Nantes Université

Pôle Santé
UFR des Sciences pharmaceutiques et biologiques

Alternatives aux antibiotiques

2024-2025

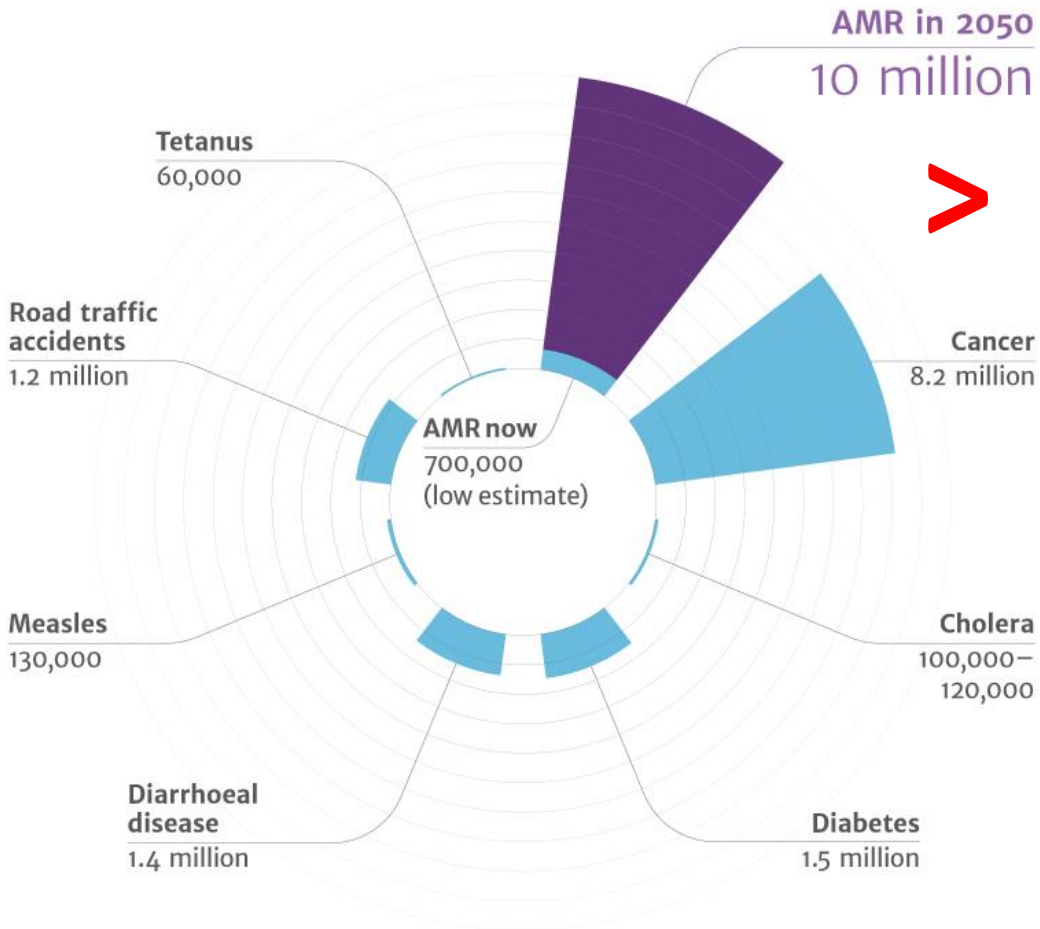
UE – Microbiologie/Pathologie

Master 1 Sciences et Santé
Master 1 Biologie et Médicaments
DFGSP3

Dr. Fabien LAMRET
MCU Microbiologie
fabien.lamret@univ-nantes.fr

Introduction

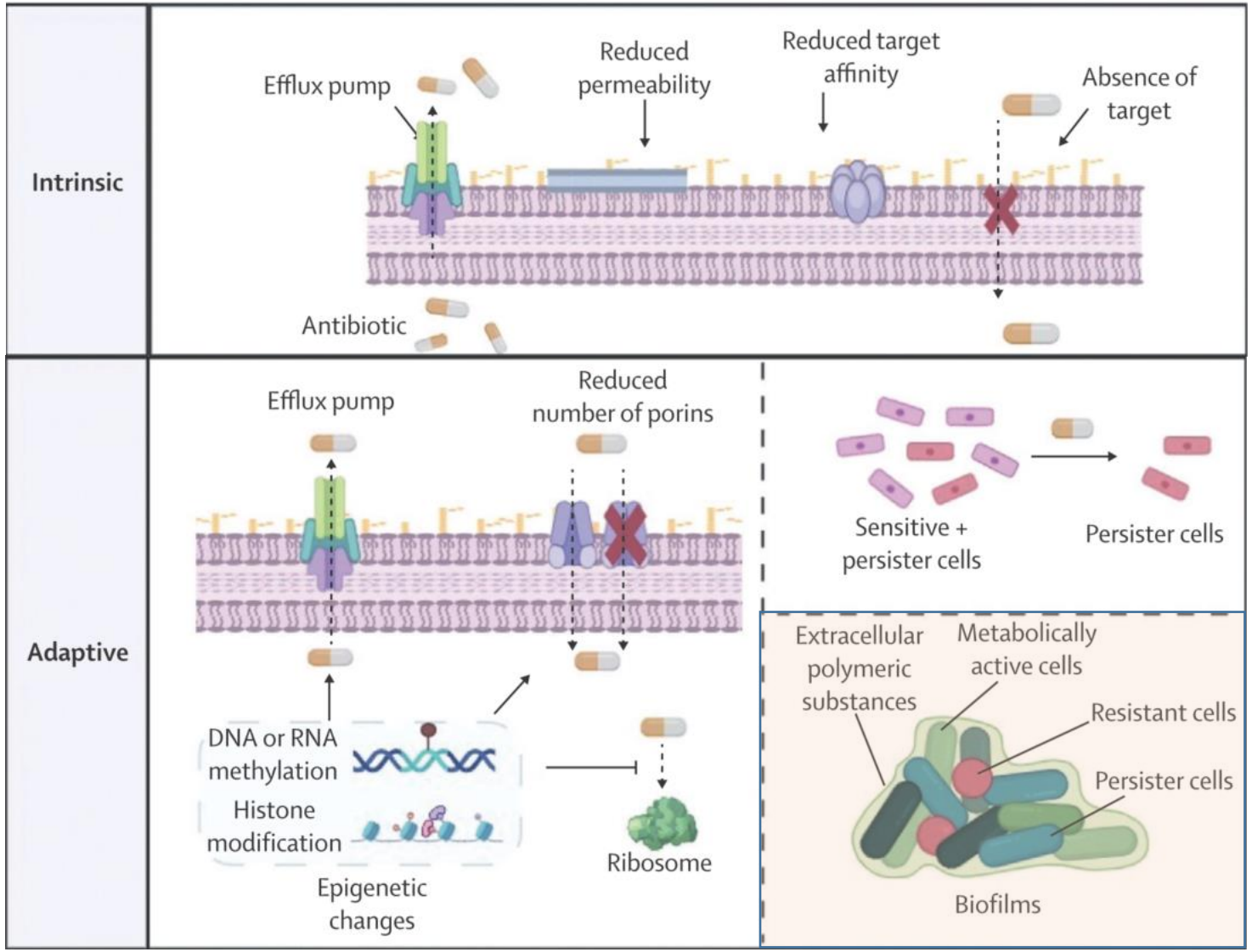
Pourquoi des alternatives aux antibiotiques ?



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

Review on Antimicrobial Resistance

Introduction



[Ho et al.*, Lancet Microbe, 2024]*

Résistance aux antibiotiques ?

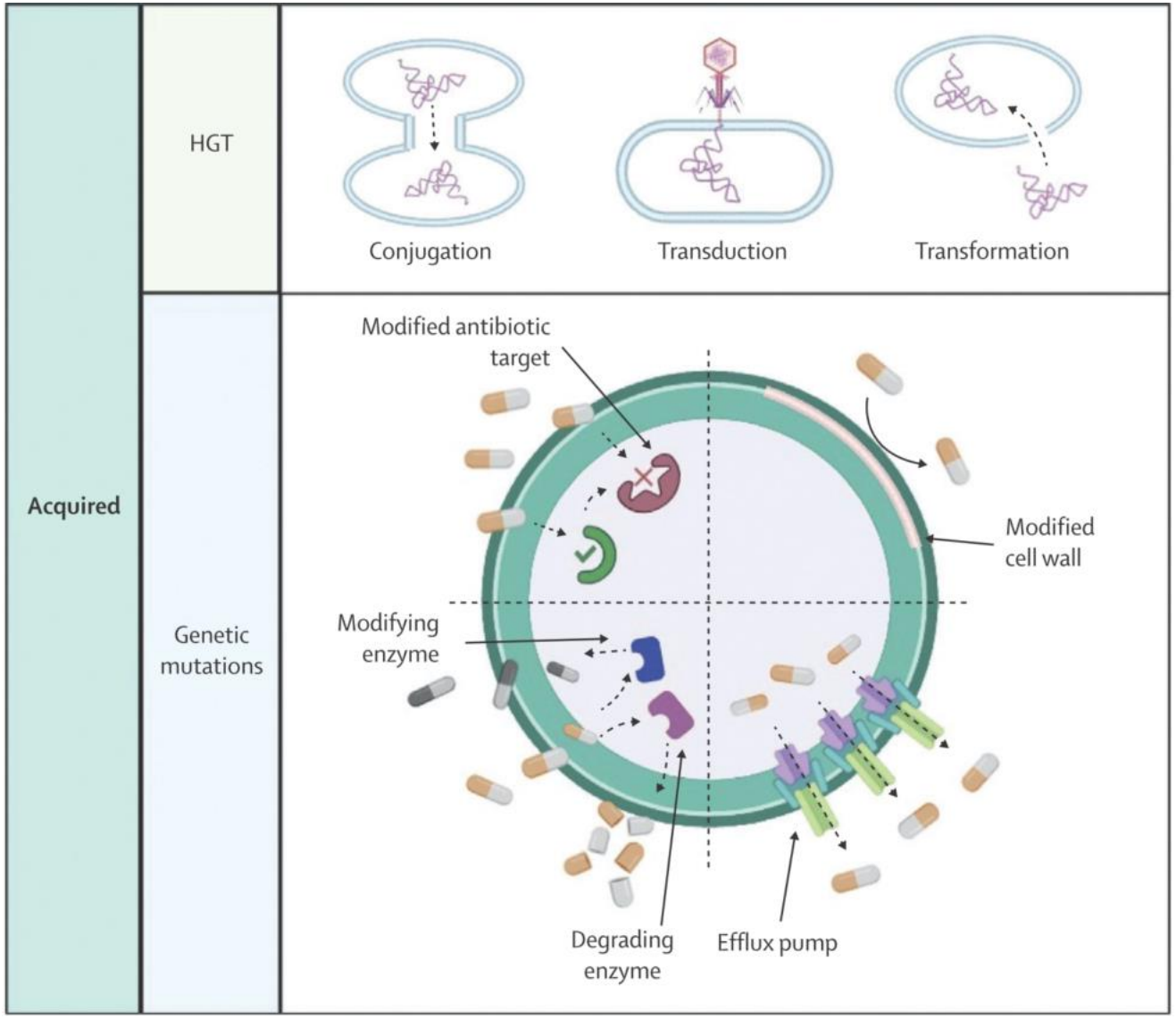
INTRINSÈQUE

ADAPTATIVE

BIOFILM :

- Favorise la résistance
- On peut aussi parler de tolérence (matrice, activité métabolique réduite…)

Introduction



[Ho et al.*, Lancet Microbe, 2024]*

Résistance aux antibiotiques ?

ACQUISE PAR :

- **TRANSFERT HORIZONTAUX**

- **MUTATIONS**

Introduction

Pourquoi des alternatives aux antibiotiques ?

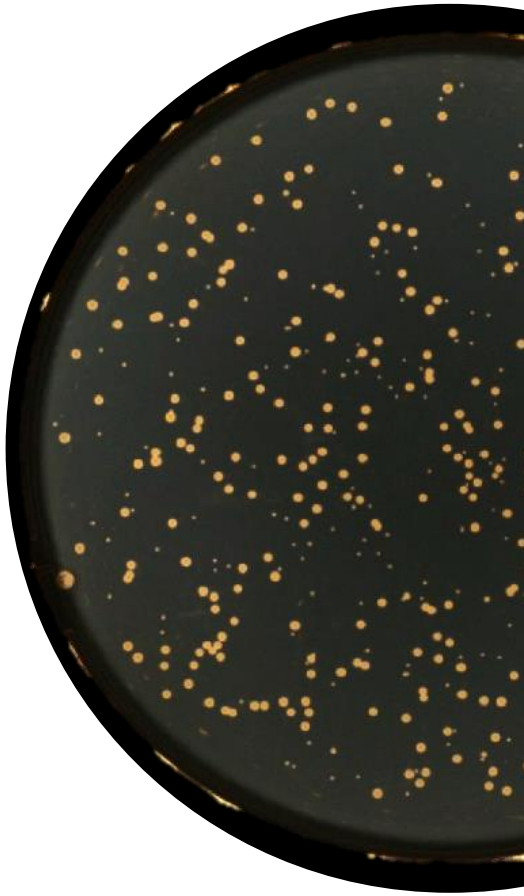
- De plus en plus de bactéries développent des résistances aux antibiotiques (projection en 2050 : la résistance aux antibiotiques ferait plus de morts que le cancer)
- Des bactéries peuvent devenir tolérantes aux antibiotiques et échapper au système immunitaire grâce à des phénotypes particuliers (persisters,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

Introduction

Persister :

- Bactérie au phénotype particulier (en dormance)
- Dont les SCV (Small Colony Variant)

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



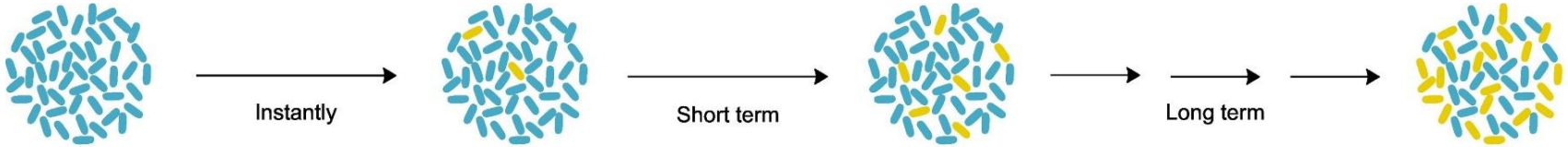
Introduction

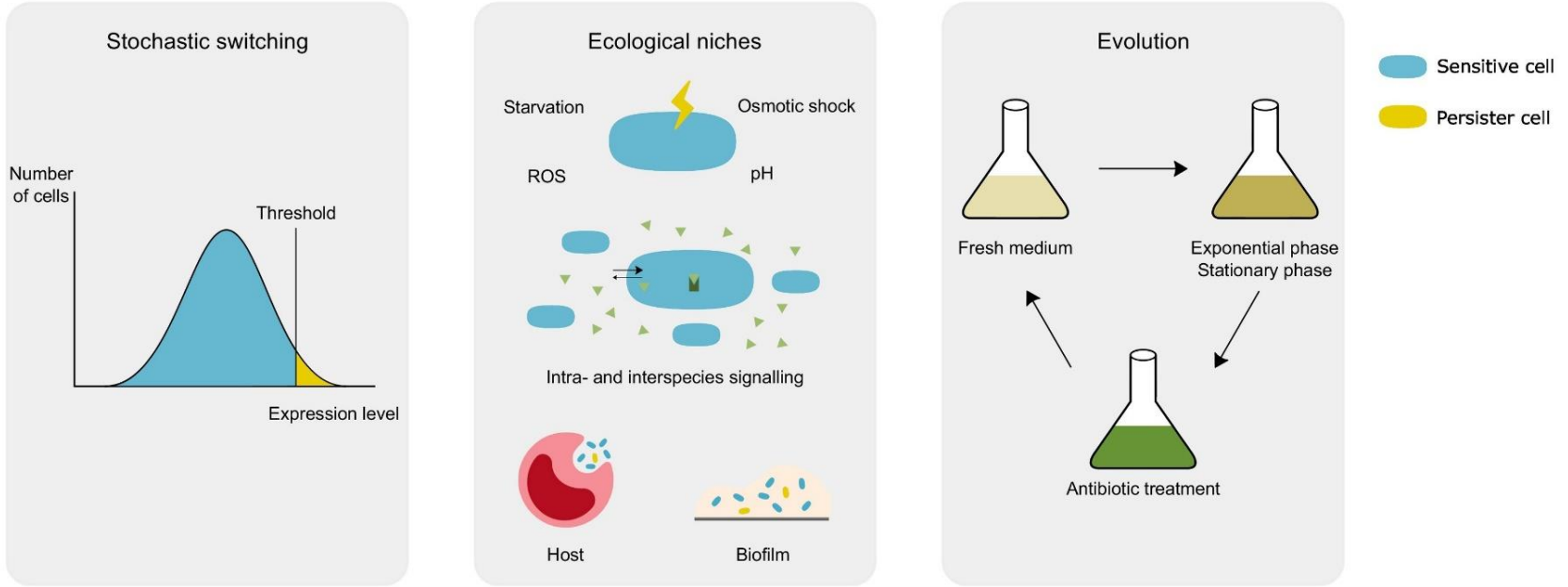
Persister :

- 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

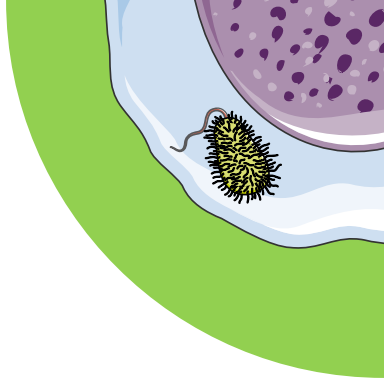
Persister :





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

Introduction



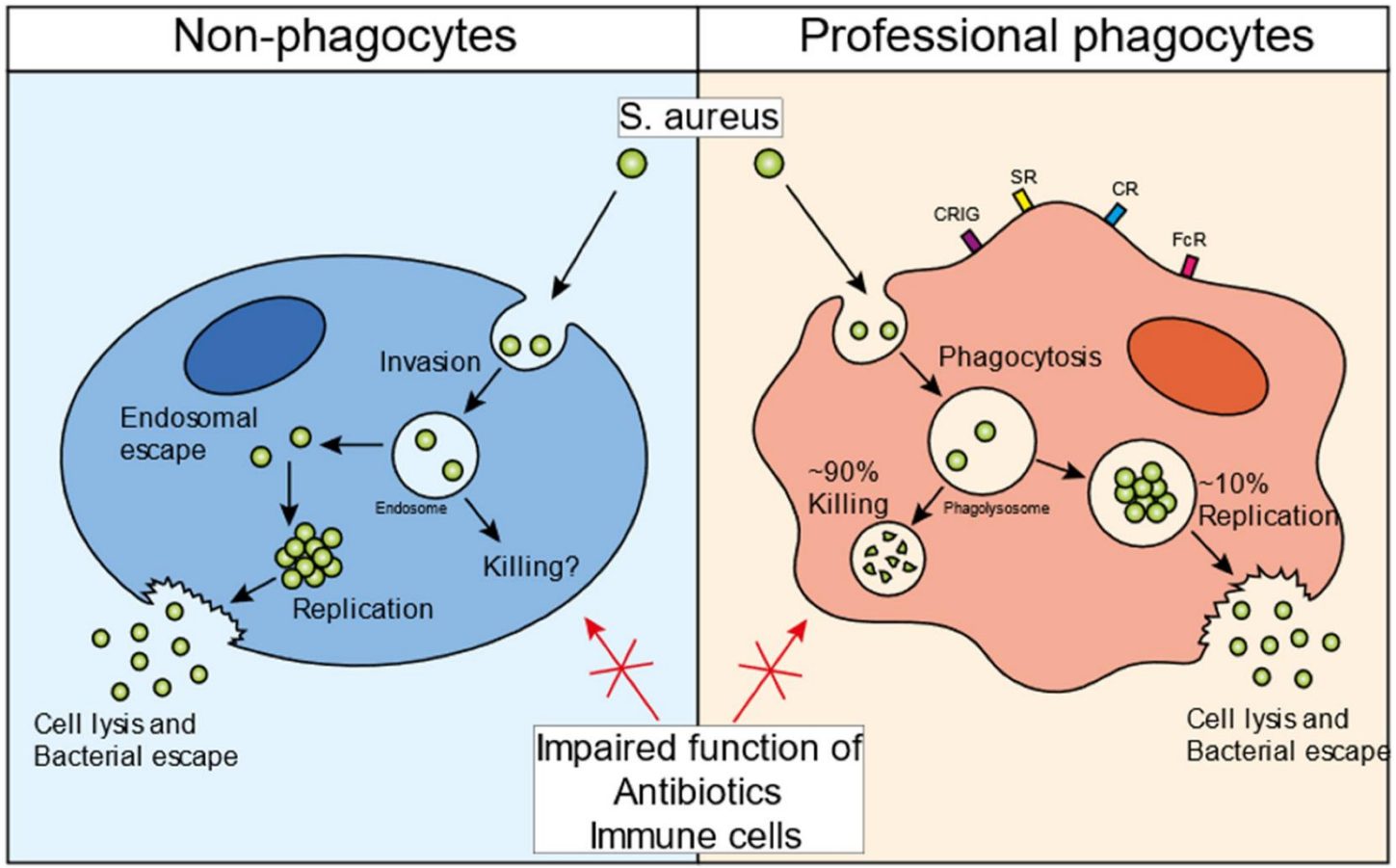
<u>Internalisation</u> :

- Les bactéries peuvent « s'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 !)

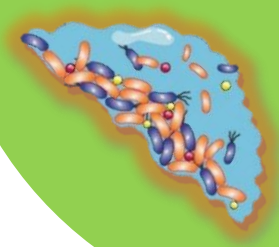
Introduction

Internalisation :



[Hommes et al.*, Biomedicines, 2022]*

Introduction



<u>Biofilm</u> :

- Bien défini *in vitro*
- Notion de **<u>cycle de vie</u>** :

A) Adhérence

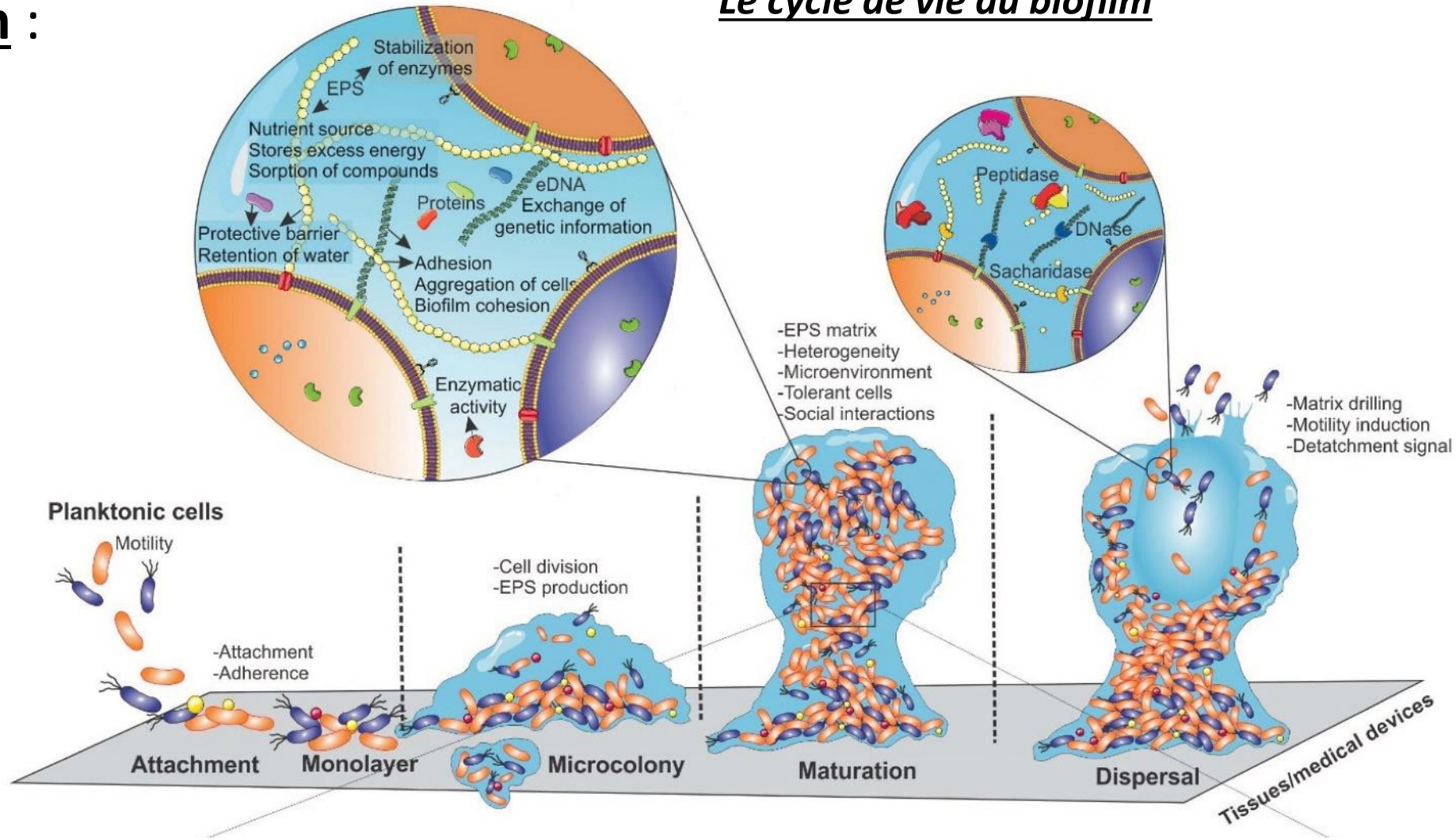
B) Maturation (production de matrice : ADNe, protéines, polysaccharide, stabilisant la matrice et le biofilm)

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

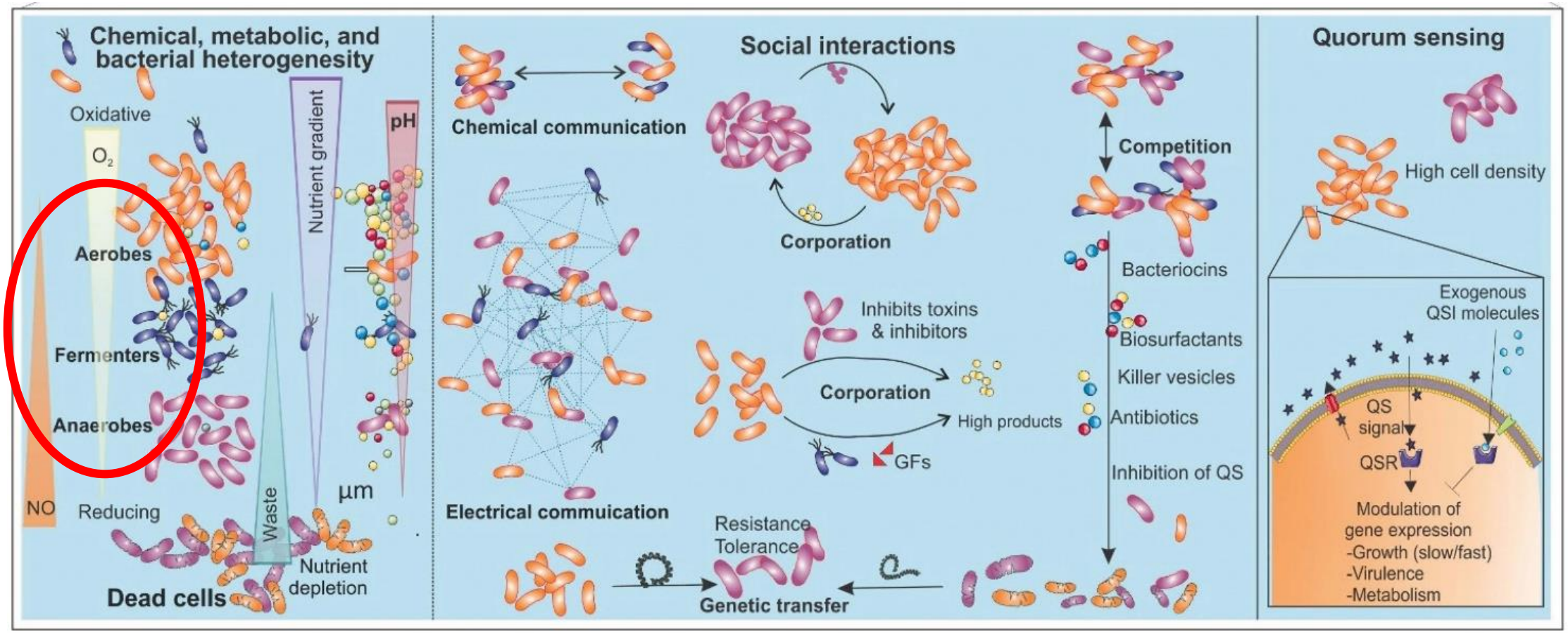


[Barzegari *et al*., 2020, *Infect Drug Resist.*]

Introduction

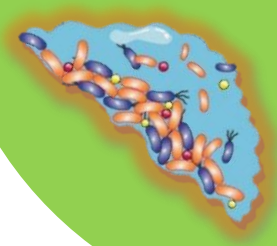
Biofilm :

La matrice (ou mucus !) des biofilms



[Barzegari *et al.*, 2020, *Infect Drug Resist.*]

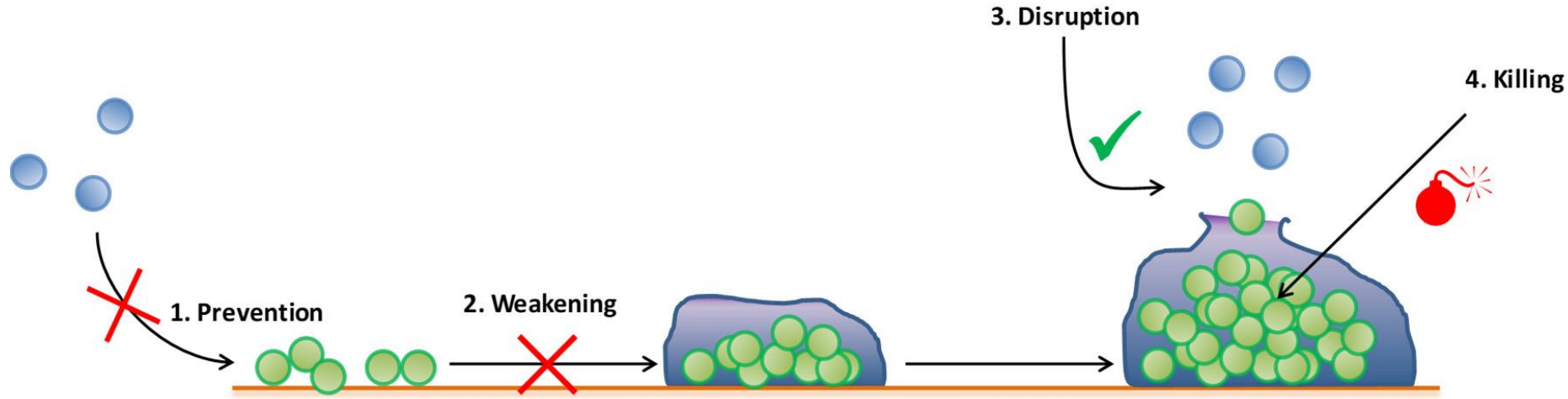
Introduction



Biofilm : les niveaux de lutte

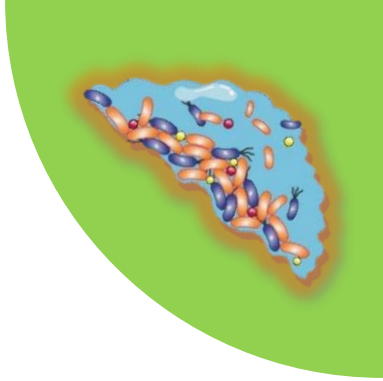
- **Prévention** : empêcher l'adhérence des bactéries = *anti-fouling*
- **Affaiblissement** : empêcher la formation (maturation) du biofilm
- **Perturbation** : provoquer la dispersion du biofilm
- **Destruction** : éradiquer les bactéries/détruire le biofilm

Réduire la taille des micro-colonies peut être prometteur



[Lamret *et al.*, 2020, *Antibiotics (Basel)*]

Introduction



<u>Biofilm</u> :

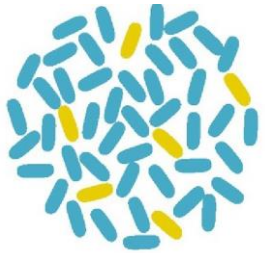
- Notion de **tolérance** aux antibiotiques (matrice, réduction du métabolisme)

- Mais favorisent également la **résistance** aux antibiotiques (ex : proximité des bactéries favorisant les échanges de plasmide par conjugaison)

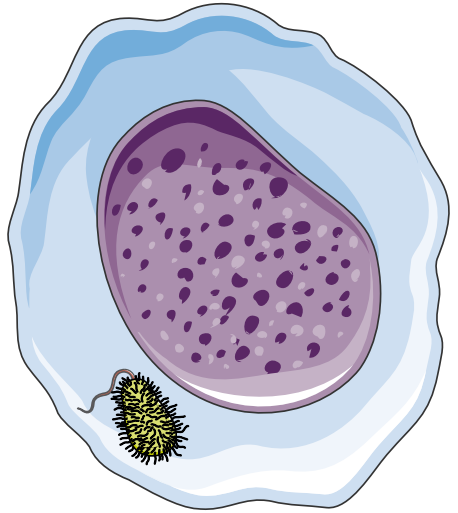
- Fortement impliqué en cas de matériel étranger (ex : cathéter, prothèse orthopédique, pacemaker…)

→ La sensibilité aux antibiotiques des bactéries sous forme de biofilm peut être diminuée de 1000 fois

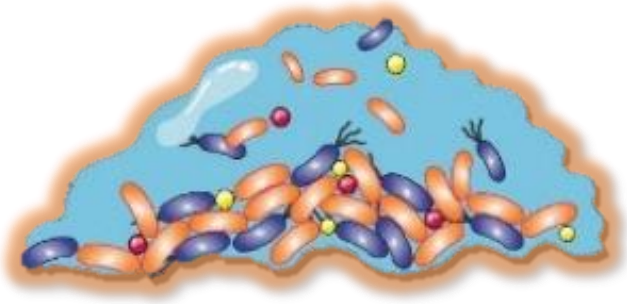
- Le maître-mot de biofilm est « **hétérogénéité** » (spatial, temporel ; métabolique, matrice, répartition des tâches…)



Persister



Internalisation



Biofilm

Introduction

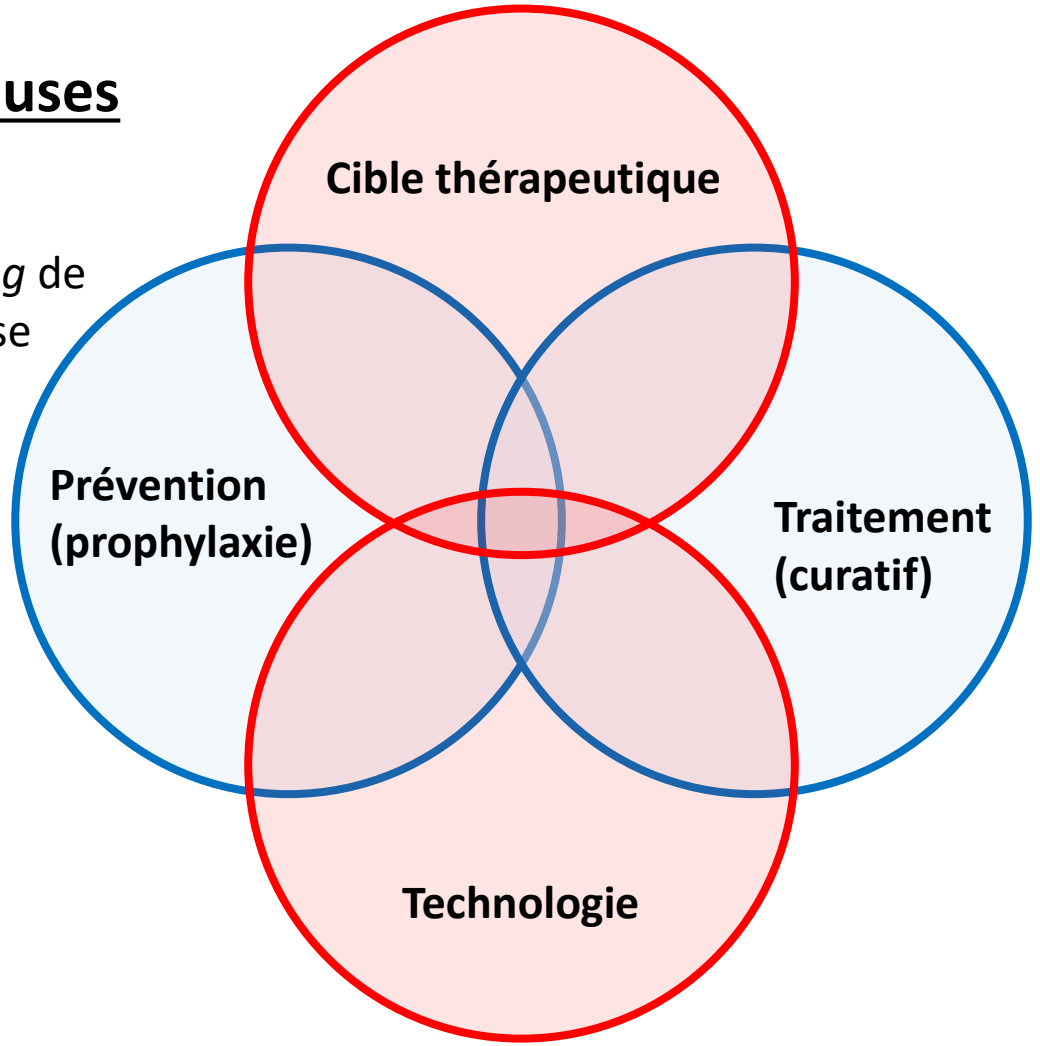
<u>Présentation de différentes techniques prometteuses</u>

<u>Intrication de</u> :

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

Ex : *persister*

Ex : *coating* de prothèse



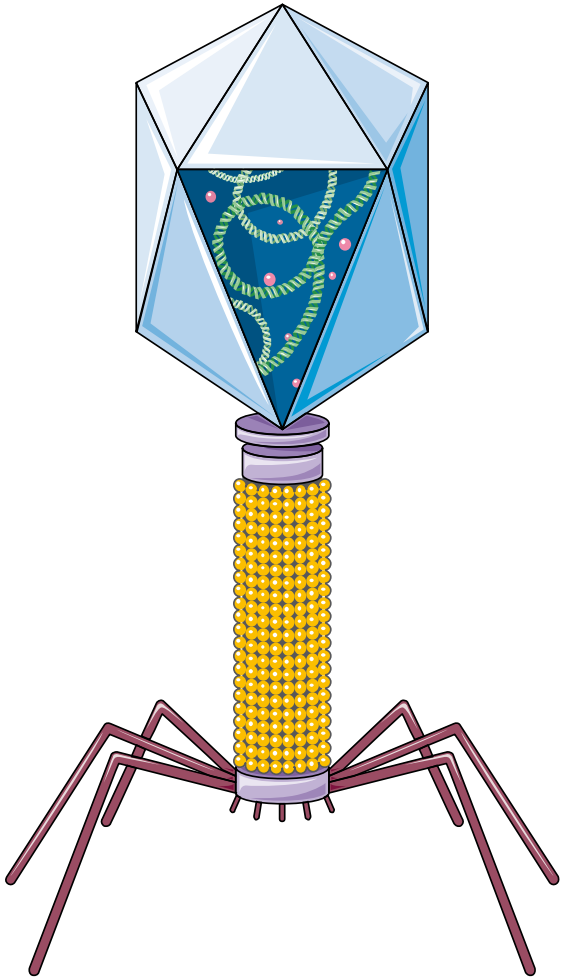
Ex : bactériophage/peptide antimicrobien

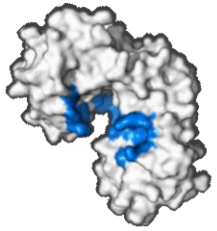
Introduction

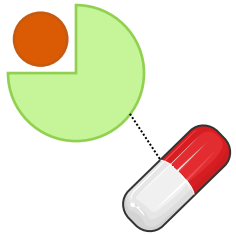
Cas concret :

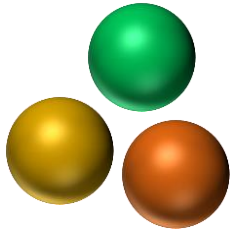
- Infection à biofilm sur prothèse totale articulaire, bactérie multi-résistante impliquée
- Traitement « gold-standard » : antibiothérapie et chirurgie secondaire (changement de prothèse…)
  - → Problème de la résistance (ou à défaut d'apparition de résistance)
  - → Faire « subir » une deuxième chirurgie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

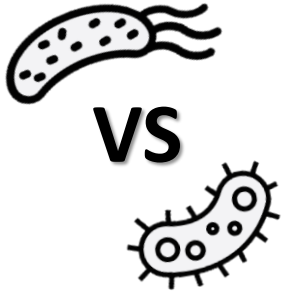
→ Quelle alternative ?

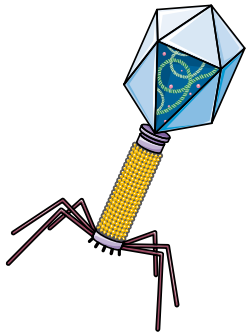


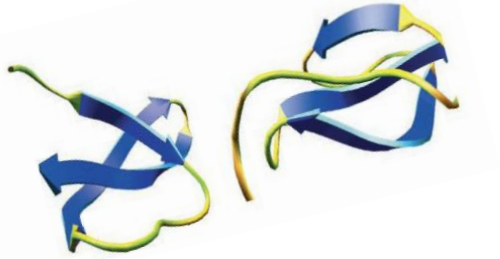




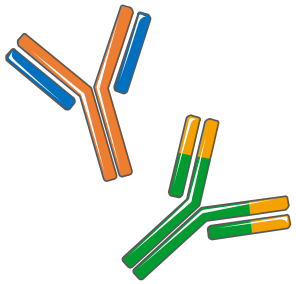


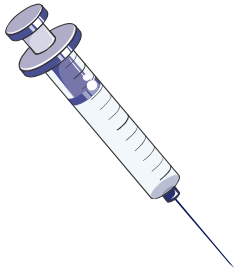


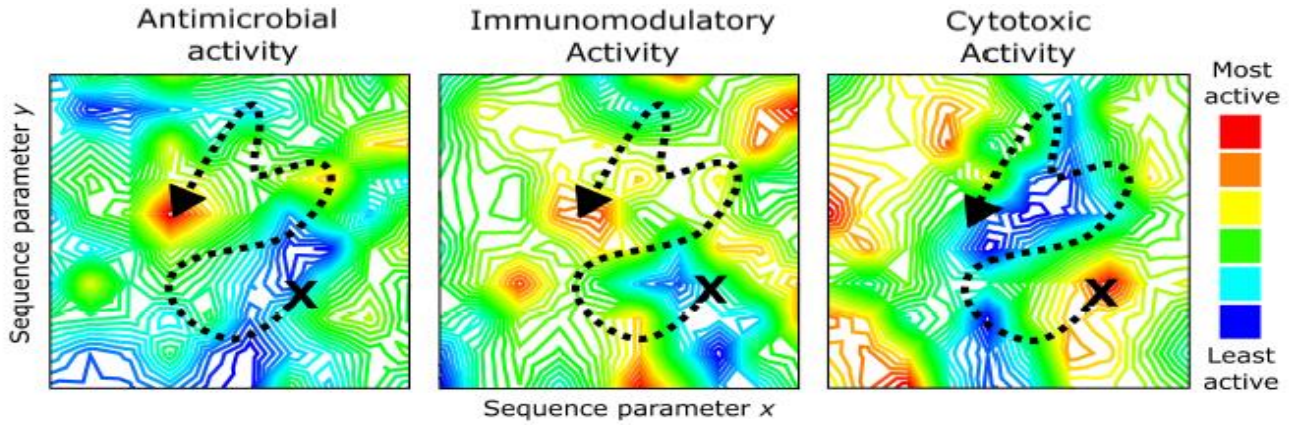




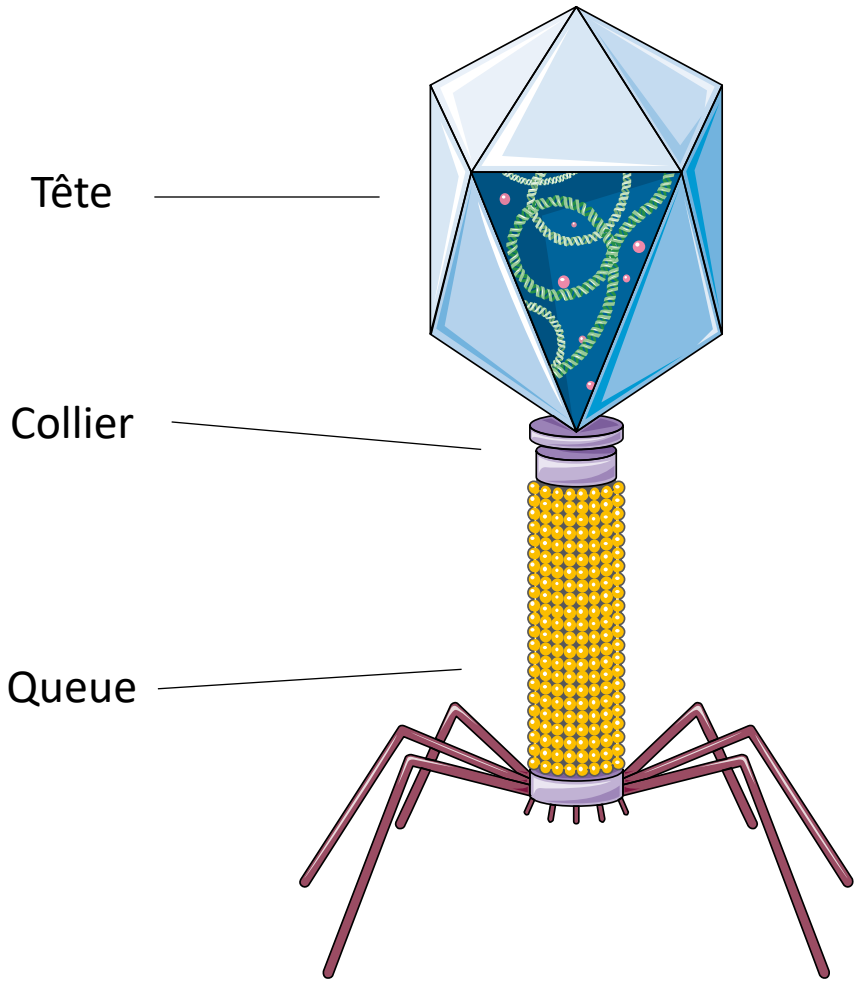
Alternatives aux antibiotiques







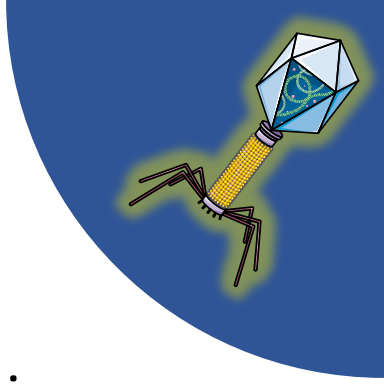
[Haney et al.*, Front. Chem., 2019]*



“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)



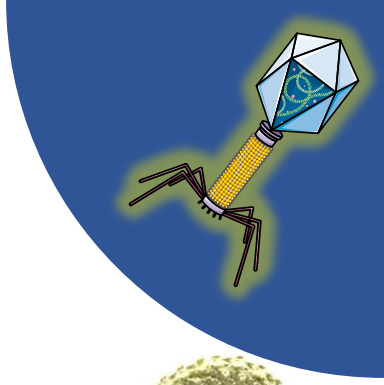
- Co-découverts par Frederick Twort à Londres en 1915 et Félix d'Hérelle à Paris en 1917

- 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)

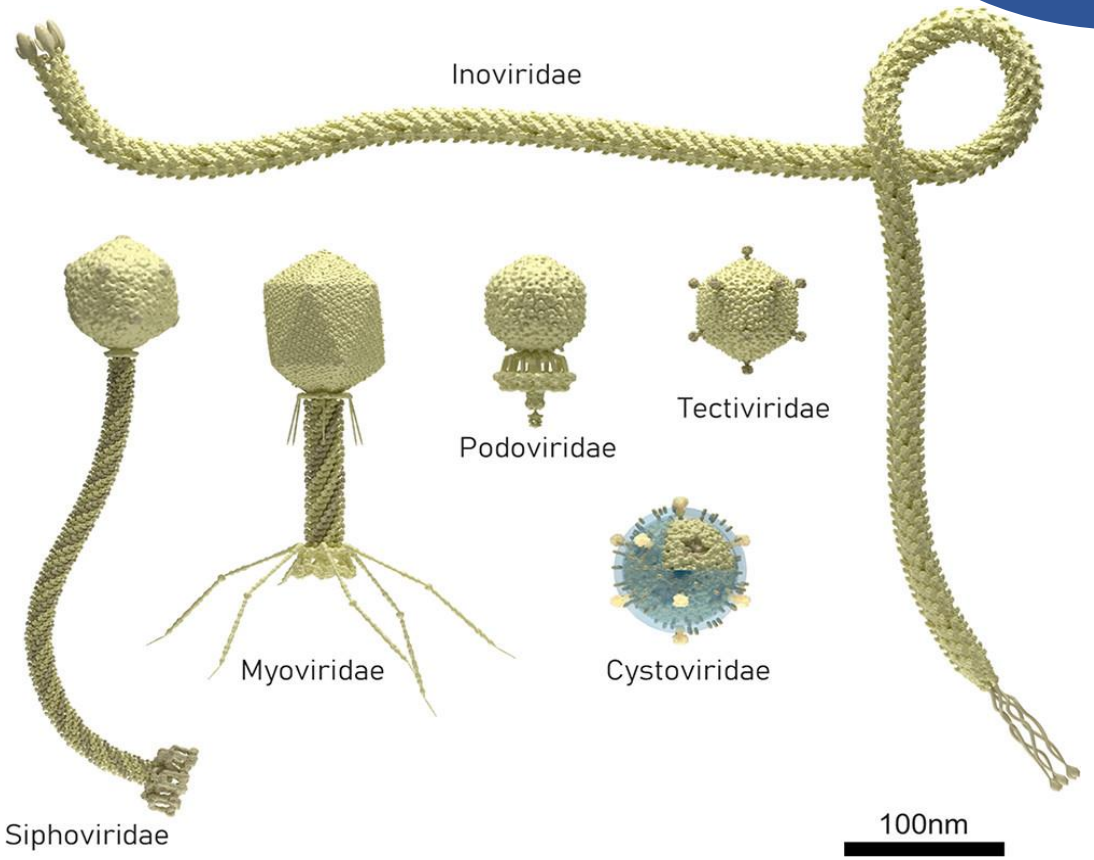
  → Les bactériophages tombent dans l'oubli devant la facilité de production et l'efficacité des antibiotiques

Les phages (ou bactériophages)



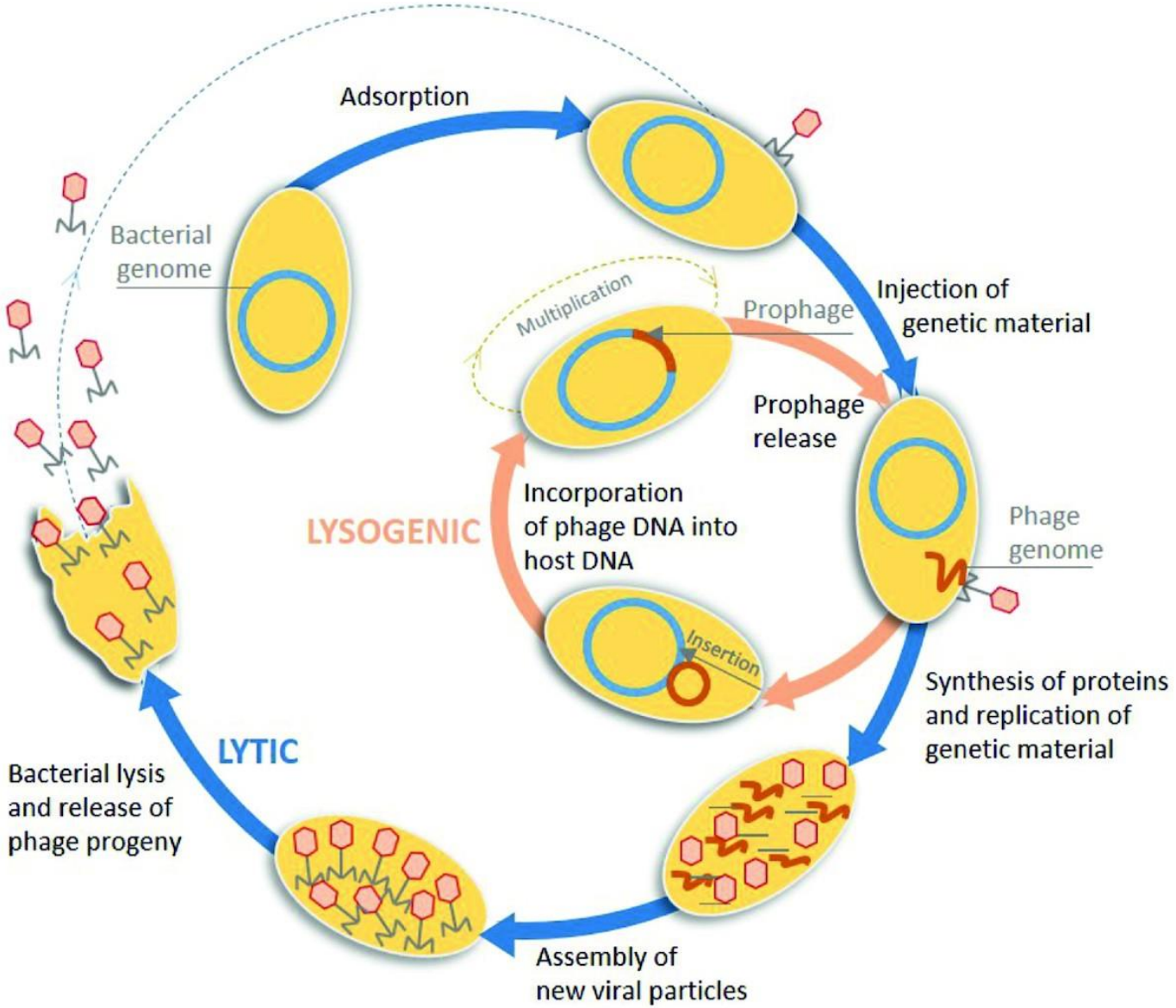
- <u>Mode d'action</u> :
  - Adhèrent aux bactéries
  - Injectent leur matériel génétique
  - Détournent le métabolisme bactérien vers la production de nouveaux phages et de protéines qui provoquent la lyse des bactéries et la destruction de la matrice

- <u>Mode d'action bis</u> :
  - Réduit la conjugaison bactérienne = empêche le transfert de gène de résistance entre bactérie



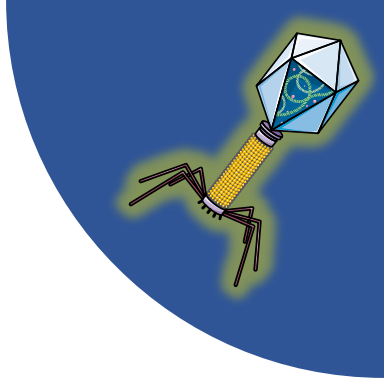
[*O'Connell* et al., *ACS Biomater Sci. Eng., 2021*]

Les phages (ou bactériophages)



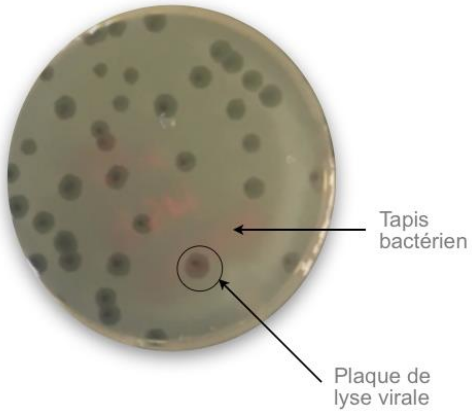
[*Pinto* et al., *FEMS Microbiol Rev., 2021*]

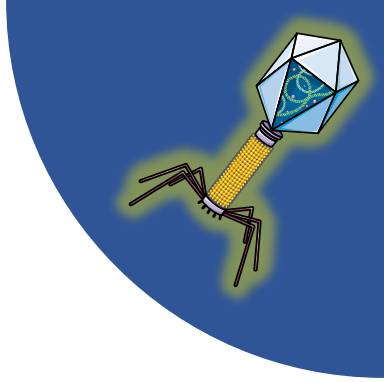
Les phages (ou bactériophages)



- 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

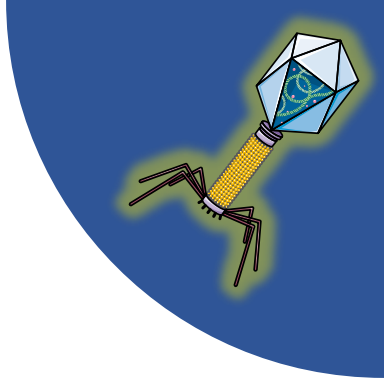
Les phages (ou bactériophages)





- Désavantages :
  - Hautement spécifique
  - Nécessite d'être en mesure de cultiver la bactérie impliquée, trouver son « partenaire » phage
  - Pourrait stimuler de manière délétère le système immunitaire ? (si polymicrobien : plusieurs phages nécessaires ?)
  - Moins efficaces contre les bactéries internalisées ?
  - 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

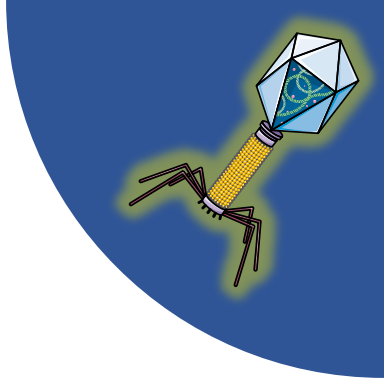
15

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 **PHAGE*in*LYON** 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 ».

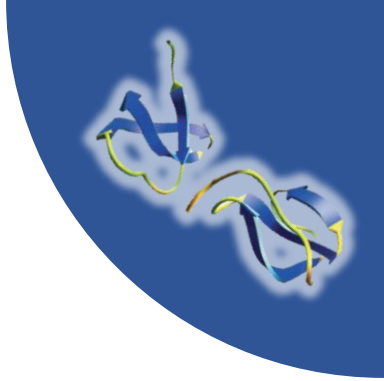
Les phages (ou bactériophages)



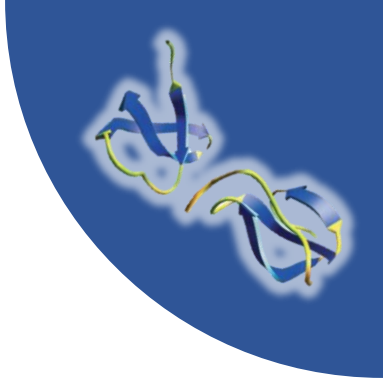
Exemple :

- 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)



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

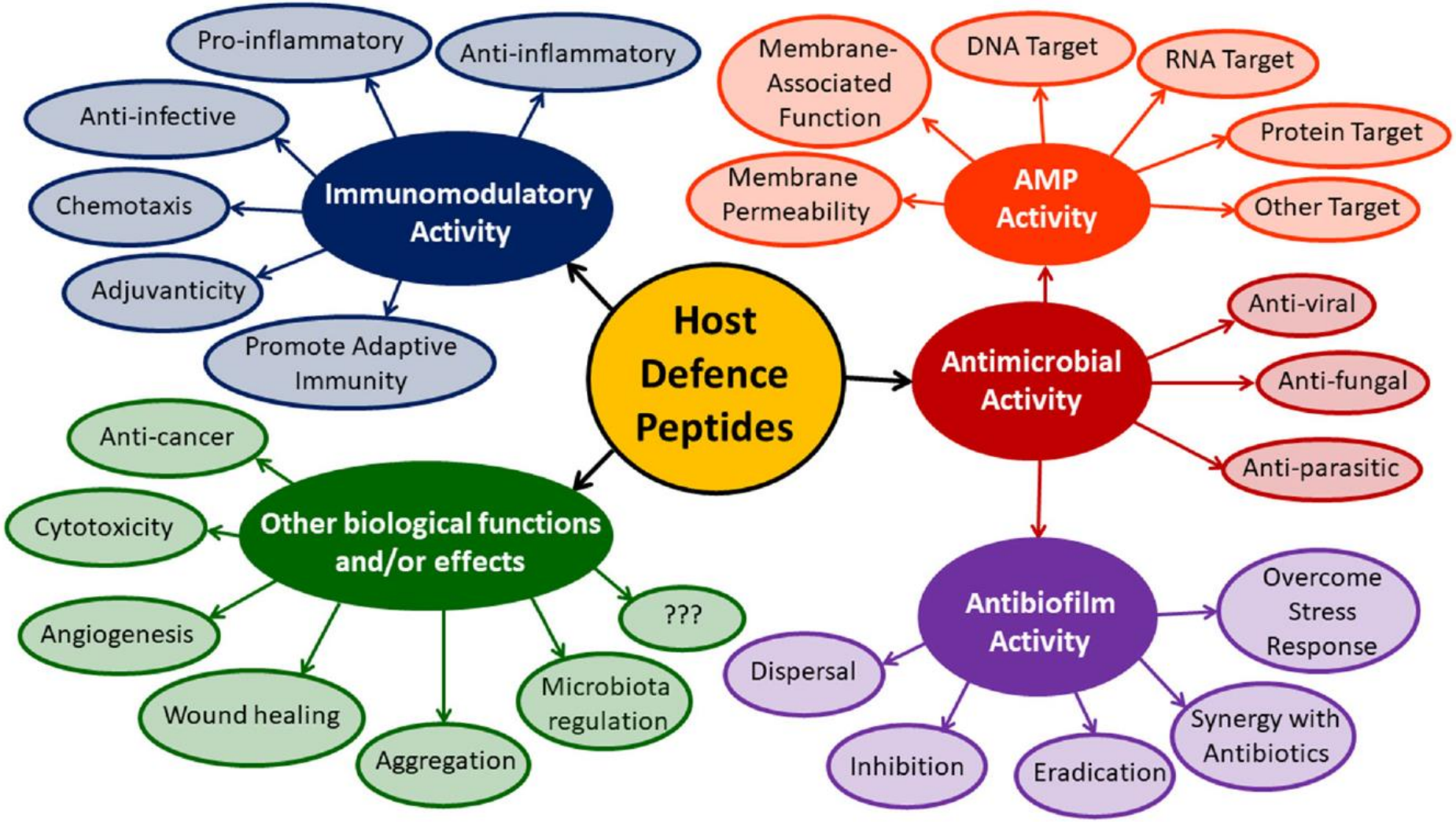


- *Antimicrobial peptides AMP / Host defense peptides HDP*
- Molécules naturelles (humains, insectes, bactéries…) ou synthétiques
- Globalement, agissent en déstabilisant l'enveloppe bactérienne mais aussi en intracellulaire (perméable)

- <u>Chez l'humain</u> :
  - Défensines (alpha, bêta…)
  - Cathélicidine (LL37)
  - Histatine (salive)

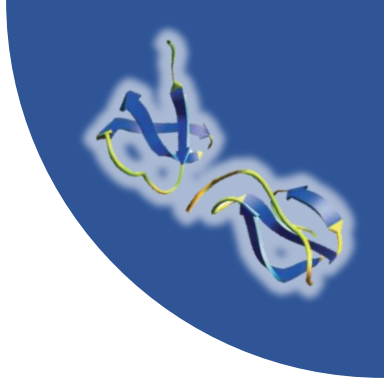
- <u>Chez les bactéries</u> :
  - Bactériocicnes

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+})

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

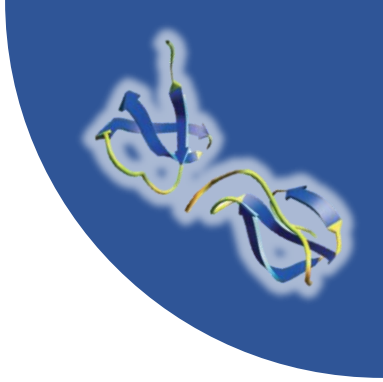
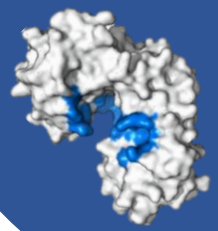


Table 1. Comparison of Conventional Antibiotics with Antimicrobial Peptides

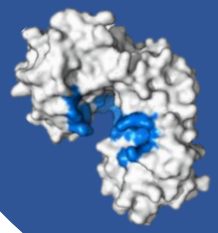
Property	Conventional Antibiotics	Antimicrobial Peptides
Mode of action	Specific mechanisms, usually act on one capital targets or class of targets (*e.g.* enzyme, ribosome), and to interact physiological funcitions of bacterium.	No specific mechanism, usually based on its structure and charge, which 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



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)

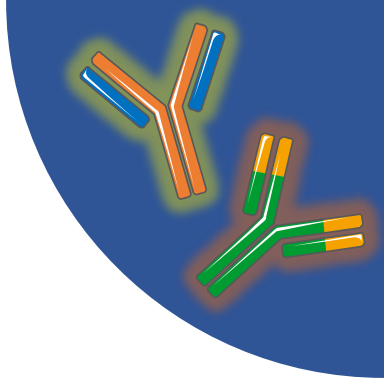
- Exemple :
  - **Dispersin B** : cible l'exopolysaccharide PNAG (PIA), peut être utilisé en préventif en tant que *coating*
  - **DNase I** : cible l'ADN extracellulaire

Immunomodulation/immunothérapie
Les vaccins

<u>Les tentatives actuelles ne sont pas fructueuses…</u>

- V710 de Merck
- SA4Ag de Pfizer

Immunomodulation/immunothérapie
Les anticorps monoclonaux

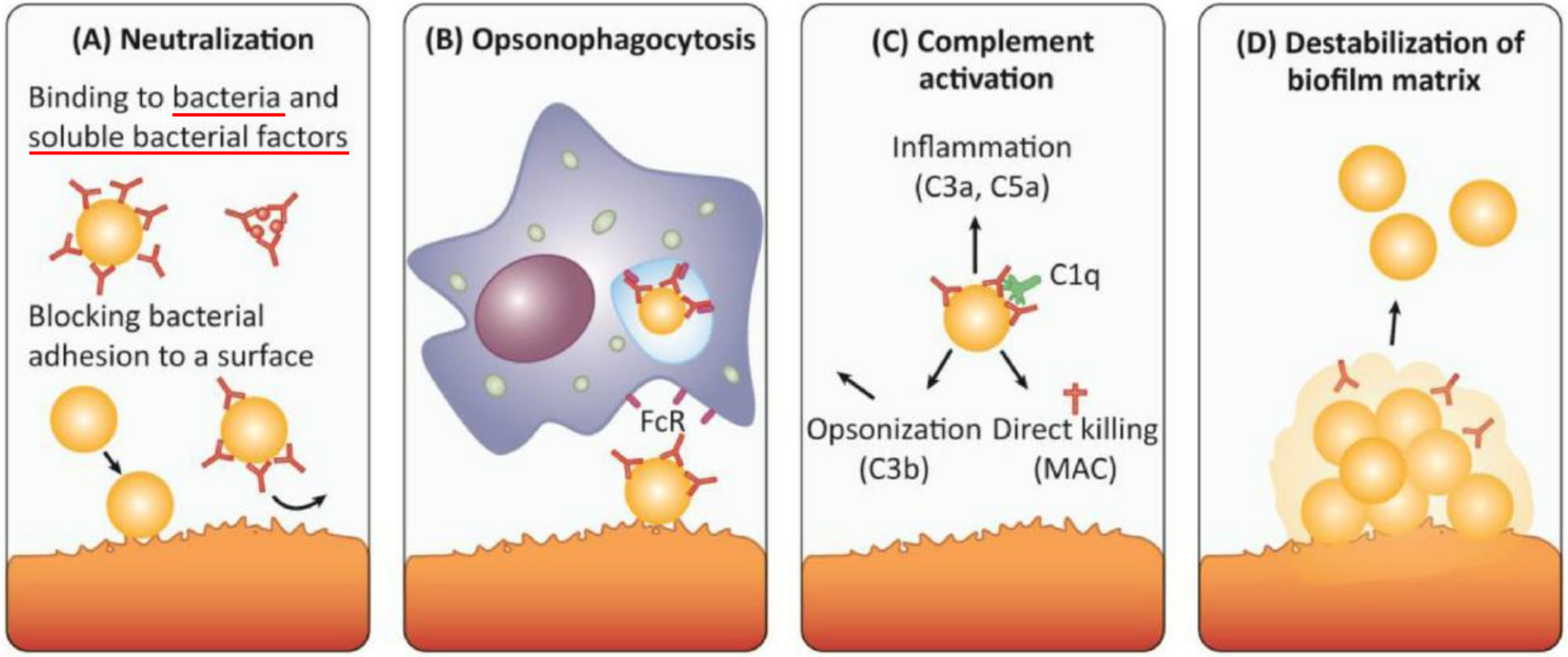


- Impliqué dans le système immunitaire
- Anticorps monoclonaux : les plus spécifiques, ne reconnaissent qu'un seul épitope (≠ polyclonaux)
- Seraient plus efficaces en cocktail ciblant plusieurs cibles à la fois

Immunomodulation/immunothérapie
Les anticorps monoclonaux

- Modes d'action

[Raafat et al.*, Trends Microbiol, 2019]*

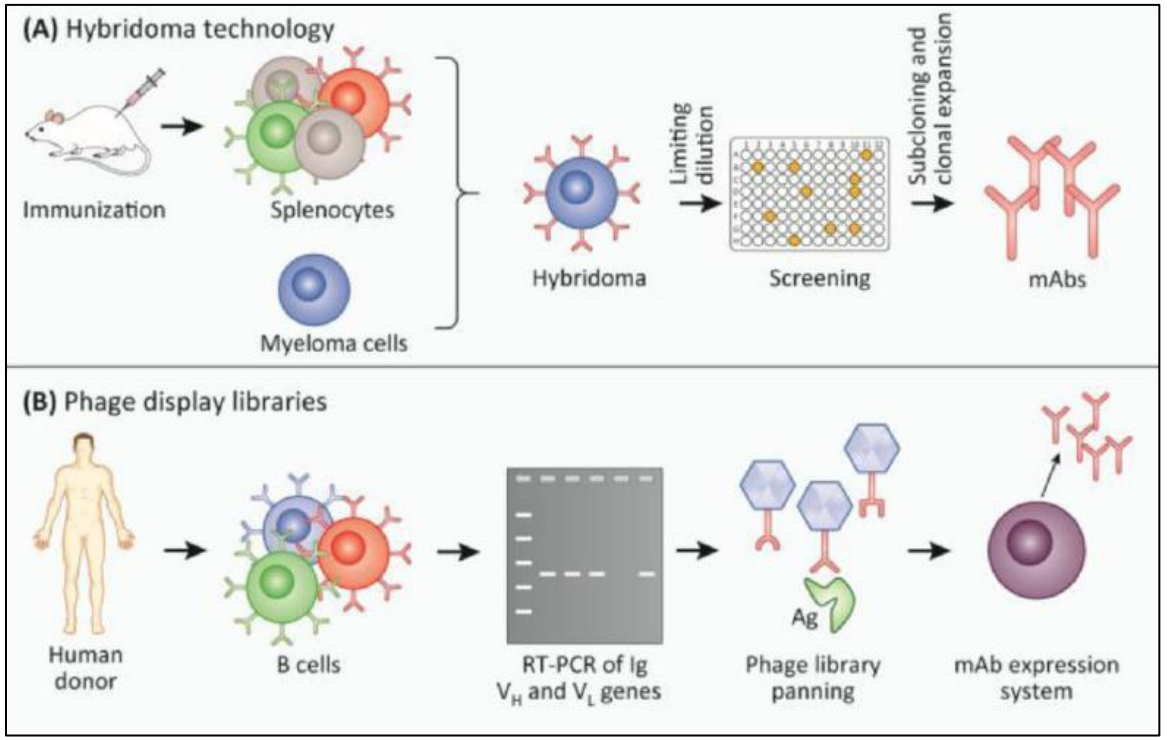


Immunomodulation/immunothérapie
Les anticorps monoclonaux

- <u>Modes de production</u>

A) Les hybridomes

B) Les banques de phage



[Raafat et al.*, Trends Microbiol, 2019]*

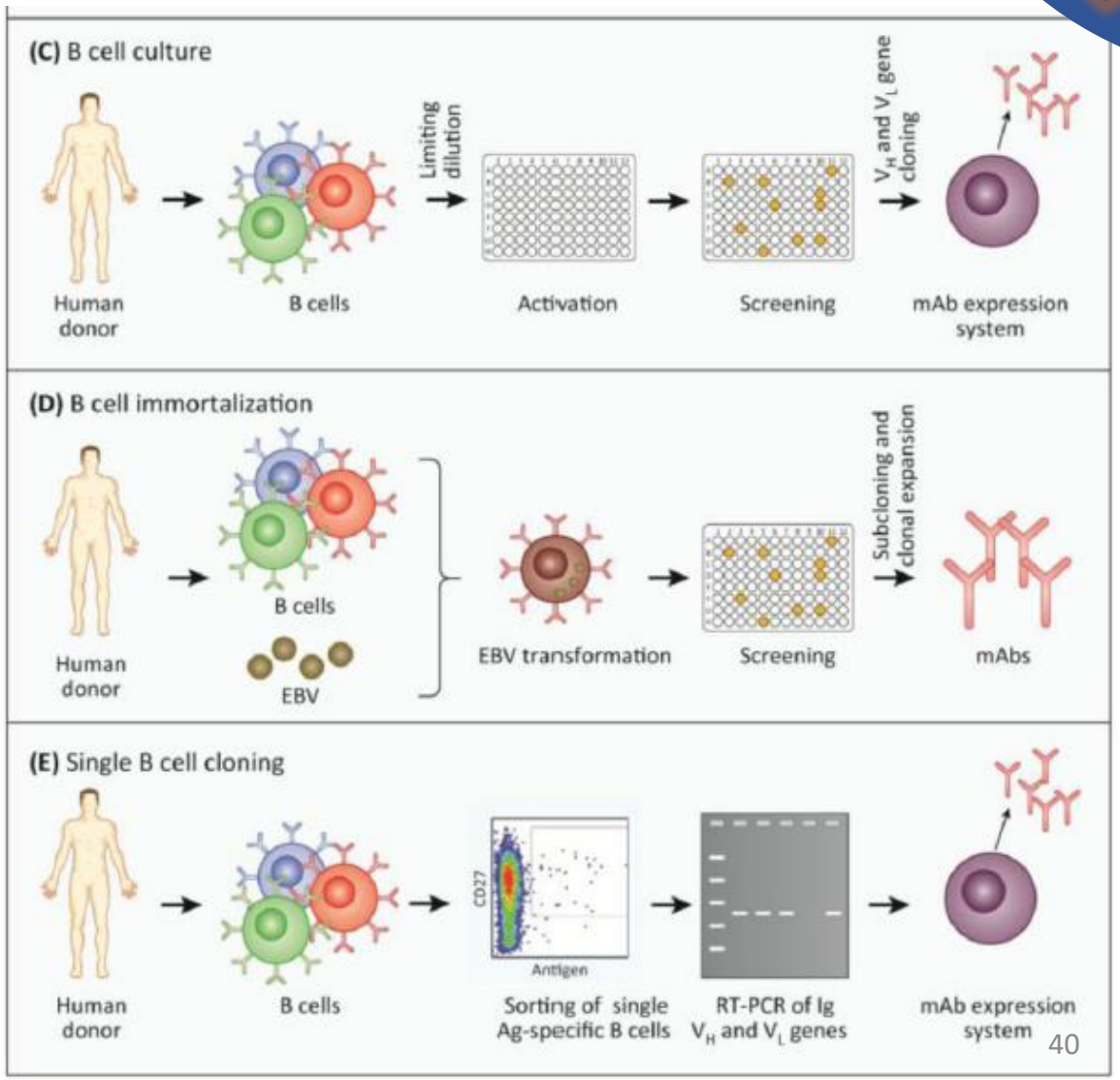
Immunomodulation/immunothérapie
Les anticorps monoclonaux

- <u>Modes de production</u>

C) Culture de lymphocyte B

D) Immortalisation des lymphocytes B

E) Clonage de lymphocytes B



[Raafat et al.*, Trends Microbiol, 2019]*