

Ce qui a été possible pour la production de nombreuses molécules thérapeutiques, telles que les antibiotiques, se révèle bien plus complexe pour la production de solutions biologiques obtenues par la destruction massive de bactéries. Aujourd'hui, en l'absence de produits fabriqués selon ces normes, il n'est pas possible de pratiquer la phagothérapie, en France comme dans la plupart des pays du monde.

Cependant, face à la menace que représentent les bactéries résistantes aux antibiotiques, les recherches en matière de phagothérapie sont relancées. L'une des premières étapes est la sélection du ou des bactériophages pour lutter contre une souche

bactérienne unique d'un site infectieux dans l'organisme. En priorité, il faut choisir un phage qui lyse rapidement la bactérie ciblée. Les premiers travaux ont d'abord porté sur les sites d'accès aisé, telles les plaies de la peau, les infections du conduit auditif ou encore de l'intestin. En 2009, un essai clinique réalisé à Londres par la société Biocontrol a permis d'évaluer l'efficacité d'un cocktail de bactériophages dans le traitement de l'otite chronique due à la bactérie *Pseudomonas aeruginosa*. On a observé une amélioration chez tous les patients traités avec des phages. Cependant, si la charge bactérienne était réduite de façon significative, elle n'était jamais totalement éradiquée.

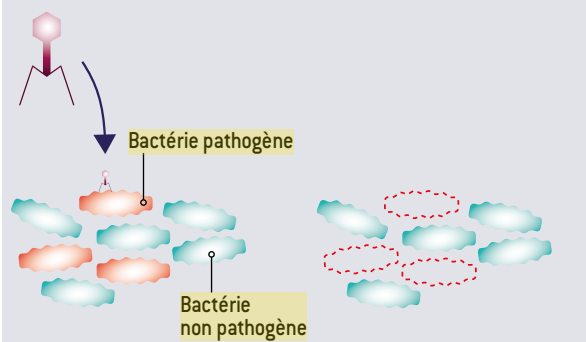
Plus récemment, une étude clinique visant à utiliser les bactériophages pour réduire les diarrhées infantiles au Bangladesh a été réalisée par la société Nestlé. Ses résultats ont confirmé l'innocuité du traitement, mais pas son efficacité, car les cibles bactériennes responsables des diarrhées n'étaient pas majoritairement celles qui étaient attendues et donc les phages choisis n'étaient pas efficaces. Cela démontre à quel point la spécificité des bactériophages est un point crucial.

Enfin, une étude clinique financée par l'Europe a débuté en 2013 en France, en Belgique et en Suisse, avec pour objectif le traitement, par des bactériophages,

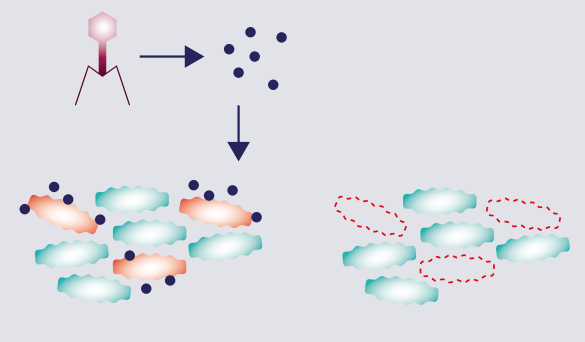
LES DIVERSES UTILISATIONS DES BACTÉRIOPHAGES

Pour lutter contre des bactéries, on peut utiliser les phages de diverses façons. L'approche directe consiste à utiliser le cycle de réplication du phage qui cible précisément une bactérie et l'infecte, se multiplie en son sein et la détruit lors de la lyse cellulaire ①. Une autre stratégie consiste à identifier puis purifier les enzymes utilisées par les phages pour détruire la paroi des bactéries et les appliquer directement ②. Certaines enzymes des phages peuvent détruire le biofilm qui protège les bactéries et faciliter la diffusion des antibiotiques ③. Enfin, un phage lysogénique peut insérer un gène dans le génome d'une bactérie résistante à un antibiotique, gène dont le produit peut sensibiliser la bactérie à l'antibiotique ④.

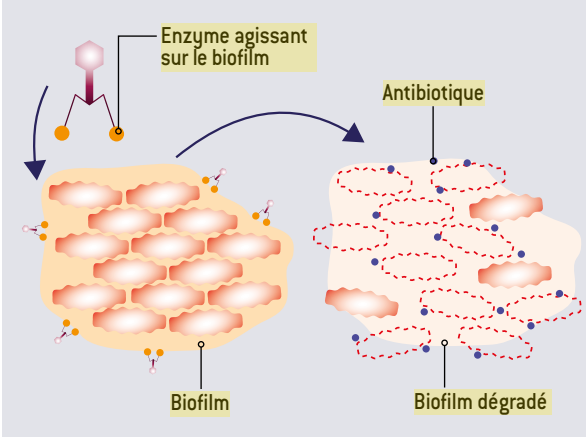
① ACTION DIRECTE DES PHAGES



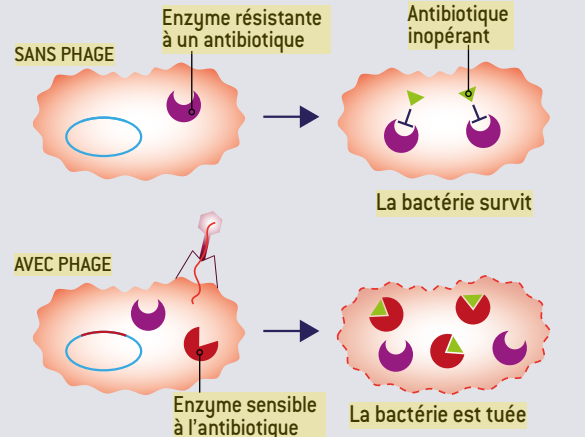
② ENZYMES DES PHAGES



③ ÉLIMINATION DU BIOFILM



④ SENSIBILISATION À UN ANTIBIOTIQUE



© Pour la Science, à partir de G. Salmond et P. Fineran, Nature reviews microbiology, vol. 13, 2015.

CRISPR : une défense antiphage qui devient ciseau moléculaire

Face à l'infection par des phages, une bactérie a plusieurs moyens de se défendre. L'un de ces mécanismes de résistance a permis de développer des techniques de manipulation génétique exceptionnelles.

Le moyen le plus simple de résister à des phages repose sur les mutations spontanées du génome de la bactérie. Si une telle mutation entraîne la modification du récepteur reconnu par le phage, ce dernier ne repère plus sa cible et ne l'infectera pas.

D'autres mécanismes requièrent des machineries moléculaires spécialisées. Parmi ces mécanismes, les systèmes de restriction-modification ont été découverts en 1970. Il en existe diverses versions. Dans le cas le plus simple, la bactérie synthétise deux protéines : l'enzyme dite de restriction est capable de reconnaître une séquence d'ADN du

bactériophage et de la couper, ce qui met fin à l'infection. Si cette séquence existe aussi dans l'ADN de la bactérie, l'enzyme pourrait la couper. Pour éviter cela, l'enzyme de modification altère le site de la séquence dans l'ADN bactérien et le protège ainsi de l'enzyme de restriction. Ces enzymes ont permis de développer les techniques de clonage de gènes employées en biologie moléculaire.

Une autre machinerie moléculaire spécialisée dans la défense contre les phages a été découverte plus récemment. Elle consiste à utiliser un système que l'on peut comparer au

système immunitaire de l'homme, car elle est fondée sur une mémoire d'événements passés. Le système CRISPR (acronyme anglais pour « courtes répétitions palindromiques groupées et régulièrement espacées ») est une sorte de banque qui contient plusieurs coffres. Chacun d'eux correspond à des séquences d'ADN étranger, de quelques dizaines de nucléotides, préalablement rencontrées par la bactérie. Plusieurs enzymes, les protéines Cas, jouent un rôle de gardien des coffres. Lorsqu'un ADN étranger entre dans la bactérie, soit il présente une information identique à celle contenue dans un coffre existant, soit un nouveau coffre est créé. Lorsque l'information est déjà présente dans un coffre, les protéines Cas dégradent l'ADN étranger.

En 2012, les équipes de Jennifer Doudna, de l'université de Californie à Berkeley, et d'Emmanuelle Charpentier, alors à l'université d'Umeå en Suède, ont identifié le mécanisme moléculaire d'une protéine Cas, la protéine Cas9, et ont ainsi ouvert la voie à son exploitation pour effectuer des modifications génétiques. L'outil CRISPR-Cas9 est aujourd'hui un véritable ciseau moléculaire utilisé pour effectuer des délétions, ou des substitutions, à des endroits précis dans le génome.

Cette technique peut être utilisée avec de nombreuses espèces, non seulement bactériennes, mais aussi eucaryotes, d'où de nombreuses perspectives d'application en génie génétique aussi bien pour la recherche fondamentale que pour la thérapie génique.

de brûlures infectées par *P. aeruginosa* et *Escherichia coli* (dont l'antibiorésistance a fortement augmenté ces dernières années). Cette étude dénommée *Phagoburn* devrait s'achever l'année prochaine et, espérons-le, démontrer clairement le potentiel clinique des bactériophages.

À l'institut Pasteur, mon équipe s'intéresse à une piste thérapeutique pour le traitement d'infections pulmonaires chez les patients atteints de mucoviscidose et aussi chez des patients en réanimation développant des pneumonies acquises sous assistance respiratoire.

La première cause de mortalité chez les patients atteints de mucoviscidose est en effet une infection causée par la bactérie *P. aeruginosa*. On estime à 80 % la part de la population adulte atteinte de mucoviscidose infectée par cette bactérie. Cet agent pathogène est difficile à éradiquer, de par ses résistances multiples aux antibiotiques communément utilisés et le caractère chronique de l'infection qui perdure des années, notamment parce que les poumons des malades, encombrés de mucus, lui sont un terrain favorable.

Après une caractérisation poussée en laboratoire de plusieurs bactériophages

ciblant *P. aeruginosa* afin de s'assurer de leur innocuité pour l'organisme, nous avons effectué des essais sur des animaux. La réduction de la population bactérienne pulmonaire et l'évolution de l'état infectieux des animaux ont montré que les bactériophages étaient efficaces. Puis nous avons voulu savoir si les bactériophages pouvaient agir à travers l'épais mucus du système respiratoire de patients atteints de mucoviscidose. Nous avons défini un cocktail de dix bactériophages capables de lyser les souches cliniques de *P. aeruginosa* et démontré que ceux-ci étaient en effet capables de pénétrer au sein du mucus pour y détruire les bactéries.

Nous avons aussi comparé l'efficacité d'un traitement antibiotique avec celui d'un bactériophage ciblant la bactérie *E. coli*, de plus en plus responsable de pneumonies chez des patients en réanimation. Le traitement antibiotique requiert plusieurs administrations, là où le bactériophage n'en nécessite qu'une seule, car il se multiplie là où se situe la cible. Récemment, avec une équipe des Hôpitaux de Paris, nous avons isolé un bactériophage capable de produire 300 nouveaux virus en dix minutes et qui cible une souche particulièrement

résistante d'*E. coli*. La prochaine étape consiste à mettre en place un essai clinique.

D'autres utilisations thérapeutiques des phages sont à l'étude, notamment pour améliorer l'efficacité des antibiotiques (voir l'encadré page ci-contre). Par exemple, les bactéries forment souvent des biofilms où les antibiotiques ne diffusent pas. Or certains phages ont des enzymes qui dégradent ces biofilms et, par conséquent, facilitent la diffusion des molécules thérapeutiques. Les phages peuvent aussi servir de vecteurs afin d'introduire dans la bactérie un principe actif létal ou capable de rétablir la sensibilité de la bactérie à un antibiotique.

L'union fera la force

L'étude de la phagothérapie avec des outils modernes ne fait que commencer et les premiers résultats sont encourageants. Cela démontre que la piste des bactériophages n'est pas à négliger à l'heure où la résistance aux antibiotiques devient de plus en plus préoccupante. Et pour traiter les infections bactériennes les plus coriaces, une stratégie consistant à combiner les deux approches thérapeutiques sera probablement la plus efficace. ■