

COMMUNICATION

Quels traitements innovants pour gagner la bataille des bactéries multi-résistantes ?

MOTS-CLÉS : RÉSISTANCE BACTÉRIENNE AUX MÉDICAMENTS. BACTÉRIOPHAGES. OLIGONUCLÉOTIDES ANTISENS. IMMUNOMODULATION

Innovative treatments for multidrug-resistant bacteria

KEY-WORDS (Index medicus): DRUG RESISTANCE, BACTERIAL. BACTERIOPHAGES. OLIGONUCLEOTIDES, ANTISENSE. IMMUNOMODULATION

Pierre TATTEVIN ***, Aurélien LORLEAC'H****, Matthieu REVEST *

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt en relation avec le contenu de cet article.

RÉSUMÉ

L'émergence progressive des bactéries multirésistantes s'est nettement accélérée au cours de la dernière décennie, et serait à l'origine d'une surmortalité estimée par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) à 25 000 décès attribuables chaque année en Europe. Cette situation non contrôlée s'accompagne d'un essoufflement majeur du développement de nouveaux antibiotiques, et laisse planer le spectre d'un retour à l'ère « pré-antibiotiques ». Dans ce contexte, la recherche et le développement de traitements anti-infectieux non antibiotiques s'intensifient, avec comme pistes principales : — i) l'utilisation thérapeutique des phages (virus des bactéries), qui vise à valider l'efficacité et la tolérance de la phagothérapie largement utilisée dans plusieurs pays de l'Est depuis presque cent ans — cette piste se heurte aux contraintes liées à la nature de ces agents biologiques évolutifs et à l'absence d'études cliniques convaincantes ; — ii) les bactériocines, petits peptides antibactériens sécrétés par de nombreuses bactéries, avec des candidats rapidement bactéricides, bien tolérés, et à faible risque écologique pour la flore bactérienne — le développe-

* Service des Maladies Infectieuses et Réanimation Médicale, CHU Pontchaillou, 2 rue Henri Le Guilloux — 35033 Rennes cedex 9

** INSERM U835, Université Rennes I

*** Maladies Infectieuses, Centre Hospitalier Bretagne-Atlantique, Lorient

Tirés à part : Professeur Pierre TATTEVIN, Service des Maladies Infectieuses et Réanimation Médicale, CHU Pontchaillou, 2 rue Henri Le Guilloux — 35033 Rennes cedex 9 ;

e-mail : pierre.tattevin@chu-rennes.fr

Article reçu le 4 février 2014, accepté le 24 février 2014

ment des bactériocines est cependant freiné par la fragilité de ces peptides, les difficultés de pénétration des membranes bactériennes, et le risque d'émergence rapide de résistances ; — iii) les oligonucléotides anti-sens, dont le principe est d'inactiver un gène en se liant de manière spécifique à un fragment d'ADN ou d'ARN complémentaire, ce qui pourrait permettre d'éteindre des facteurs de virulence — cette classe thérapeutique semble avoir plus d'avenir dans le traitement des infections virales, ou de maladies génétiques, que pour les bactéries multirésistantes, compte-tenu des difficultés d'acheminement de ces oligonucléotides à l'intérieur des bactéries.

SUMMARY

The spread of multidrug-resistant bacteria has accelerated sharply in the last decade. According to the World Health Organization they are responsible for an estimated 25 000 deaths in Europe each year. In addition, few new antibiotics are under development, raising the spectrum of a return to the " pre-antibiotic era ". Non antibiotic antibacterial agents have recently attracted renewed interest. The most promising candidates are: i) phages (bacteria-infecting viruses) have been widely used in Eastern European countries since the 1930s but come up against logistic and regulatory obstacles due to the evolutionary nature of these biologic agents, while convincing clinical data are lacking ; ii) bacteriocines are small antibacterial peptides produced by numerous bacteria ; some have a rapid bactericidal effect, good tolerability, and a limited impact on the commensal flora ; however, clinical use of bacteriocines is complicated by their fragility, poor penetration, and substantial risk of resistance selection ; iii) antisense oligonucleotides act by inactivating genes through specific interaction with a complementary DNA or RNA fragment, potentially allowing specific inhibition of selected bacterial virulence factors. However, this therapeutic class may be more suitable for viral or genetic diseases than for multidrug-resistant bacterial infections, owing to the difficulty of delivering them inside bacteria.

INTRODUCTION

Les antibiotiques : la fin de l'âge d'or

Chroniques d'une mort annoncée

La découverte de la pénicilline, puis son usage thérapeutique en médecine humaine et vétérinaire à partir de la Seconde Guerre mondiale, ont bouleversé le pronostic de maladies infectieuses bactériennes presque constamment mortelles jusque-là : les méningites purulentes, les endocardites, les septicémies à *Staphylococcus aureus* ont vu leur mortalité passer de 80-100 %, à 20-30 % en quelques années, marquées par « le miracle des antibiotiques ». Bien que Fleming ait alerté très tôt la communauté scientifique sur les risques d'épuisement de l'efficacité de cette classe médicamenteuse en cas d'usage massif, les décennies qui ont suivi ont été marquées par un optimisme généralisé concernant les capacités de la médecine à gérer les bactéries résistantes. Cet optimisme était en partie justifié par la multiplication des familles d'antibiotiques disponibles en thérapeutique humaine entre 1950 et 1980, qui a pu

laisser penser que la recherche médicale permettrait de répondre à chaque nouveau mécanisme de résistance, et de remporter cette course contre les bactéries.

Hélas, cette illusion est maintenant totalement balayée par la rapidité de l'émergence et de la dissémination des bactéries multi-résistantes au cours des deux dernières décennies, sans commune mesure avec le rythme de développement de nouveaux antibiotiques [1].

Peut-on vraiment espérer des solutions « antibiotiques » ?

Plusieurs arguments renforcent la conviction que les antibiotiques ne permettront pas de tout résoudre :

- le rythme de développement de nouveaux antibiotiques s'essouffle nettement depuis une vingtaine d'années. Les raisons, multiples, comprennent notamment la faible rentabilité de cette classe médicamenteuse pour les firmes pharmaceutiques : ce marché est limité par la brièveté des traitements (par opposition aux traitements « à vie » de nombreuses pathologies cardio-vasculaires, neurologiques, métaboliques, rhumatologiques, qui permettent un meilleur retour sur investissement), par les incitations fortes à limiter les prescriptions d'antibiotiques, et par le risque réel de perte d'efficacité de chaque nouvelle molécule en quelques années, avec l'émergence de nouvelles résistances. Il est possible aussi que les familles d'antibiotiques découvertes dans les années 1960-1980 étaient les plus évidentes (*the « low hanging fruits »*, pour les anglo-saxons), tandis que les familles qui restent à exploiter exigent plus d'efforts.
- les antibiotiques sont en règle des molécules naturelles utilisées par les bactéries dans le cadre de leurs compétitions inter-espèces. Les résistances aux antibiotiques existaient également dans le monde bactérien avant la découverte des antibiotiques par l'homme, comme remarquablement illustré par des travaux récents : des chercheurs ont mis en évidence, au sein de bactéries isolées de grottes souterraines jamais visitées par l'homme, des gènes de résistance à la plupart des familles d'antibiotiques utilisés en thérapeutique en 2014 [2]. L'homme n'a donc pas créé la résistance aux antibiotiques, il s'est contenté de favoriser sa dissémination par un usage massif.
- le principe même de la plupart des traitements antibiotiques favorise l'émergence de résistances, en donnant un avantage sélectif à celles-ci, puisque les bactéries sensibles seront détruites (antibiotiques bactéricides), ou inactivées (bactériostatiques).
- enfin, même si le mésusage des antibiotiques a certainement contribué à l'émergence des résistances, et doit être combattu sans répit, la situation actuelle ne se résoudra pas totalement avec le contrôle de ce mésusage, car — i) un antibiotique utilisé judicieusement, pour une bonne indication, contribue également à l'émergence de résistance ; — ii) l'écologie actuelle impose le recours à des

antibiotiques à large spectre dans de nombreuses situations, ce qui représente un cercle vicieux, dont il va être difficile de sortir [3].

On peut donc espérer freiner l'émergence des résistances par un usage plus raisonné des antibiotiques [4], et préserver certaines molécules qui resteront actives dans la plupart des situations, mais on ne pourra probablement pas revenir aux années « glorieuses » des débuts de l'usage des antibiotiques en médecine humaine [5]. D'où la nécessité d'envisager un développement plus actif des traitements anti-infectieux non antibiotiques les plus prometteurs (Table 1), qui feront l'objet de cet article.

TABLEAU 1. — Principales caractéristiques des traitements anti-infectieux non antibiotiques innovants

	Principes	Avantages	Inconvénients	Indications réalistes en 2014
Phages	Virus des bactéries	<ul style="list-style-type: none"> – Spécificité – Tolérance – Auto-régulation (disparaît lorsque la cible est éradiquée) 	<ul style="list-style-type: none"> – Absence de données cliniques – Agents biologiques évolutifs – Spécificité excessive ? 	<ul style="list-style-type: none"> – Traitement local d'infections chroniques (otites, ulcères) – Biofilms – Agro-alimentaire
Bactériocines	Petits peptides antibactériens produits par des bactéries	<ul style="list-style-type: none"> – Bactéricidie rapide – Tolérance – Peut être produite par des bactéries administrées sous forme de probiotiques 	<ul style="list-style-type: none"> – Sélection de résistances – Fragilité (notamment, peptidases digestives) – manque de données cliniques 	<ul style="list-style-type: none"> – Colite à <i>Clostridium difficile</i> – Prévention de la listériose, des caries dentaires – Vaginose bactérienne
Oligonucléotides antisens	Inactivation de gène(s) spécifique(s) par appariement à un fragment d'ADN ou ARN complémentaire	<ul style="list-style-type: none"> – Possibilité d'éteindre un gène ou un facteur de virulence ciblé – Synthèse simple 	<ul style="list-style-type: none"> – Difficultés majeures pour la délivrance au sein de la cible bactérienne (intra-cellulaire) 	<ul style="list-style-type: none"> – Viroses (CMV, HCV, Ebola, Marburg) – Maladies génétiques (myopathie Duchenne, bêta-thalassémie, cancer prostate, Atrophie musculaire spinale)

Thérapeutiques innovantes

Pour ne pas s'exposer aux mêmes déceptions que celles causées par le déclin des antibiotiques, les experts se tournent désormais vers des solutions thérapeutiques peu explorées jusqu'ici.

Parmi celles-ci, les plus prometteuses semblent :

- celles qui « apprivoiseraient » certains prédateurs des bactéries (les phages) ;
- celles qui ne viseraient pas à la destruction des agents infectieux responsables des maladies humaines, mais plutôt à leur simple contrôle, et/ou à la modification de leur comportement (oligonucléotides anti-sens) ;
- celles qui renforceraient la réponse de l'hôte, pour contribuer au contrôle du pathogène (immunomodulateurs).

La « vieille » médecine

Cette mise au point ne serait pas complète sans un aperçu des traitements anti-infectieux non antibiotiques qui ne sont pas particulièrement innovants, mais qui restent dans l'arsenal thérapeutique, en 2015 (miel, phagothérapie), avec une mention spéciale pour la transplantation fécale, qui, malgré son concept archaïque, est une des avancées thérapeutiques les plus spectaculaires des dernières années dans le domaine des maladies infectieuses.

LA PHAGOTHÉRAPIE

Historique

Découverte

La première observation rapportée dans la littérature scientifique semble remonter à la fin du XIX^e siècle, lorsque Ernest Hankin a décrit l'activité bactéricide sur *Vibrio cholerae* d'un principe actif filtrable, thermolabile, extrait des eaux du Gange. En 1915, Frederic Twort propose le terme de « virus des bactéries » pour expliquer la transformation de colonies de microcoques prenant un aspect vitreux, ce phénomène étant transmissible par simple contact de colonies normales avec des colonies pathologiques. Deux ans plus tard, Félix d'Hérelle confirme cette observation à partir de selles de patients atteints de dysenterie bacillaire, et propose le terme de « bactériophage » pour ces « virus parasites des bactéries ». Dans la foulée, il retrouve une corrélation entre l'intensité de ce phénomène dans les selles des patients et leur guérison, puis émet l'hypothèse que ces phages agiraient comme des « agents exogènes de l'immunité » [6].

La phagothérapie

Malgré des opposants farouches à cette théorie de « virus des bactéries », notamment le prix Nobel 1919 Jules Bordet, Félix d'Hérelle pose les premiers jalons de la phagothérapie et propose des préparations de phages spécifiques des infections bactériennes ciblées, intitulées Bacté-coli-phage, Bacté-pyo-phage ou Bacté-staphyphage, commercialisées par « la Société de Teintures Inoffensives pour Cheveux », qui deviendra la société l'Oréal. Plusieurs compagnies américaines, dont Eli Lilly, vont emprunter cette voie, qui va être abandonnée en Europe et aux États-Unis

progressivement à partir des années 1930, en raison du succès irrésistible remporté par l'antibiothérapie (sulfamides, puis pénicillines) [7].

Cependant, plusieurs pays du bloc soviétique vont poursuivre la recherche et le développement de phages à visée thérapeutique. Malgré l'absence presque totale d'études cliniques rapportées dans la littérature, des préparations de phages ont été utilisées depuis plusieurs décennies dans plusieurs pays, en ville comme à l'hôpital. Deux instituts majeurs ont maintenu une production active de ces phages : Eliava, à Tbilissi (Géorgie) et Hirzfeld, à Wroclaw (Pologne) [8].

Principes

Spécificité

Les phages sont les virus des bactéries, et partagent, à ce titre, la plupart des caractéristiques des virus de l'homme: Ils sont composés d'un matériel génétique (en général, ADN double brin — mais il existe également des phages à ARN, à ADN simple brin, etc.), protégé par une capsidie lorsqu'ils se trouvent à l'extérieur des bactéries (Figure 1). De cette capsidie émerge un collier, prolongé de fibres caudales (au nombre de 6, le plus souvent), qui se terminent par des récepteurs spécifiques de leur cible bactérienne. Leur spécificité d'hôte est très exigeante, avec un spectre d'activité en règle plus étroit que l'espèce bactérienne, ce qui est à la fois une qualité (activité très ciblée, aucun impact sur le microbiote) et un des freins à leur utilisation en thérapeutique : en effet, la documentation de la ou des bactérie(s) responsable(s) de la pathologie que l'on souhaite traiter est indispensable, afin de vérifier *in vitro* que le phage que l'on souhaite utiliser sera actif. Cette exigence peut en partie être contournée par l'utilisation d'un cocktail de phages, qui permet d'élargir le spectre. Cette forte spécificité d'hôte a été utilisée pour différencier les bactéries d'une même espèce selon leur « phagotype » (en fonction de leur sensibilité aux phages) [9].

Modes d'action

Comme les virus humains, les phages sont totalement dépendants de leur(s) bactérie(s) hôte(s) pour leur survie, et pour leur propagation. Cette propriété est, à nouveau, à double tranchant si on considère leur usage en thérapeutique. Le bon côté est que ces phages disparaissent naturellement lorsque la totalité de leur cible est détruite, ce qui est un atout si on considère la rémanence des antibiotiques dans l'environnement, où l'émergence de résistance peut se poursuivre. À l'inverse, cette exigence de la présence de la cible rend ces phages particulièrement fragiles, notamment en cas de faible inoculum de la bactérie que l'on cherche à traiter.

Les phages peuvent emprunter deux cycles distincts au sein des bactéries cibles (Figure 2) [6] :

- le cycle lytique (phage virulent) est celui qui permet la phagothérapie. Les phages se fixent sur les bactéries cibles à l'aide de récepteurs, et leur matériel génétique est injecté à travers le collier du phage, en général par l'intermédiaire d'une

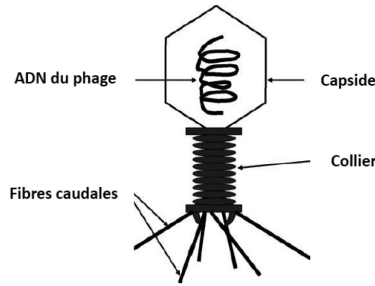


FIG. 1. — Structure d'un phage

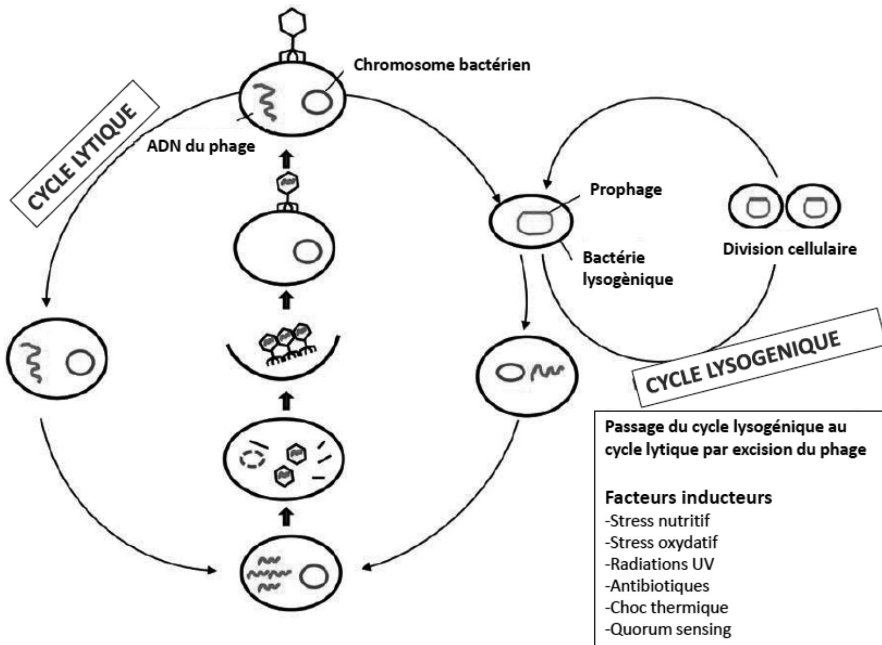


FIG. 2. — La vie des phages : cycle lytique/cycle lysogénique

perforation de la paroi bactérienne. Le matériel génétique est ensuite répliqué de manière exponentielle par les mécanismes normalement utilisés par la bactérie pour sa réplication, ce qui cause la mort de la bactérie et la libération d'un nombre démultiplié de phages, disponibles pour lyser de nouvelles bactéries.

— le cycle lysogénique (phage tempéré) n'a aucun intérêt en thérapie humaine, et pourrait même s'avérer dangereux : lors de ce cycle, le matériel

génétique du phage est intégré à celui de la bactérie, et répliquera avec elle par la suite. Outre l'absence d'action sur la bactérie, ce type de phage peut lui apporter des facteurs de virulence, comme ce fût le cas avec la toxine de Panton-Valentine, introduite dans certaines souches de *Staphylococcus aureus* par des phages [10]. Sous l'action de facteurs extérieurs de stress (agents mutagènes, expositions UV, températures extrêmes), certains phages peuvent passer de cycles lysogéniques à des cycles lytiques.

Applications des phages en thérapeutique humaine

Malgré les multiples atouts théoriques de cette classe thérapeutique, et la grande nécessité d'innover face à l'émergence des résistances bactériennes, les indications validées de la phagothérapie sont très limitées, en 2014. Les limites principales à un usage plus large sont : — i) l'absence de démonstration solide de leur efficacité et de leur tolérance, compte-tenu de leur développement quasi-exclusif en Europe de l'Est, en dehors des circuits de la médecine moderne, au cours des dernières décennies ; — ii) le caractère très particulier de ces agents biologiques, vivants et évolutifs, qui posent des problèmes non résolus en termes de réglementation, de conservation, et de modalités d'administration chez l'homme. De fait, la plupart des utilisations de la phagothérapie se sont cantonnées à une administration locale, jusqu'ici [6-9]. Les indications des phages qui ont le plus de chances de se développer à court terme semblent être les suivantes :

Usage topique sur des infections localisées

- Une étude randomisée, en double aveugle, a évalué la tolérance et l'efficacité d'un cocktail de 6 phages chez 24 patients atteints d'une otite chronique à *Pseudomonas aeruginosa* [11]. Avec la réserve liée au faible effectif, cette étude a montré une efficacité clinique (score) et microbiologique (éradication des souches ciblées), avec une excellente tolérance de ce cocktail. Les prélèvements réalisés au décours du traitement ne retrouvaient aucune trace des phages administrés, ce qui étaye le concept selon lequel ces phages disparaissent une fois leur mission effectuée.
- Une seconde étude, elle aussi randomisée en double aveugle, a montré l'excellente tolérance d'un cocktail de phages anti *P. aeruginosa*, *Escherichia coli* et *S. aureus* proposé comme traitement des ulcères de jambe surinfectés [12]. Cette étude ne documente pas l'efficacité du traitement.

Prévention des diarrhées bactériennes

Deux indications des phages en prévention des diarrhées bactériennes sont mises en avant :

- l'utilisation de phages dans l'industrie alimentaire pour la décontamination spécifique des aliments à risque. Plusieurs préparations de phages ont obtenu

l'autorisation de la Food and Drug Administration (FDA) aux États-Unis dans cette indication, notamment ListShield, EcoShield et SalmoFresh. Cette autorisation par une agence réputée pour sa prudence atteste le faible risque biologique supposé de ces agents biologiques naturels, censés disparaître lorsque leurs cibles sont détruites.

- à un stade moins avancé, mais tout aussi prometteur, l'utilisation de vibriophages a été proposée à large échelle comme agent de résolution des épidémies de choléra [13]. Si cette indication paraît particulièrement ambitieuse, elle ne semble pas délirante et est actuellement testée. Il faut se souvenir de la rapidité d'extension de l'épidémie qui a explosé en Haïti à l'automne 2010, distribuée à large échelle par la rivière Artibonite. Sachant que la découverte des phages découle de l'observation de vibriophages dans le Gange, on peut à juste titre se poser la question de l'intérêt potentiel de ces vibriophages, répandus à large échelle dans des environnements contaminés par *Vibrio cholerae*.

Traitement curatif des diarrhées bactériennes

Ici encore, l'histoire plaide en faveur de l'intérêt des phages dans cette indication. Il y a presque un siècle, Félix d'Hérelle avait observé que les patients atteints de dysenterie bacillaire avaient un meilleur pronostic lorsque le titre de phage spécifique mesuré dans leurs selles était élevé.

- Plusieurs essais cliniques ont évalué les phages T4 dans le traitement de différentes diarrhées bactériennes à *E. coli*, sans qu'on puisse réellement conclure sur leur efficacité et leur tolérance, dans cette indication ;
- Au cours de l'épidémie de syndrome hémolytique et urémique à *E. coli* producteur de shiga-toxine en Allemagne au printemps 2011, plusieurs candidats actifs sur la souche en cause avaient pu être identifiés en 72 h, à partir d'une bibliothèque de phages [14]. La rapidité de résolution de cette épidémie n'a pas permis d'évaluer l'efficacité clinique de ces phages, mais le « preuve du concept » de la rapidité d'identification de phages actifs en contexte épidémique a été apportée.

Prévention ou traitement des infections sur biofilms

Compte tenu de la mauvaise efficacité des antibiotiques sur les bactéries contaminant les biofilms à la surface des matériels étrangers, les phages pourraient apporter une valeur ajoutée précieuse dans cette indication.

- Une étude a évalué l'activité de différents phages spécifiques sur la prévention de la colonisation de sondes urinaires à *P. aeruginosa*. L'utilisation d'un phage unique aboutissait à un échec flagrant, avec la sélection rapide (24 h) de souches de *P. aeruginosa* résistantes qui gardaient leurs capacités à coloniser la sonde urinaire. À l'inverse des cocktails de phages exerçaient une efficacité microbiologiquement documentée et durable [15].

- Dans un modèle d'infections osseuse sur matériel chez le rat, une activité synergique de la phagothérapie et de la teicoplanine a été documentée sur des souches de *S. aureus* résistants à la méticilline (SARM) [16].

La phagothérapie est donc un recours thérapeutique particulièrement séduisant comme alternative aux antibiotiques compte tenu de son action très ciblée, originale, d'une tolérance qui semble excellente, et de sa simplicité de production. Cette classe thérapeutique souffre cependant de l'absence quasi-totale de données cliniques rigoureuses qui permettraient de délivrer des autorisations de mise sur le marché, et des multiples problèmes règlementaires posés par la nature des phages (agents biologiques évolutifs).

BACTÉRIOCINES (PEPTIDES ANTIBACTÉRIENS)

Généralités

Les bactériocines sont des peptides antibactériens produits par certaines bactéries, capables de lyser d'autres bactéries. Plus de 400 bactériocines ont été décrites à ce jour, et leurs caractéristiques sont très variables :

- les spectres antibactériens peuvent être larges, ou étroits, avec cependant une tendance à agir préférentiellement sur des bactéries Gram positif, compte-tenu de difficultés à traverser les membranes des bactéries Gram négatif ;
- les modes d'action sont également variables (Figure 3), le plus commun étant l'interaction avec les membranes bactériennes provoquant une lyse immédiate de la bactérie. D'autres bactériocines agissent au niveau intracellulaire en inhibant le métabolisme de la bactérie (synthèse protéique) ou sa répllication (interactions avec ADN, ARN) ;
- une classification officielle regroupe les bactériocines de classe I, peptides qui nécessitent des modifications post-traductionnelles pour être actives, et les bactériocines de classe II, peptides actifs dès leur synthèse par la bactérie productrice.

Les atouts théoriques de ces bactériocines sont multiples, notamment : — i) la simplicité de leur synthèse et production ; — ii) leur tolérance qui devrait être excellente (comme les phages, il s'agit de composés retrouvés dans de nombreux microbiotes, auxquels l'homme est constamment exposé, sans manifestation particulière) ; — iii) une synergie avec les antibiotiques classiques démontrée dans plusieurs contextes *in vitro* ; — iv) un faible impact sur les microbiotes humains [17].

Obstacles à leur développement

Aucune bactériocine n'a obtenu d'autorisation de mise sur le marché en 2015, et le chemin pourrait encore être long. Les principaux obstacles à ce développement sont les suivants :

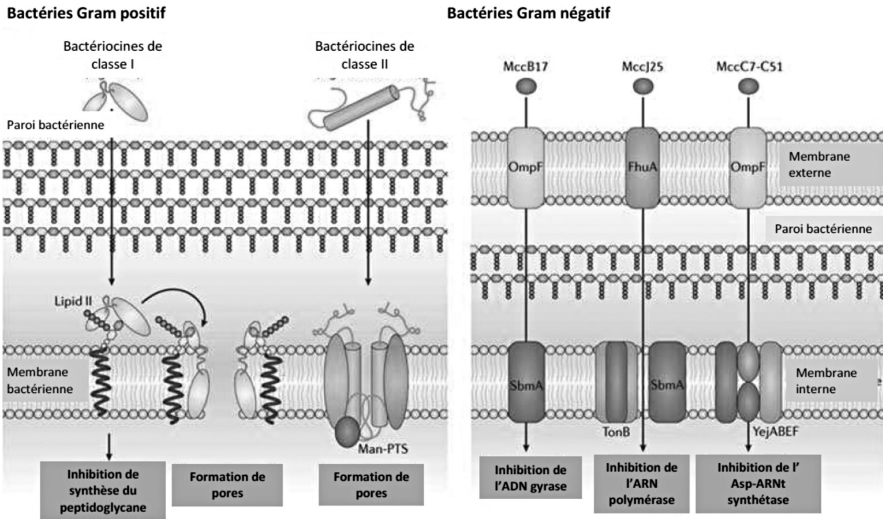


FIG. 3. — Mécanismes d'action des bactériocines (peptides antibactériens)

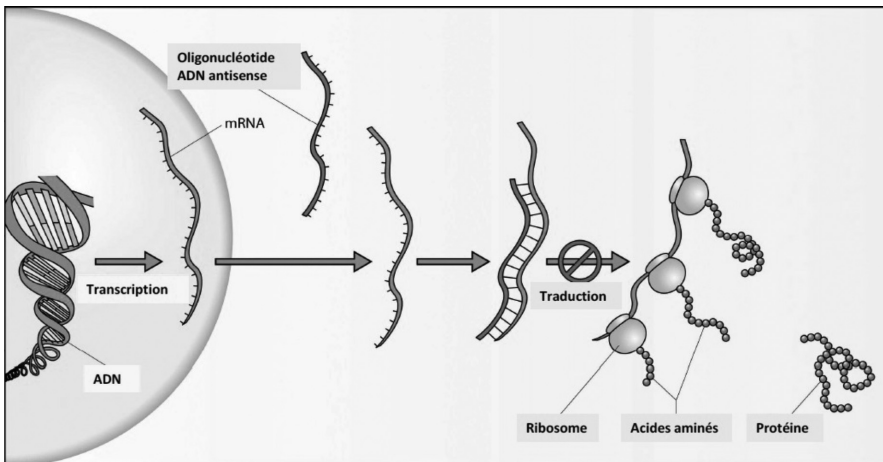


FIG. 4. — Mécanismes d'action des oligonucléotides antisens

- leur administration par voie orale risque d'être impossible, les petits peptides étant rapidement dégradés par les protéases du tube digestif ;
- compte-tenu de leur présence dans de nombreuses flores bactériennes, les résistances à ces peptides préexistent chez de nombreuses bactéries, et pourraient rapidement émerger en cas d'utilisation thérapeutique large ;

- les peptides antibactériens pourraient induire une immunotolérance dans certains contextes, et perturber la réponse immunitaire de l'hôte.

Indications potentielles

- Le respect des flores bactériennes est un des grands atouts des bactériocines. Cette propriété est à l'origine d'un effort de développement de la thuricine CD, une bactériocine de classe I (groupe, sactibiotique) produite par *Bacillus thuringiensis*. Dans un modèle *ex vivo* de colite à *Clostridium difficile* sur du colon humain, la thuricine CD a une efficacité comparable à celle de la vancomycine ou du métronidazole, mais avec un impact beaucoup plus limité sur le microbiote [18], ce qui est probablement la clé de la prévention des rechutes dans cette maladie.
- Une autre bactériocine du même groupe, la subtilosine A, est en cours d'évaluation dans le traitement de la vaginose bactérienne compte-tenu de son activité exclusive sur *Gardnerella vaginalis*, sans aucun effet sur le microbiote vaginal, notamment les *Lactobacillus* sp.

Une des options les plus séduisantes pour l'utilisation thérapeutique des bactériocines serait d'administrer aux patients non pas les peptides antibactériens, mais les souches bactériennes productrices de ces peptides [19]. Ce concept, qui se rapproche de l'usage des probiotiques, pourrait permettre de garantir la pérennité de la production de ces peptides. Cette piste est actuellement suivie particulièrement pour la prévention de la formation des plaques dentaires, en implantant dans les flores buccales des souches de *Streptococcus mutans* sécrétrices de bactériocines protectrices, par l'intermédiaire d'une inhibition des souches productrices de lactate déshydrogénase. Il a été démontré que ces souches pouvaient persister pendant 14 ans après une implantation unique.

- Dans un modèle murin, l'administration du probiotique *Lactobacillus salivarius* produisant une bactériocine de classe II, UCC118, prévient le développement de listériose après inoculation, et pourrait donc être proposée en prévention des listérioses chez les patients à risque [17].

OLIGONUCLÉOTIDES ANTI-SENS

Principe

Les oligonucléotides anti-sens ont fait leur apparition dans la littérature médicale en 1978, lorsque Zamecknik & Stephenson ont démontré qu'un oligonucléotide (n=13) complémentaire d'une séquence spécifique d'un virus à ARN (virus Rous sarcoma) inhibait sa réplication et sa synthèse protéique. Le principe de cette piste thérapeutique, qui a des applications potentielles bien au-delà des maladies infec-

tieuses, notamment dans le domaine des maladies génétiques, repose sur l'extinction de gène(s) par appariement spécifique (Figure 4).

Les oligonucléotides anti-sens sont caractérisés par leur forte spécificité et un processus de synthèse relativement simple. On pourrait, en théorie, imaginer des oligonucléotides qui cibleraient les principaux facteurs de virulence des bactéries pathogènes pour l'homme, puis inhiberaient leur expression, et donc les principales manifestations de la maladie. La bactérie ciblée ne serait pas détruite, et donc le risque de sélectionner les bactéries résistantes par avantage sélectif serait minimisé. Cependant, leur utilisation comme agent antibactérien se heurte à des difficultés majeures pour délivrer ces oligonucléotides au niveau de leur site d'action intracellulaire, compte tenu de l'imperméabilité de la paroi bactérienne [20].

Utilisation thérapeutique

- La validité du concept est attestée par l'autorisation de mise sur le marché par la FDA d'un oligonucléotide anti-sens, le fomivirsen, en 1998 dans l'indication « traitement intra-vitréen des rétinites à cytomégalovirus (CMV). Malheureusement pour ce produit, les rétinites à CMV ont virtuellement disparu à peu près au même moment dans les pays ayant accès aux traitements antirétroviraux efficaces, et le fomivirsen a donc été abandonné en 2004 [21].
- En 2013, un autre oligonucléotide anti-sens, le miravirsen, démontrait son efficacité contre le virus de l'hépatite C en monothérapie, dans un essai suffisamment novateur pour justifier une publication dans le *New England Journal of Medicine* [22].
- En 2014, de nombreuses pistes prometteuses sont explorées pour l'utilisation thérapeutique d'oligonucléotides anti-sens, notamment pour le traitement des fièvres hémorragiques liées aux virus Ebola & Marburg, avec des résultats très encourageants dans les modèles de primates non-humains, et le début des études cliniques de tolérance chez l'Homme [23]. Les indications non-infectieuses des oligonucléotides anti-sens actuellement en cours de développement comprennent notamment le cancer de la prostate, la myopathie de Duchenne, l'atrophie musculaire spinale et la bêta-thalassémie [20].

TRAITEMENTS IMMUNOMODULATEURS

Principe

Un traitement immunomodulateur est un traitement qui modifie la réponse biologique de l'hôte. Les traitements immunomodulateurs sont classiquement divisés en 6 classes :

- les cytokines naturelles, où on retrouve les *colony-stimulating factors* (CSF), les interférons (IFN), et les interleukines (IL) ;
- les anticorps monoclonaux, et les antagonistes de récepteurs (exemple : les anti-TNF) ;
- les immunoglobulines (Ig) ;
- les corticostéroïdes ;
- les composés synthétiques avec activité immunomodulatrice (exemples : imiquimod, pentoxifylline, thalidomide) ;
- les traitements anticoagulants avec activité anti-inflammatoire (exemple, anti-protéine C activée : drotrecogin alpha).

Utilisation des immunomodulateurs en traitement curatif des maladies infectieuses en 2015

Alors qu'il s'agit d'une des pistes les plus explorées, et depuis plusieurs décennies, l'utilisation des traitements immunomodulateurs en thérapeutique humaine reste très limitée, les expériences cliniques et les rares études randomisées ayant été le plus souvent décevante (résultats contradictoires, balance bénéfiques/risques hasardeuse).

- Les facteurs de croissance hématopoïétique (G-CSF, GM-CSF) n'ont aucune indication validée dans le traitement curatif des maladies infectieuses, même en cas de neutropénie fébrile prolongée [24], contrairement à ce qui avait été espéré lors de leur commercialisation.
- Les IFN sont essentiellement proposés dans le traitement d'infections virales. Une exception pourrait être l'utilisation d'IFN-gamma dans les infections disséminées à mycobactéries chez des sujets avec anomalies de la réponse IL-12 / IFN-gamma.
- L'usage des Ig polyvalentes dans le traitement curatif des infections bactériennes où l'action toxinique est au premier plan repose sur des données très convaincantes *in vitro* et chez l'animal, mais les données cliniques chez l'homme sont très limitées. On peut citer l'intérêt potentiel d'un traitement précoce par Ig polyvalentes intraveineuses dans les maladies bactériennes à super-antigènes (choc toxique streptococcique ou staphylococcique) et dans les pneumopathies nécosantes à *S. aureus* sécréteurs de toxines de Panton & Valentine. Cependant, les données d'expérimentations chez l'animal suggèrent que l'effet bénéfique de ces Ig n'est significatif qu'en cas d'utilisation très précoce (dans les premières heures qui suivent l'inoculation, pour les pneumopathies nécosantes), ce qui n'est que rarement le cas dans la vraie vie [25].
- On ne peut passer sous silence la longue liste des déceptions causées par les essais thérapeutiques portant sur les immunomodulateurs au cours des chocs septiques, malgré des efforts scientifiques et financiers majeurs dans ce domaine, au cours des dernières années. On a pu assister ainsi à de grands engouements pour

les anti-TNF, les corticoïdes, un inhibiteur de la protéine C activée, qui ont été utilisés parfois largement dans les réanimations, avant que les études cliniques attirent l'attention sur leurs balances bénéfices-risques douteuses, voire clairement défavorables.

TRAITEMENTS ANTI-INFECTIEUX NON ANTIBIOTIQUES « ARCHAÏQUES »

On ne pouvait terminer cette revue sans dire un mot des traitements anti-infectieux qui semblent presque « moyenâgeux », et qui pourtant persistent, voire émergent dans notre arsenal thérapeutique, en 2015. L'utilisation de ces pratiques quasi-barbares est une leçon d'humilité pour notre médecine. L'usage de ces modalités thérapeutiques montre bien que, malgré le développement exponentiel des technologies au cours des dernières décennies, beaucoup de processus physiopathologiques restent mal compris, et conduisent à l'utilisation de traitements « grossiers », faute d'avoir su identifier et développer des cibles thérapeutiques plus fines : beaucoup de pratiques de notre médecine dite « moderne » seront probablement considérées comme moyenâgeuses par nos successeurs, dans un futur sans doute pas très éloigné...

Transplantation fécale

Le succès particulièrement spectaculaire de la transplantation fécale dans le traitement des colites à *Clostridium difficile* multi-récidivantes [26], sévères, ou réfractaires aux traitements usuels a balayé tous les scepticismes, suite à la publication de l'étude randomisée dans le *New England Journal of Medicine* début 2013. Malgré le caractère peu ragoutant de la procédure, la gravité de la pathologie et le caractère désespérant des échecs répétés des diverses antibiothérapies proposées ont incité la plupart des pays d'Europe de l'Ouest et d'Amérique du Nord à développer cette thérapeutique qui, du coup, pourrait presque revendiquer le terme « innovant ». Pourtant, il s'agit prosaïquement d'administrer les selles d'un donneur « sain » à un receveur « malade », dans le but de corriger les dysfonctions de sa flore intestinale, sans qu'on puisse exactement préciser ce qui se trouve dans les selles du donneur qui permet de contrôler le dysfonctionnement de la flore du receveur. Les multiples essais d'administration de probiotiques, d'anticorps monoclonaux, de nouveaux antibiotiques, ou de bactériocines, n'ont pas pu rivaliser avec cette procédure qui ressemble pourtant plus à ce que les médecins de Louis XIV auraient pu imaginer, qu'à un traitement en plein essor en... 2015 [27] !

Asticothérapie

Dans un registre presque aussi ragoutant, il faut citer l'utilisation de larves de mouche verte (*Lucilia sericata*) dans le traitement adjuvant de plaies chroniques

surinfectées. On retrouve des traces de cette thérapeutique en médecine militaire dans les écrits d'Ambroise Paré (1557) ou Dominique Larrey (campagne d'Égypte). L'industrialisation du procédé a débuté dans les années 1930 par les laboratoires Lederle, sous l'impulsion des travaux du Dr W. Baer. Les premiers essais cliniques contrôlés émanent des États-Unis (Veterans Affairs Medical Center, Long Beach, 1989), avec des résultats favorables [28, 29]. Les principes de l'efficacité de ces larves reposent sur la destruction préférentielle des tissus nécrosés, et la consommation indifférenciée des bactéries, qu'elles soient sensibles ou résistantes [30]. L'asticothérapie a été reconnue comme une médication par la communauté européenne en 2004 (directive 2004/27/CE) et sa première autorisation temporaire d'utilisation (ATU) a été délivrée par l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments et des Produits de Santé (AFSSAPS) en 2006 dans l'indication « déterSION et cicatrisation d'ulcères et plaies d'origine diabétique ou autre ».

Apithérapie

Nettement plus appétissant, le miel est proposé comme aide à la cicatrisation des plaies probablement depuis l'antiquité. Si son efficacité en traitement adjuvant ne fait pas de doute dans des indications bien sélectionnées, les propriétés du miel ont pu être mieux précisées au cours des dernières décennies, faisant intervenir des effets anti-inflammatoires, antibactériens (notamment sur *S. aureus*, *E. coli* et *P. aeruginosa*) et la stimulation des processus de cicatrisation après déterSION (kératinocytes, fibroblastes) [31]. Il est important de souligner qu'il ne faut pas utiliser n'importe quel miel : — i) certains miels ont des propriétés plus intéressantes dans cette indication ; — ii) les miels médicaux sont prétraités par filtration et irradiation gamma, notamment pour détruire certains pathogènes particulièrement redoutés, comme *Clostridium botulinum* (exemple, miel « Manuka » dans les pays anglo-saxons, ou miel « Melipharm » de Limoges) [30]. Par ailleurs, l'application de miel au point d'émergence des cathéters de dialyse péritonéale s'est avérée délétère dans un essai randomisé publié dans le *Lancet Infectious Diseases* en janvier 2014 [32], avec un risque relatif de péritonite à 2,25 [1,16-4,36].

CONCLUSION

Malgré un consensus dans les milieux scientifiques et industriels sur la nécessité de développer des traitements anti-infectieux non antibiotiques pour lutter contre l'émergence progressive des bactéries multi-résistantes, et malgré les multiples pistes originales et prometteuses proposées par la nature elle-même, cette mise au point dresse un paysage qui semble encore peu exploré. Les phages, les bactériocines et les oligonucléotides antisens, qui sont les trois domaines innovants dont on pourrait attendre le plus, en sont encore à des stades très préliminaires, comme le montre les nombreuses inconnues concernant les mécanismes d'action que l'on pourrait exploiter en thérapeutique, leur production, les modalités de délivrance de ces produits à leur site actif, sans compter toutes les inconnues « réglementaires », qui

ne facilitent pas leur développement. L'absence quasi-complète d'études cliniques convaincantes, qui découle en partie de ces inconnues, ne permet pas de les proposer en traitement des infections bactériennes en 2015. Cependant, la recherche s'est récemment accélérée, et l'on se rapproche probablement d'une phase de développement clinique de plusieurs candidats dans ces catégories. On peut espérer que l'histoire s'accélère rapidement, lorsque les premiers « modes d'emploi » des phages, des bactériocines, et des oligonucléotides antisens seront dévoilés.

RÉFÉRENCES

- [1] The 10 × 20 Initiative: pursuing a global commitment to develop 10 new antibacterial drugs by 2020. *Clin Infect Dis*. 2010;50:1081-3.
- [2] Bhullar K, Waglechner N, Pawlowski A, Koteva K, Banks ED, Johnston MD, et al. Antibiotic resistance is prevalent in an isolated cave microbiome. *PLoS One*. 2012;7:e34953.
- [3] Spellberg B, Bartlett JG, Gilbert DN. The future of antibiotics and resistance. *N Engl J Med*. 2013;368:299-302.
- [4] Patrat-Delon S, Revest M, Tattevin P. [Antibiotic prescription and surveillance]. *Rev Prat*. 2013;63:1293-304.
- [5] Bartlett JG, Gilbert DN, Spellberg B. Seven ways to preserve the miracle of antibiotics. *Clin Infect Dis*. 2013;56:1445-1450.
- [6] Knoll BM, Mylonakis E. Antibacterial bioagents based on principles of bacteriophage biology: an overview. *Clin Infect Dis*. 2014;58:528-34.
- [7] Deresinski S. Bacteriophage therapy: exploiting smaller fleas. *Clin Infect Dis*. 2009;48:1096-101.
- [8] Hanlon GW. Bacteriophages: an appraisal of their role in the treatment of bacterial infections. *Int J Antimicrob Agents*. 2007;30:118-28.
- [9] Kutateladze M, Adamia R. Bacteriophages as potential new therapeutics to replace or supplement antibiotics. *Trends Biotechnol*. 2010;28:591-5.
- [10] Del Giudice P, Tattevin P, Etienne J. [Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: Review]. *Presse Med*. 2012;41:713-20.
- [11] Wright A, Hawkins CH, Anggard EE, Harper DR. A controlled clinical trial of a therapeutic bacteriophage preparation in chronic otitis due to antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa* ; a preliminary report of efficacy. *Clin Otolaryngol*. 2009;34:349-57.
- [12] Rhoads DD, Wolcott RD, Kuskowski MA, Wolcott BM, Ward LS, Sulakvelidze A. Bacteriophage therapy of venous leg ulcers in humans: results of a phase I safety trial. *J Wound Care*. 2009;18:237-8.
- [13] Jensen MA, Faruque SM, Mekalanos JJ, Levin BR. Modeling the role of bacteriophage in the control of cholera outbreaks. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006;103:4652-7.
- [14] Merabishvili M, De Vos D, Verbeken G, Kropinski AM, Vandenneuvel D, Lavigne R, et al. Selection and characterization of a candidate therapeutic bacteriophage that lyses the *Escherichia coli* O104:H4 strain from the 2011 outbreak in Germany. *PLoS One*. 2012;7:e52709.
- [15] Fu W, Forster T, Mayer O, Curtin JJ, Lehman SM, Donlan RM. Bacteriophage cocktail for the prevention of biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* on catheters in an *in vitro* model system. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54:397-404.

- [16] Yilmaz C, Colak M, Yilmaz BC, Ersoz G, Kutateladze M, Gozlugol M. Bacteriophage therapy in implant-related infections: an experimental study. *J Bone Joint Surg Am.* 2013;95:117-25.
- [17] Cotter PD, Ross RP, Hill C. Bacteriocins — a viable alternative to antibiotics? *Nat Rev Microbiol.* 2013;11:95-105.
- [18] Rea MC, Dobson A, O'Sullivan O, Crispie F, Fouhy F, Cotter PD, et al. Effect of broad- and narrow-spectrum antimicrobials on *Clostridium difficile* and microbial diversity in a model of the distal colon. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2011;108 Suppl 1:4639-44.
- [19] Corr SC, Li Y, Riedel CU, O'Toole PW, Hill C, Gahan CG. Bacteriocin production as a mechanism for the anti-infective activity of *Lactobacillus salivarius* UCC118. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2007;104:7617-21.
- [20] Kole R, Krainer AR, Altman S. RNA therapeutics: beyond RNA interference and antisense oligonucleotides. *Nat Rev Drug Discov.* 2012;11:125-40.
- [21] Stevenson M. Therapeutic potential of RNA interference. *N Engl J Med.* 2004;351:1772-7.
- [22] Janssen HL, Reesink HW, Lawitz EJ, Zeuzem S, Rodriguez-Torres M, Patel K, et al. Treatment of HCV infection by targeting microRNA. *N Engl J Med.* 2013;368:1685-94.
- [23] Warren TK, Warfield KL, Wells J, Swenson DL, Donner KS, Van Tongeren SA, et al. Advanced antisense therapies for postexposure protection against lethal filovirus infections. *Nat Med.* 2010;16:991-4.
- [24] Freifeld AG, Bow EJ, Sepkowitz KA, Boeckh MJ, Ito JI, Mullen CA, et al. Clinical practice guideline for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer: 2010 update by the infectious diseases society of america. *Clin Infect Dis.* 2011;52:e56-93.
- [25] Ferrara G, Zumla A, Maeurer M. Intravenous immunoglobulin (IVIg) for refractory and difficult-to-treat infections. *Am J Med.* 2012;125:1036 e1031-8.
- [26] van Nood E, Vriee A, Nieuwdorp M, Fuentes S, Zoetendal EG, de Vos WM, et al. Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. *N Engl J Med.* 2013;368:407-15.
- [27] Moore T, Rodriguez A, Bakken JS. Fecal microbiota transplantation: a practical update for the infectious disease specialist. *Clin Infect Dis.* 2014;58:541-5.
- [28] Dumville JC, Worth G, Bland JM, Cullum N, Dowson C, Iglesias C, et al. Larval therapy for leg ulcers (VenUS II): randomised controlled trial. *BMJ.* 2009;338:b773.
- [29] Opletalova K, Blaizot X, Mourgeon B, Chene Y, Creveuil C, Combemale P, et al. Maggot therapy for wound debridement: a randomized multicenter trial. *Arch Dermatol.* 2012;148:432-8.
- [30] Bourlioux P. [Which alternatives are at our disposal in the anti-infectious therapeutics face to multi-drug resistant bacteria?]. *Ann Pharm Fr.* 2013;71:150-158.
- [31] Lee DS, Sinno S, Khachemoune A. Honey and wound healing: an overview. *Am J Clin Dermatol.* 2011;12:181-90.
- [32] Johnson DW, Badve SV, Pascoe EM. Antibacterial honey for the prevention of peritoneal-dialysis-related infections (HONEYPOT): a randomised trial. *Lancet Infect. Dis* 2014; 14(1):23-30.

DISCUSSION

M^{me} Monique ADOLPHE

Pourquoi la phagothérapie n'est-elle pas développée étant donné que la résistance aux antibiotiques est connue depuis plus de trente ans ?

Bien que très séduisante sur le principe (traitement « naturel », cibles très spécifiques, tolérance probablement bonne), le développement de cette thérapeutique est très handicapé par la nature de cette intervention. En effet, les phages sont des organismes vivants et évolutifs dont il est très difficile de garantir la stabilité des caractéristiques dans le temps. Comme tout virus, les phages, qui sont les « virus des bactéries » peuvent notamment muter, et perdre ainsi l'activité pour laquelle on souhaite les utiliser en thérapeutique, et/ou acquérir des caractéristiques toxiques. Ceci dit, la recherche dans ce domaine s'intensifie nettement depuis quelques années, notamment dans des pays connus pour leur rigueur scientifique et leurs capacités d'innovation. On peut espérer que cet engouement récent dans des pays dotés d'équipements technologiques de haut niveau permettra d'aplanir une partie de ces difficultés « techniques ».

M. Jean-Luc de GENNES

Où en est la recherche de nouveaux antibiotiques dans les produits de la mer ?

À ma connaissance, aucun antibiotique issu de la recherche à partir des produits de la mer n'est actuellement à un stade avancé de développement. Compte tenu de la richesse de cette ressource, c'est une piste qui mérite certainement d'être creusée, et elle connaît d'ailleurs un essor certains depuis quelques années. Cependant, du fait des délais nécessaires à la recherche et au développement de tout médicament destiné à un usage chez l'Homme, il semble qu'aucun antibiotique dérivé des produits de la mer n'a atteint le stade des études cliniques de phase II à ce jour (sous réserve de la confidentialité soigneusement protégée dans certains domaines de développement des médicaments).

