

Alternatives aux antibiotiques

2025-2026

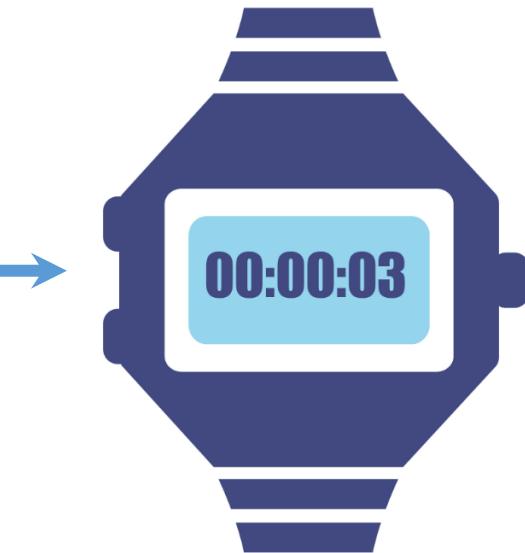
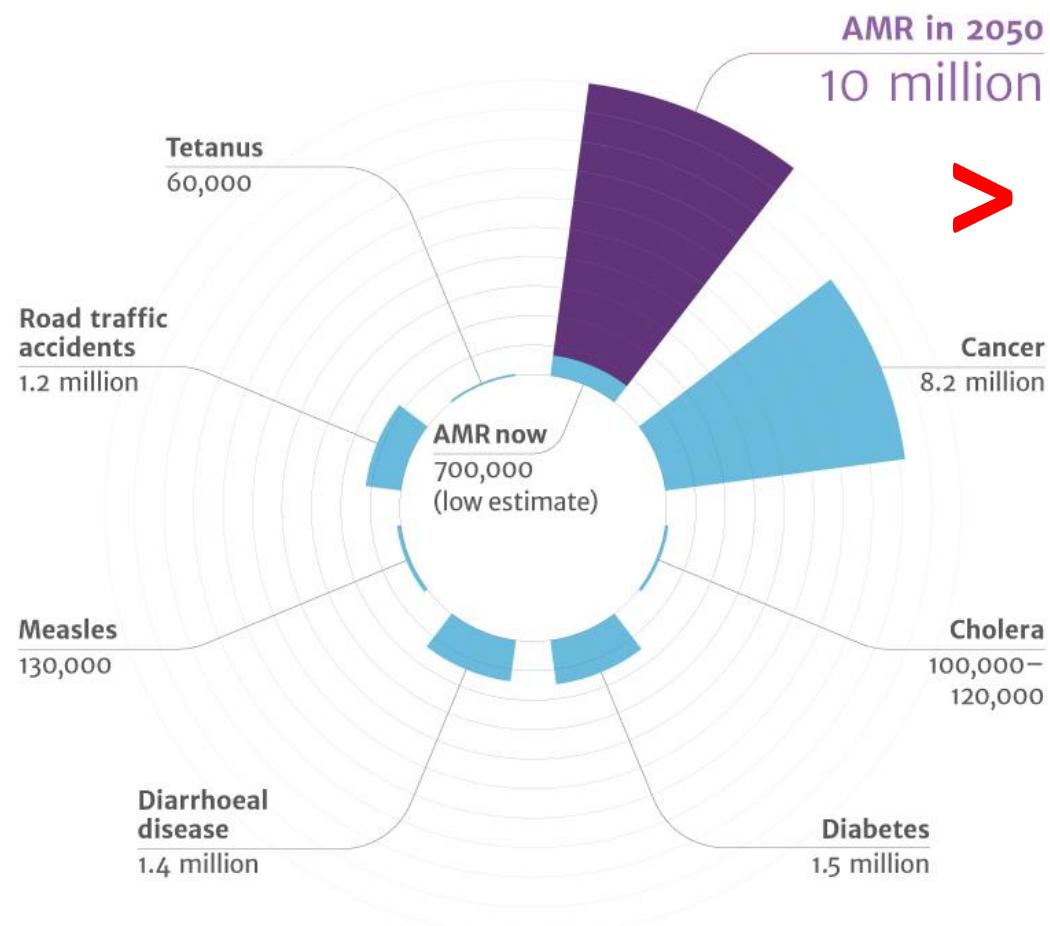
UE – Microbiologie/Pathologie

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

Master 1 Sciences et Santé
Master 1 Biologie et Médicaments
DFGSP3

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.



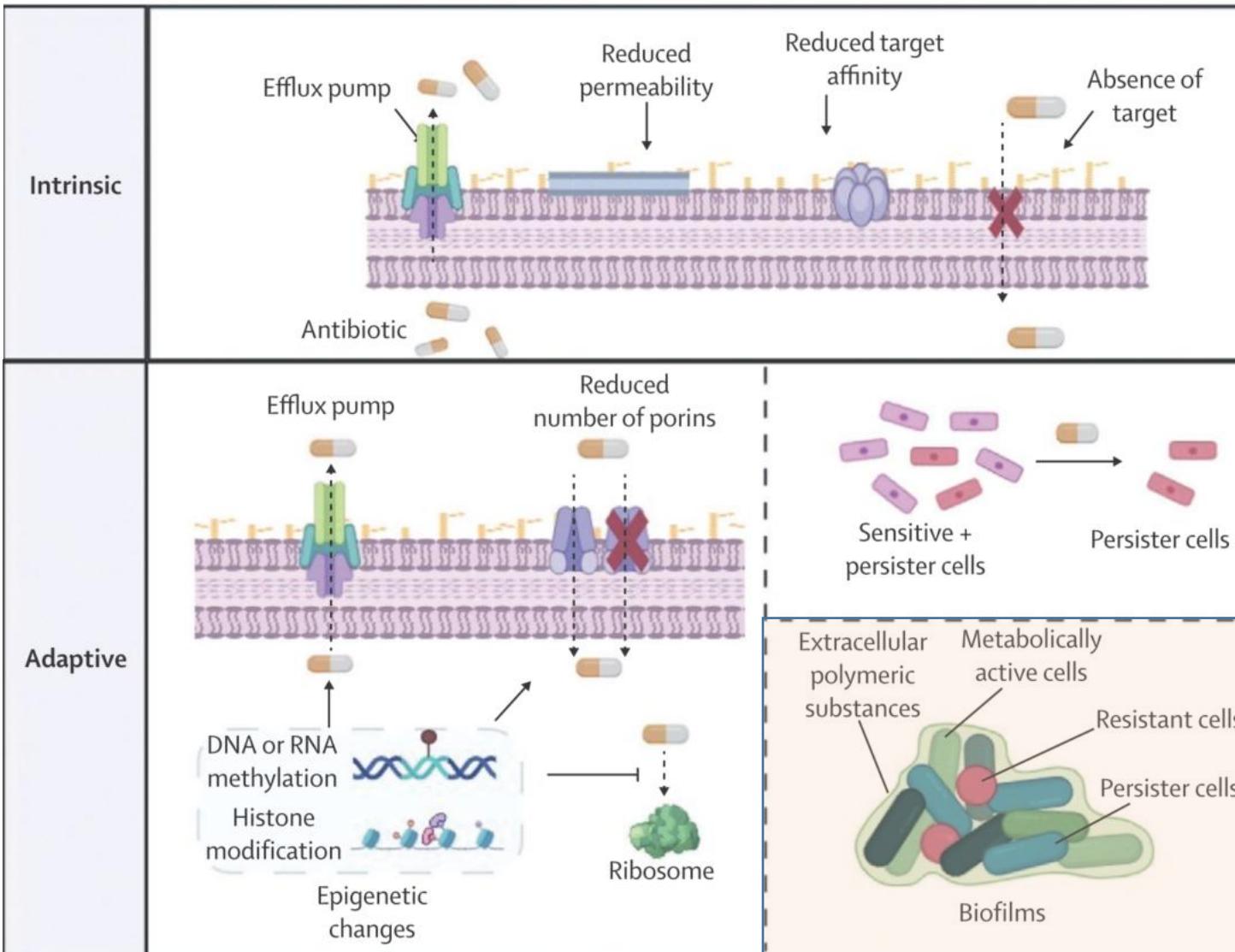
Review on
Antimicrobial
Resistance

Introduction

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 (chirurgical/antibiotiques/antiseptiques) → de l'intérêt de développer des stratégies alternatives

Introduction



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

Résistance aux antibiotiques ?

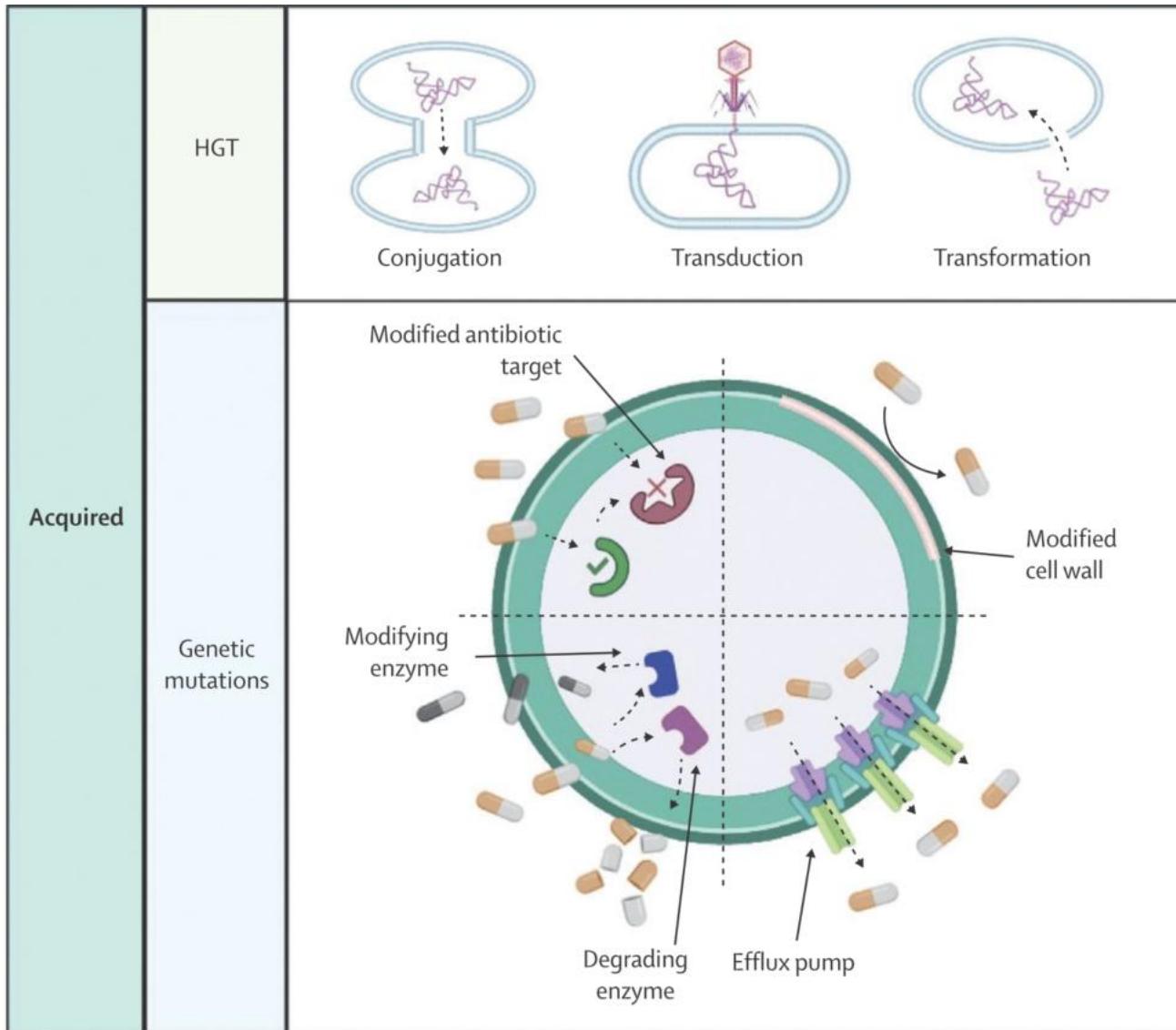
INTRINSEQUE

ADAPTATIVE

BIOFILM :

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

Introduction



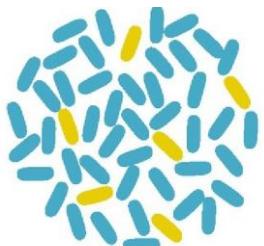
[Ho et al., *Lancet Microbe*, 2024]

Résistance aux antibiotiques ?

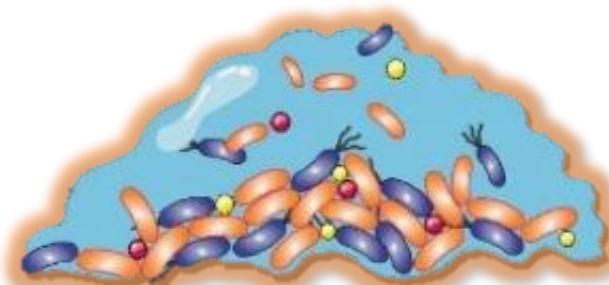
ACQUISE PAR :

- TRANSFERT HORIZONTAUX

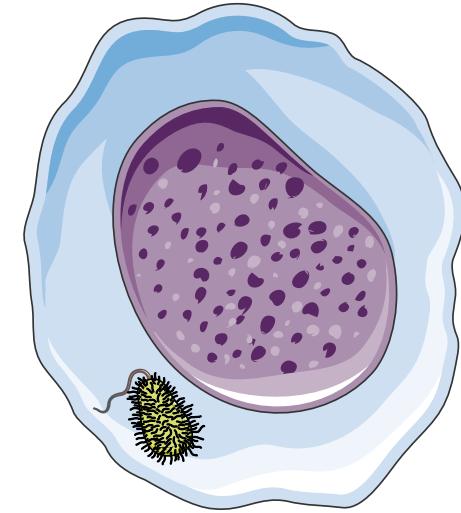
- MUTATIONS



Persist



Biofilm



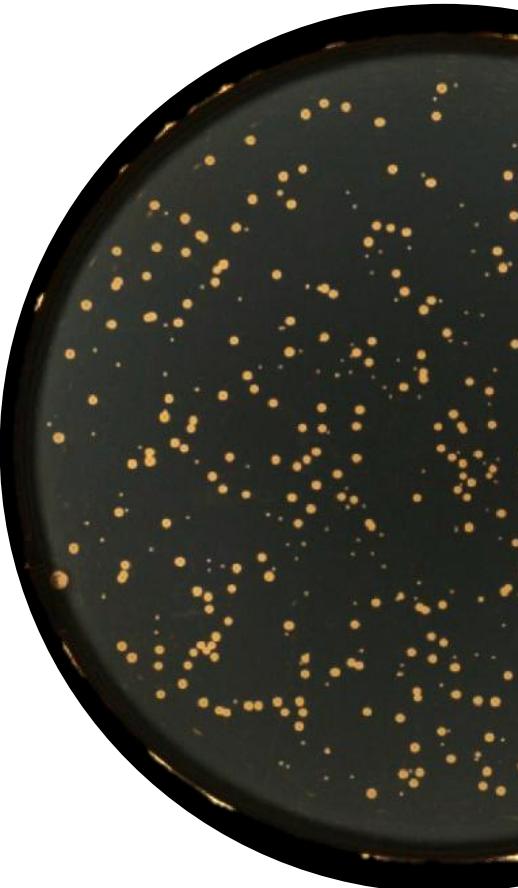
Internalisation

Introduction



Persister :

- Bactérie au phénotype particulier (en dormance)
 - Dont les SCV (Small Colony Variant)
-
- Affecte la « résistance » aux antibiotiques et la virulence
 - Les antibiotiques ciblent les bactéries au métabolisme actif !
 - Présents en faible proportion dans n'importe quelle population bactérienne, peut être sélectionnée par un stress environnemental



Introduction



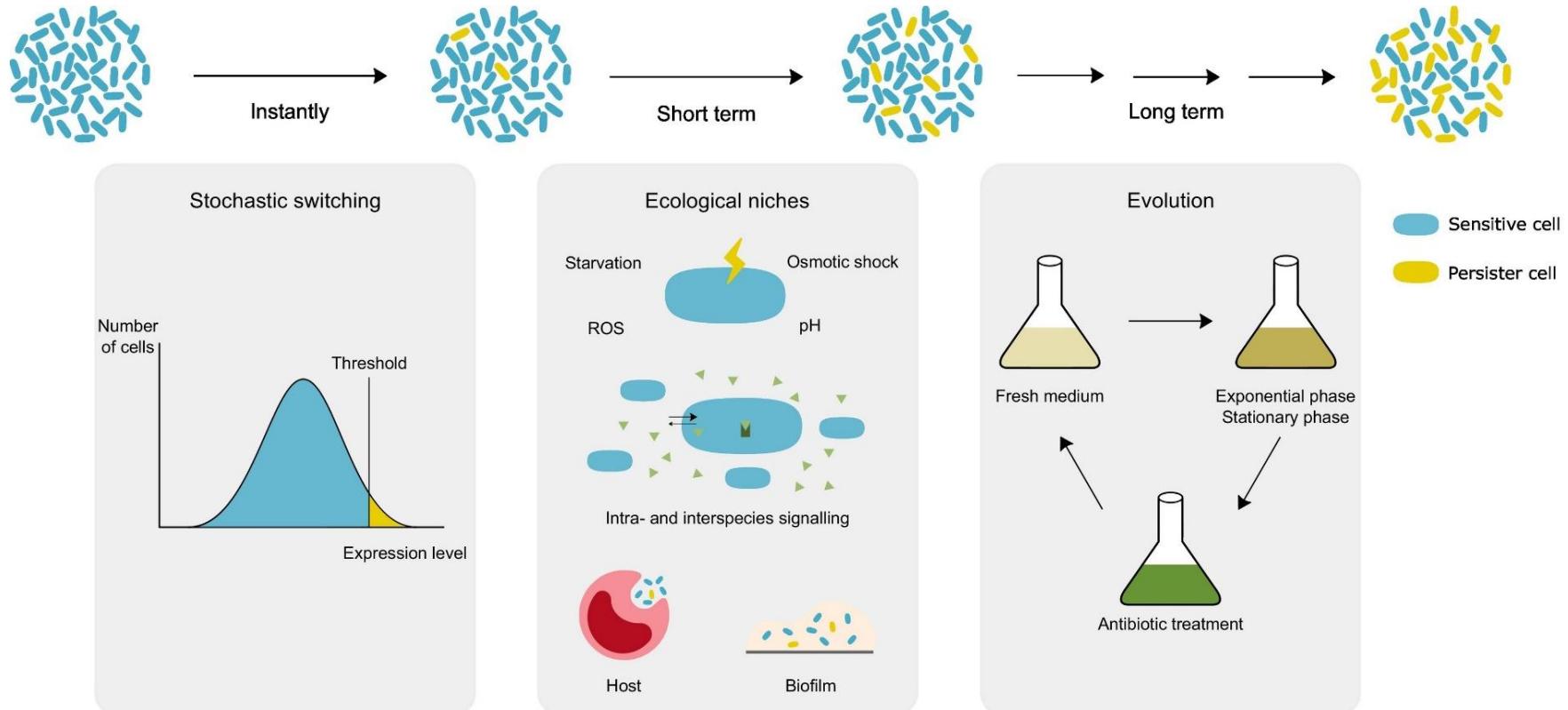
Persister :

- Favorisé par des « stress » : traitement antibiotique, oxygène, pH, stress oxydatif, système immunitaire
- Peut engendrer une présence sur le long terme (chronique, rechute...)
- 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

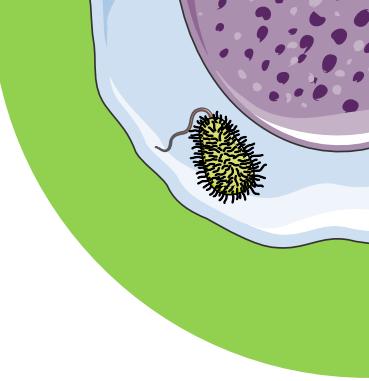


Persister :



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

Introduction

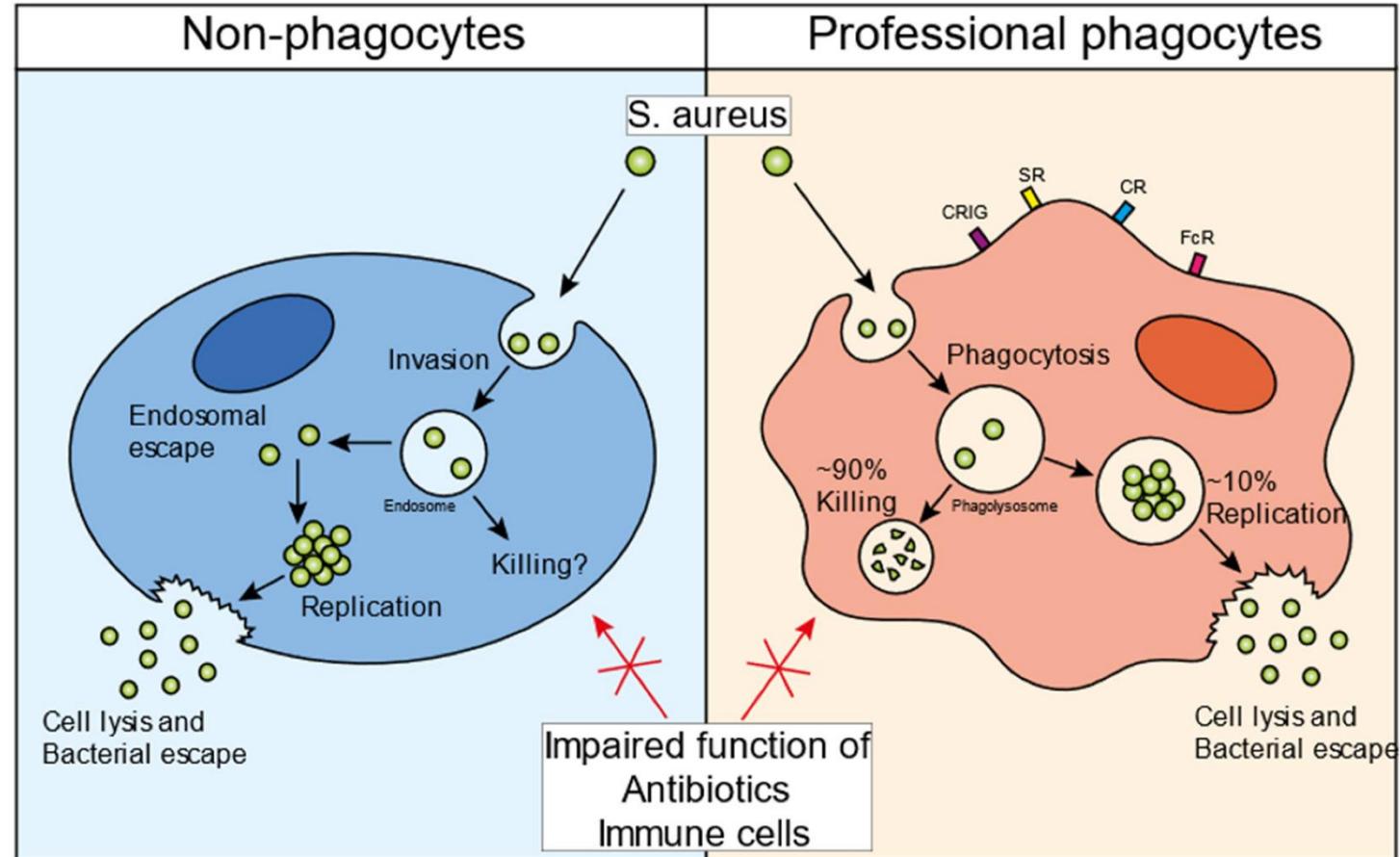


Internalisation :

- 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 !)

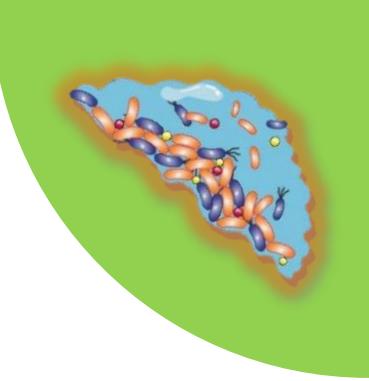
Introduction

Internalisation :



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

Introduction



Biofilm :

- Bien défini *in vitro* : bactéries adhérant à une surface, avec production d'une matrice
- Notion de cycle de vie :

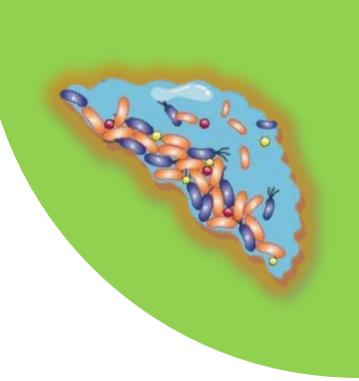
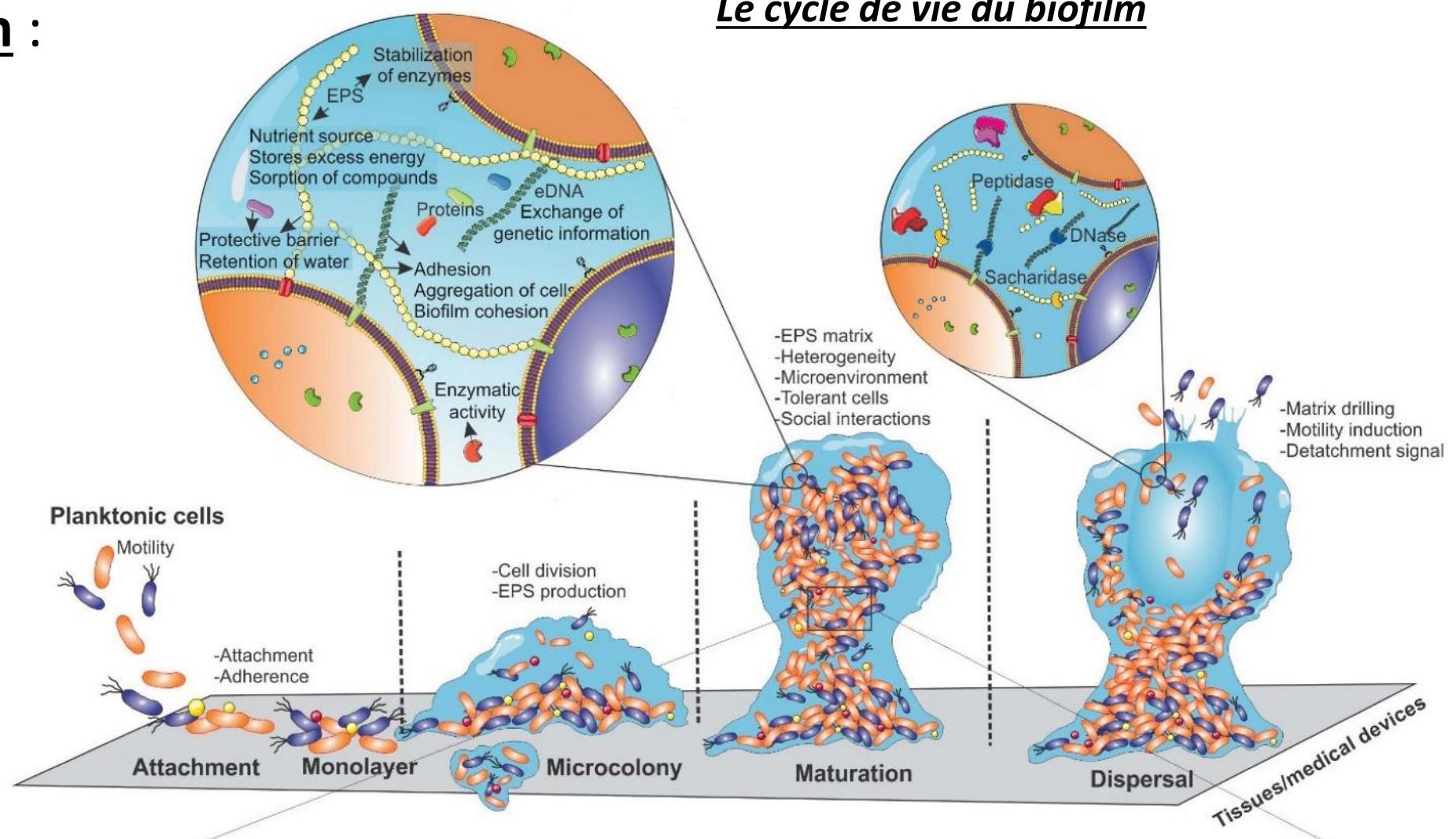
A) **Adhérence** (abiotique, biotique)

B) **Maturation** = « prolifération » des bactéries, 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

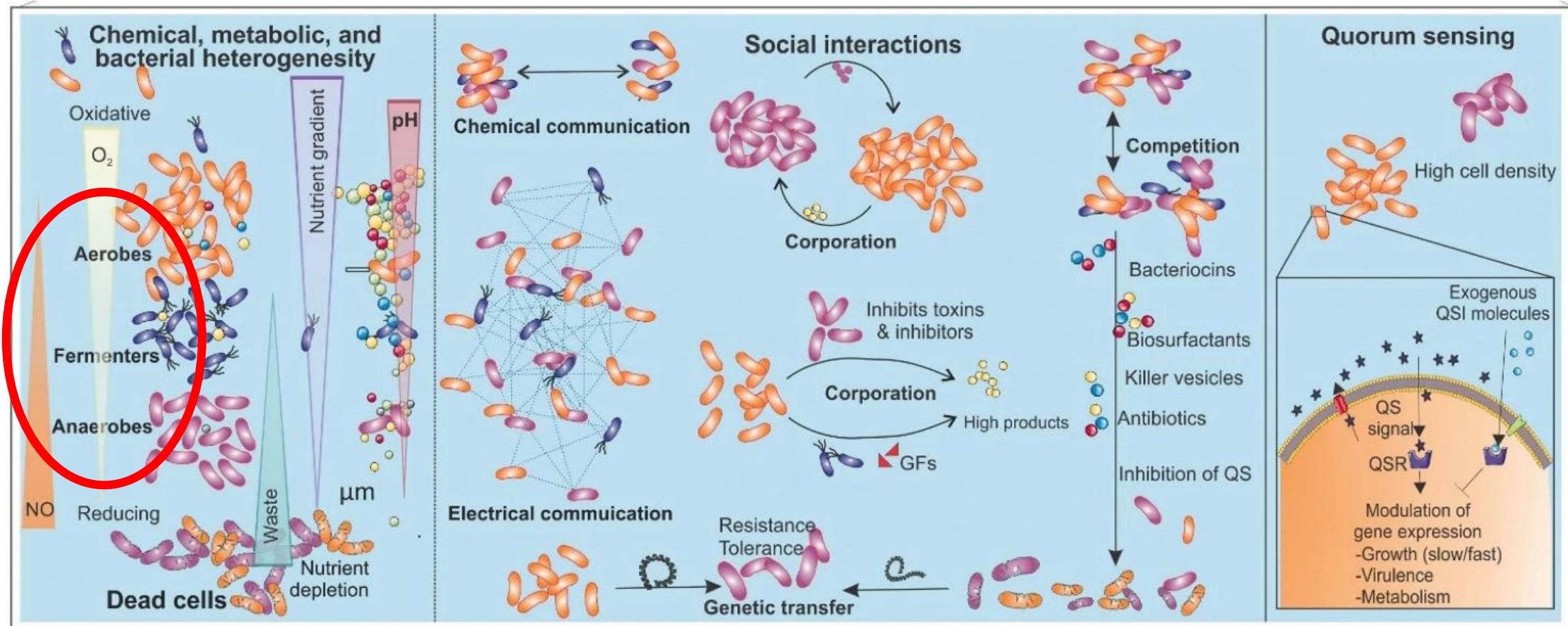
Biofilm :



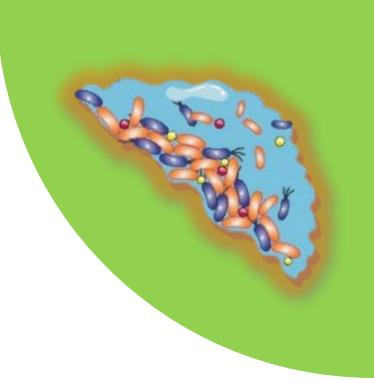
Introduction

Biofilm :

La matrice (ou mucus !) des biofilms



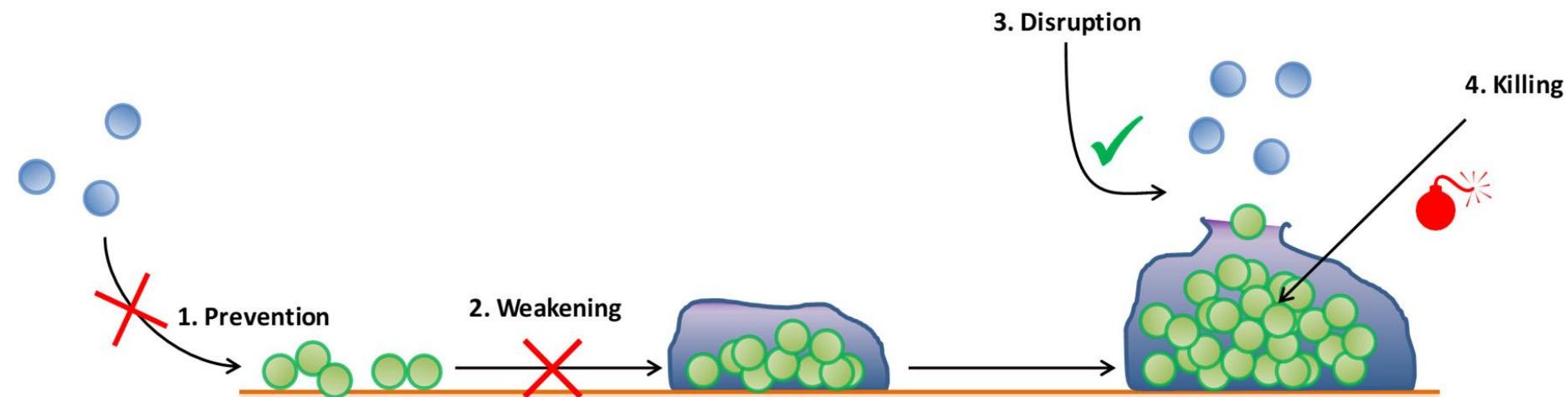
Introduction



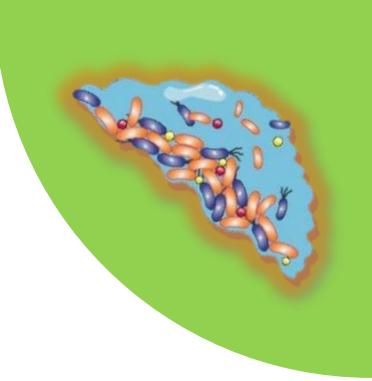
Biofilm : les niveaux de lutte

- **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



Introduction



Biofilm : problématique en santé humaine

- Notion de **tolérance** aux antibiotiques (matrice, réduction du métabolisme)
 - La sensibilité aux antibiotiques des bactéries sous forme de biofilm peut être diminuée de 1000 fois → effets secondaires !
- 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...) → et rechute/chronicité fréquente
- Le maître-mot de biofilm est « **hétérogénéité** » (spatial, temporel ; métabolique, matrice, répartition des tâches...)

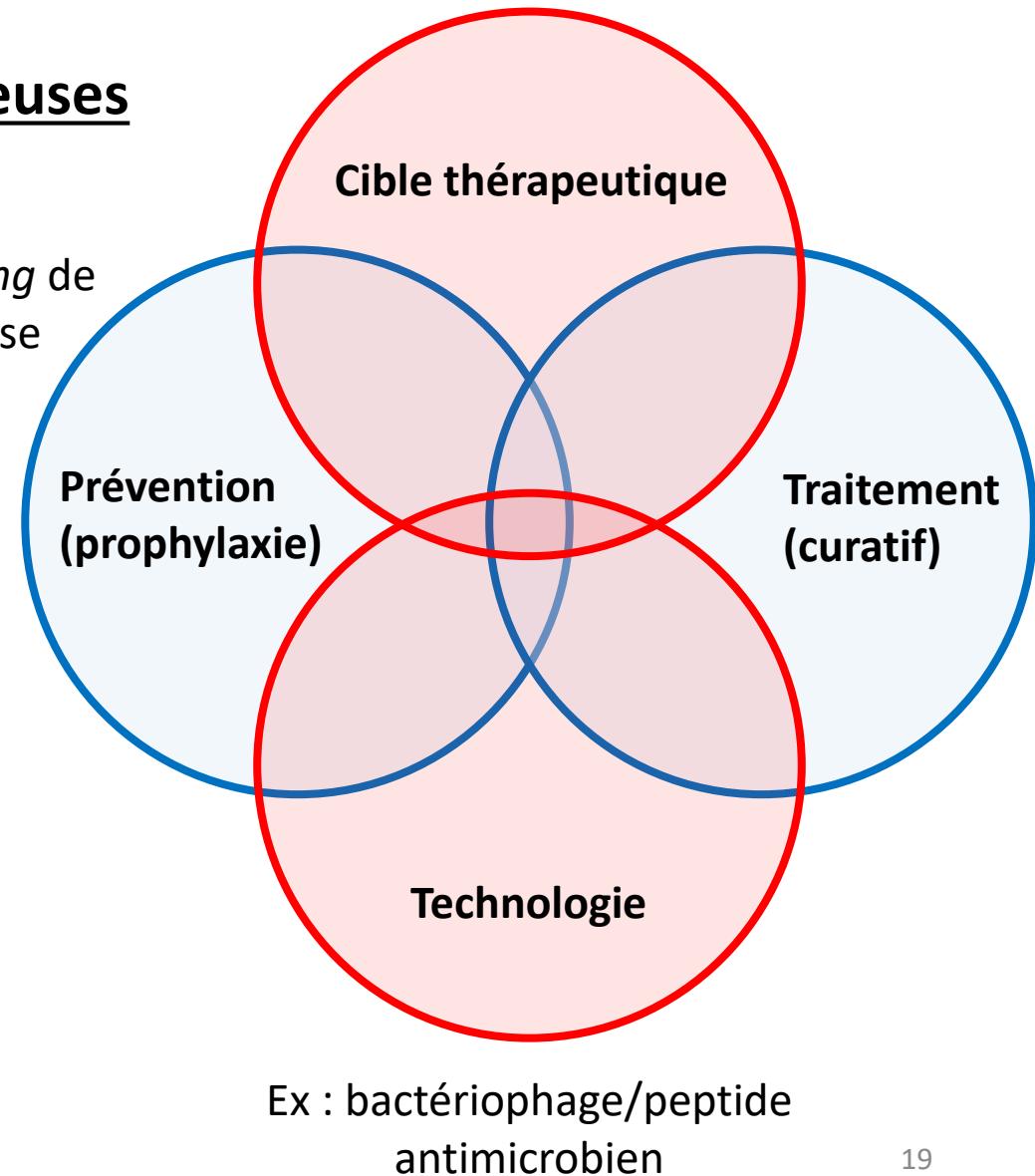
Introduction

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

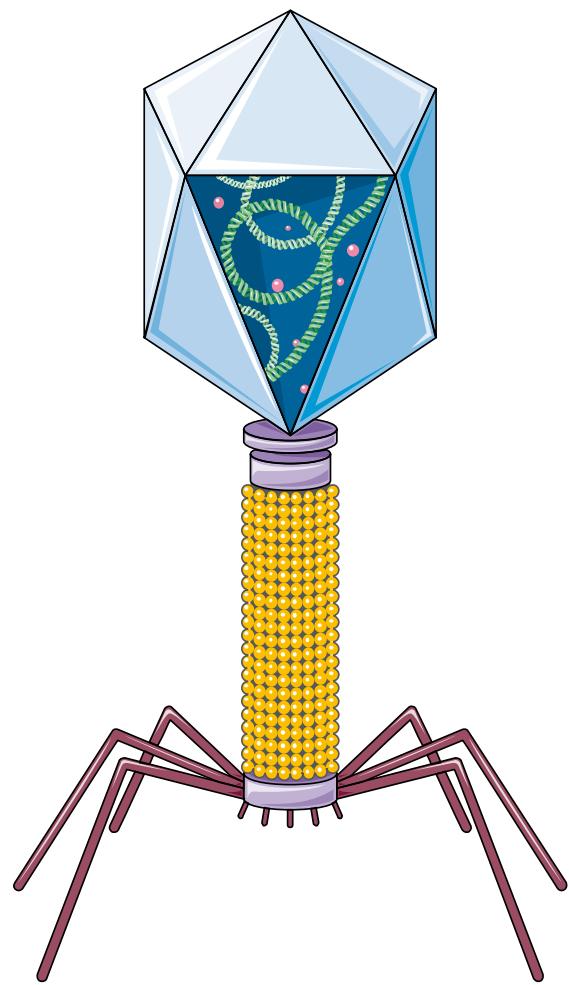


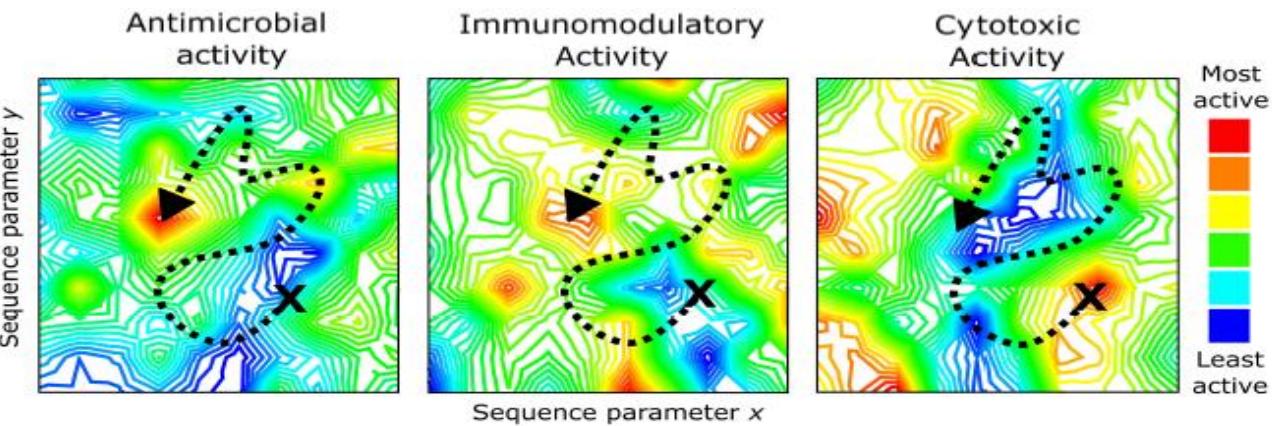
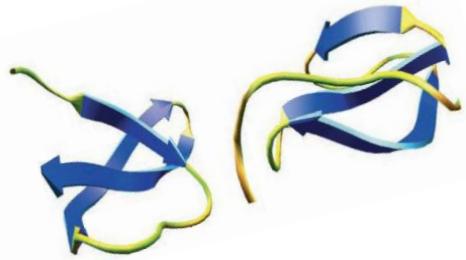
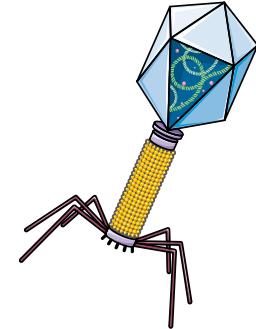
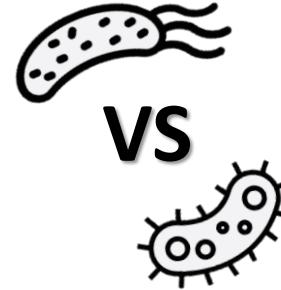
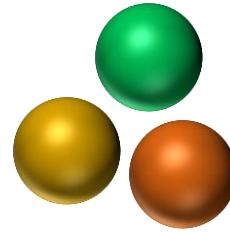
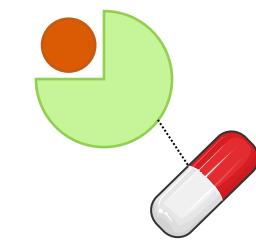
Introduction

Cas concret :

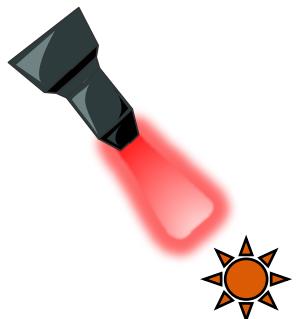
- Scénario : Infection à biofilm sur prothèse totale articulaire, bactérie multi-résistante impliquée
- Traitement « gold-standard » : antibiothérapie et chirurgie secondaire (changement de prothèse...)
 - Problème de la résistance aux antibiotiques (ou à défaut d'apparition de résistance)
 - Faire «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

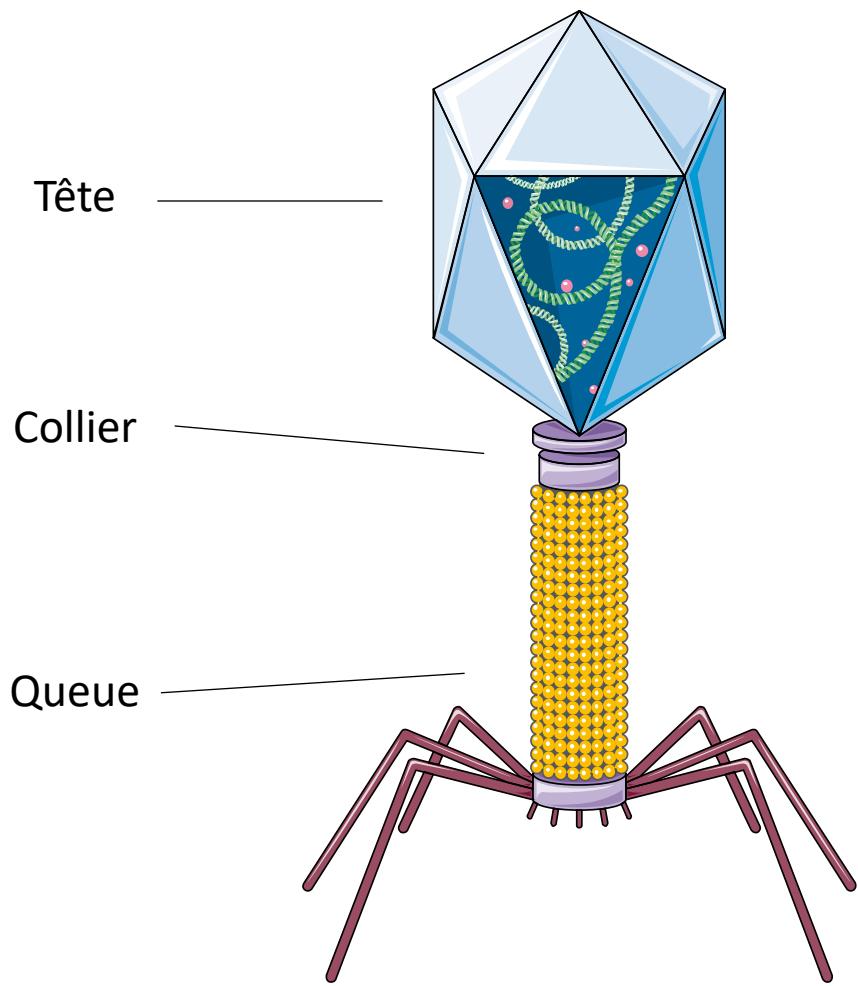
→ Quelle alternative ?





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

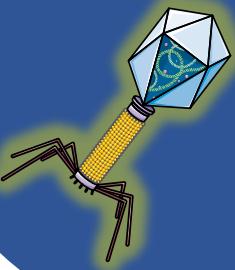




“Phages are now acknowledged as the most abundant microorganisms on the planet and are also possibly the most diversified.”

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

Les phages (ou bactériophages)

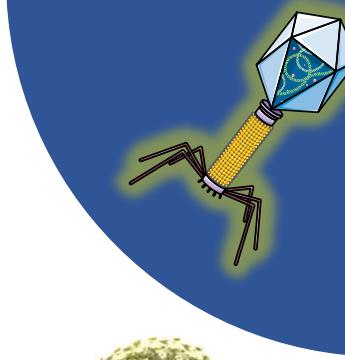


Les phages (ou bactériophages)



- Virus 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)

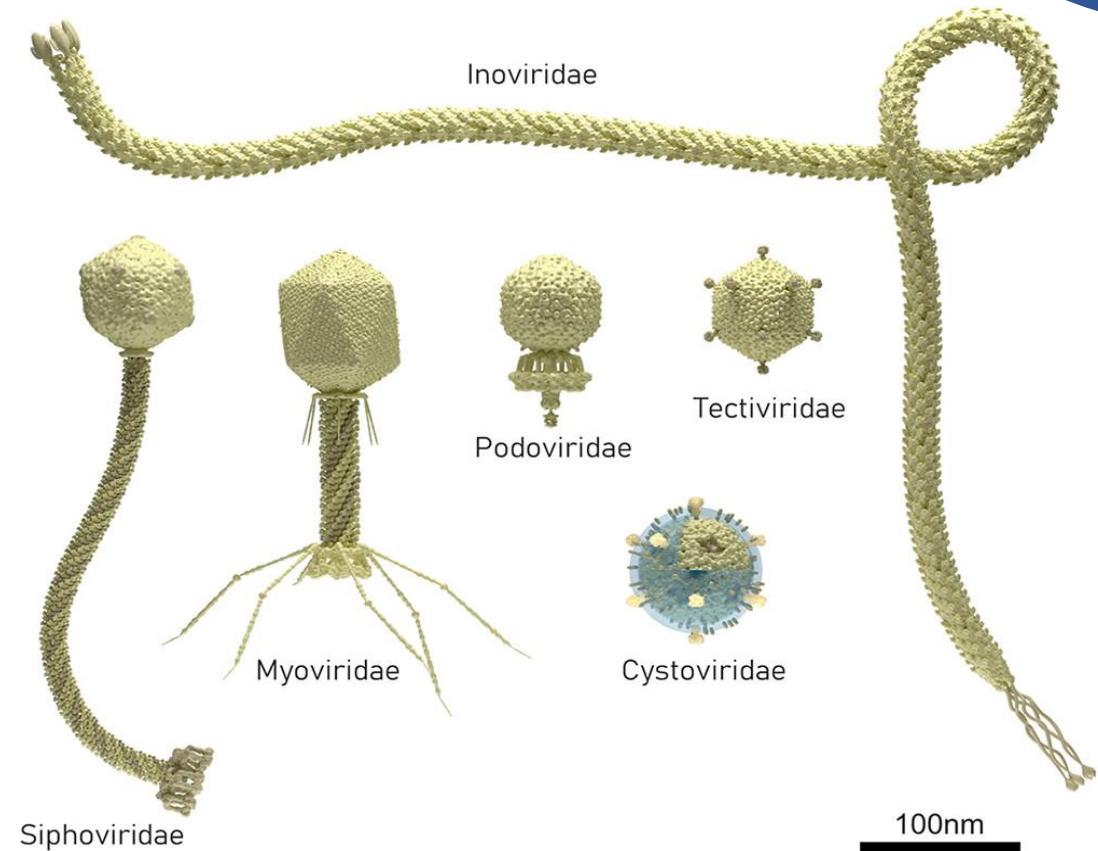


- Mode d'action :

- 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

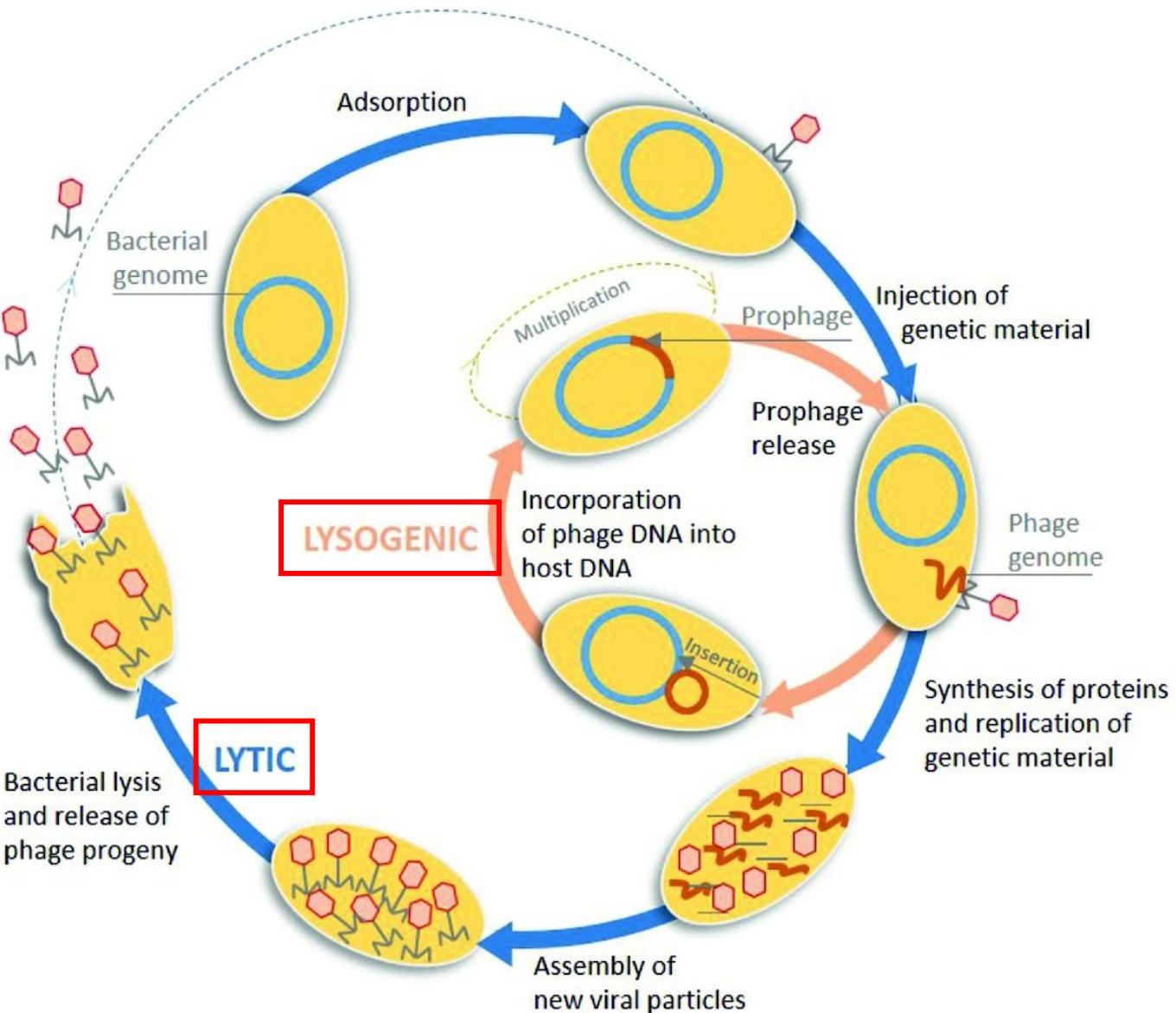
- Mode d'action bis :

- Réduit la conjugaison bactérienne = empêche le transfert de gène de résistance entre bactérie



[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 :

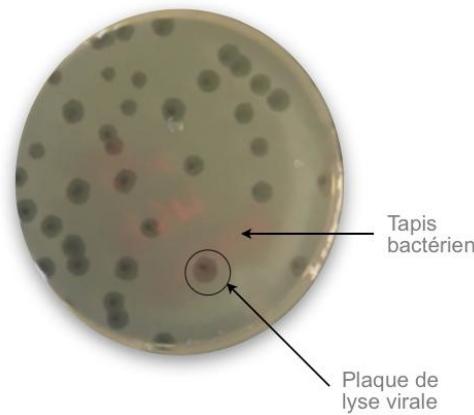
- Hautement spécifique (contrairement aux antibiotiques) d'une bactérie (Genre > espèce > souche ?) et n'affecte pas les cellules humaines
- Bonne diffusion dans les biofilms
- Indépendant du métabolisme (bactéries actives et *persisters*)
- Indépendant des conditions de l'environnement infectieux (actifs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

Les phages (ou bactériophages)

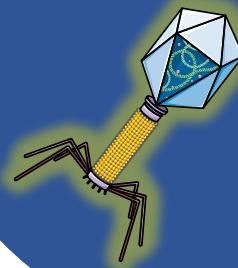
- Désavantages :

- Hautement spécifique (besoin de « cocktail »)*
- 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 ?
- Manque d'expérience : 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 ».

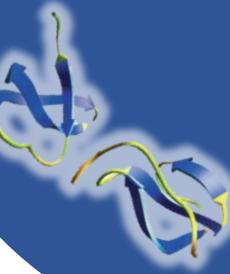
Les phages (ou bactériophages)



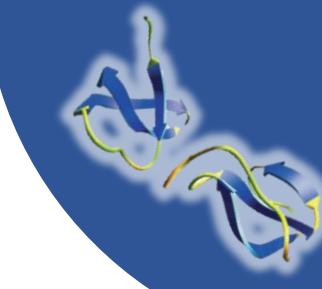
Exemple :

- 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)

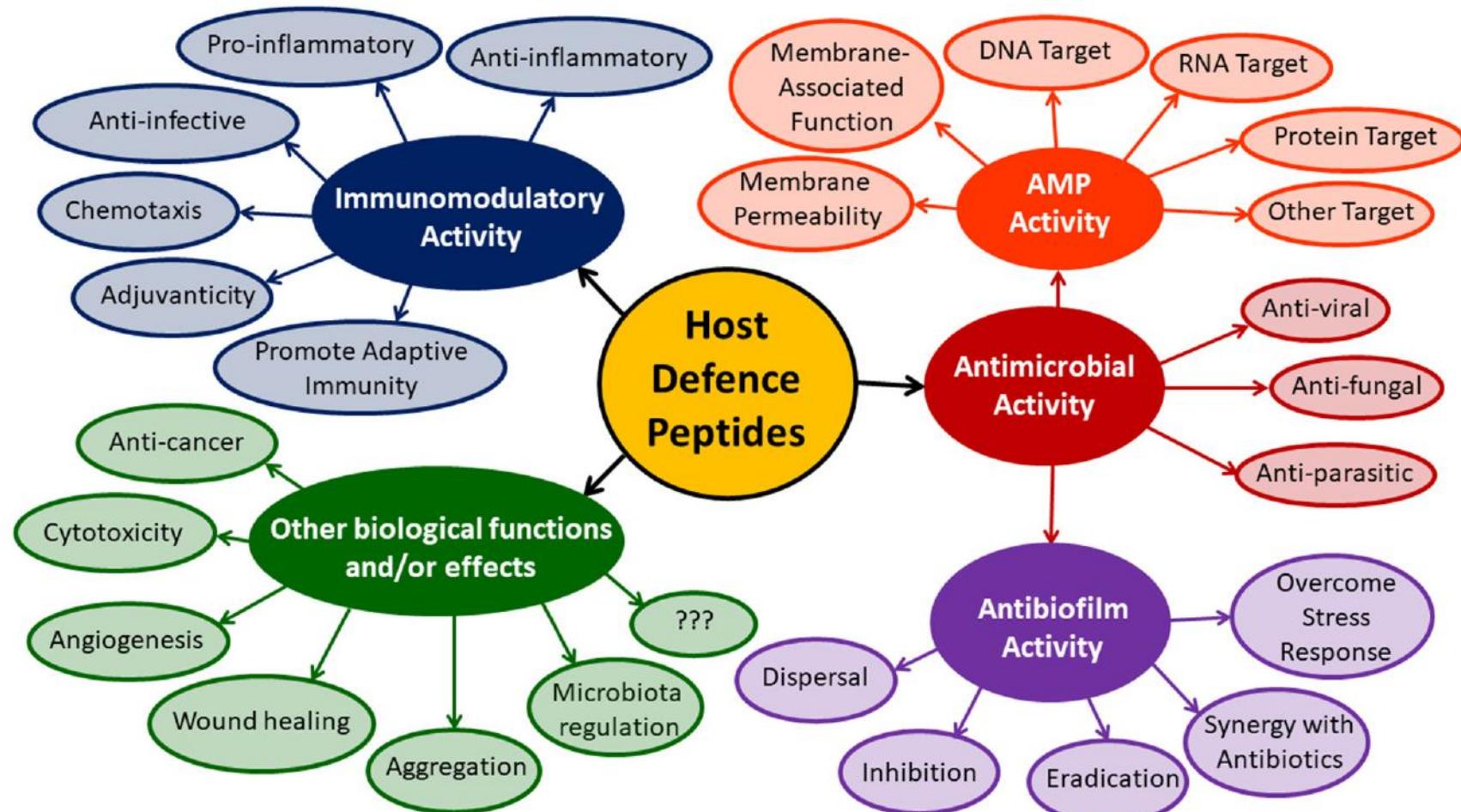
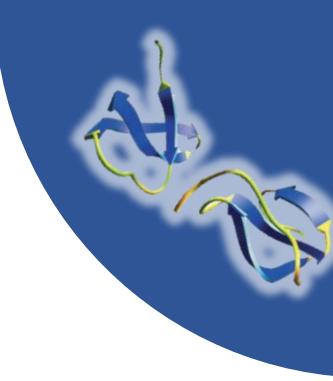


Les peptides antimicrobiens (ou peptides de défense de l'hôte)

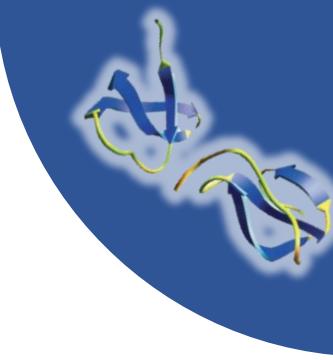


- *Antimicrobial peptides AMP / Host defense peptides HDP*
- Molécules naturelles (humains, insectes, bactéries...) ou synthétiques
- Globalement, agissent en déstabilisant l'enveloppe bactérienne mais aussi en intracellulaire (perméable)
- Chez l'humain :
 - Défensines (alpha, bêta...)
 - Cathélicidine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

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



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+}) → importance du modèle d'étude !

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

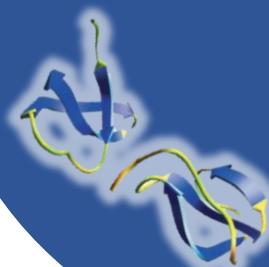
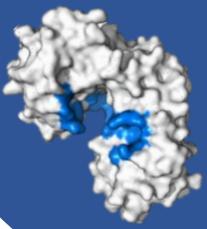


Table 1. Comparison of Conventional Antibiotics with Antimicrobial Peptides

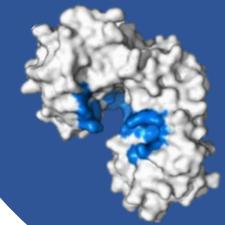
Property	Conventional Antibiotics	Antimicrobial Peptides
Mode of action	Specific mechanisms, usually act on one capital targets or class of targets (<i>e.g.</i> enzyme, ribosome), and to interact physiological functions of bacterium.	No specific mechanism, usually based on its structure and charge, which in turn facilitates membrane interactions, membrane destabilization and finally, bacterial killing.
<u>Spectrum of activity</u>	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

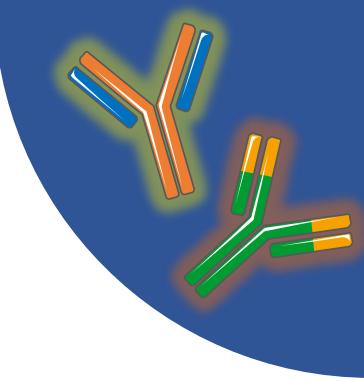


Les tentatives actuelles ne sont pas fructueuses...

- V710 de Merck
- SA4Ag de Pfizer

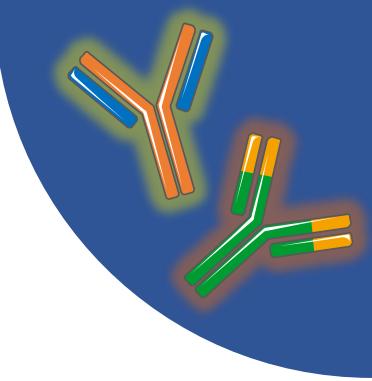
Immunomodulation/immunothérapie

Les anticorps monoclonaux



Immunomodulation/immunothérapie

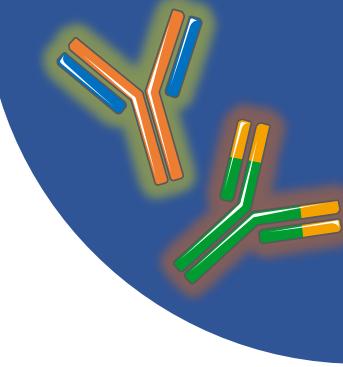
Les anticorps monoclonaux



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

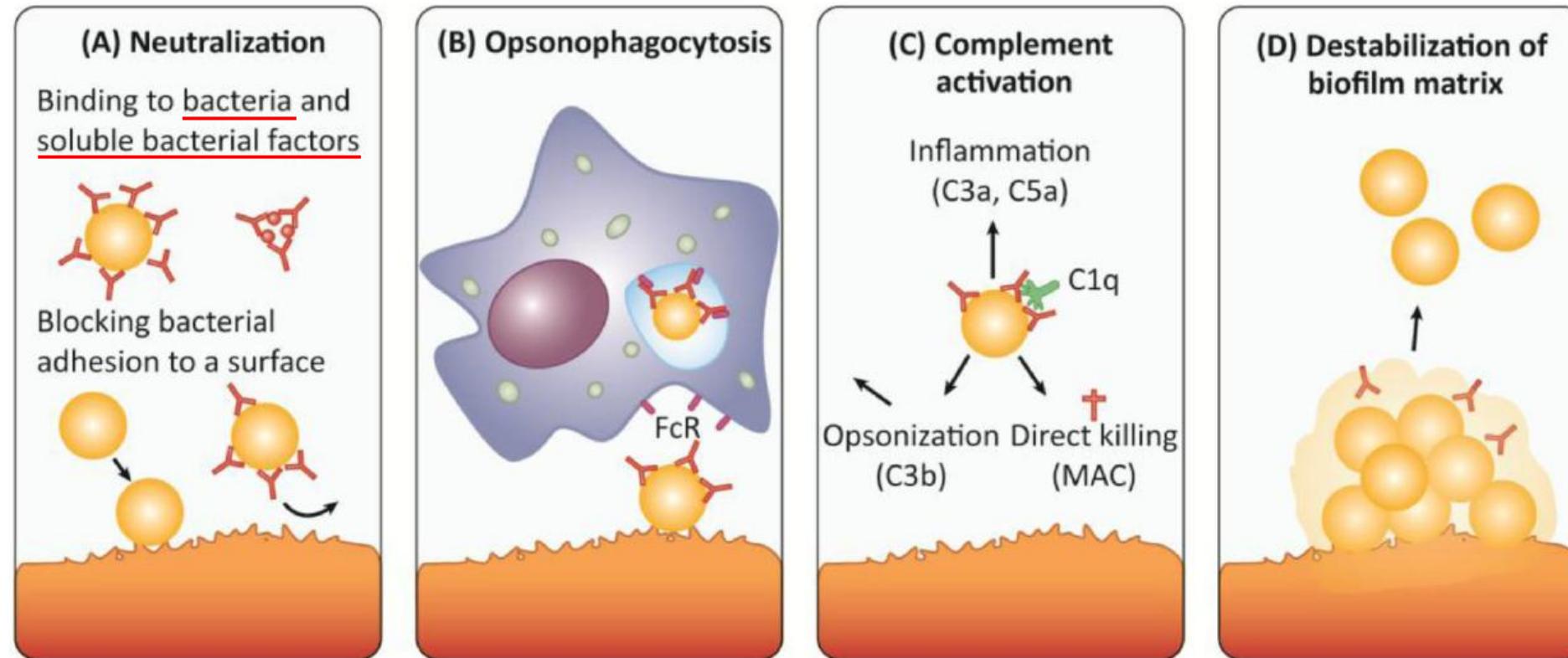
Immunomodulation/immunothérapie

Les anticorps monoclonaux



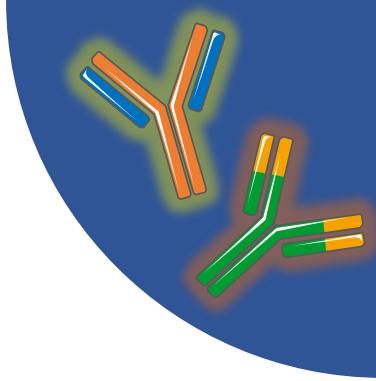
- Modes d'action

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



Immunomodulation/immunothérapie

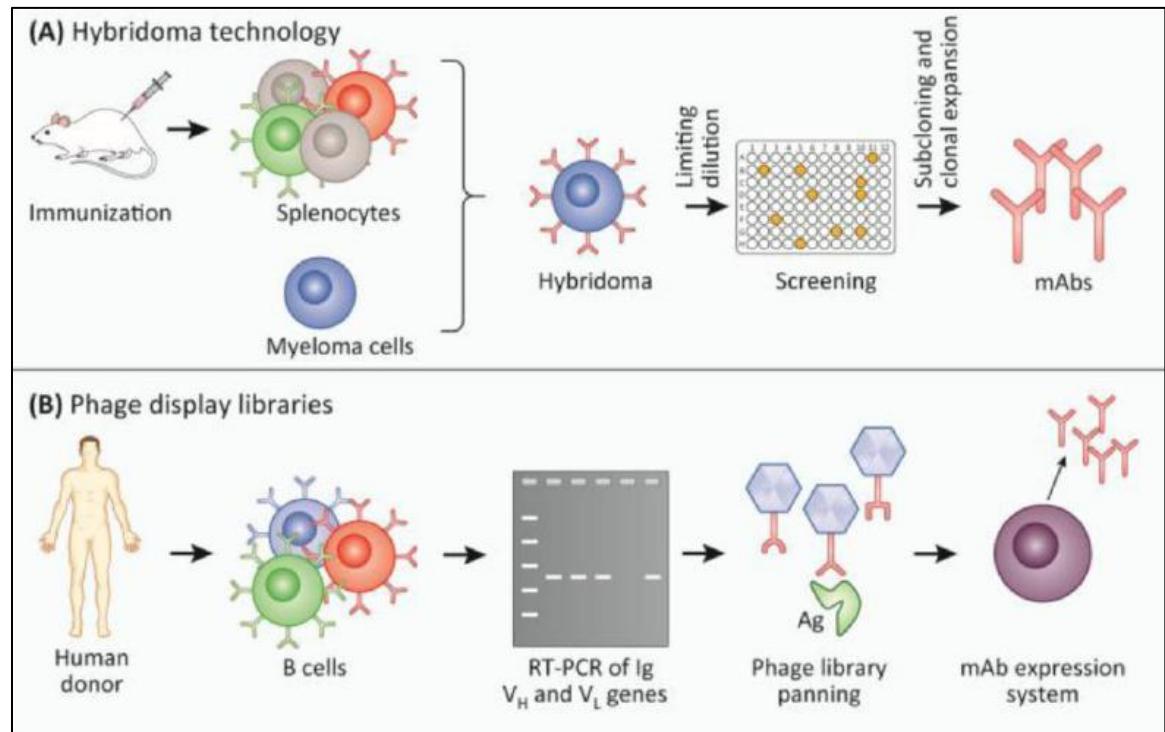
Les anticorps monoclonaux



- Modes de production 💔

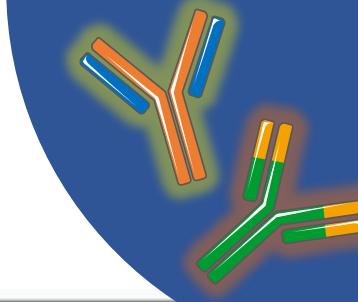
A) Les hybridomes

B) Les banques de phage



Immunomodulation/immunothérapie

Les anticorps monoclonaux

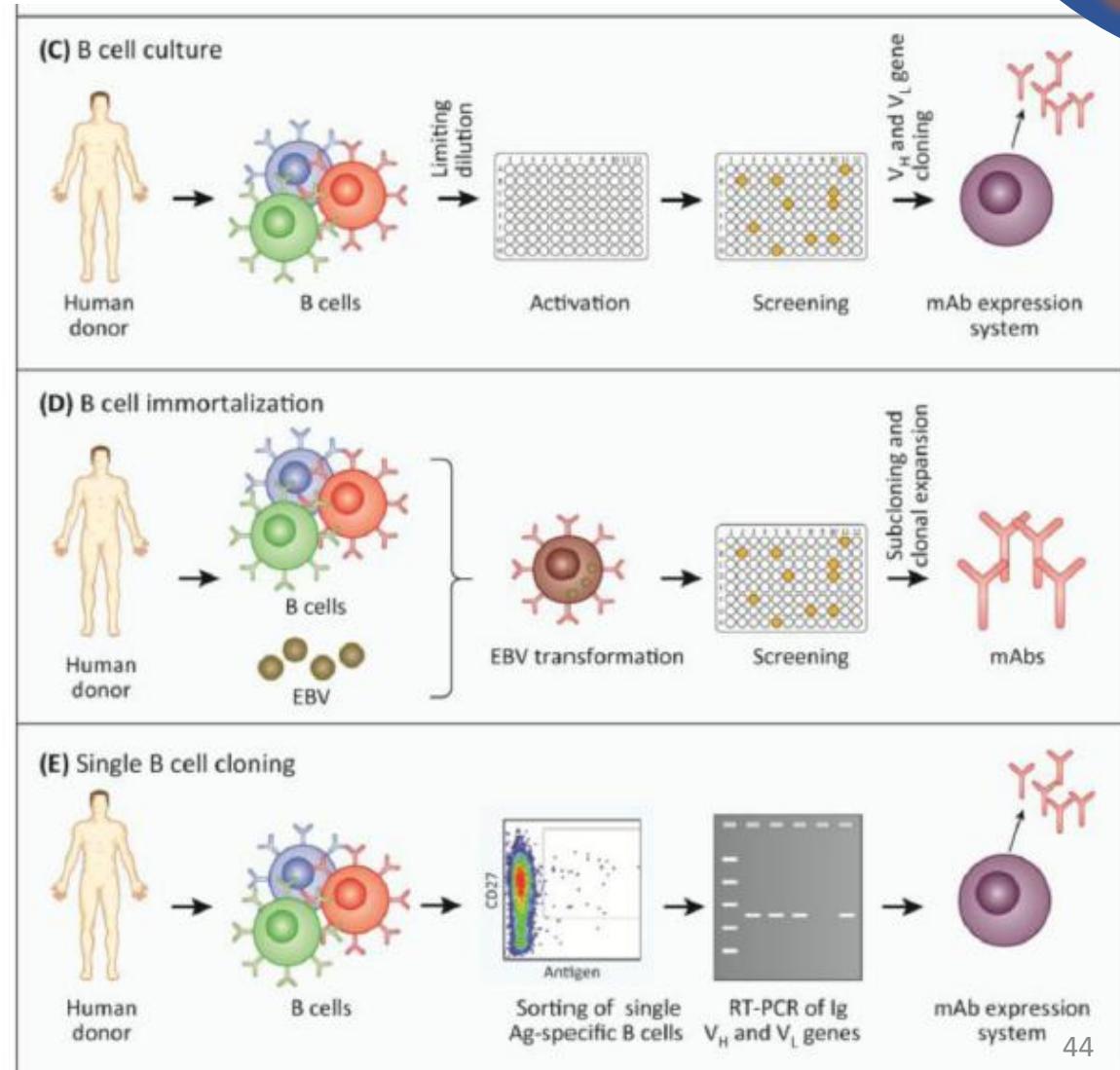


- Modes de production 💔

C) Culture de lymphocyte B

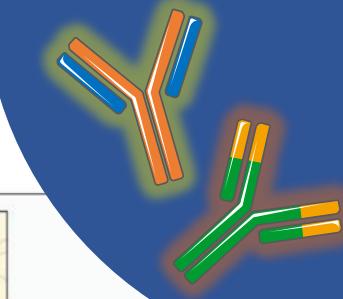
D) Immortalisation des lymphocytes B

E) Clonage de lymphocytes B



Immunomodulation/immunothérapie

Les anticorps monoclonaux



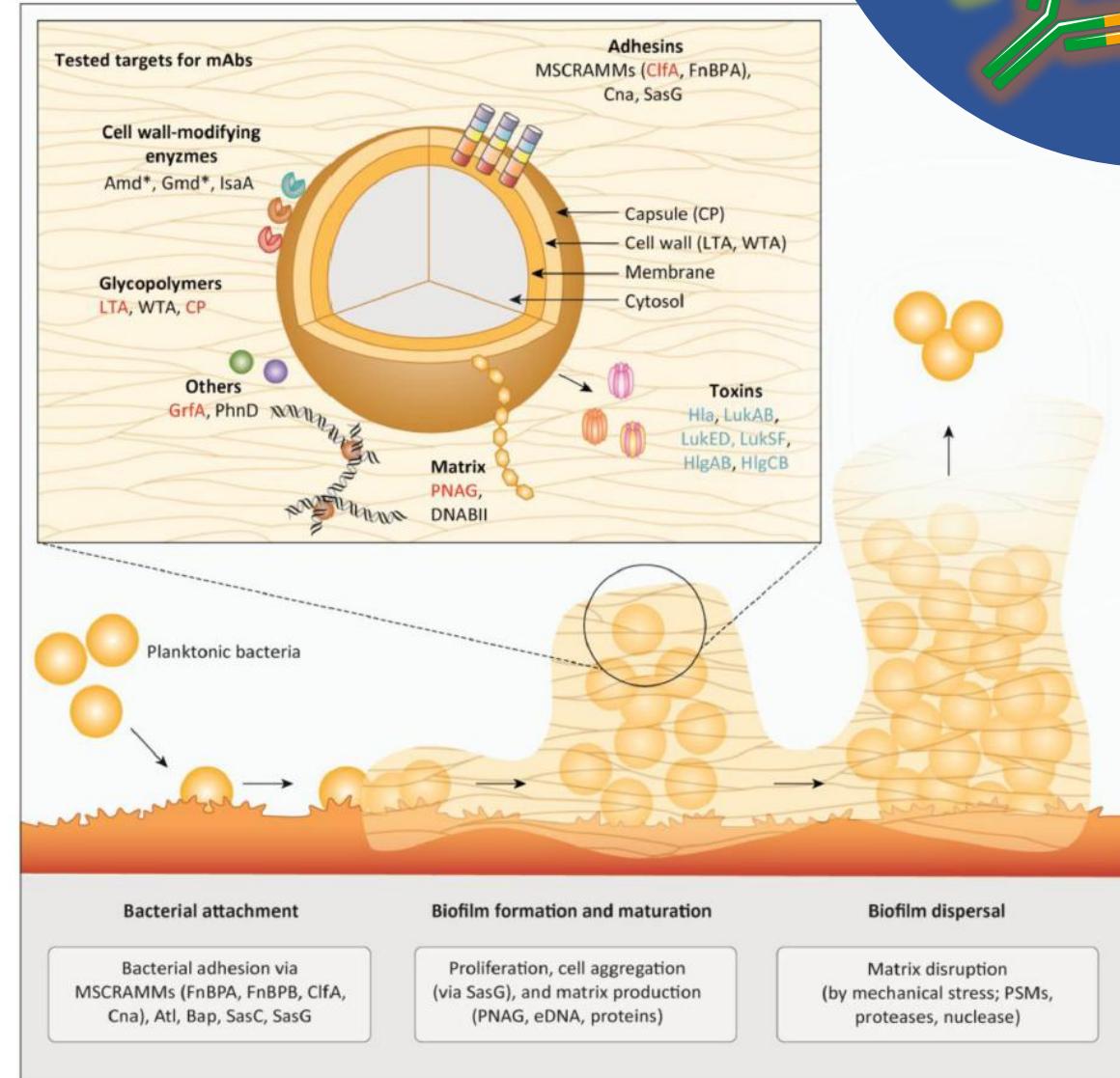
Exemples de cible (biofilm/étape) :

- **Adhérence** : MSCRAMMs (*Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecule*) & autre
- **Formation/maturation** : prolifération, regroupement des bactéries, production de matrice
- **Dispersion** : digestion de la matrice

Essai clinique abandonné

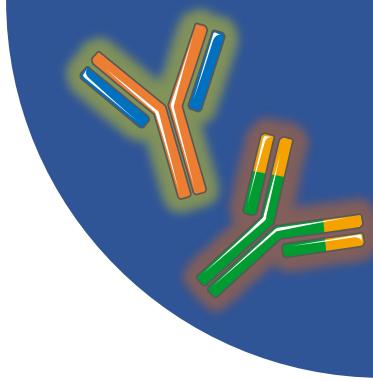
Essai clinique en cours

Étude préclinique



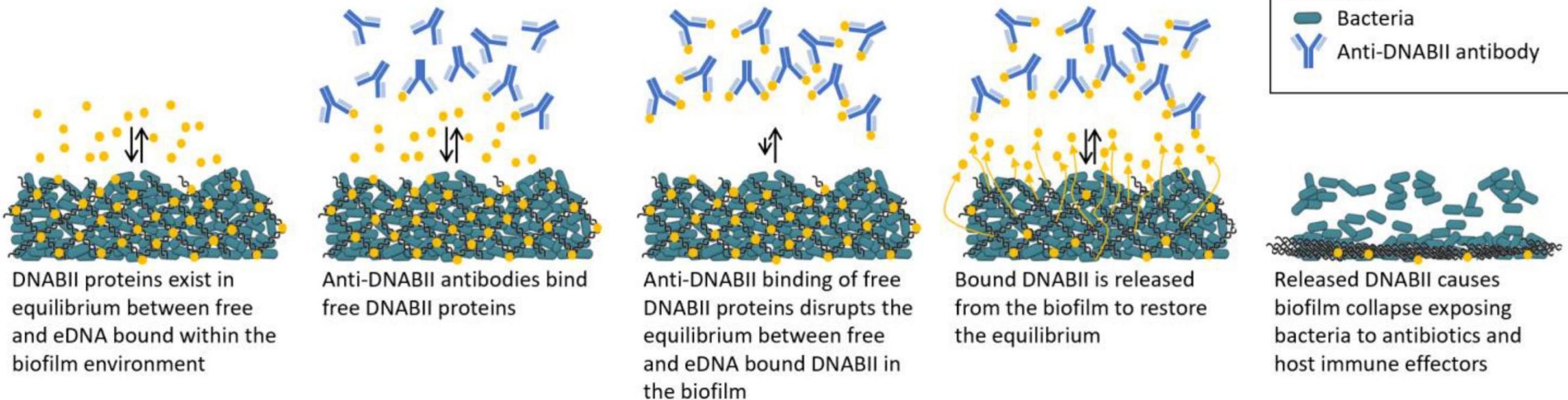
Immunomodulation/immunothérapie

Les anticorps monoclonaux



Exemples de cible (biofilm) :

- **Dispersion** : digestion de la matrice : exemple de la protéine DNABII



[Rogers et al., *Antibiotics*, 2022]

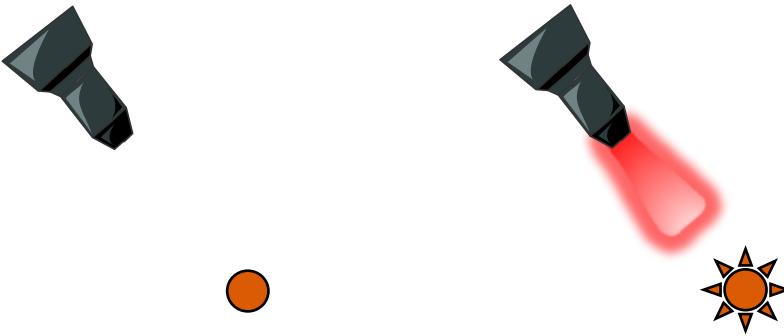
Photothérapie dynamique



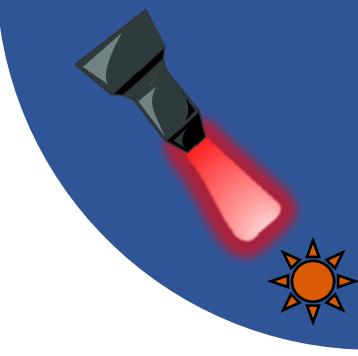
Photothérapie dynamique

- Modes d'action

- Repose sur un **photosensibilisateur** activé par une **source de lumière** (longueur d'onde particulière)
- Le **photosensibilisateur** activé va générer des **espèces réactives de l'oxygène** et des **radicaux libres** qui provoquent des dommages de l'ADN et de l'enveloppe bactérienne



Photothérapie dynamique



- Modes d'action
 - Exemple de photosensibilisateur :
 - Vert de malachite
 - Bleu de toluidine
 - Pyridil-porphine
 - ...
 - Avantages : action bactéricide rapide, cible les bactéries résistantes, théoriquement pas d'apparition de résistance, action très locale, mécanisme à cible multiple
 - Désavantage : accessibilité du site infectieux

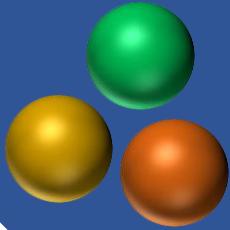
Photothérapie dynamique



- Le stress oxydant :

- Peut être résumé en un équilibre entre les **antioxydants** et les **espèces réactives de l'oxygène**
- Le paradoxe est que les **espèces réactives de l'oxygène** sont nécessaires à la signalisation cellulaire et sont aussi utilisées par le système immunitaire (contre les pathogènes), elles ont donc un rôle physiologique mais sont toxiques en trop grande quantité
- Elles sont notamment générées dans la chaîne respiratoire mitochondriale
- Exemple d'espèces réactives de l'oxygène :
 - Anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$
 - Radical hydroxyl HO^{\bullet}
 - Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) → (+ fer) radicaux libres

Nanoparticles

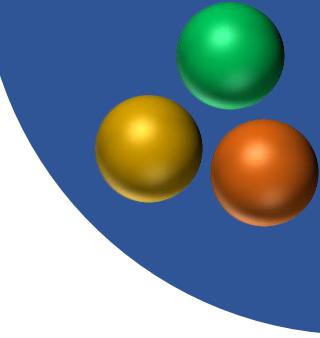


Nanoparticules

- Mode d'action :

- Les nanoparticules ont une action passive
- Elles forment des espèces réactives de l'oxygène ce qui augmente le stress oxydatif
- Exemple : argent, cuivre, oxyde de zinc
- Avantages : efficace contre les bactéries Gram+ et Gram-, effet cytotoxique faible et haute biocompatibilité, serait efficace contre les biofilms
- Peuvent être utilisées en méthode préventive en tant que *coating* sur les matériaux implantables (cathéters, prothèse en titane...), inclus dans des biomatériaux/matrices (ex : hydroxyapatite) pour les prothèses orthopédiques

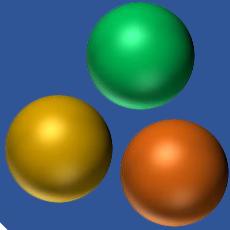
Nanoparticules



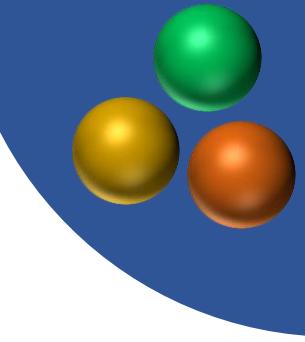
- Mode d'action :

- Il existe en réalité plusieurs types de nanoparticules (organiques, inorganiques, hybrides...)
- Une autre technologie possible est le greffage sur nanoparticules
- Utilisation aussi de nanotubes

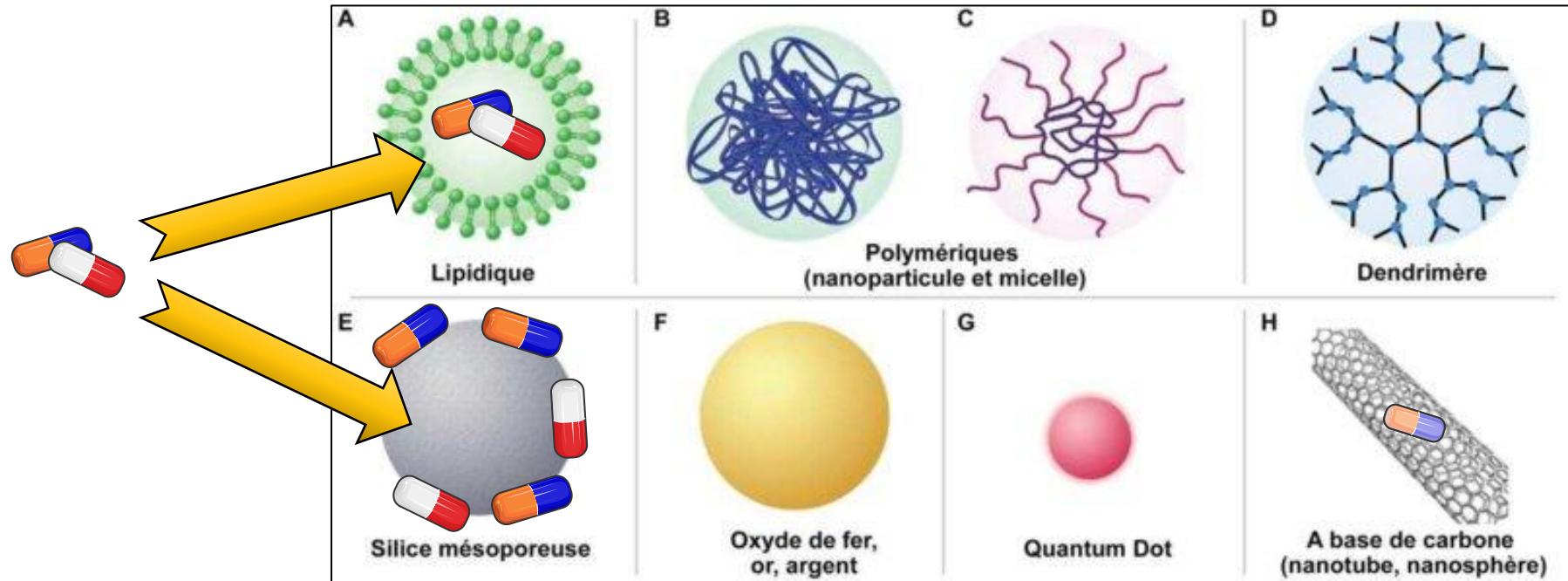
Les « vecteurs »



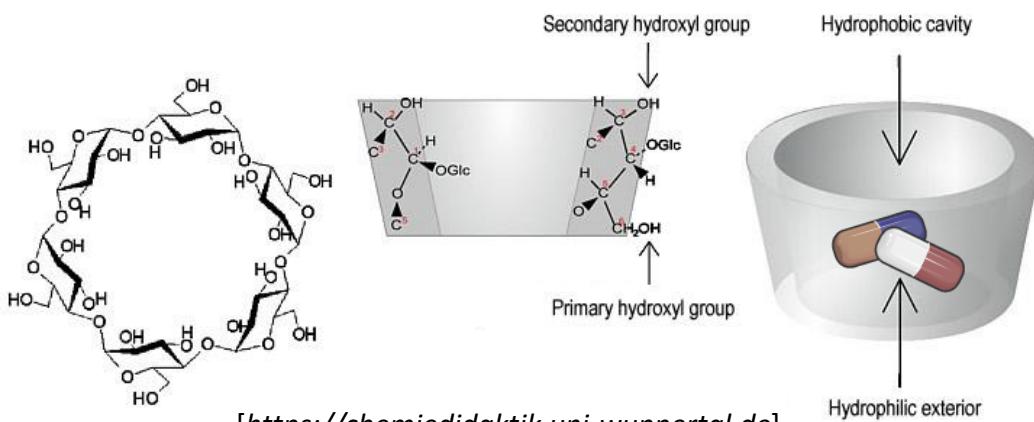
Les « vecteurs »



[adapté de Thèse de Cédric Pisani, 2017]

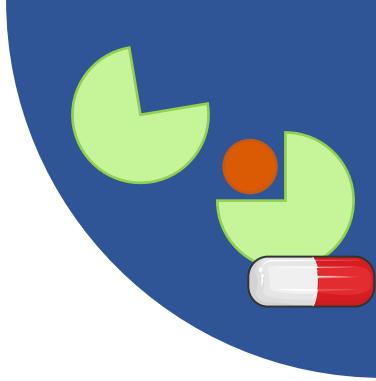


- Les vésicules
- Les hydrogels (exemple : alginate)
- Les systèmes à base de cyclodextrine :
- de phage...



<https://chemiedidaktik.uni-wuppertal.de>

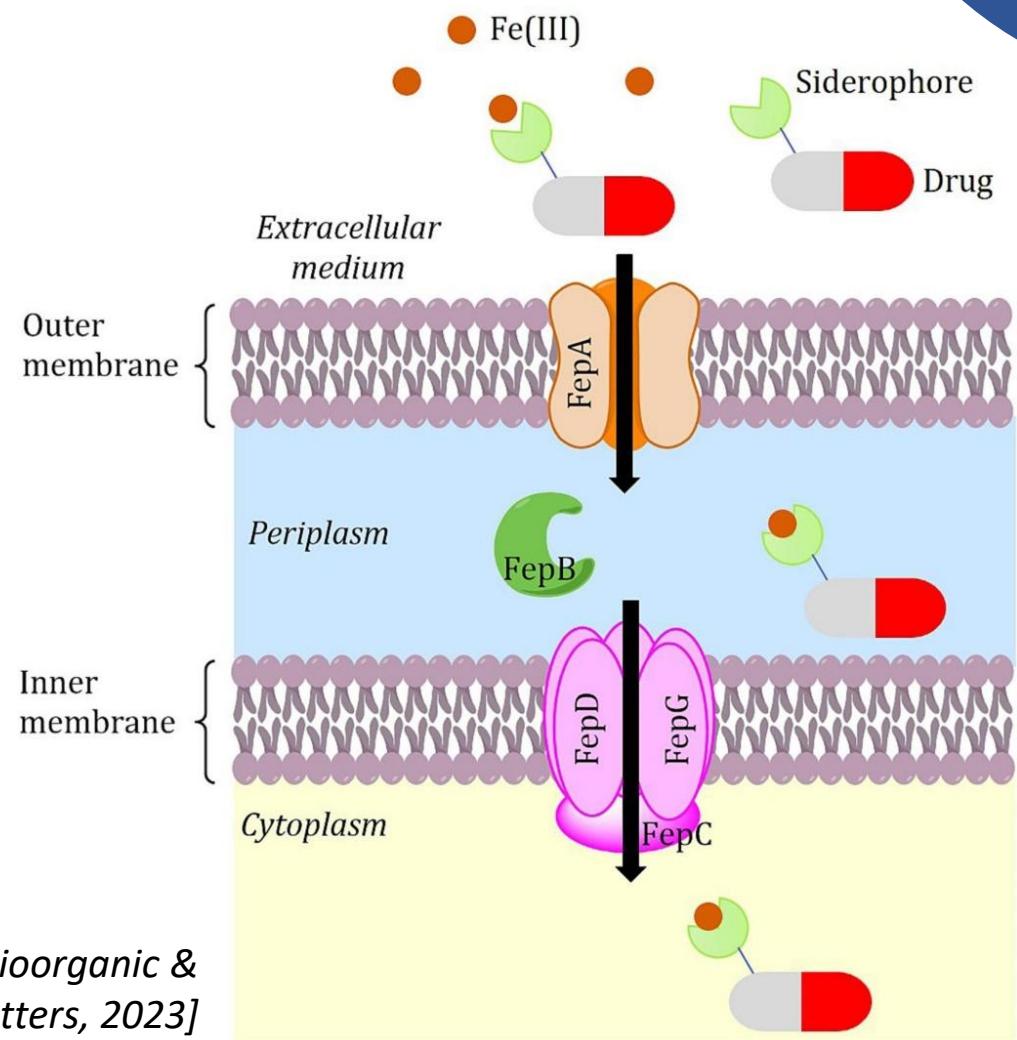
Greffé d'antibiotique sur des sidérophores



Greffé d'antibiotique sur des sidérophores

Contexte :

- Le **fer** est un élément essentiel pour les bactéries et les animaux
- Compétition pour le fer pendant les infections
- Stratégie des bactéries : *exportation de sidérophores* pour voler le fer dans l'environnement (hôte) et *importer* le complexe sidérophore+fer dans la bactérie



[Rodríguez & González-Bello, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2023]

Cibler le *quorum sensing* = *quorum quenching*



Cibler le *quorum sensing* = *quorum quenching*

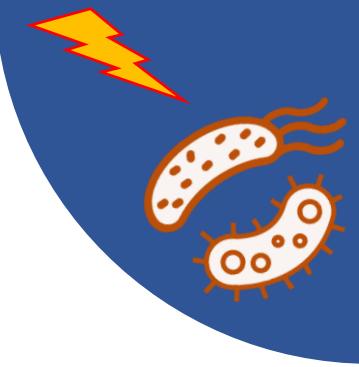


- Définition : « senseur de population » = signaux chimiques qui coordonnent des comportements à bénéfice commun au sein d'une population bactérienne
 - Système de communication qui contrôle la production de nutriments, de facteur de virulence et la formation de biofilm chez les agents pathogènes (ou la bioluminescence des bactéries marines etc...)

→ Comprendre ce langage bactérien et en identifier les acteurs a un intérêt thérapeutique évident = *quorum quenching*

- Modes d'action :
 - 1) Inhibition des synthases des molécules de signalisation extracellulaire
 - 2) Dégradation enzymatique de ces molécules
 - 3) Antagonisme des récepteurs de ces molécules
 - 4) Leurrer les bactéries ?

Cibler la virulence



Cibler la virulence



- Le *quorum sensing* fait partie des facteurs de virulence des bactéries
- D'autres facteurs peuvent être ciblés :
 - ADN/protéines/polysaccharides extracellulaires, adhésines, toxines, two-component systems, le programme biofilm...
- Il est supposé que cibler la **virulence** plutôt que la **viabilité** soit une approche thérapeutique prometteuse dans les années à venir
- Appelé « next generation antimicrobials »

Bactéries versus bactéries

