus infectés

→ Quelle alternative ?

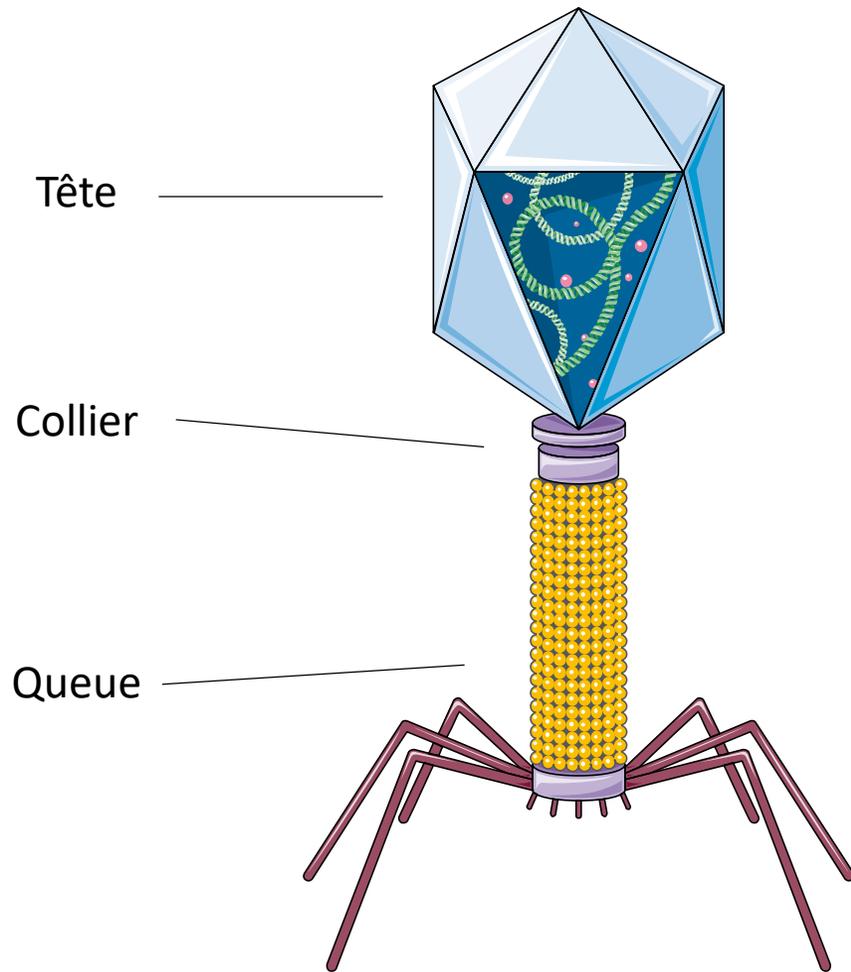




Alternatives aux antibiotiques



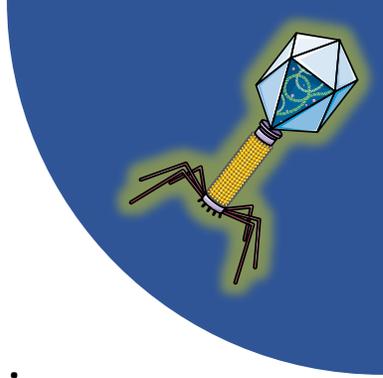
[Haney et al., *Front. Chem.*, 2019]



“Phages are now acknowledged as the most abundant microorganisms on the planet and are also possibly the most diversified.”

[Labrie et al., Nat Rev Microbiol, 2010]

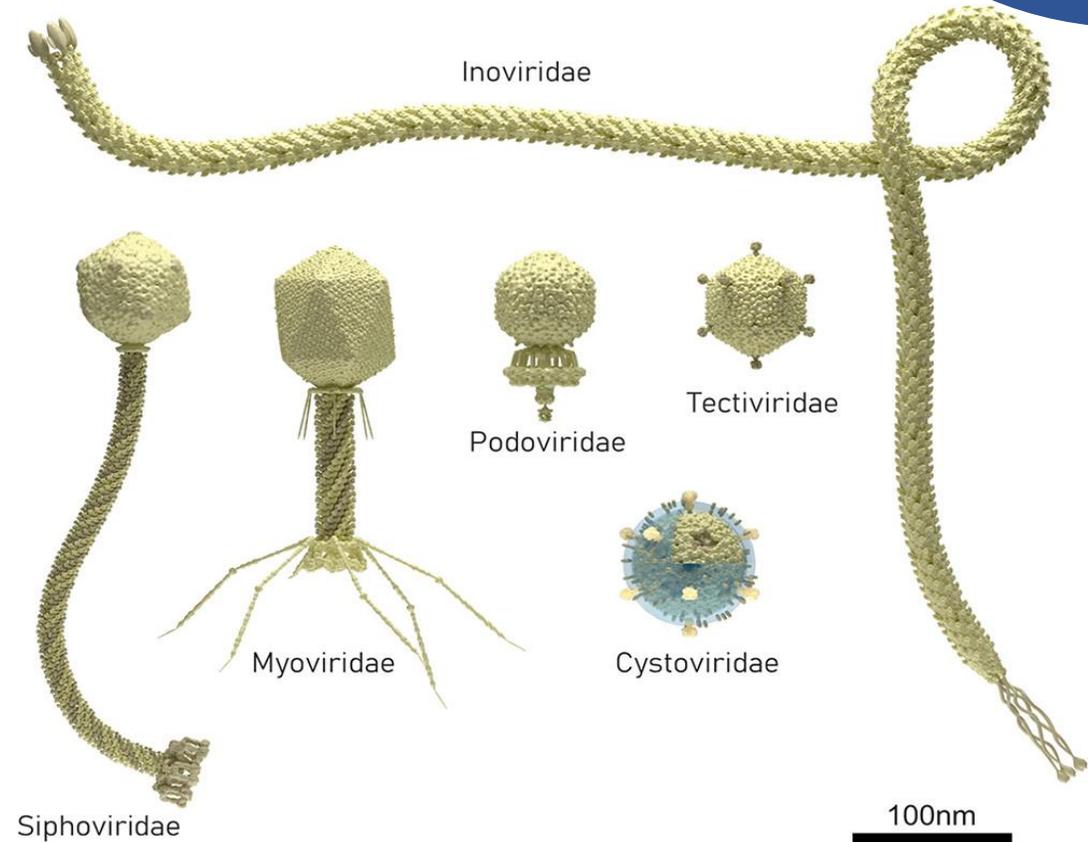
Les phages (ou bactériophages)



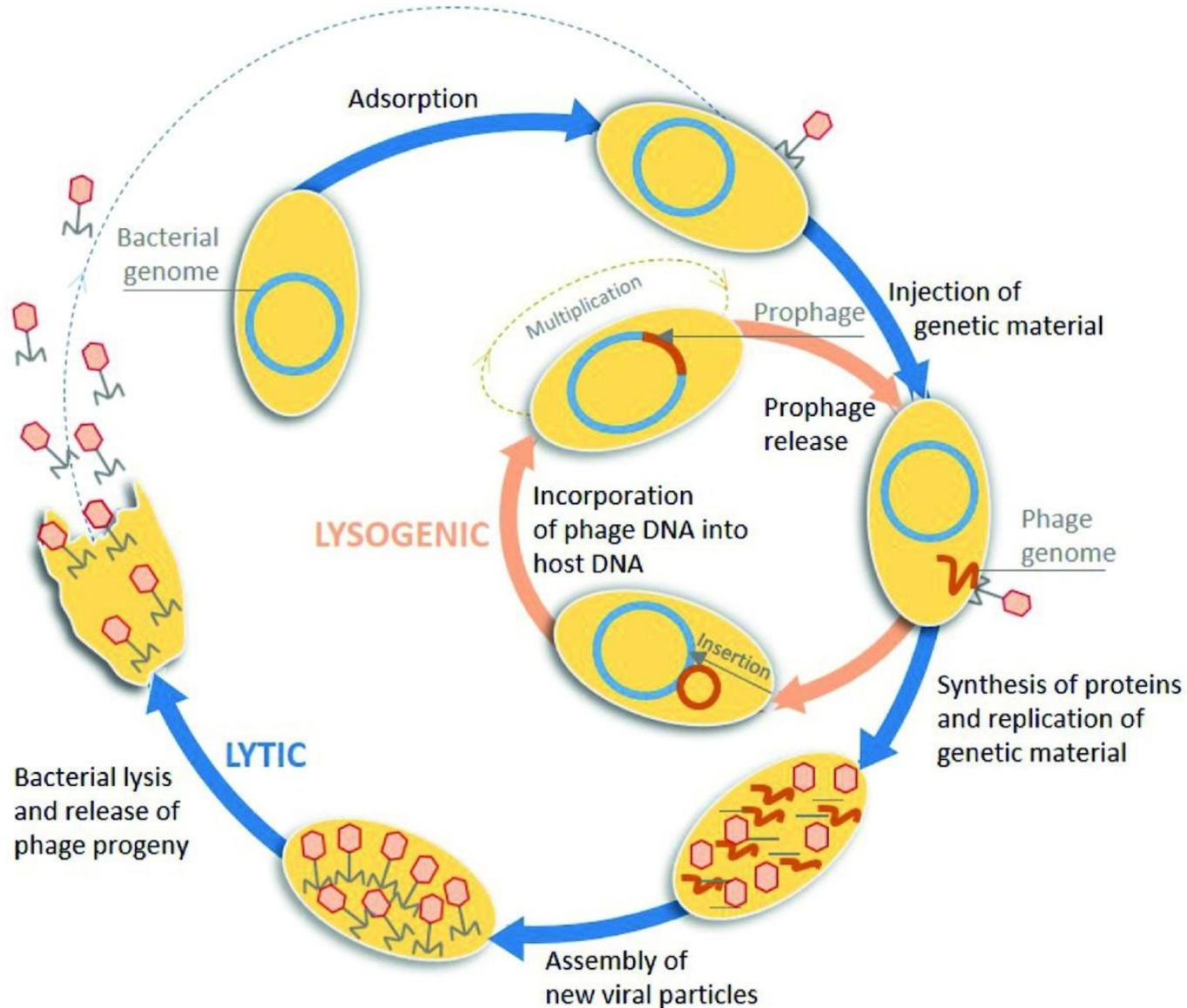
- Co-découverts par Frederick Twort à Londres en 1915 et Félix d'Hérelle à Paris en 1917
- Utilisation en médecine humaine pour traiter la dysenterie par Félix d'Hérelle pour les soldats français
- Propagation de l'utilisation des bactériophages dans l'Est par l'union soviétique alors que les phages se font devancer à l'Ouest par la découverte des antibiotiques en 1928 (pénicilline) par Alexander Fleming (plus tard car l'extraction et la purification de l'antibiotique n'a vu le jour que plusieurs années après)
 - Les bactériophages tombent dans l'oubli devant la facilité de production et l'efficacité des antibiotiques

Les phages (ou bactériophages)

- Mode d'action :
 - Adhèrent aux bactéries
 - Injectent leur matériel génétique
 - Détournent le métabolisme bactérien vers la production de nouveaux phages et de protéines qui provoquent la lyse des bactéries et la destruction de la matrice
- Mode d'action bis :
 - Réduit la conjugaison bactérienne = empêche le transfert de gène de résistance entre bactérie



Les phages (ou bactériophages)



[Pinto et al., *FEMS Microbiol Rev.*, 2021]

Les phages (ou bactériophages)



- Avantages :
 - Hautement spécifique (contrairement aux antibiotiques) d'une bactérie (Genre > espèce > souche ?), et n'affecte pas les cellules humaines
 - Bonne diffusion dans les biofilms
 - Indépendant du métabolisme (bactéries actives et *persisters*)
 - Indépendant des conditions de l'environnement infectieux (actifs même à basse température, même en absence de nutriments)
 - Disparaissent naturellement quand leur cible n'est pas présente

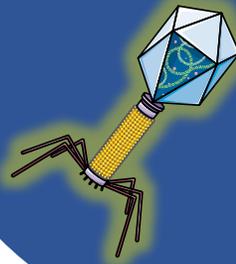
Les phages (ou bactériophages)



- Désavantages :

- Hautement spécifique
- Pourrait stimuler de manière délétère le système immunitaire ? (si polymicrobien : plusieurs phages nécessaires ?)
- Moins efficaces contre les bactéries internalisées ?
- Nécessite d'être en mesure de cultiver la bactérie impliquée, trouver son « partenaire » phage
- Optimiser les méthodes d'inoculation, le temps de traitement, la dose en phage...
- **Développement de résistance ?**

Les phages (ou bactériophages)



Résistance aux antibiotiques : Lyon lance un programme dédié aux phages

Anne-Gaëlle Moulun

AUTEURS ET DÉCLARATIONS | 28 mars 2022

2



15

Lyon, France — En fin d'année dernière, les Hospices civils de Lyon (HCL) ont obtenu un financement de 2,85 millions d'euros pour le projet **PHAG-ONE** dédié à la phagothérapie, dans le cadre de l'appel à projets « Antibiorésistance : comprendre, innover, agir » piloté par l'**Agence Nationale de Recherche (ANR)**. Le **Pr Frédéric Laurent**, microbiologiste et chef de service de bactériologie au sein de l'Institut des Agents Infectieux à Lyon, explique à *Medscape* le projet et plus globalement le programme **PHAGEinLYON** porté par les HCL, le Centre International de Recherche en Infectiologie INSERM U1111 et l'Université Claude Bernard Lyon 1.

Usage compassionnel uniquement

« Actuellement, les phages n'apparaissent pas à la pharmacopée française ou européenne et ne sont pas autorisés par l'Agence Nationale de Sécurité du Médicaments (ANSM) en France. Le seul usage possible de ces traitements est dans un cadre compassionnel, strictement encadré par l'ANSM et sous sa supervision », précise le Pr Laurent. Pour l'instant, seuls 36 patients ont pu bénéficier de la phagothérapie à Lyon, pour des infections ostéo-articulaires ou des endocardites. « Ce sont des patients en fin de ligne de traitement, pour lesquels les traitements classiques ont conduit à un échec thérapeutique. Un certain nombre d'entre eux ont pu rentrer chez eux après la phagothérapie, alors qu'ils ne marchaient plus, présentaient des douleurs chroniques et pour certains étaient sous morphine ».

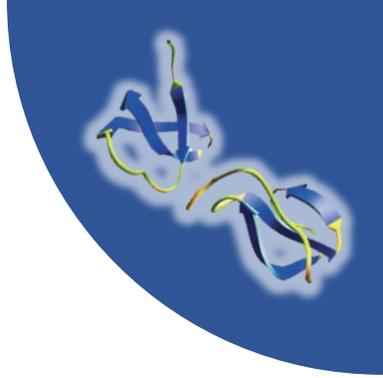
Les phages (ou bactériophages)



Exemple :

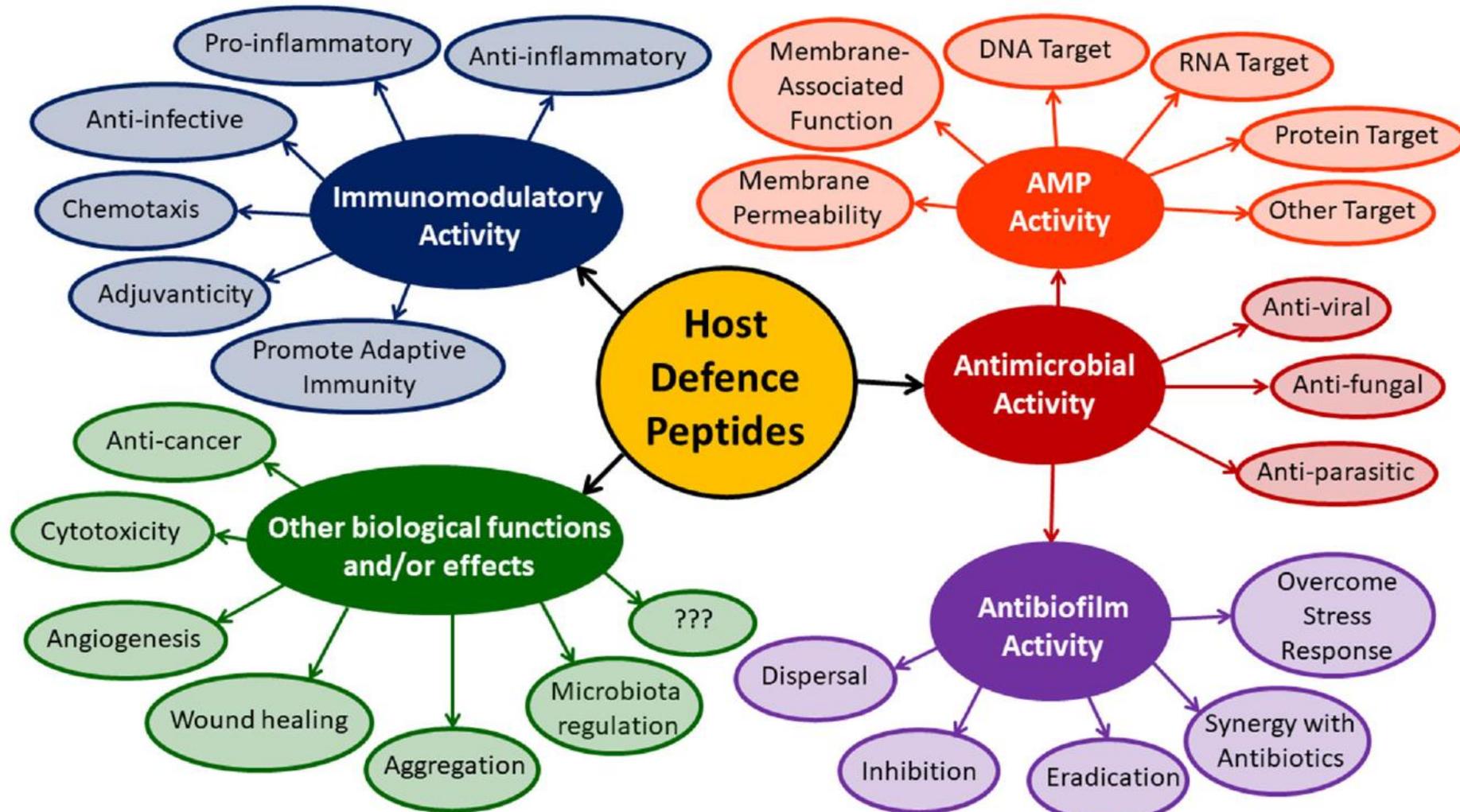
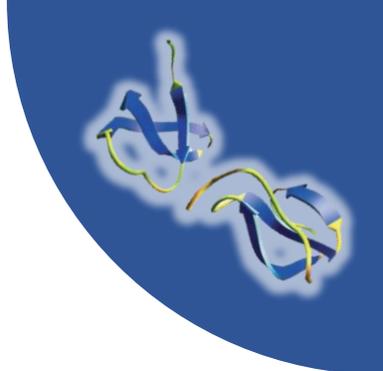
- Inhalation pour traiter des infections du poumon
- La structure des phages peut également être détournée pour servir de vecteur/guide contenant des molécules antimicrobiennes
- Possibilité également d'utiliser leur arsenal de virulence (endolysine)

Les peptides antimicrobiens (ou peptides de défense de l'hôte)



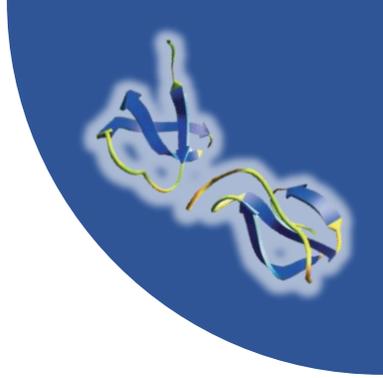
- *Antimicrobial peptides/Host defense peptides*
- Molécules naturelles (humains, insectes, bactéries...) ou synthétiques
- Globalement, agissent en déstabilisant l'enveloppe bactérienne mais aussi en intracellulaire (perméable)
- Chez l'humain :
 - Défensines (alpha, bêta...)
 - Cathélicidine (LL37)
 - Histatine (salive)

Les peptides antimicrobiens (ou peptides de défense de l'hôte)



[Haney et al., *Front. Chem.*, 2019]

Les peptides antimicrobiens (ou peptides de défense de l'hôte)



- **Avantages par rapport aux antibiotiques** :
 - ciblent des mécanismes moins spécifiques, donc moins d'apparition de phénomène de résistance (moins de pression de sélection)
 - Action contre les bactéries planctoniques et en état de biofilm
 - Action immuno-modulatoire
- **Désavantages** :
 - Attention en recherche les milieux utilisés peuvent changer l'efficacité de ces peptides (sensibles aux cations tels que le Ca^{2+} et Mg^{2+} , la concentration en sel (PBS !))

Les peptides antimicrobiens (ou peptides de défense de l'hôte)

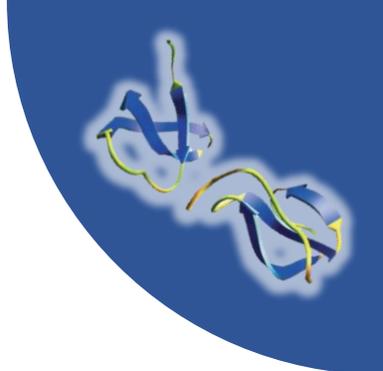
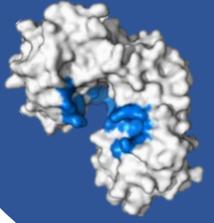


Table 1. Comparison of Conventional Antibiotics with Antimicrobial Peptides

Property	Conventional Antibiotics	Antimicrobial Peptides
Mode of action	Specific mechanisms, usually act on one capital targets or class of targets (<i>e.g.</i> enzyme, ribosome), and to interact physiological functions of bacterium.	No specific mechanism, usually based on its structure and charge, which in turn facilitates membrane interactions, membrane destabilization and finally, bacterial killing.
Spectrum of activity	Often selective, act on one or two microorganism.	Bacteria, fungi, and some parasites and viruses.
Addition activity	No	Play a central role in recruiting and promoting elements of the innate immune system.
Resistance issue	Often emerge multi-drug resistance, which is caused by mechanisms such as variation, chemical modification or degradation of antibiotic.	Resistance generally cannot be happened directly, it caused by mechanisms such as an impermeable outer membrane or specific proteases (can be overcome by incorporating D-amino acids or backbone alterations [1]).
Toxicity	Tend to be safe to normal cells.	Some potential toxicity issues remain unknown.

[Meng, *Curr Protein Pept Sci.*, 2010]

Thérapies avec des enzymes



- Mode d'action :
 - Qui visent à favoriser la dispersion du biofilm = ciblent des composants de la matrice
 - Facilite l'action du système immunitaire et des antibiotiques (ou de leurs alternatives)
- Exemple :
 - **Dispersin B** : cible l'exopolysaccharide PNAG (PIA), peut être utilisé en préventif en tant que *coating*
 - **DNase I** : cible l'ADN extracellulaire

Immunomodulation/immunothérapie

Les vaccins



Les tentatives actuelles ne sont pas fructueuses...

- V710 de Merck
- SA4Ag de Pfizer