



 COLLÈGE
DE FRANCE
— 1530 —

CHAIRE DE MICROBIOLOGIE ET MALADIES INFECTIEUSES
Année académique 2019-2020

Philippe SANSONETTI

Ultima Verba...

Cours les mercredis de 16h à 17h30, suivis des séminaires
Amphithéâtre Maurice Halbwachs

08 janvier 2019

Cours : Un monde sans antibiotiques ?

Séminaire : Éligobiotiques : vers une élimination « intelligente »
des bactéries résistantes ?

David BIKARD, *Institut Pasteur*

Un monde sans antibiotiques ?

Prof. Philippe Sansonetti

Leçon # 4

Collège de France

08 janvier 2020



COLLÈGE
DE FRANCE
— 1530 —



INSTITUT PASTEUR

Inserm

Institut national
de la santé et de la recherche médicale

Estimation du coût humain et financier de la résistance aux antibiotiques

European Union population 500m

25,000 deaths per year
2.5m extra hospital days

Overall societal costs
(€ 900 million, hosp. days)
Approx. €1.5 billion per year



Source: ECDC 2007

Thailand population 70m

>38,000 deaths
>3.2m hospital days

Overall societal costs
US\$ 84.6–202.8 mill. direct
>US\$1.3 billion indirect



Source: Pumart et al 2012

United States population 300m

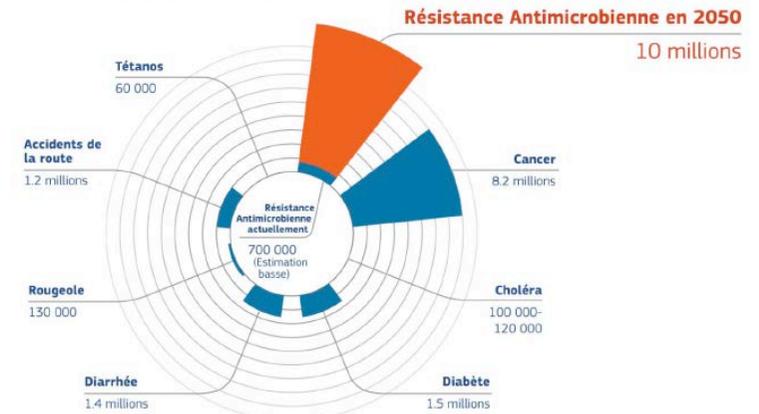
>23,000 deaths
>2.0m illnesses

Overall societal costs
Up to \$20 billion direct
Up to \$35 billion indirect



Source: US CDC 2013

Nombre de morts attribuables à la RAM chaque année (comparé à d'autres causes majeures de décès)



Source: *The Review on Antimicrobial Resistance*, Jim O'Neill, 2014
Compilation VITO

Requiem pour les antibiotiques Faut-il craindre une disparition des antibiotiques ?

François Trémolières¹, Robert Cohen², Benoît Schlemmer³

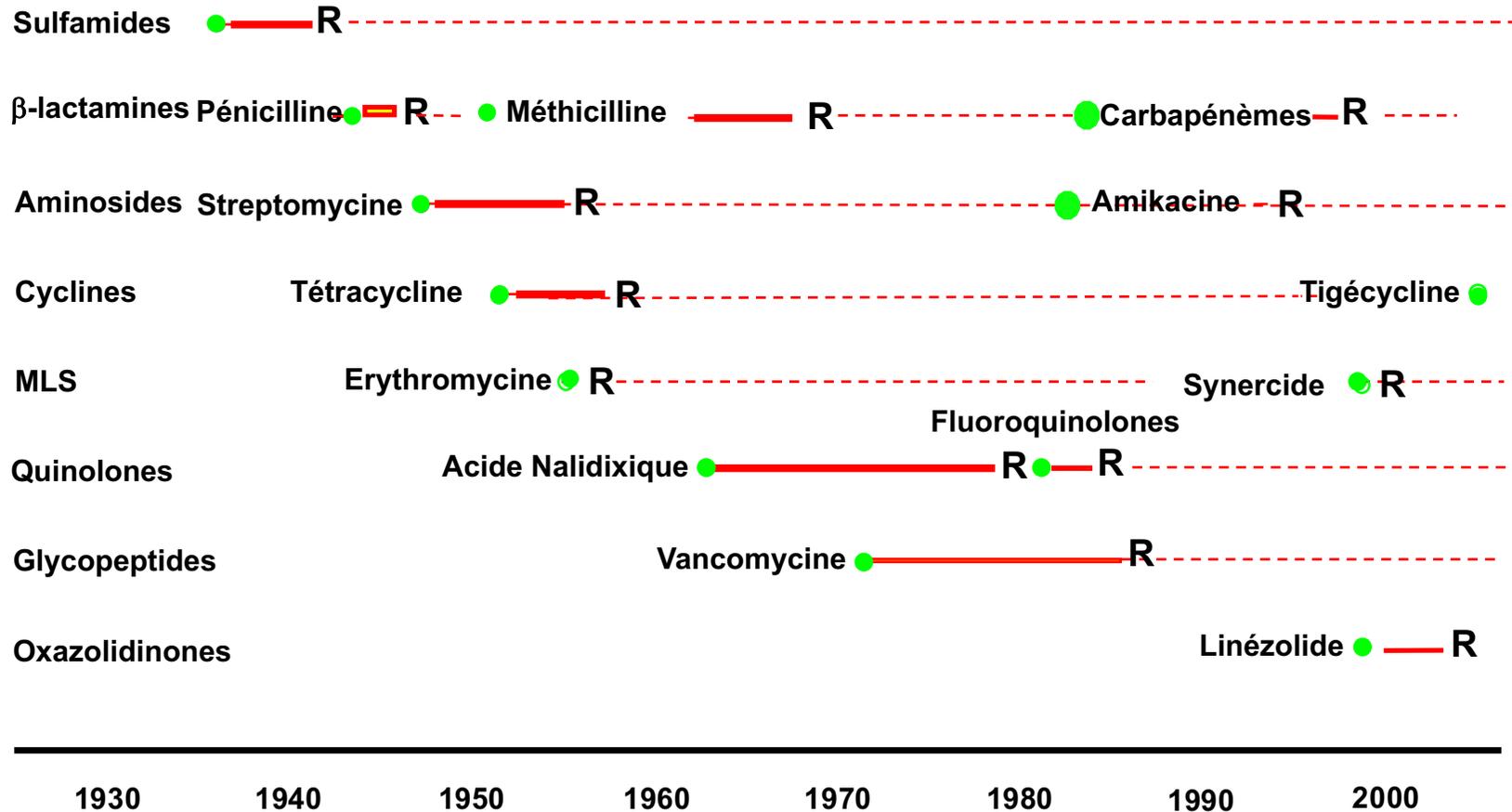
¹ Médecine Interne, Hôpital François Quesnay, 78200 Mantes la Jolie
<ftremo@noos.fr>

² Pédiatrie, Centre Hospitalier Intercommunal de Créteil

³ Service de réanimation médicale, Hôpital Saint Louis, Paris

Antibiotiques et survenue de la résistance

- Introduction en clinique
- R Apparition de la résistance



Résumé des mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques (1)

Protection de la cible de l'antibiotique:

- Mutations rendant la bactérie insensible à l'antibiotique

Mutations dans les PBP: résistance progressive aux BETA-LACTAMINES

Mutation dans la RNA polymérase, résistance à RIFAMPICINE

Mutations dans des protéines ribosomales, résistance à STREPTOMYCINE

- Modifications secondaire par une enzyme

Modification composition ponts peptidiques PGN, résistance à VANCOMYCINE

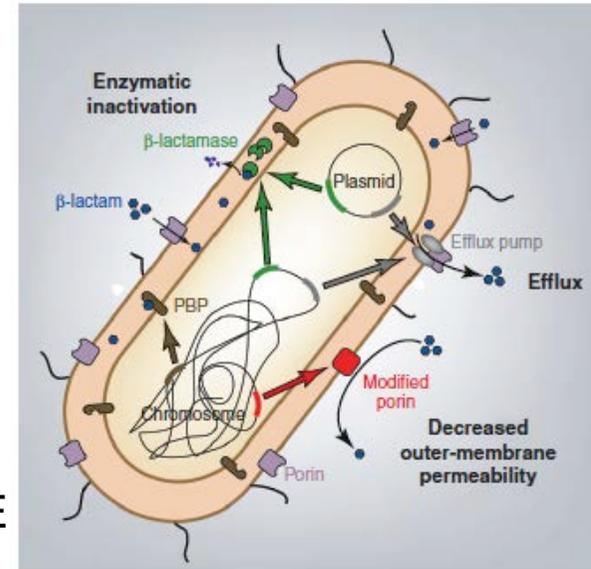
Méthylation d'un résidu Adénine dans l'ARN ribosomal 23S rendant la souche insensible aux MACROLIDES

- Remplacement de la cible comme les protéines de protection du ribosome rendant la bactérie insensible aux TETRACYCLINES

- **Protection contre l'accès de l'antibiotique à sa cible:** pompes à efflux

- **Protection physique empêchant l'accès de l'antibiotique:** production d'exopolysaccharide et ADN dans la matrice des biofilms et piégeant l'antibiotique qui ne peut atteindre sa cible

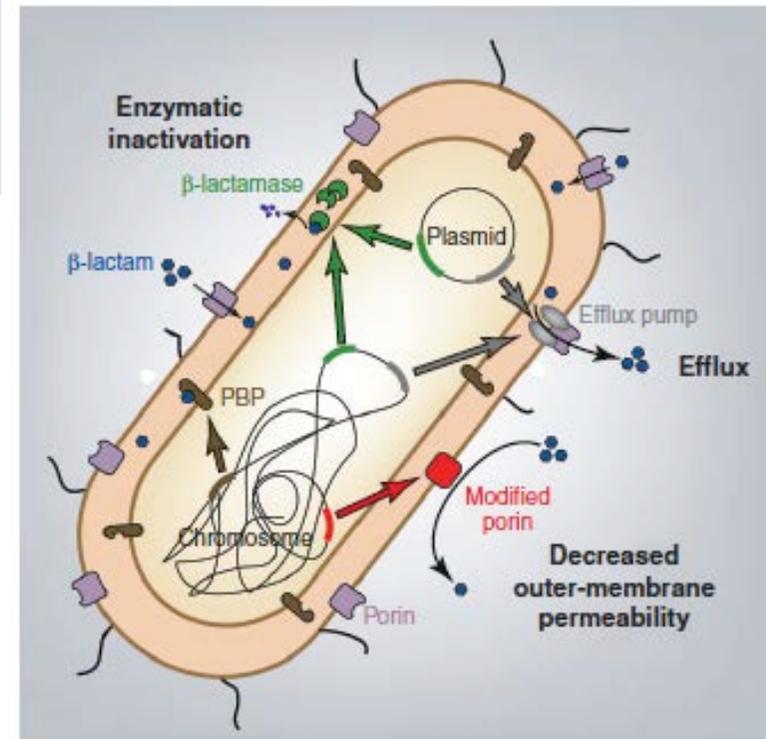
2 types = SPECTRE LARGE DE RESISTANCE



Résumé des mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques (2)

Modification / destruction de l'antibiotique:

- Modification secondaire par une enzyme
Acétylation, phosphorylation des AMINOGLYCOSIDES
- Destruction par une enzyme hydrolytique
Destruction des BETA-LACTAMINES par les beta-lactamases



Causes principales de la crise de l'antibiothérapie

L'homme

Surconsommation globale: « trop d'antibiotiques tue l'antibiotique... »

Les microbes

Plasticité génétique microbienne sous pression sélective

La recherche et le développement

Panne du modèle classique d'innovation en antibiothérapie

Conséquences

Concept de "superbugs"

Gram +

Staphylococcus aureus Méthicilline R (MRSA)

Enterococcus (Vancomycine R)

= Contrôle relatif

Gram –

Entérobactéries (E. coli, Klebsiella, etc...)

Pseudomonas aeruginosa

Acinetobacter

Résistance aux beta-lactamines et carbapénèmes

= Hors contrôle

Trop d'antibiotique tue l'antibiotique...

Toute introduction nouvel antibiotique ou forme modifiée redevenue active antibiotique préexistant suivie (tôt ou tard) émergence isolats résistants
= course aux armements d'issue incertaine...

Médecine humaine:

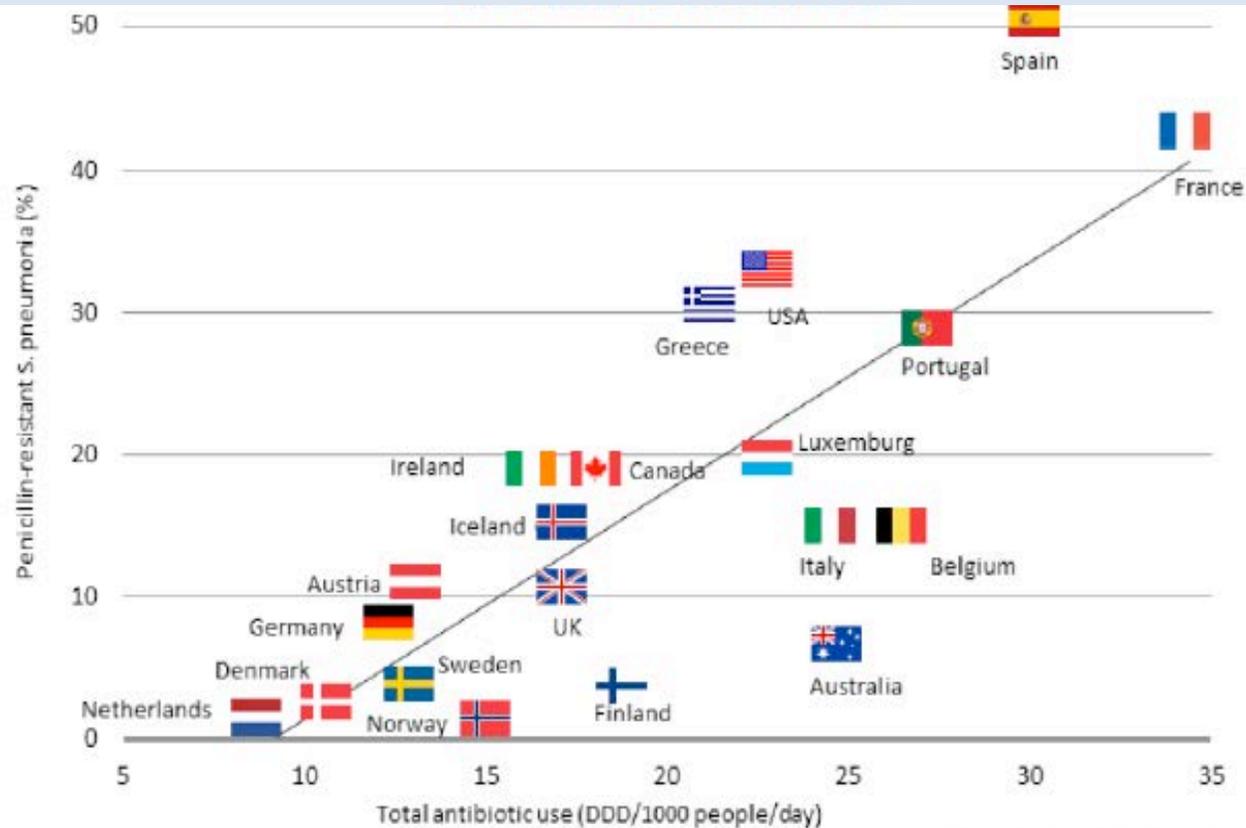
- Niveau de résistance aux antibiotiques strictement corrélé avec niveau de consommation des antibiotiques (Goossens & coll, 2005)
- Manque (re)connaissance résistance = aussi corrélé à prévalence plus élevée antibiorésistance (Grigoryan & coll., 2007)

Médecine vétérinaire:

- Idem médecine humaine + transfert souches résistantes homme-animal
- Aggravé par utilisation à fins augmentation rendements de viande
= bannie par UE en 2005 mais pas ailleurs

Première protection antibiotiques existants = parcimonie utilisation

Lien entre consommation antibiotiques et résistance aux antibiotiques

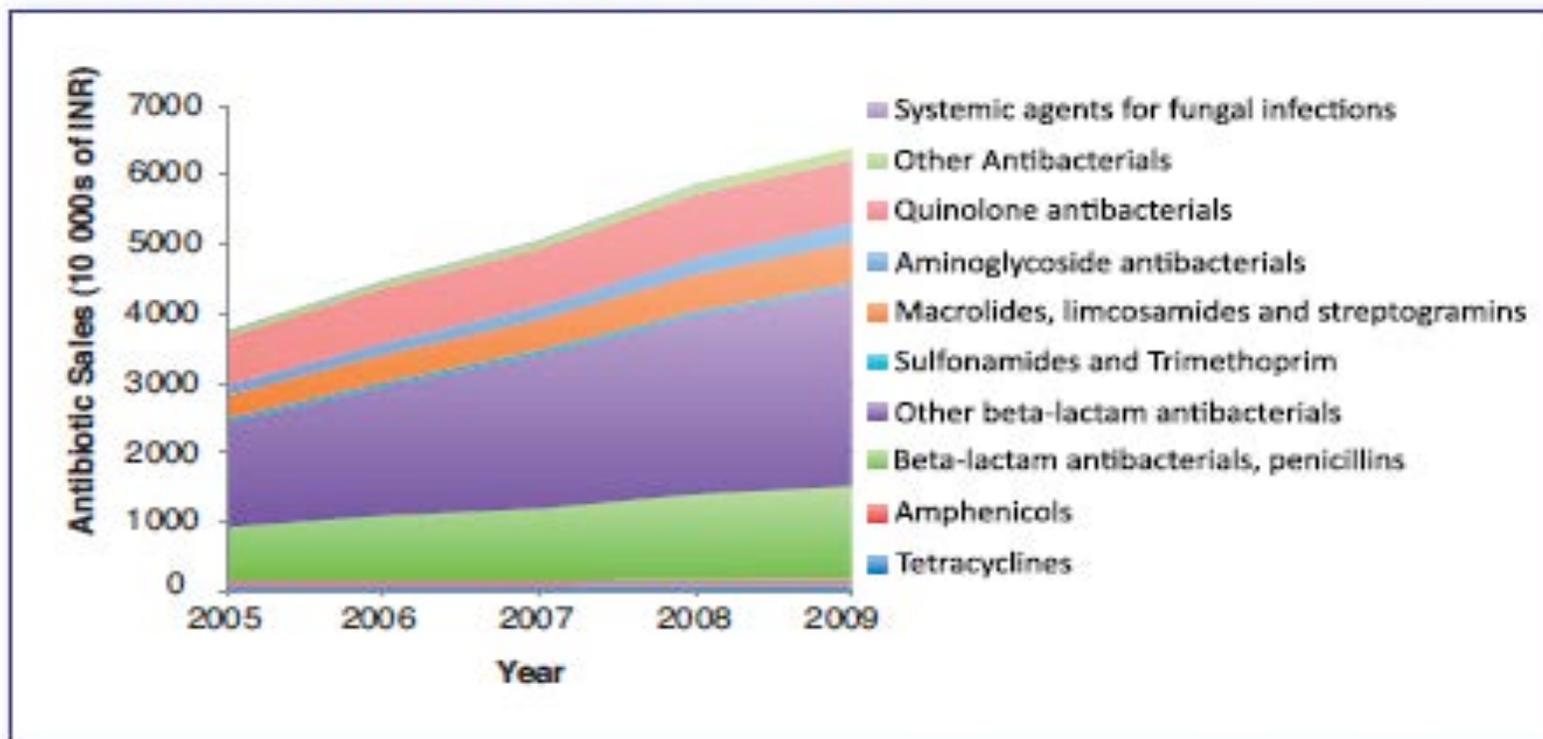


Source: OECD: *Antimicrobial Resistance in 77 Countries and Beyond, 2015*

Consommation des antibiotiques (médecine humaine) Exprimée en dose spécifique / 1000 habitants / jour



Accroissement rapide utilisation antibiotiques dans pays économiquement émergents: Exemple Inde (2005-2009)



INR: Indian Rupee

Source: Reproduced from ³⁰ with permission from The Center for Disease Dynamics, Economics & Policy.

Les antibiotiques, c'est pas automatique...

Fin années 1990, situation en France catastrophique hôpital et médecine de ville

- Massive augmentation *S. aureus* MéthiR (MRSA) hôpitaux
- Augmentation 5 % (1988) à 48 % (1997) isolats pneumocoques PénIR

France = 1^{er} consommateur européen d'antibiotiques !

1999: lancement par RNSP plan national coordonné contrôle

utilisation antibiotiques avec professionnels santé

médecine humaine et vétérinaire, secteur public et privé

= APPROCHE GLOBALE

Surveillance consommation humaine et animale

Surveillance résistance en médecine humaine et vétérinaire

Contrôle strict et prévention dissémination souches résistantes

Promotion recherche sur antibiorésistance

Campagne publique sensibilisation

Développement usage tests diagnostiques "point of care" (angines: Streptocoque A + ou -)

Introduction large vaccination antipneumococcique à partir 2002

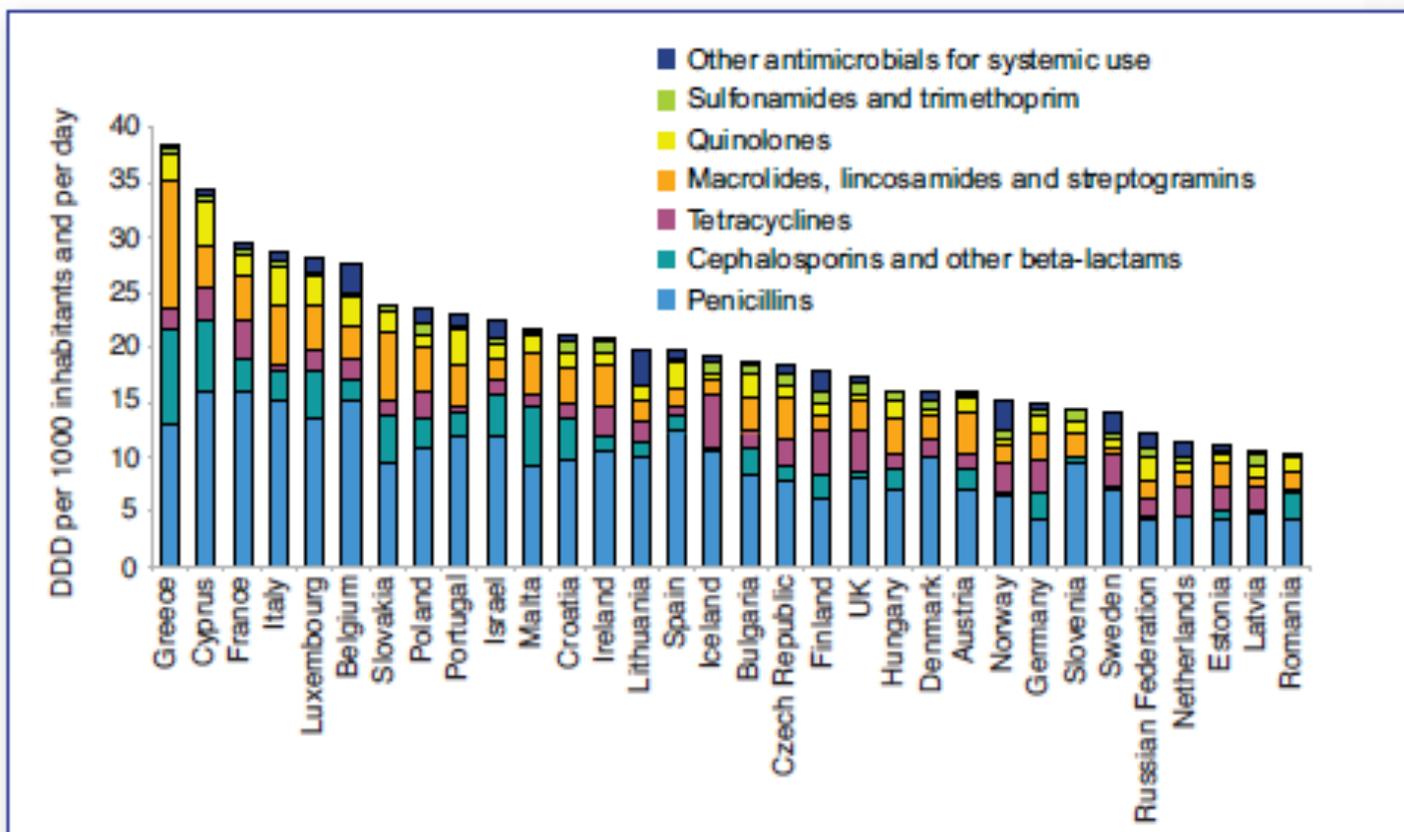
Résultats: diminution de 23 % consommation antibiotiques (2002 – 2007)

Inversion courbe résistance pneumocoques à pénicilline

Diminution de 33 % à 26 % incidence MRSA dans hémocultures (2001 et 2007)



La France reste un mauvais élève en médecine humaine...

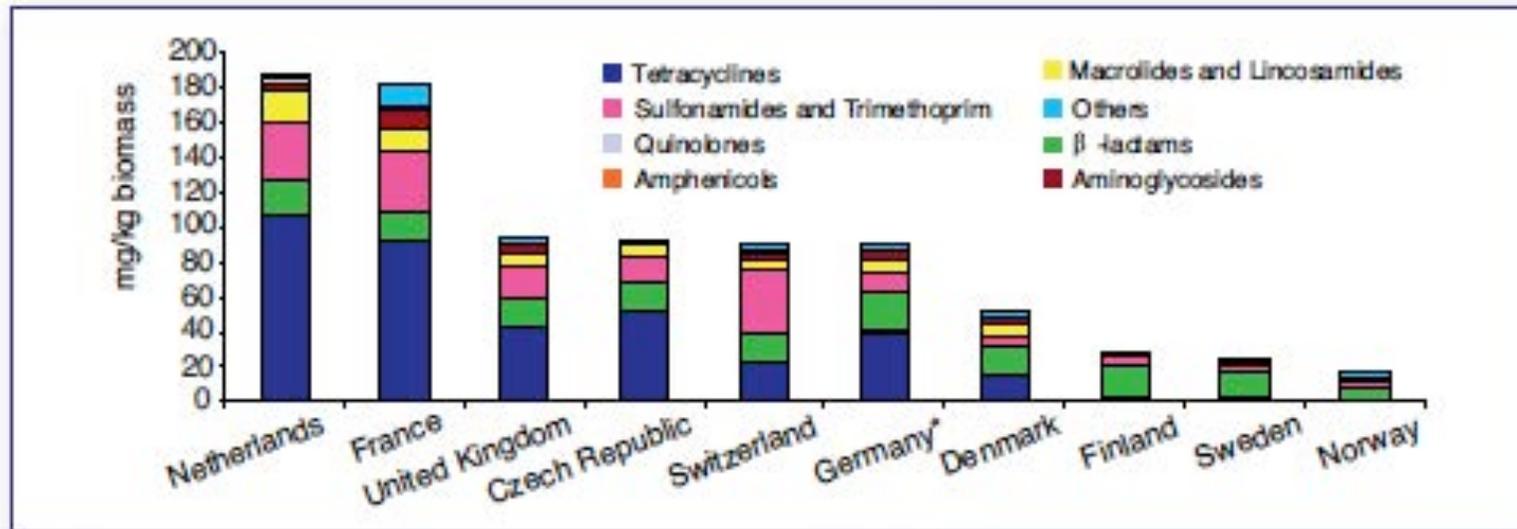


DDD: Defined Daily Doses

Source: Reproduced and adapted from ²⁰ b with permission.



La France reste un mauvais élève en médecine vétérinaire...



Utilisation estimée antibiotiques / kg biomasse dans différents pays:
porc, volaille, bétail



Utilisation des antibiotiques en médecine vétérinaire dans contexte
élimination utilisation comme additifs alimentaires en élevage depuis
2005 en Europe

Antibiorésistance: gradient Nord-Sud & Ouest-Est

Extended Spectrum Beta-lactamases

Ghafourian et al

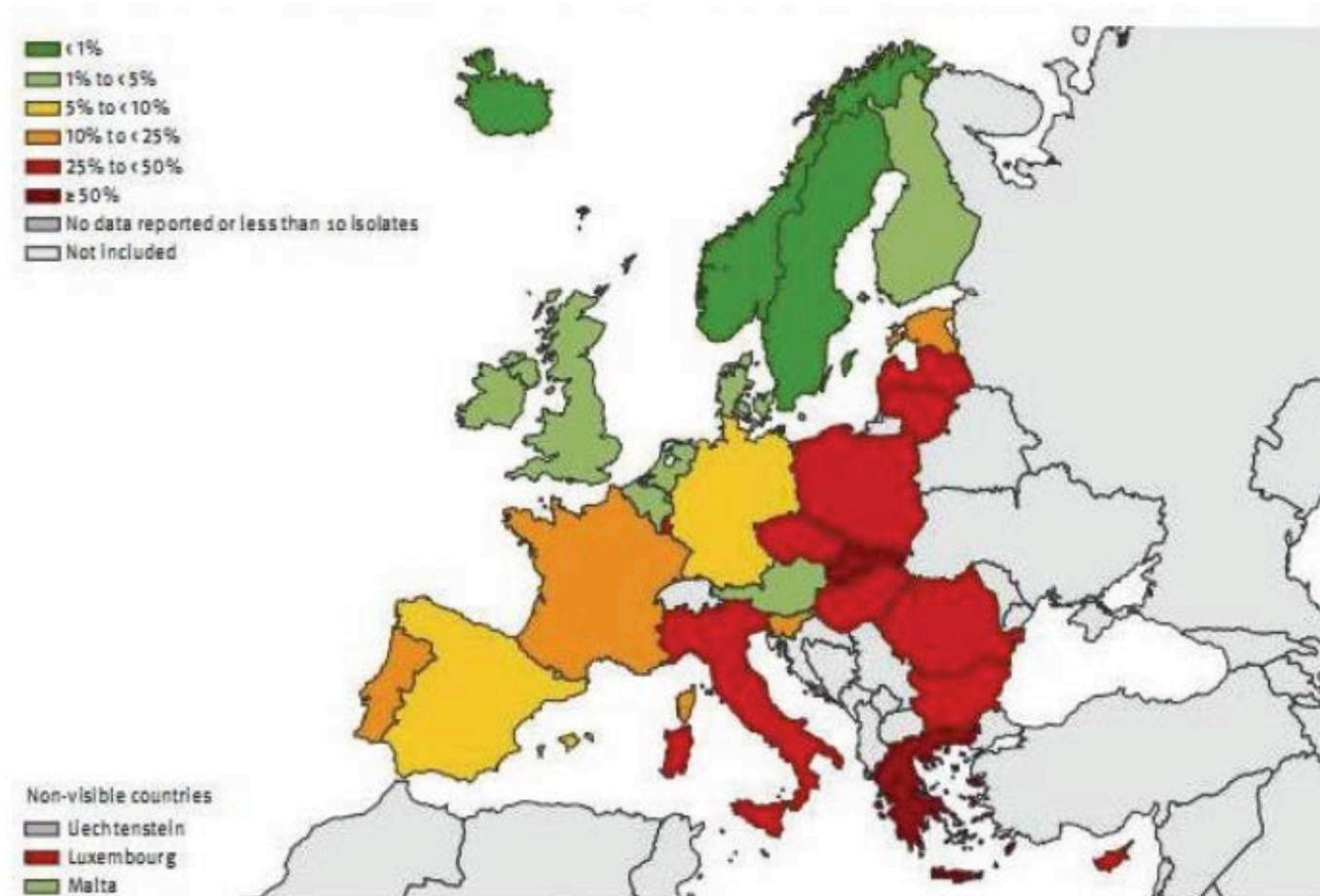


Figure 3. *K. pneumoniae*: percentage (%) of invasive isolates resistant to third-generation cephalosporins, EU/EEA, 2011.

Trop d'antibiotique tue l'antibiotique...

Utilisation non maîtrisée antibiotiques en prophylaxie et traitement des infections

Utilisation indiscriminée antibiotiques dans et hors contexte clinique et vétérinaire

- > 50% antibiotiques utilisés sur la planète = pas pour des motifs médicaux ou vétérinaires mais comme facteurs de croissance en élevage, pisciculture et agriculture

Élimination dans l'environnement sous forme largement non dégradée

- 1000 tonnes/an en France (UE interdit usage non médical/non vétérinaire)
- 15 000 tonnes/an aux USA
- Croissance rapide dans les pays émergents

- > **300 000 tonnes/an sur l'ensemble de la planète ?** (Edition spéciale PNAS 2018)

Pression de sélection massive sur monde microbien **résistome** potentiel énorme (20 000 gènes)

Concerne homme, animaux, eaux et sol

« One World-One health » élargi à l'environnement

Antibiotiques passés du statut de « magic bullet » à celui de « polluants environnementaux »...

Prévention résistance aux antibiotiques: pays nordiques précurseurs

Pays scandinaves dès la fin des années 90:

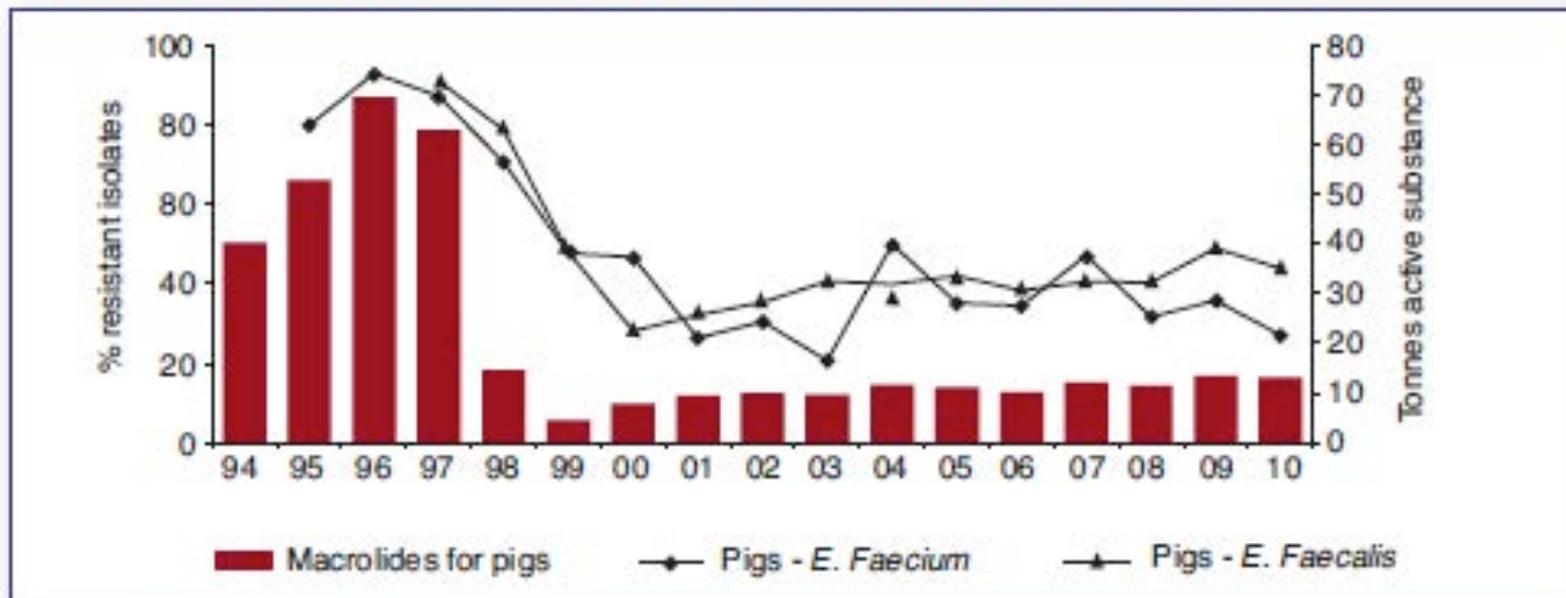
Interdiction antibiotiques comme promoteurs croissance en élevage (2005 sur ensemble UE)

Réduction massive utilisation antibiotiques en pisciculture

Réduction drastique de l'utilisation des antibiotiques et contrôle de la diffusion de la résistance (Bengtsson & Wierup, 2006)

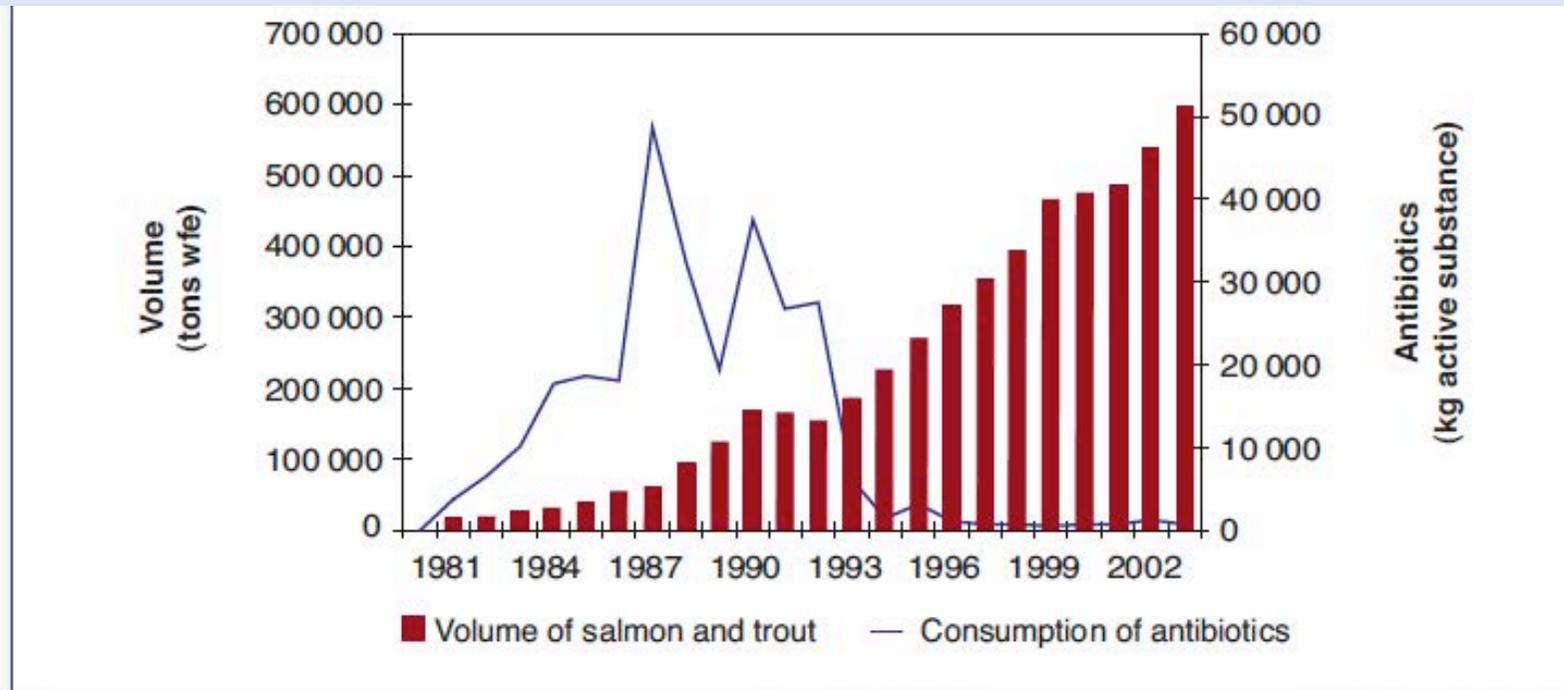
Attitude parcimonieuse / vertueuse = paramètre essentiel
gradient Nord-Sud

Effet arrê quasi complet utilisation macrolides chez porcs au Danemark sur résistance des entérocoques



Source: Reproduced from ²¹ with permission.

Contrôle résistance en pisciculture en Norvège: modèle pour la médecine humaine ?



La meilleure manière de contrôler l'accroissement de l'antibiorésistance est de diminuer le besoin d'utilisation des traitements antibiotiques...

Diminution de 98 % dans les élevages de truites et de saumons en Norvège (1987-2004)

Mesures préventives +++

Hygiène des élevage

Utilisation des vaccins disponibles contre les principaux pathogènes dès 1987

Intervenir contre la menace de perte des antibiotiques

Diminuer pression sélective thérapeutique humaine et animale

- Etablissement et respect bonnes pratiques utilisation antibiotiques
- Eviter prescriptions empiriques = pèsent très lourd dans utilisation excessive antibiotiques
- Sauvegarde groupe restreint antibiotiques pour usage exclusif en médecine hospitalière

Ca marche ! à condition de pérenniser les efforts de contrôle en médecine humaine et vétérinaire et de les intégrer dans politique globale de prise en charge maladies infectieuses

En médecine humaine:

Diagnostic au chevet du malade = pathogène bactérien vs virus

Si nécessité clinique d'antibiotique, choix de la molécule la mieux adaptée avec le spectre le plus étroit pour une durée optimale

Combinaison à une couverture vaccinale suivie (revaccinations)

Interdiction utilisation antibiotique pour autres motifs que traitement infections humaines et vétérinaires

Problème: doit être implémenté à l'échelle de la planète !

Bases de la dynamique de la transmission / extension
des phénotypes de résistance aux antibiotiques

Transfert latéral de gènes (TLG) = base principale réarrangement et évolution génomes procaryotes

Etendue réarrangements considérable = 25 % génome, dans certaines espèces, dérive de TLG sur de longues périodes évolutives

Evidences d'évolution à plus court terme chez certains pathogènes comme *E. coli* dont pangénome atteint 20 000 gènes pour environ 3500 gènes pour un génome individuel (Touchon & coll, 2009, PLoS Genetics)

Résistance aux antibiotiques = exemple le plus clair d'évolution accélérée, mue par TLG sous pression sélective

Les bactéries peuvent compter - grâce à l'énorme résistome existant - sur un potentiel constant d'évolution par un flux de gènes capables de passer les barrières phylogéniques (même Gram+/Gram-)

Différent de la sélections de polymorphismes générés par des évènements mutationnels rares chez les eucaryotes (excepté dans le système immunitaire)

Ne veut pas dire que des mutations ponctuelles ne jouent pas un rôle, mais bien moindre

Origines variation génétique chez bactéries: transfert horizontal de gènes

Transformation: capture et intégration d'ADN exogène. Certaines espèces sont plus **compétentes** que d'autres pour la transformation (pneumocoque...)

Plasmides: éléments autotransférables vecteurs de gènes présents sur des transposons/intégrons

Porteurs de gènes métaboliques, antibiorésistance, virulence, toxines

Transposition: transposons = segments ADN capables de s'intégrer dans de nouveaux sites identiques ou différents de leur site d'insertion d'origine

Des transposons conjugatifs peuvent promouvoir leur propre transfert interbactérien

Conjugaison: transfert de fragments chromosomiques assuré par un plasmide intégré (»F factor / .Hfr)

Lysogénie: intégration d'un phage dans le chromosome bactérien lui offrant la capacité d'exprimer des gènes de virulence (toxines)

Transduction: transfert de fragments chromosomiques bactériens par l'intermédiaire d'un bactériophage

Causes de la capacité d'émergence et d'extension de la résistance des bactéries aux antibiotiques

Richesse du "**résistome**" = répertoire global de gènes potentiels de résistance aux antibiotiques

Efficacité de dissémination des vecteurs des gènes de résistance, plasticité génomique

Unicité du monde microbien: homme/animal/environnement

Amplification par augmentation échanges nationaux et internationaux

Functional metagenomics for the investigation of antibiotic resistance

Peter Mullany

Department of Microbial Diseases; UCL Eastman Dental Institute; University College London; London, UK

Un meilleur contrôle de la résistance aux antibiotiques passera aussi par une connaissance du répertoire de gènes codant potentiellement pour des mécanismes de résistance = RESISTOME

Trois résistomes principaux pour ce qui concerne la médecine:

Le résistome intestinal humain

Le résistome intestinal animal

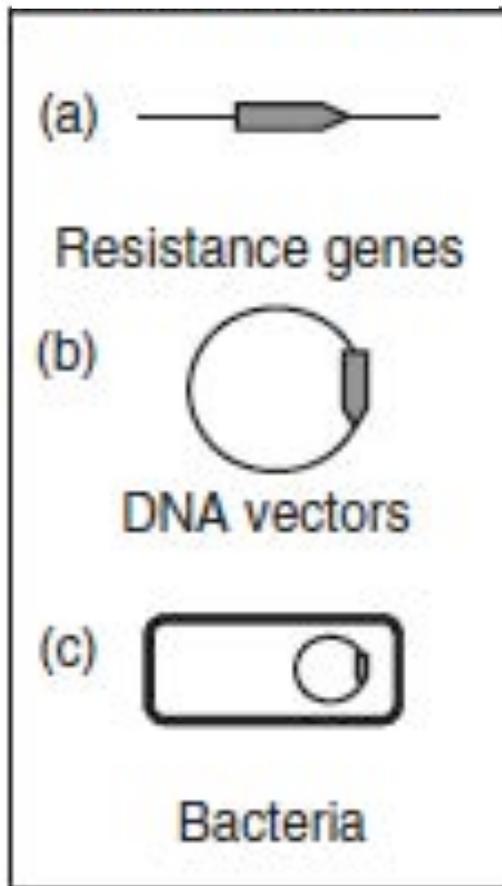
Le résistome environnemental

L'exercice ne vaut que si l'analyse est globale, or un fort pourcentage de ces microorganismes sont incultivables. Nécessité du métagénomique par "deep-seq"

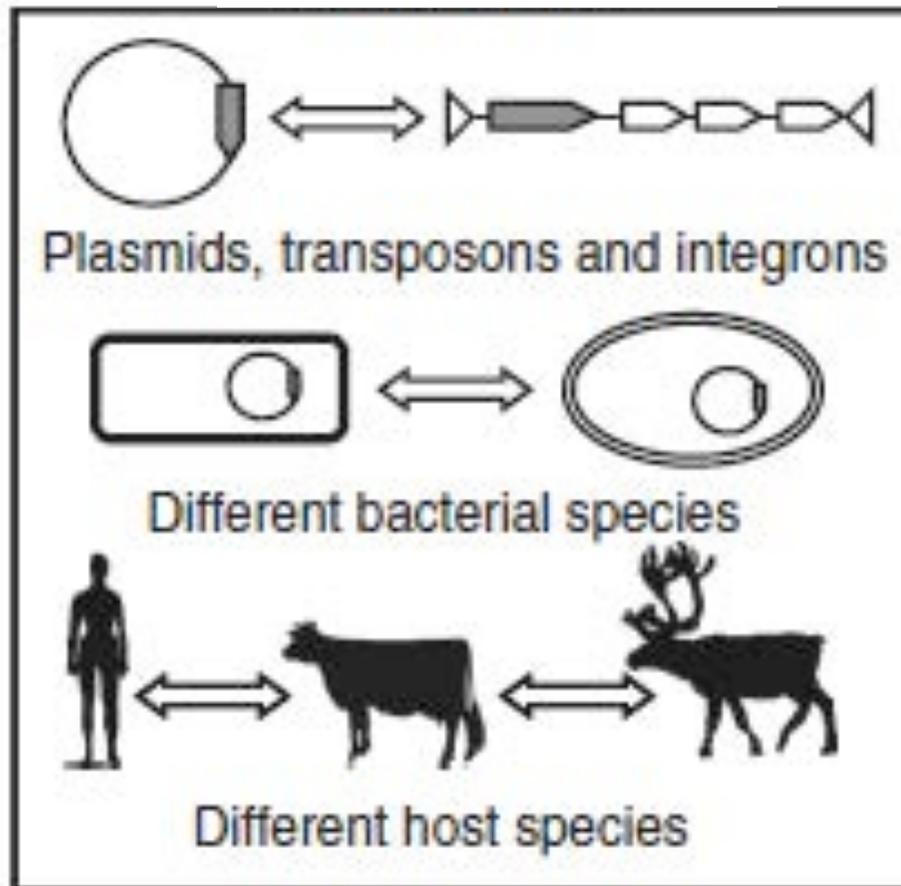
Base de donnée récente: annotation de l'ensemble des données de séquences disponibles de génomes microbiens = 20 000 gènes potentiels de résistance de 400 types différents (Liu & Pop, 2009, Nucleic Acid Res)

Différentes perspectives mobilisation gènes assurant résistance aux antibiotiques (Stokes & coll, 2011, FEMS Microbial Rev)

Unités de transfert



Vecteurs & receveurs

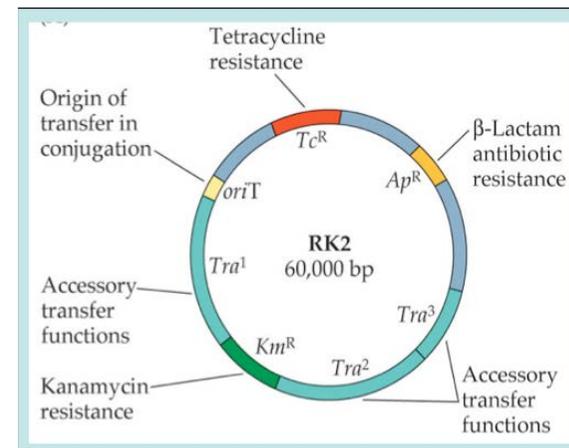
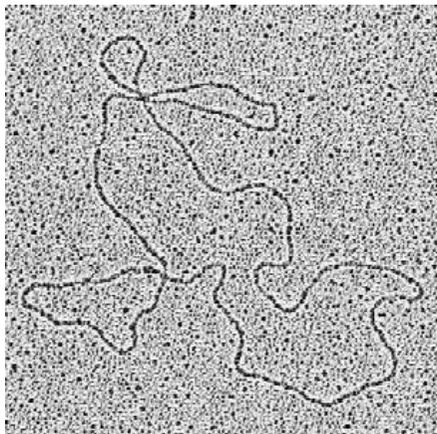


Vecteurs du transfert horizontal de gènes: **plasmides**

extrachromosomiques, (souvent) autotransférables par conjugaison, de taille variable allant de quelques kilobases à plusieurs centaines de kilobases

Sans conteste le vecteur le plus efficace pour transmettre horizontalement des gènes et leurs éléments génétiques porteurs (transposons/intégrons) de bactérie à bactérie, dans de nombreux environnements.

Caractéristiques fondamentales: taille, incompatibilité, exclusion d'entrée, transfert, réplication (Novick 1969, Falkow, 1975)



Selection of a Multidrug Resistance Plasmid by Sublethal Levels of Antibiotics and Heavy Metals

Erik Gullberg, Lisa M. Albrecht, Christoffer Karlsson, Linus Sandegren, Dan I. Andersson

Department of Medical Biochemistry and Microbiology, Uppsala University, Uppsala, Sweden

E.G. and L.M.A. contributed equally to this article.

ABSTRACT How sublethal levels of antibiotics and heavy metals select for clinically important multidrug resistance plasmids is largely unknown. Carriage of plasmids generally confers substantial fitness costs, implying that for the plasmid-carrying bacte-

Maintenir un plasmide a un coût d'adaptation ("fitness cost") en l'absence de pression sélective.

Ce coût est compensé par la présence d'antibiotiques ou de métaux lourds dans l'environnement du microorganisme.

Mais à quelle concentration ? en regard de la CMI ?

Exemple = plasmide pUUH239.2 de multirésistance de *Klebsiella/E. coli* porteur de ESBL+ Tétracycline, Macrolides, Aminoglycosides, Sulfamides & Triméthoprime, Ciprofloxacine + résistance aux métaux lourds: argent, cuivre, arsenic

"Minimum Selective Concentration" (MSC) = concentration la plus faible d'antibiotique assurant une croissance identique à celle la même bactérie dénuée de plasmide = 1/140 MIC/CMI !

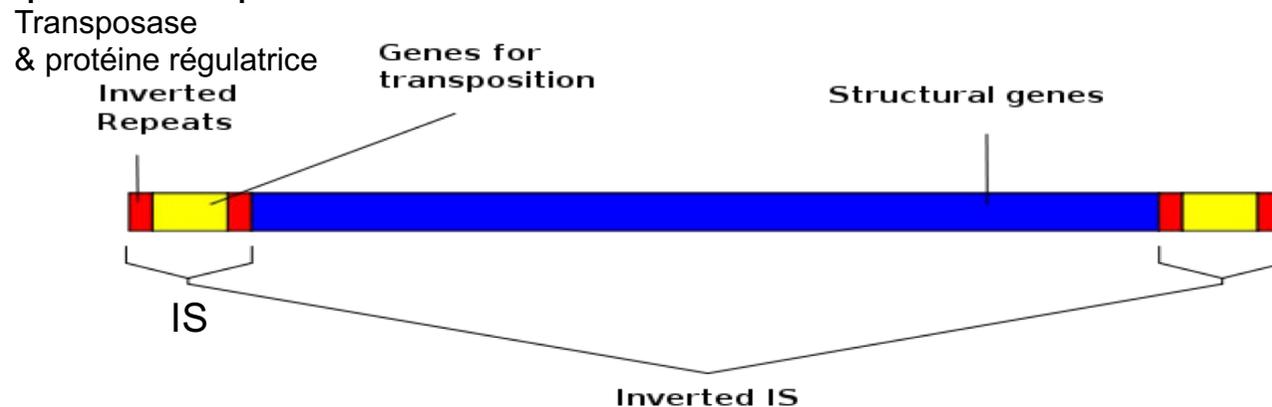
Vecteurs de sauts géniques entre chromosome et plasmides (plasmide-plasmide): **transposons**

Séquences d'insertion (IS) = Eléments transposables les plus simples

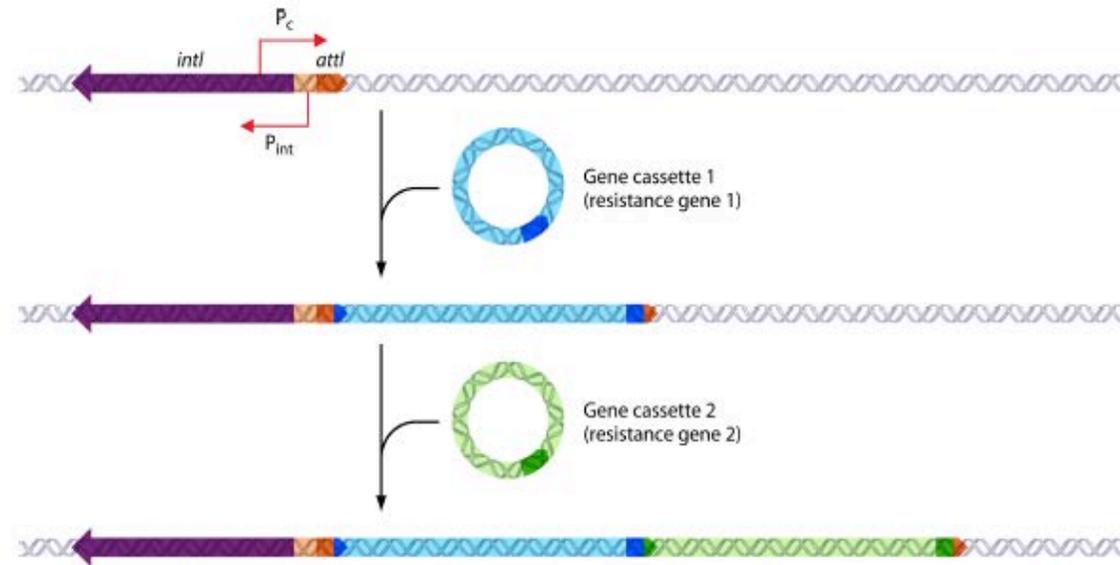
- Un gène codant une transposase encadré par des séquences répétitives inversées (inverted repeat sequences), limitant l'IS et site de reconnaissance par la transposase
- Reconnaissance sur la cible de deux courtes séquences directement répétées (direct repeat sequences).

Transposon = IS transportant d'autres gènes (résistance aux antibiotiques, métaux lourds, antiseptiques). Toujours encadré de deux IS assurant le saut d'une structure génétique à une autre.

La transposase ne peut fonctionner que si elle reconnaît à la fois les deux courtes séquences répétées sur l'ADN cible et ses propres séquences répétitives inversées.



Porteurs/vecteurs de cassettes de résistance: **intégrons**



Principalement chez les bactéries à Gram négatif. Capture, expression, dissémination de gènes permettant l'adaptation bactérienne à des contraintes environnementales (antibiotiques, etc...)

Structure et processus de capture de cassettes:

Intégrase (int) + promoteurs (P_{int} & P_c) à son extrémité 3' et **séquence d'attachement/insertion (attI)**

Intégrase catalyse l'intégration séquentielle de cassettes de résistance, créant, grâce au promoteurs une structure d'opéron où les gènes de résistance vont être transcrits à partir du promoteur P_c

Vecteurs du transfert horizontal de gènes: intégrons

Très anciens (Mazel & coll, 2006)

Système de recombinaison spécifique de site capable de capturer des gènes individuels localisés sur des cassettes mobiles (Stokes & Hall, 1989)

Plusieurs classes sur la base de la séquence de la recombinase

Quasi exclusivement les Int de classe 1 transmettent des résistances

Pourquoi ? pourquoi si abondants ?

- Essentiellement localisés dans des éléments génétiques très mobiles: plasmides et transposons. Le plus souvent associés aux "restes" d'un Tn (Tn402/Tn5070) ayant perdu son module de transposition (Shapiro & Sporn, 1977). Complémentations en trans.

- Intégrons-Tn402 et équivalents = "Res hunters" qui ciblent le complexe de résolution (Résolvase/Res) important dans la replication et/ou la mobilité des plasmides et des transposons (Kholiidi & coll, 1995)

- Isolat de *P. aeruginosa* du permfrost datant de 15 000 ans montre un intégron de classe 1 présentant toutes les caractéristiques d'un intégron d'isolat clinique de la période antibiotique... (Peron & coll, 2015, PLoS One)

Pourquoi certains éléments mobiles sont-ils plus associés à des gènes de résistance aux antibiotiques?

Coïncidence ?...

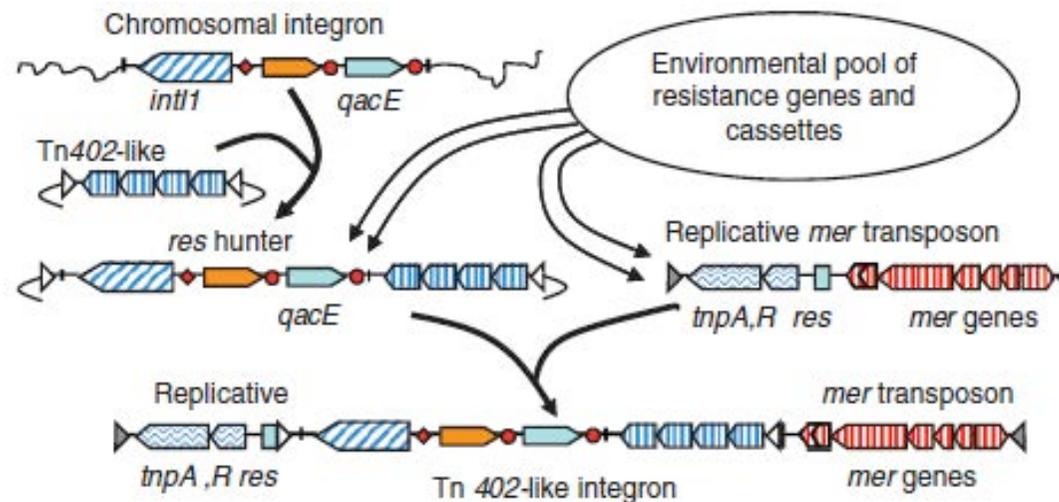
Certains groupes d'éléments mobiles pourraient avoir été pré-conditionnés pour diffuser au sein de certaines espèces bactériennes.

Transposons codant pour résistance au mercure. Existaient bien avant l'apparition des antibiotiques modernes par nécessité de détoxification du mercure très prévalent dans l'environnement (réaction de réduction indispensable avec l'apparition de l'O₂ sur la planète qui a rendu le mercure toxique, Barclay & coll, 2010)

Relai plus récent par antiseptiques contenant du mercure ?

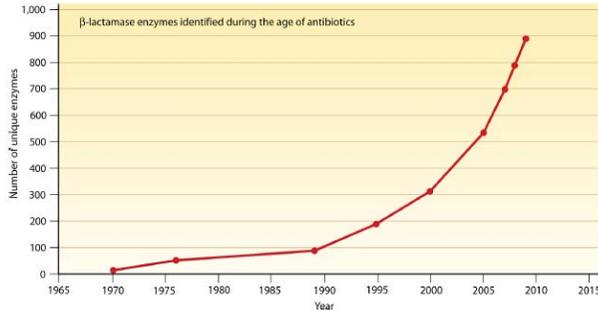
Ayant commencé à capturer des gènes de résistance aux antibiotiques, ce sous-groupe de transposons a pu assurer une rapide évolution des bactéries hôtes sous pression sélective des antibiotiques (Kholodii & coll, 2003).

Modèle de construction séquentielle d'éléments génétiques "ultramobiles" au sein des bactéries à Gram - "contemporaines"

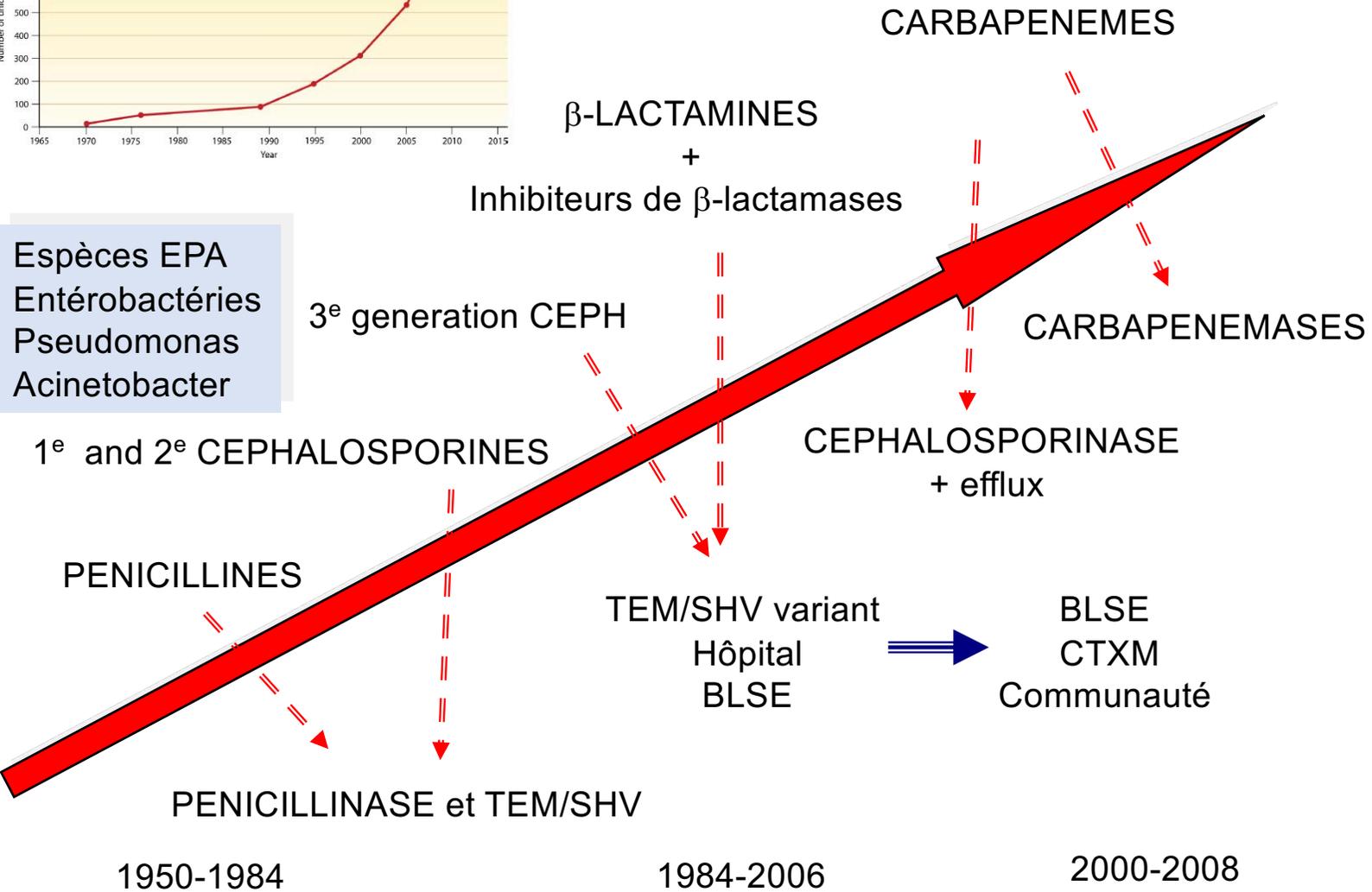


Les désinfectants ont sélectionné des gènes de résistance aux ammoniums quaternaires dans des intégrons de classe 1 avant les antibiotiques. Cette structure s'est liée à Tn402 (Tn délété) et est devenue mobile. L'usage des antibiotiques y a amené le recrutement de gènes d'antibiorésistance. En parallèle, la contamination de l'environnement microbien (naturelle et thérapeutique) par le mercure a permis le recrutement indépendant de gènes d'antibiorésistance en association avec la résistance au mercure. Les capacités de "res-hunting" (préférence d'insertion dans gène de la résolvasse (*res*) du transposon cible) de Tn402 ont permis de fusionner les système en un élément complexe.

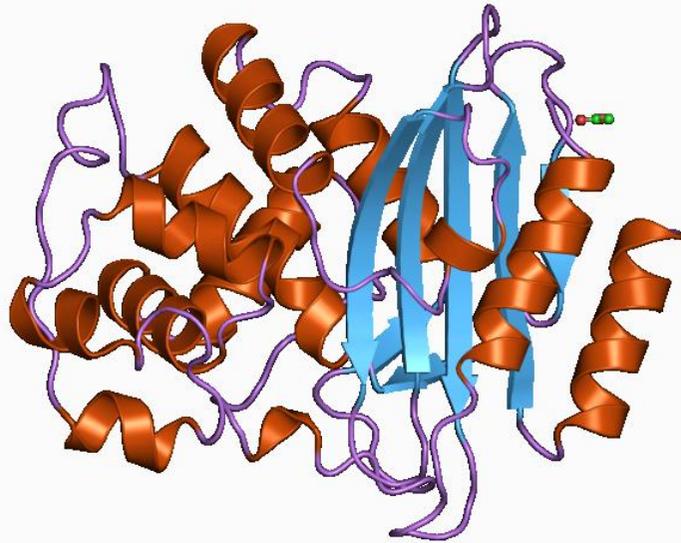
Carbapénémases: ultime défi ?



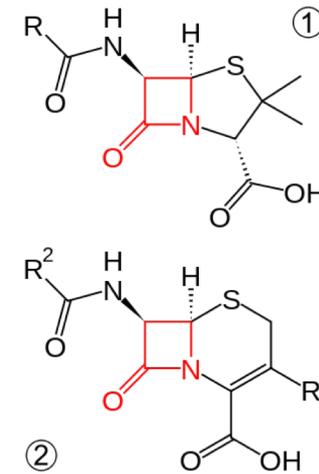
> 1000 β-LACTAMASES !



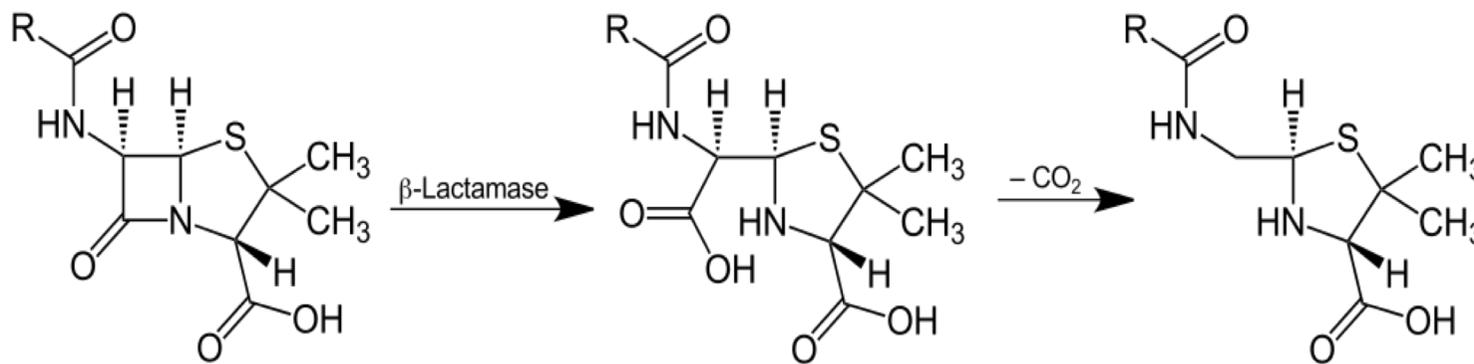
Hydrolyse du noyau beta-lactame



Structure d'une beta-lactamase de Streptomyces

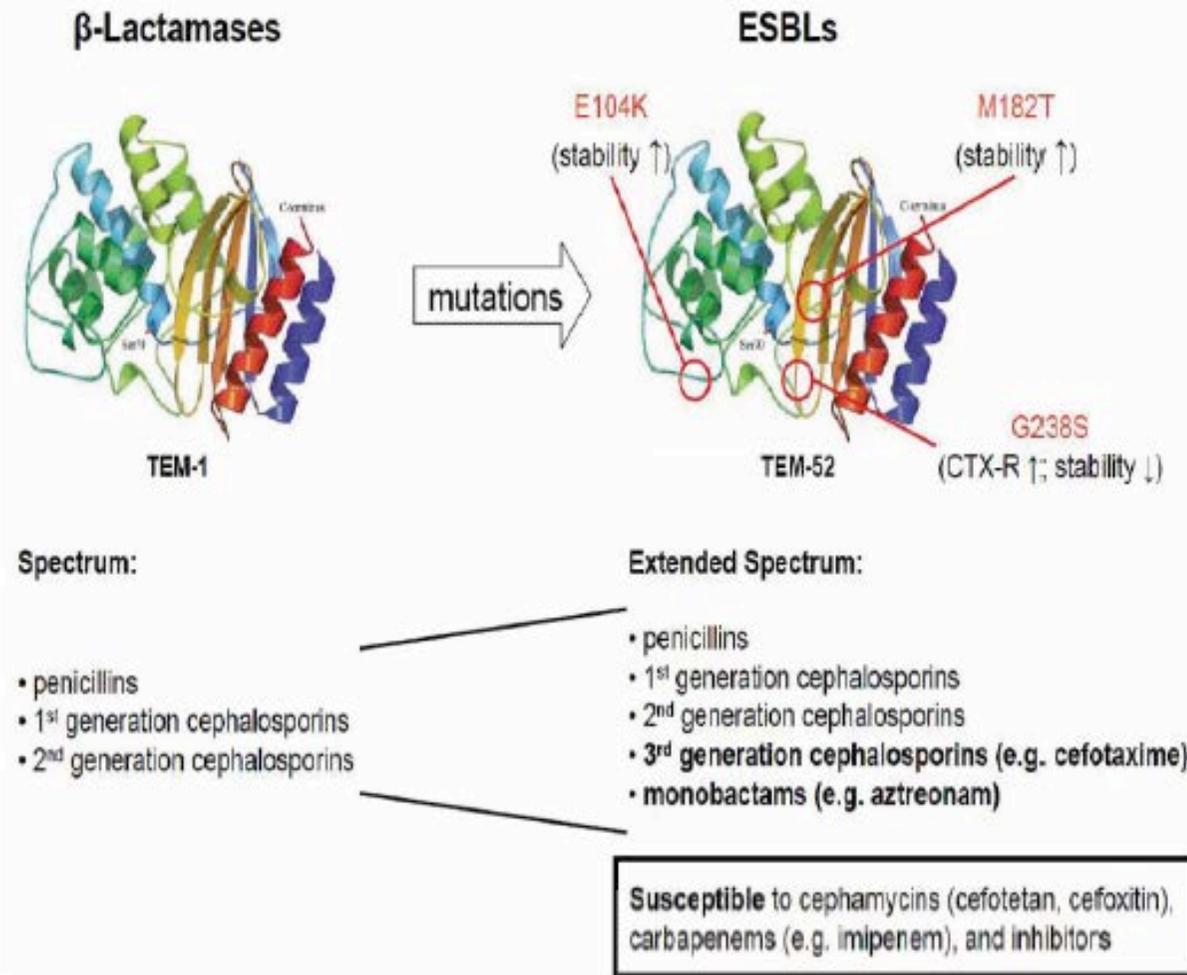


Structure de base des beta-lactamines
Pénicillines (1) et céphalosporines (2)
Noyau beta-lactame en rouge



Hydrolyse puis décarboxylation du noyau beta-lactame

Substitutions d'acides aminés et extension du spectre des beta-lactamases



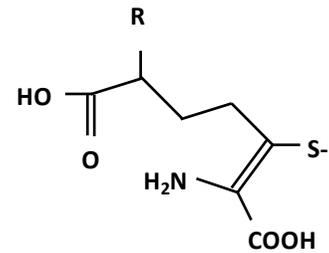
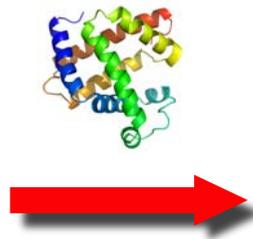
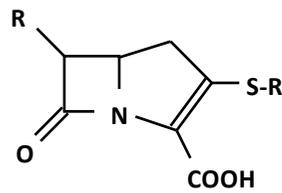
Carbapenem resistance in *Enterobacteriaceae*: here is the storm!

Patrice Nordmann, Laurent Dortet and Laurent Poirel

Service de Bactériologie-Mycologie, INSERM U914 'Emerging Resistance to Antibiotics', Hôpital de Bicêtre, Assistance Publique/ Hôpitaux de Paris, Faculté de Médecine Paris Sud, K.-Bicêtre, 78 rue du Général Leclerc, 94275 Le Kremlin-Bicêtre Cedex, France

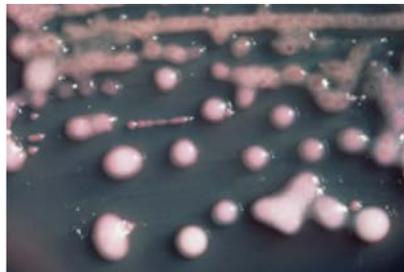
Emergence des carbapénèmases

Carbapénèmase



Carbapénèmes

Imipénème
Meropénème
Ertapénème
Doripénème



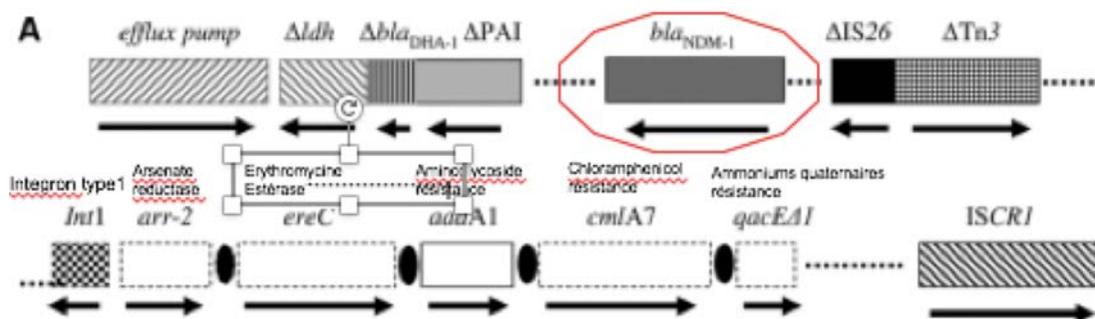
Saga NDM-1 (New Delhi métallobeta-lactamase-1)

Décembre 2009, l'enzyme **NDM-1** est décrite par un groupe de Tim Walsch (Yong et coll. 2009. AAC) chez un Suédois ayant présenté une infection urinaire multirésistante en Inde. Suite à un échec thérapeutique à Delhi, le patient rapatrié en Suède, on identifie *Klebsiella pneumoniae* résistante aux carbapénèmes portant le gène *bla*_{NDM-1}. Le gène est retrouvé sur un plasmide de 140 kb (pNBD1) dans une souche *E. coli* isolée des selles du patient (transfert *E. coli*-*K. pneumoniae* ?)

L'article concluait : "the new resistance mechanisms clearly arose in India, but there are few data from India to suggest how widespread it is".

Mars 2010, une étude hospitalière de Bombay montrait que la plupart des souches résistantes aux carbapénèmes portaient le gène *bla*_{NDM-1} (Deshpande P et coll. 2010. J Assoc Phys India)

Mai 2010, infection chez un habitant de Coventry, ayant séjourné en Inde 18 mois auparavant où il avait été hémodialysé. Traitement : Tigécycline + Colistine. Les auteurs préviennent du risque de "rapid spread of NDM-1 with potentially serious consequences" (Muir A et coll. 2010. J Hosp Infect)



Crise globale

La résistance aux carbapénèmes concerne les bactéries à Gram négatif: Entérobactéries (*E. coli*, *Klebsiella*), *Pseudomonas* et *Acinetobacter* (Walsh, 2010, J Antimicrob Agents; Nordmann & coll, 2011, Emerg Infect Dis)
Est devenue une crise mondiale

Dispersion rapide, support génétique combinant des résistances multiples à d'autres antibiotiques (Rolain & coll, 2012, Clin Microbiol Infe

Seule ressource = ancien antibiotique, **Colistine**, mais résistances portées
Par plasmide apparaissent
(Lesho et coll, 2013, J Infect Dis)

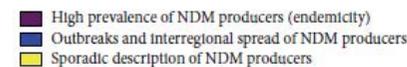
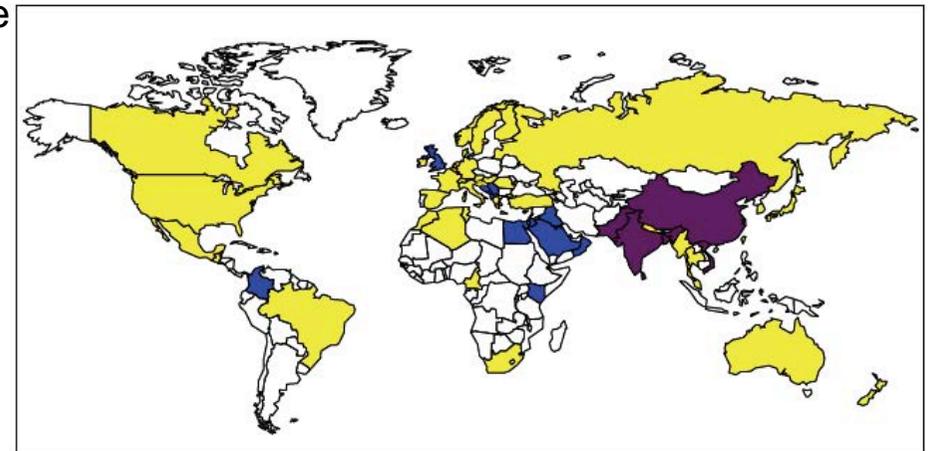


FIGURE 2: Geographical distribution of NDM producers.

Articles

Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study

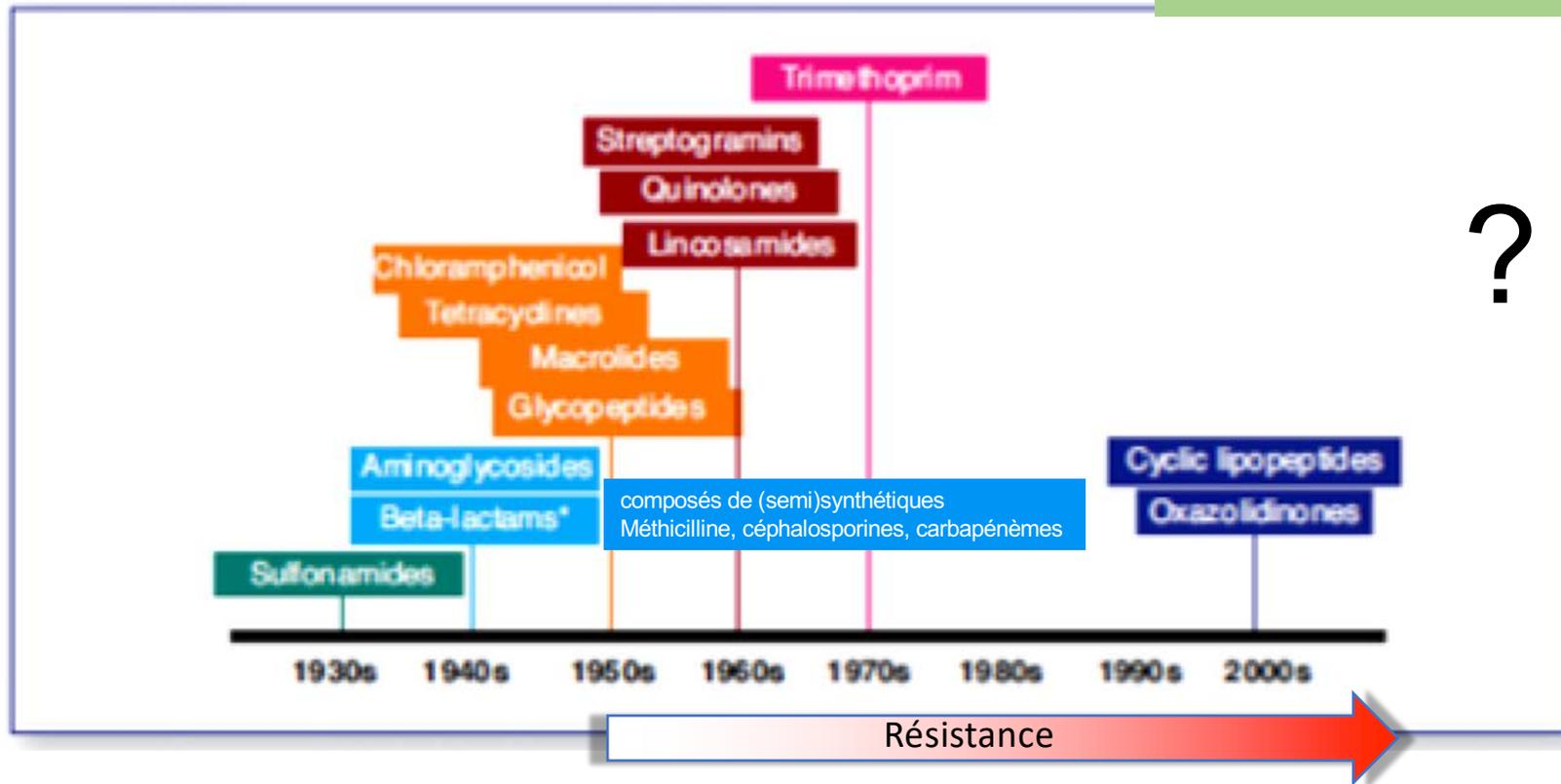
Yi-Yun Liu, BS[†], Yang Wang, PhD[†], Prof Timothy R Walsh, DSc, Ling-Xian Yi, BS, Rong Zhang, PhD, James Spencer, PhD, Yohei Doi, MD, Guobao Tian, PhD, Baolei Dong, BS, Xianhui Huang, PhD, Lin-Feng Yu, BS, Danxia Gu, PhD, Hongwei Ren, BS, Xiaojie Chen, MS, Luchao Lv, MS, Dandan He, MS, Hongwei Zhou, PhD, Prof Zisen Liang, MS, Prof Jian-Hua Liu, PhD, Prof Jianzhong Shen, PhD

Crise de l'antibiothérapie: entre résistance et panne d'innovation... La recherche à bout de souffle ?

Age d'or
Pds naturels
Cribles bactériens
"Waksman's platform"
Succès ++++

Chimie Médicinale
Hémisynthèse
Cribles bactériens
AB large spectre
Succès +++ (AB = "miracle")

**Ere de la résistance
et du High-Tech**
Librairies molécules synthèse
Cribles à haut débit, etc...
AB large spectre + spectre étroit
Succès +/-



Raisons de la crise de l'innovation en antibiothérapie

Raisons scientifiques

"Le plus facile est derrière nous", modèle asymptotique

Les "low-hanging fruits" ont été cueillis et consommés...

Seulement 15/167 molécules candidates ont un mécanisme nouveau (2008)

Très loin de la "molécule prometteuse" à "l'antibiotique innovant" et au marché

"Taux d'attrition" élevé: toxicité, pharmacodynamique, facilité d'apparition de résistances (expérimentation ou anticipation sur la base du résistome)



Raisons commerciales = démotivation

Faible retour sur investissements car antibiotiques consommés sur de courtes périodes et (combe !) guérissent les patients traités

Inversement, médicaments dédiés aux maladies chroniques (HTA, diabète, maladies neurodégénératives) consommés à vie...

(Tx retour sur investissement : AB = 2 vs anti Parkinson / Alzheimer > 30)

Incitation à réduire l'usage des nouveaux antibiotiques (sanctuarisation)

Bureaucratisation processus réglementaires = innovation incrémentale vs radicale

Peu de "big pharma" poursuivent leurs programmes antibiotiques

(GSK, Novartis, Astra-Zeneca, Merck, Pfizer, Sanofi-Aventis +/-)

Raisons commerciales de la crise de l'innovation en antibiothérapie: **les coûts**

Recherche & développement - commercialisation = long processus
Investissements, succès/échecs, GMP/essais cliniques, procédures administratives d'enregistrement pour accès au marché

Calcul des coûts de développement:

Calcul à 3 paramètres tenant compte du coût des échecs:

- Rapport entre nombre de molécules identifiées en phase de découverte et nombre de molécules accédant au marché
- Montants investis
- Temps écoulé entre prise de brevet et accès au marché

1 - 1.5 milliard €

1 médicament sur 13 = succès

(2 fois moins qu'il y a 10 ans) + **inférieur pour les antibiotiques...**

Modèle capitalistique et concurrentiel: profits réalisés par commercialisation doivent compenser investissements y compris les pertes si échec ("block

Crise innovation en antibiothérapie: des solutions innovantes ?

Crise antibiorésistance devenue sujet trop grave pour être laissée simplement à loi du marché

Indispensable: états, avec Académie et aide fondations réinvestissent en partageant les risques, donc coûts du développement

Modification, désenclavement recherche industrielle

- Mise en commun de ressources: bases de données, biobanques, plates-formes technologiques

- "**Innovation ouverte**" multipliant collaborations scientifiques extérieures afin de désenclaver R&D interne de l'entreprise

- Accent sur recherche translationnelle

Recherche de nouveaux antibiotiques et approches alternatives / complémentaires

Recherche nouvelles cibles = nouveaux antibiotiques

Devant échec global criblage à haut débit de bibliothèques de molécules issues de synthèses industrielle pharmaceutique

Retour à la nature...

Antibiotiques naturels = régulateurs homéostasie écosystèmes microbiens = meilleure source de nouveaux antibiotiques ?

Actinomycètes = bactéries telluriques = principaux producteurs antibiotiques naturels , mais > 90 % bactéries telluriques = non-cultivables !

« Dark matter » (Gerry Wright)

Explorer diversité microbienne tellurique et océanique

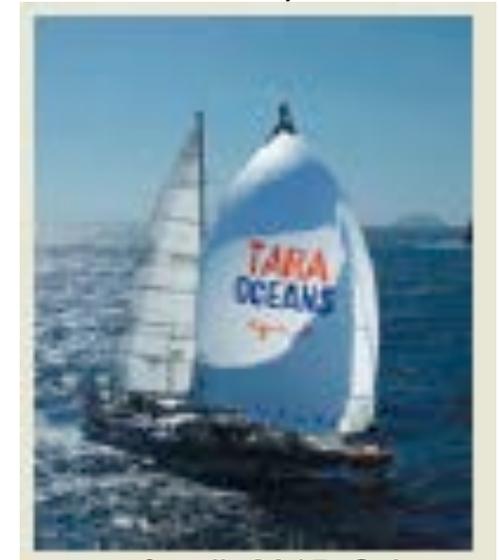
Choix rationnel et exploration de nouvelles niches écologiques (Hughes & Fenical, 2010, Rahman & coll., 2010)

Ex. = **Tara Ocean** = multitude de taxa, gènes et familles protéines procaryotes inconnus dans plancton épi-et mésopélagiques

Développement nouvelles méthodes de culture = **culturomique** (Lagier et al., 2015, Ling et al. 2015)



Actinomyces



Sunagawa & coll, 2015, Science
Buttigieg et al. 2018. Curr Opin Microbio

Nouvelles cibles: principes généraux...

Exploitation des génomes bactériens afin d'identifier nouvelles cibles potentielles
= recherche gènes dont mutagénèse entraîne incapacité survie bactérie

Combinaison avec criblage librairies de composants renouvelés affectant *in vitro* fonction cible dans test acellulaire (neutralisation activité enzymatique).

Implémentation de méthodes "déreplication (Wright & coll)

Usage croissant microfluidique

- ***in vitro***: « core » d'environ 500 gènes "vitaux" pour chaque bactérie

- ***in vivo***: en particulier dans les conditions réelles d'infection (nb. supérieur)

Sous-groupe = molécules anti-virulence (Clatworthy, 2007):

- Inhibition de la fonction de l'appareil de sécrétion de type 3 (T3SS) chez *Yersinia* (Negrea & coll., 2007)

- Inhibition de *qseC*, un gène activateur de la virulence chez plusieurs pathogènes (Rasko & coll., 2008)

Facteurs souvent limitants:

- Performances bactéricides mpindres que antibiotiques « classiques »

- Pharmacodisponibilité médiocre

Trouver de nouvelles cible = inhibition métabolisme

- Métabolisme/biosynthèse des lipides bactériens (Su & Honek, 2007)

ex: réorientation molécules développées pour d'autres objectifs.

BPH-652 = phosphonosulfonate, hypocholestérolémiant, cible = Squalène Synthétase (synthèse du cholestérol chez eucaryotes). Inhibe enzyme équivalente chez *Staphylococcus aureus* = Déhydrosqualène synthétase. Prometteur contre MRSA (Liu & coll., 2008)

- Biosynthèse des ARNt (Schimmed & coll, 1998)

- Quorum sensing (Njoroge & Sperandio, 2009)

- Agents dispersants biofilms (Fuqua et al. 2019. J Bacteriol)

- Protéines à deux composants = transduction du signal (Gotob & coll, 2010)

- "Proton motive force" (Diacon & coll., 2009)

Toutes les molécules "prometteuses" dans ces systèmes n'appartiennent pas à familles existantes d'antibiotiques. Contredit l'affirmation que toutes les familles efficaces d'antibiotiques ont été découvertes.

Protecton antibiotiques: Avibactam

Avibactam (Actavis/AstraZeneca)
diazabicyclooctane = inhibiteur de Beta-lactamases

Premier nouvel inhibiteur de Beta-lactamases depuis 20 ans !

(Pipéraciline-Tazobactam)

N'appartient pas structuralement aux Beta-lactamases (diff. tazobactam et acide clavulanique)

Similitudes néanmoins dans son site actif qui se lie au site actif – sérine dépendant – des Beta-lactamases à sérine

Commercialisé en combinaison avec Ceftazidime (Avycaz)

Indication = infection urinaire/bactéries à G- multirésistantes

Spectre étendu à plusieurs Beta-lactamases (Classes A,C,D)

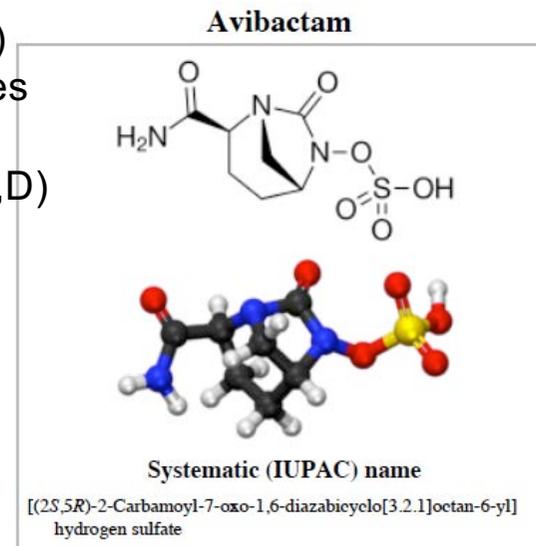
à spectre élargi KPC et AmpC

Pas métallo protéases type NDM1

Présente une activité antibactérienne intrinsèque

Capacité de liaison à certaines PBPs ?

(Zhanel, GG, 2013. "Ceftazidime-avibactam: a novel cephalosporin/ β -lactamase inhibitor combination". *Drugs* 73 (2): 159-77. doi:10.1007/s40265-013-0013-7)



Antibiorésistance: approches complémentaires dans protection des antibiotiques

Approches complémentaires = poids croissant sur les vaccins qui protègent contre la résistance

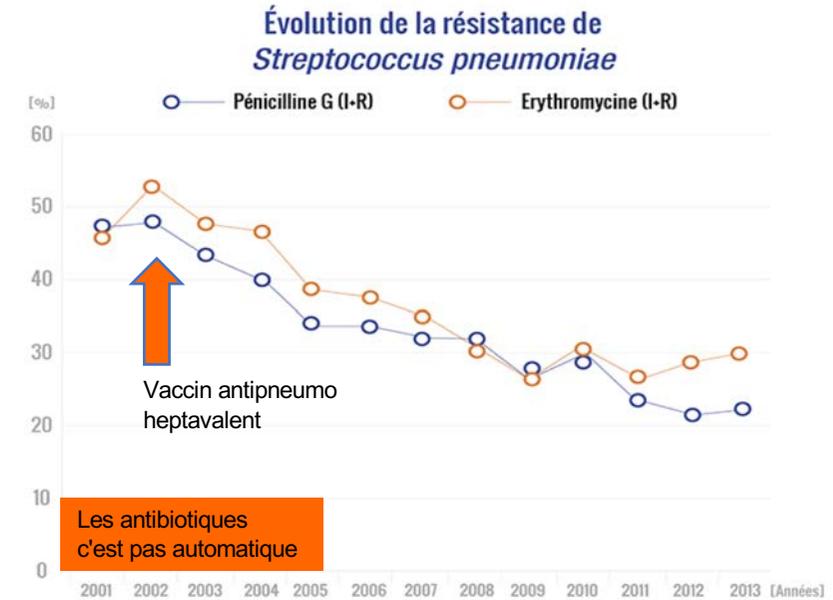
Directement = Vaccin Pneumocoque

Indirectement = Vaccin rougeole

Vaccins contre pathogènes nosocomiaux

- *E. coli* (UPEC, STEC) (Gomes-Moriel et al. 2010. PNAS)
- *S. aureus* (SARM)
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Acinetobacter* (François et al. 2017. Semin Respir Crit Care Med)

Sérothérapie revisitée: mAb anti-pathogènes nosocomiaux en biofilms (Raafat et al. 2019. Trends Microbiol)



Il faut sauver les antibiotiques !