

« Antibiotiques, antibiorésistance et environnement : des raisons d'espérer »

Séance thématique penta-académique

**Avec la participation
de l'Académie d'Agriculture de France,
de l'Académie Nationale de Chirurgie Dentaire
de l'Académie nationale de médecine
de l'Académie nationale de Pharmacie
de l'Académie Vétérinaire de France**

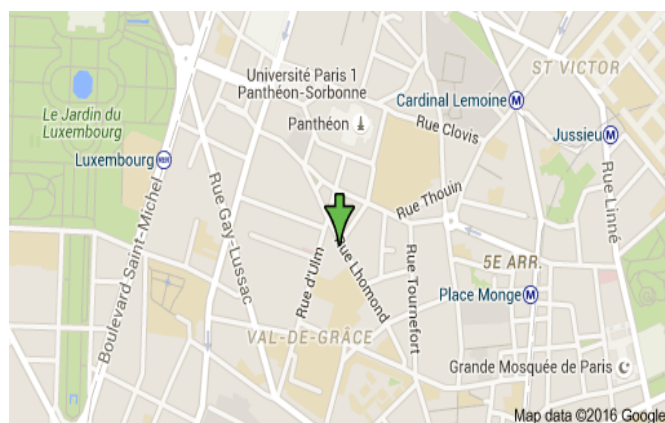
Sous *le Haut-Patronage* de Madame la Ministre de l'Environnement, de l'Énergie et de la Mer, Ségolène ROYAL
Sous *le Haut-Patronage* de Madame la Ministre des Affaires Sociales et de la Santé, Marisol TOURAINE
Sous *le Haut-Patronage* de Monsieur le Ministre de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la forêt, Stéphane LE FOLL
Sous *le Haut-Patronage* de Monsieur le Secrétaire d'État pour l'Enseignement et la Recherche, Thierry MANDON

Mercredi 15 juin 2016 à 9h00

Institut Curie, Paris

12 rue Lhomond 75005

| | |
|---------|--|
| RER B | (arrêt Luxembourg) |
| Métro | ligne 10 (Cardinal Lemoine) ; ligne 7 (Place Monge) |
| Autobus | lignes 21, 27(Saint-Jacques-Gay-Lussac), 84, 89 (Mairie du 5 ^e -Panthéon) |
| Parking | Rue Soufflot |



PROGRAMME

Matinée

- **Accueil** à partir de 8h30
- 9h00-9h15 : **Discours introductif de Claude MONNERET au nom des cinq Académies**
- 9h15-9h30 : **Ouverture par Christian BRUN-BUISSON, Délégué interministériel à l'Antibiorésistance**

1^{ÈRE} SESSION

ANTIBIORÉSISTANCE ET ENVIRONNEMENT

Modérateurs : Pierre BÉGUÉ (Anm) et Arlette LAVAL (AAF)

- 9h30-9h50 : **Fabienne PETIT**
« Vulnérabilité des environnements aquatiques à la contamination par des bactéries antibiorésistantes »

Tirés à part, disponibles sur la table d'accueil

La contamination des eaux par les antibiotiques et les bactéries antibiorésistantes est une problématique d'écologie et de santé publique. Un des enjeux majeurs des prochaines décennies sera d'évaluer la vulnérabilité microbiologique mais aussi la capacité de résilience des eaux à la contamination des germes fécaux qui, dans les pays industrialisés s'accompagne d'une contamination par des molécules médicamenteuses, à commencer par les antibiotiques, prescrites en médecine humaine ou vétérinaire. Dans ce contexte, il est important d'étudier finement la relation entre la prescription en antibiotiques, l'occurrence de bactéries antibiorésistantes (*Escherichia coli*, *Enterococcus*) et de molécules antibiotiques dans l'eau, à l'échelle d'un continuum entre un site très contaminé, à savoir un centre hospitalier – station de traitement des eaux usées – rivière. Dans une étude récente, les résultats montrent que dans l'eau les antibiotiques les plus persistants sont présents, et qu'il n'existe pas de relation avec les résistances aux antibiotiques des souches isolées dans ce même environnement. Alors que les pénicillines sont majoritairement prescrites, seuls les antibiotiques les plus stables sont détectés (fluoroquinolones, sulfamides, macrolides), mais leurs concentrations restent trop faibles, de l'ordre du ng/L pour exercer une pression de sélection sur les microorganismes. Le long du continuum, le nombre de souches hospitalières porteuses de supports génétiques impliqués dans l'antibiorésistance (intégrons de classe 1 chez *E. coli*, gène *erm(B)* et complexe clonal CC17 chez *E. faecium*) décroît le long du continuum au profit de souches mieux adaptées à l'environnement. Les estuaires constituent un milieu particulier, dont les sédiments sont exposés de façon chronique à de multiples contaminants chimiques, dont les antibiotiques, auxquels s'ajoutent des apports en bactéries résistantes. Ce sont, de ce fait, des environnements vulnérables, d'autant plus qu'ils sont proches des sources de contamination (STEP, rejet hospitalier, rejet industriel ou pisciculture). L'enrichissement du résistome bactérien des sédiments en gènes de résistance dans un environnement où des concentrations subinhibitrices en antibiotiques pourraient être atteintes rend ce compartiment propice à la dissémination de gènes de résistance au sein des communautés microbiennes.

- 9h50-10h10 : **Christophe DAGOT**
« Évaluation d'activités anthropiques sur la dissémination de l'antibiorésistance dans l'environnement » UMR Inserm 1092, Université de Limoges, 87000 Limoges

L'antibiothérapie a permis de faire grandement reculer la mortalité liée aux maladies infectieuses bactériennes et à contribuer à la préservation de la santé. La face négative de ce progrès sanitaire est l'apparition croissante de bactéries résistances et multirésistantes du fait d'une utilisation massive et

répétée de ces molécules. Les conséquences de cette (multi) résistance sont considérées comme dramatiques aussi bien d'un point de vue médical (baisse de l'efficacité de l'antibiothérapie, augmentation de la mortalité), qu'économique (cout des soins et de la recherche) et social (inégalité nord/sud). L'analyse globale des flux de médicaments, dont les antibiotiques et des résistances susceptibles d'y être liés, de leur production jusqu'au rejet dans les matrices environnementales, montrent la complexité actuelle du système de dissémination liée à l'activité humaine : production industrielle, centre de soins, activité vétérinaire, élevage, ...). Cela soulève de nombreuses questions méthodologiques pour arriver à une analyse systémique de cette problématique dont l'issue doit être une capacité à définir une analyse des risques rigoureuse aboutissant à la mise en place de mesures (multiples) de préservation de la qualité des soins et de la santé.

Ainsi la lutte contre l'antibiorésistance se décloisonne pour appréhender le problème et les solutions dans leur globalité, associant différentes spécialités : médicales, hospitalières, environnementales, biologie moléculaire et bioinformatiques, procédés, spécialistes du risques, mais aussi sociologues, parties prenantes, décideurs. De nouveaux outils ont été développés issus des avancés et des baisses des coûts en biologie moléculaire permettant une exploitation (très) fine des bactéries, des gènes, de leur expressions, de leur transfert.

Le modèle intégrons fait partie de ces nouveaux outils, présentant l'avantage d'être, dans une première analyse, une sorte d'indicateur de résistance et de tracer de manière quantitative une dissémination globale de résistance dans le tissus urbains et les matrices environnementales. Ainsi le suivi des intégrons de résistance de classe 1, 2 et 3 (IMR) a été mené sur le site Pilote de SIPIBEL, sur différents établissements de soin à l'échelle européenne, sur des technologies de traitement avancé, sur le milieu naturel, dans des sols.

Les résultats, présentés, ont montré une concentration élevée et la diversité des micro-organismes dans des échantillons des effluents hospitalier, avec une prévalence élevée d'IMR et une omniprésence de ces éléments avec une prévalence élevée dans les eaux usées.

La standardisation des méthodes d'évaluation, l'importance des bilans quantitatifs et qualitatifs, la compréhension des mécanismes d'expression et de transmission des gènes dans les systèmes anthropisés, l'exploitation des résultats en terme d'évaluation des risques, l'importance du quadrillage du territoire, voire des pays, en site pilote afin de récolter des données en terme d'observatoire, sont autant de pistes indispensables à la connaissance et la maîtrise de mécanismes de résistances. 10h10-

10h10 - 10h20 : **Questions sur les deux exposés**

Pause-café : 25 mn

2^{ÈME} SESSION

ANTIBIOTIQUES ET RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DANS LES EFFLUENTS D'ÉLEVAGES

Modérateurs : Pierre BÉGUÉ (Anm) et Arlette LAVAL (AAF)

- 10h55-11h15 : **Isabelle KEMPF, ANSES** (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et de la santé au travail) - Laboratoire de Ploufragan
« Présence des bactéries résistantes et gènes de résistance dans les effluents d'élevage »

Les animaux peuvent être porteurs de bactéries pathogènes, zoonotiques (*Salmonella*, *Campylobacter*...) ou commensales (*Escherichia coli*, *Enterococcus*...) résistantes aux antibiotiques. Le microbiote intestinal joue vraisemblablement un rôle majeur dans la dissémination de l'antibiorésistance de l'animal vers l'environnement. En effet, les matières fécales contiennent les bactéries résistantes, les gènes de résistance et leurs supports génétiques (plasmides par exemple) ainsi que parfois des antibiotiques ou leur résidus. Ces matières fécales peuvent être épandues dans l'environnement soit directement (pâturages, épandages sans stockage) ou après stockage, compostage ou autres traitements des fumiers et lisiers. Au cours de l'exposé, nous décrivons la sélection, la diffusion et la persistance des bactéries résistantes dans la flore intestinale des animaux de rente, ainsi que la prévalence en France ou en Europe des résistances les plus préoccupantes pour la santé publique ou vétérinaire. Quelques données préliminaires concernant l'utilisation des antibiotiques en pisciculture

et l'antibiorésistance dans l'environnement aquatique en France seront également présentées. La réduction de l'utilisation des antibiotiques chez l'animal couplée à des méthodes adaptées de traitement des effluents d'élevage doivent permettre de réduire la diffusion de l'antibiorésistance vers l'environnement.

- 11h15-11h35 : **Dominique PATUREAU**, *Directeur de recherche, Laboratoire de Biotechnologie de l'environnement, INRA LBE*
« Présence des antibiotiques dans les effluents d'élevage et leur devenir au cours du compostage et de la méthanisation »

Les effluents d'élevage sont reconnus pour contenir de nombreux antibiotiques. Y sont quantifiées les 4 grandes catégories d'antibiotiques, macrolides, fluoroquinolones, sulfamides et tétracyclines dans des gammes allant du µg au g/kg de matière sèche. Cette forte dispersion des données est liée aux usages très variables d'un pays à l'autre. L'essentiel des données concerne les effluents porcins, bovins et avicoles. La plupart des études porte sur la quantification des antibiotiques dans ces effluents traités ou non et rares sont celles qui étudient leur devenir au cours des traitements, voir même pendant leur stockage. Dans ces études sur le devenir, souvent réalisées en laboratoire, les antibiotiques sont ajoutés dans les effluents (parfois à des teneurs très élevées) afin de tester à la fois l'effet des antibiotiques sur les procédés et l'effet des procédés sur le devenir des molécules. Cependant, la façon de quantifier les pertes au cours des procédés n'est pas uniforme d'un article à l'autre (abattement en concentration par litre ou par kg de matière sèche ne tenant pas compte de l'évolution de cette dernière, considération de la teneur dans la phase aqueuse et non phases aqueuse et particulaire) rendant les comparaisons difficiles. Aussi une disparition des molécules cache une diversité de mécanismes peu souvent identifiés ; en effet ces molécules peuvent être minéralisée ou simplement transformées en métabolites (parfois identifiés) mais aussi certaines molécules peuvent formées des résidus liés les rendant inextractibles ; ainsi les pertes quantifiées sont des pertes apparentes. Ainsi, la digestion anaérobie permet des abattements très variables de 0 à 100% dépendant des molécules tandis que le compostage (avec ses conditions aérobies couplées à des températures thermophiles) semble être plus efficace à réduire la concentration en antibiotiques extractibles.

- 11h35-11h55 : **Anne-Marie POURCHER**, Irstea, UR OPAALE, 17, avenue de Cucillé- 35044 RENNES Cedex
« Devenir des bactéries résistantes et gènes de résistance au cours du compostage et de la méthanisation »

Les lisiers, les fumiers et les litières des animaux d'élevage sont le plus souvent stockés avant épandage. Ils peuvent également être traités afin d'améliorer leur capacité amendante (compostage) ou pour produire de l'énergie (méthanisation). Parce qu'ils combinent une forte densité bactérienne et des concentrations en antibiotiques susceptibles d'induire une résistance, les effluents d'élevages représentent des environnements favorables au maintien et à la dissémination des gènes de résistance. Leur stockage n'impacte pas ou peu les teneurs en gènes de résistance aux antibiotiques. Grâce à l'augmentation significative de la température, le compostage paraît plus efficace que le simple stockage pour réduire les teneurs en gènes de résistance. Cependant, les résultats des études divergent selon les gènes ciblés et le compostage ne conduit pas systématiquement à une diminution des gènes de résistance aux antibiotiques. Il a été observé un faible impact de la digestion anaérobie mésophile sur l'antibiorésistance mais, en raison du manque de données disponibles, de la complexité des facteurs intervenant dans la méthanisation et de la variabilité des conditions d'expérimentation, il est difficile d'estimer clairement l'impact de ce procédé. Il ressort néanmoins des études que le mode de gestion de la méthanisation (thermophile vs mésophile, charge organique, ...) joue un rôle sur la diminution des teneurs en bactéries résistantes.

11h55-12h15 : **Questions sur les trois exposés**

Déjeuner libre 12h15 à 14h00

- « Les pistes pour contourner l'antibiothérapie »

- 14h00- 14h15 : **Arlette LAVAL** Professeur émérite à ONIRIS, Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes Atlantique, membre correspondant national de l'Académie d'Agriculture de France

« *Ne plus utiliser d'antibiotiques en médecine vétérinaire ? Une spirale vertueuse !* »

La maîtrise de l'antibiorésistance en médecine vétérinaire passe par la réduction de leur usage et l'optimisation des méthodes de traitement. La mise en place du plan Ecoantibio 2017 par le Ministère de l'Agriculture, qui prévoit une réduction de leur usage de 25% en 5 ans donne des résultats très encourageants. Comment expliquer l'instauration de cette « spirale vertueuse » ?

La volonté publique est importante en toile de fond mais elle n'aurait pas suffi si les éleveurs et les vétérinaires n'avaient pas adhéré à la démarche. Sachant que la réduction de la résistance suit la réduction des consommations, l'idée générale est de réduire les quantités consommées, tout en appliquant de bonnes pratiques thérapeutiques car il est hors de question de laisser les animaux malades sans traitement.

Dans les faits, tout a débuté avec l'abandon des antibiotiques facteurs de croissance, définitif au 1er janvier 2006. Le dernier rapport de l'ANSES préconise la fin de leur usage à titre strictement préventif, en particulier sous forme d'aliments médicamenteux, pour les remplacer par des traitements individuels ou des traitements collectifs courts, administrés dans l'eau de boisson. La démarche est d'ores et déjà engagée. Les antibiotiques critiques ne peuvent plus être utilisés que dans des conditions strictes qui vont considérablement réduire leur utilisation.

Dans les élevages contaminés, les produits pouvant être utilisés comme une « alternative aux antibiotiques » associés à des mesures diététiques qui ne cessent de s'améliorer, constituent aussi une approche intéressante. Surtout, le contrôle des infections doit faire une large part à la vaccination. L'histoire des infections récentes bactériennes et virales montrent que lorsque les vaccins sont efficaces et correctement utilisés, ils permettent de réduire considérablement le recours aux antibiotiques.

Une meilleure gestion zootechnique et sanitaire des élevages permet aussi de réduire les conséquences des infections latentes inévitables après quelques années d'existence : pratique de la bande unique dans les filières qui le permettent (porcs, volailles, lapins, veau de boucherie), quarantaine stricte, maîtrise de la ventilation, de la densité, des conditions d'alimentation, prévention des stress de toute nature. Une bonne gestion de la circulation des animaux (biosécurité interne) évite que les animaux les plus âgés, potentiellement infectés, ne contaminent les sujets les plus jeunes, plus vulnérables.

La solution la plus élégante consiste sans nul doute en un dépeuplement total du troupeau contaminé, en repeuplant avec des reproducteurs indemnes de contaminations, puis en les entretenant dans de strictes conditions de biosécurité pour éviter la réintroduction des agents pathogènes à partir des vecteurs animés (reproducteurs, visiteurs y compris les techniciens et vétérinaires) et des intrants de toute nature qui doivent tous être strictement tracés et contrôlés.

Enfin, la sélection de lignées d'animaux génétiquement résistants aux agents pathogènes les plus répandus représente aussi une voie d'avenir prometteuse.

La pérennité des résultats nécessite un suivi rigoureux des autorités de tutelle en particulier sous forme de contrôle du respect des obligations réglementaires. En effet on ne peut ignorer la menace d'effets pervers potentiellement dangereux. Par ailleurs, ces mesures sont coûteuses et dans des conditions économiques difficiles, elles risquent de ne plus être appliquées.

- 14h15-14h30 : **Olivier PATEY**, Maladies infectieuses et tropicales, CHI Lucie et Raymond Aubrac, Villeneuve Saint Georges

« *Place de la phagothérapie dans le traitement des infections bactériennes* »

La phagothérapie est le traitement des infections bactériennes par des virus naturels, les bactériophages ou phages.

Leur action lytique sur les bactéries est connue depuis la fin du 19^{ème} siècle et ils ont été utilisés chez l'homme pour la première fois dès 1919 par Félix d'Hérelle pour traiter des dysenteries bacillaires chez l'enfant, à l'hôpital des enfants malades à Paris. Depuis cette date, ils ont été largement utilisés à travers le monde, pour laisser la place, avec l'arrivée de la pénicilline G, aux antibiotiques qui ont pris leur place dans les pays de l'Ouest. Ils ont continué à être employés en URSS.

Ces phages lytiques sont spécifiques d'espèce, voire de souche, ce qui impose un diagnostic microbiologique pour une utilisation optimale. Ils existent actuellement sous forme monovalent, spécifiques d'une bactérie, ou polyvalent, soit d'espèce (cocktail de phages antistaphylocoques par exemple) soit actifs sur de nombreuses espèces bactériennes (intestiphage pour les infections digestives).

Leur action est indépendante du profil de résistance aux antibiotiques. Ainsi les cocktails antistaphylococciques commercialisés sont actifs sur plus de 90 % des souches de *Staphylococcus aureus*, quelle que soit sa résistance aux antibiotiques. Son action lytique est extrêmement rapide. Cette action est complétée par une action anti-biofilm grâce à des enzymes lytiques que produisent les phages, détruisant le biofilm et empêchant sa formation. Les bactéries sont ainsi libérées et à la merci des antibiotiques et des phages. Il existe ainsi une action synergique de ces deux agents antibactériens connue depuis les années 1940. Par ailleurs les biofilms ont une action délétère sur les ostéoblastes retardant l'ossification et la guérison des infections ostéoarticulaires et cette action pourrait expliquer l'évolution rapidement favorable observée avec les phages. Toutes les voies d'administration sont possibles, la voie locale étant préférable afin d'éviter une déperdition du potentiel phagique. Cependant, il a été montré depuis les années 40 que quelle que soit la voie d'injection, les phages se dirigent et se multiplient au foyer infectieux de façon exponentielle.

Les modèles animaux se multiplient (infections respiratoires, ostéoarticulaires avec et sans matériel étranger..) confirmant l'efficacité et la tolérance des phages ainsi que son action synergique avec les antibiotiques.

Leur rôle dans l'arsenal thérapeutique antibactérien apparaît donc double, à la fois dans le traitement des infections à bactéries multi voire totorésistantes, mais également dans le traitement des infections à bactéries sensibles aux antibiotiques pour optimiser celui-ci (échecs thérapeutiques liés aux biofilms notamment).

Les données chez l'homme restent cependant limitées à l'Ouest, en raison des problèmes réglementaires rendant impossible l'utilisation légale des phages russes ou géorgiens. À ce jour seuls deux cocktails de phages (anti-*Escherichia coli* et anti-*Pseudomonas aeruginosa*) sont disponibles en France dans un essai chez les grands brûlés avec une extension très limitée par la possibilité d'ATU nominatives depuis quelques semaines.

Les données de la littérature et la large utilisation mondiale depuis près de 100 ans sont très rassurantes quant à une éventuelle toxicité ces produits ayant même été utilisés par voie intrathécale.

Il existe un projet de recherche préclinique sur la mise au point d'un cocktail de phages antistaphylococciques qui devrait déboucher sur la réalisation de PHRC sur les infections ostéoarticulaires et le pied diabétique.

En attendant, les patients désirant se faire traiter doivent suivre la voie du tourisme médical vers la Géorgie.

Les indications thérapeutiques potentielles sont extrêmement nombreuses : les infections ostéoarticulaires, notamment sur prothèse, les infections respiratoires chroniques et récidivantes dans le cadre de la mucoviscidose ou des DDB, les infections du pied diabétique, certaines infections urinaires... Il existe des mycobactériophages qui pourraient être utilisés dans les tuberculoses MDR ou XDR permettant de réduire la contagiosité en détruisant les bactéries extracellulaires, les formes intracellulaires relevant de la vectorisation de ces phages.

- 14h30-14h50: **Philippe BULET**, Institute for Advanced Biosciences, Centre de Recherche Université Grenoble Alpes, Inserm U1209, CNRS UMR 5309, (Grenoble) - Plateforme BioPark d'Archamps
« L'avenir des peptides antimicrobiens issus de la biodiversité comme agent thérapeutique. Sommes-nous face à un rêve ou à une réalité ? »

Conservés au cours de l'évolution, les peptides antimicrobiens (PAMs) aussi appelés peptides de défense sont ubiquitaires et font partie intégrante de la réponse immunitaire innée. Ils ont été retrouvés dans l'ensemble des organismes vivants de la paramécie à l'homme en passant par les micro-organismes et les plantes. Les PAMs sont soit induits suite à une infection soit constitutifs et stockés dans des cellules (sanguines ou épithéliales). Les méthodes d'isolement et de caractérisation de ces molécules reposent sur des approches bio-guidées et/ou sur des études par homologie. Les PAMs présentent une diversité structurale particulièrement importante qui les rend difficiles à classer, leur nomenclature reste un débat ouvert. Cependant, certains points structuraux permettent de les organiser

en trois grandes classes : (1) les peptides à ponts disulfures, (2) les peptides linéaires qui adoptent une structure en hélices alpha et (3) les peptides non structurés riches en certains acides aminés. Malgré une forte diversité structurale, ils ont tendance à posséder des propriétés physicochimiques communes. Le mode d'action des PAMs a longtemps été considéré comme uniquement membranolytique vis à vis de leurs cibles. Actuellement plusieurs hypothèses sont émises concernant le mode d'action des PAMs, y compris l'interaction avec des récepteurs intracellulaires. Le pipeline des entreprises du médicament comporte plusieurs milliers de molécules. Historiquement ce pipeline est dominé par les petites molécules, bien que les taux d'attrition soient élevés. Actuellement les peptides thérapeutiques ou à vocation thérapeutique représentent une part non négligeable du marché des médicaments, même si tout reste à faire autour des PAMs. Il est désormais évident et reconnu que nous ne pouvons pas continuer à nous appuyer indéfiniment sur les antibiotiques conventionnels dans la mesure où ceux-ci génèrent l'apparition de plus en plus rapide de résistances et multi-résistances. Les PAMs disposent de nombreux atouts pour en faire des candidats potentiels dans la lutte à la résistance aux antibiotiques. L'économiste Jim O'Neill a récemment souligné que des actions urgentes sont nécessaires pour éviter que la médecine préventive retourne « au Moyen Age ». En effet, les prévisions montrent qu'à l'horizon 2050, la résistance aux antibiotiques fera un mort toutes les 3 secondes et que depuis mi-2014 plus d'un million de personnes sont mortes à cause d'une infection liée à la résistance aux antibiotiques.

- 14h50-15h05 : **Alain PHILIPPON**, Professeur émérite, Faculté de Médecine Paris Descartes
« *Cannibalisme bactérien : le renouveau ?* »

La notion de cannibalisme bactérien ou de bactéries prédatrices est relativement récente (1962). Cette découverte d'agents bactéricides de type vibron (d-Proteobacteria) se développant aux dépens de bactéries à Gram-négatif telle *Escherichia coli* suscita beaucoup d'espoirs comme alternative aux antibiotiques. D'ailleurs le nombre de travaux publiés jusqu'en 1990 fut conséquent. Ils permirent d'en préciser plusieurs caractéristiques. Ainsi les bactéries prédatrices appartenaient au genre *Bdellovibrio* avec comme principale espèce, *Bdellovibrio bacteriovorus*, petit bacille à Gram-négatif, incurvé, mobile (ciliature polaire), aérobic strict ne pouvant pousser en l'absence d'une bactérie hôte, *E. coli* par exemple. Son spectre d'action a été précisé, limité à divers bacilles à Gram-négatif, pathogènes de l'homme, des animaux ou encore de plantes telles entérobactéries dont les salmonelles, *Pseudomonas* (*P. aeruginosa*, *P. thomasi*), vibrions (*V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*). Ce type de bactéries a été isolé de divers écosystèmes dont le sol (rhizosphère), les eaux fluviales ou d'estuaire, mais aussi du tube digestif des mammifères. Le cycle lytique a été particulièrement étudié (microscopie électronique). D'une durée de 3 à 4 h, il a mis en évidence plusieurs phases (attachement, pénétration dans l'espace périplasmique, multiplication de 3 à 6 cellules filles et enfin lyse). Enfin l'incapacité de se multiplier lors de cultures cellulaires et son faible pouvoir inflammatoire justifiait des perspectives thérapeutiques. Cependant entre 1960 et 1990, divers antibiotiques à large spectre (bêta-lactamines, aminosides, fluoroquinolones) limitèrent considérablement les recherches sur ces bactéries. Cependant, l'émergence ultérieure de bactéries multirésistantes aux antibiotiques redonnent un nouvel essor à ce phénomène qui permit, au cours de ces dernières années, de préciser divers genres (*Bdellovibrio*, *Bacteriolyticum*, *Bacteriovorax*, *Peredibacter*, *Variovorax*), leurs génomes variant de 2,97 à 3,85 Md avec l'individualisation de nombreuses enzymes, la faible virulence du LPS, la présence quasi-constante dans le tube digestif des mammifères dont l'homme. Ces nouvelles connaissances justifiaient des essais *in vitro* afin de mieux caractériser le spectre anti-bactérien lors d'infections buccales, périodontales, oculaires ou pulmonaires. La diminution du portage digestif de *Salmonella*, a été démontrée chez les volailles et bovins. Des essais de biocontrôle en agro-alimentaire (graines de soja, champignons, crevettes, huîtres) laissent espérer des applications. Enfin, des études cliniques restent encore nécessaires chez l'homme afin d'en préciser quelques possibles indications.

- 15h05-15h25 : **Questions sur les quatre exposés**

- « **Les innovations technologiques en antibiothérapie** » :

- 15h25-15h45 : **Thierry NAAS**

« *Adjuvants des antibiotiques* » - résumé à venir

- 15h45-16h05 : **Laurent DORTET**, Maître de conférence hospitalo-universitaire, PharmD, PhD
« *Culture des bactéries dites non cultivables : une voie vers la découverte de nouvelles molécules antibiotiques* »

Dans les années 1940, l'introduction des premières molécules antimicrobiennes (pénicilline et streptomycine) a révolutionné la médecine. Depuis, la résistance aux antibiotiques n'a cessé d'évoluer

en parallèle de l'utilisation des nouvelles molécules antibiotiques. Depuis les années 1990-2000, la résistance aux antibiotiques évolue plus vite que l'introduction dans la pratique clinique de nouveaux antibactériens, avec l'émergence de bactéries multi- voire pan-résistantes aux antibiotiques. Ce retour vers une ère pré-antibiotique risque à plus ou moins court terme de limiter drastiquement l'ensemble des domaines médicaux tels que la chirurgie lourde, la transplantation et les thérapies anticancéreuses immunosuppressives.

Actuellement, la majorité des antibiotiques utilisables en clinique dérive plus ou moins directement de molécules produites naturellement par des germes environnementaux. En effet, les approches exclusivement synthétiques et moléculaires pour la découverte et la production de nouvelles molécules antibiotiques n'ont jamais abouties à des résultats aussi intéressants que le « screening » des molécules naturelles produites par des germes telluriques.

Cependant, environ 99 % des espèces bactériennes présentes dans l'environnement sont dites non-cultivables, tout du moins dans les conditions de cultures classiques des laboratoires de microbiologie. La mise au point de méthodes de cultures adaptées aux bactéries dites « non-cultivables » est donc une voie de recherche cohérente pour la découverte de nouvelles familles d'antibiotiques.

Récemment, plusieurs méthodes de cultures ont été développées pour la culture des bactéries dites « non-cultivables ». Ces méthodes utilisent des technologies de (i) culture « *in situ* », c'est à dire directement en contact de l'environnement naturel de la bactéries ou (ii) l'usage de facteurs de croissance particuliers. En 2015, une de ces approches a permis la découverte d'une nouvelle molécule antibiotique, la teixobactine, produite par une bactérie non-cultivable jusqu'alors, *Eleftheria terrae*. La teixobactine est le premier représentant d'une nouvelle famille d'antibiotiques capables d'inhiber la synthèse du peptidoglycane. Elle est capable de se lier à des motifs très conservés du lipide II (précurseur du peptidoglycane) et du lipide III (précurseur des acides teichoïques), lui conférant une activité antibactérienne vis-à-vis de l'ensemble des bactéries à Gram positifs (*Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Clostridium* ...) et de *Mycobacterium tuberculosis*, y compris les souches multi-résistantes.

En conclusion, le développement de nouvelles molécules antibiotiques issues du « screening » de composés naturels produits par des bactéries dites non-cultivable semble être une voie intéressante de développement. De plus, un réservoir immense de molécules chimiques produites par l'industrie pharmaceutique lors du développement de molécules thérapeutiques (hors domaine anti-infectieux) n'ont pas été « screenées » pour leur activité antibiotique potentielle, ouvrant encore le champs des possibilités dans la découverte de nouveaux agents antibactériens.

- 16h05-16h25 : **David BIKARD**

« Étudier et Combattre les Bactéries Pathogènes à l'aide des CRISPR »

Les systèmes CRISPR-Cas ont récemment émergés comme un outil biotechnologique puissant. La protéine Cas9 est une nucléase guidée par des petits ARNs pour couper une séquence cible. L'utilisation de cette nucléase facile à reprogrammer nous a permis de développer des outils utilisant Cas9 pour modifier les génomes bactériens ou encore contrôler leur expression génétique. En particulier, nous nous intéressons au développement de méthodes de criblage à haut débit utilisant ces techniques. Finalement, nous avons démontré comment les systèmes CRISPR peuvent être retournés contre les bactéries pour développer des antimicrobiens spécifiques. La protéine Cas9 est en effet capable de tuer la bactérie en coupant dans son chromosome. Il est possible de spécifiquement éliminer les bactéries résistantes en programmant les ARN guides pour cibler des gènes de résistance aux antibiotiques. La combinaison de ces outils devrait accélérer les recherches sur la résistance aux antibiotiques et permettre de développer de nouvelles stratégies antimicrobiennes.

16h25-16h45 : **Questions sur les trois exposés**

Conclusion par les Présidents des cinq Académies : 15 mn

Fin du colloque : 17h00